

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：32647
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2018～2020
 課題番号：18K02497
 研究課題名(和文)モザイク型ダウン症候群の予後(細胞遺伝学的解析、臨床、保育・教育・社会適応)

 研究課題名(英文)Prognosis of mosaic Down syndrome (cytogenetic analysis, clinical findings, childcare, education and social adaptation)

 研究代表者
 高野 貴子(Takano, Takako)

 東京家政大学・家政学部・教授

 研究者番号：50236246
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：モザイク型ダウン症患者5人(男1、女4)のトリソミー21細胞のモザイク率の経年変化を解析した。7～23歳の4人の末梢血培養G-bandingと21番染色体プローブを用いたFISH(No.21 FISH)、未培養細胞のNo.21 FISHではモザイク率が激減した。3歳の1名の3回(11ヶ月、2歳9ヶ月、3歳3ヶ月)の検査ではモザイク率は減少途中だった。口腔粘膜細胞(5人)と抜歯培養線維芽細胞(2人)のNo.21 FISHでは減少はみられなかった。標準型(7人)と転座型(1人)のダウン症患者では、トリソミー21細胞は100%近く維持されていた。モザイク型患者の臨床所見、生育歴、教育と就労を調査した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

モザイク型ダウン症患者の培養Bリンパ球と骨髄から流血中に出てきた血球細胞において、モザイク率は7歳以降で激減していた(3～8%)。3歳までは徐々にトリソミー細胞が漸減傾向にあった。造血系細胞以外の組織では、モザイク率の減少はなく、これらは学術的に新しい知見である。骨髄の中で、造血幹細胞は低酸素の微小環境(ニッチ)に存在している。骨髄中の低酸素環境はトリソミー細胞にとっては正常細胞より生存に不利に働く可能性があり、モザイク率が時間経過により減少すると推定した。

モザイク患者の生育歴、発達状況、教育・就労状況の結果は、モザイク型ダウン症患者の保育・教育、遺伝カウンセリングに資する知見と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Cytogenetic analysis of five patients with mosaic Down syndrome (one male and four females) was carried out. G-banding and chromosome 21 fluorescence in situ hybridization (No.21 FISH) of peripheral blood cultures in four patients aged 7-23 years showed a sharp decrease in mosaicism. No.21 FISH of uncultured cells also showed a significant decrease in mosaicism. The mosaic ratio was gradually but not drastically reduced in one young child at 11 months, 2 years 9 months and 3 years 3 months of age. No. 21 FISH of oral mucosa cells (5 children) and fibroblasts cultures from tooth extraction (2 children) showed no decrease in mosaicism. The same analyses were performed in seven patients with standard trisomy 21 and one patient with translocation, all of whom maintained nearly 100% trisomy 21 cells on chromosome examination. The clinical findings, upbringing history, education and employment status of five patients with mosaic Down syndrome were also investigated.

研究分野：臨床遺伝学、小児科学

キーワード：モザイク型ダウン症候群 モザイク率 染色体分析

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) ダウン症候群 (Down syndrome, 以下 DS) は染色体異常症の中で最も多く、知的障害者の中で普通の幼稚園・保育所に通い、義務教育を受ける人数が多く、成人に達することのできる疾患である (高野貴子他, 2011)。しかし、Collmannら (1963) が調べた 1948-1957 年生まれの DS 患者の平均寿命はわずか 16.2 歳であった。近年 DS 患者の平均寿命は延長し、日本人では 48.9 歳 (1966-1975 年生まれ, Masaki et al. 1981)、西オーストラリアでは 58.6 歳 (1953-2000 年生まれ, Glasson et al. 2002)、デンマークからもほぼ 60 歳との報告が出ている (Zhu et al. 2013)。アメリカの大規模調査 (17,897 人) では、死亡年齢中央値が 1983 年では 25 歳だったのが、1997 年は 49 歳と伸びていた (Yang et al. 2002)。

(2) 日本では女性の結婚年齢の上昇に伴い、子どもの出産年齢が高くなっている。出産時の母体年齢が高くなるとトリソミー出産が増えることが知られているため、日本における DS の出産は漸増傾向にあるとされる (日本産婦人科医会の全国約 330 医療機関の調査 (出生児の約 13% に該当) : 横浜市立大学先天異常モニタリングセンター) (梶井正 2007)。先進諸外国では出生前診断による選択的妊娠中絶の影響で、スペインでは DS 出生頻度はむしろ減少、オーストラリア、フランス、アメリカ等のほとんどの先進国では横ばいである (Annual report with data for birth defects surveillance)。

(3) このように患者数が増加する日本で、出生前診断と選択的妊娠中絶の対象ともなっているダウン症候群患者の生命予後や実態を、子どもを持つようとしている世代の人はどれだけ知っているのだろうか? DS 全体の約 93~95% を占める標準型 (21 トリソミー) に関しては、書物やインターネット、ダウン症の親の会 (日本ダウン症協会など) の広報などから比較的知られてきており、幼少期の健康管理体制も整ってきている。しかし、約 2~3% を占めるモザイク型の患者の臨床像は、比較的軽度であろうという以外、和文雑誌・本などにオリジナルデータに基づいた記載は見当たらない。海外では臨床的な review が散見される (Papavassiliou et al. 2014)。

(4) 研究代表者は 1980 年からダウン症候群などの染色体異常を中心とする遺伝性疾患の診療を継続し、数人のモザイク型患者を診察している。20 歳の患者の母親からの要請を受けて、患者の末梢血採血を行い、染色体検査を実施した。その結果、出生時より顕著に 21 トリソミー細胞の割合が減少し、正常の 46,XX 細胞が増加していた。この結果を母親は喜び、研究協力の意向を示してくださった。この患者は知的発達の遅れはあるものの、言語によるコミュニケーションが取れ、現在一般事務職に就労している。そこで、科研費による研究助成を受けて、患者に経済的負担がかからないような臨床研究として本研究を実施することを着想した。

2. 研究の目的

(1) 日本人のモザイク型 DS 患者の染色体モザイク率の細胞遺伝学的研究を経年変化という観点から明らかにする。DS 患者のモザイクの頻度が経年により変化することを、通常末梢血培養だけでなく、他の組織でも検討し、この現象が複数の患者で認められれば、新しい知見と考えられる。

(2) 臨床的にモザイク患者が標準型 21 トリソミーに比べて、表現型や認知機能に差があるかを検討する。この研究結果を患者と家族の遺伝カウンセリングや保育に役立てていく。

3. 研究の方法

(1) 東京家政大学倫理審査の承認 (板 h-29-15) と臨床のフィールドである東京都立東部療育センター倫理問題審査の承認 (29 守東部セ第 256-1) を受けた。患者と保護者に本研究の文書による説明と同意を得た。

(2) 染色体検査: 100 細胞の分析

末梢血培養 B リンパ球の G-banding

末梢血培養 B リンパ球の 21 番染色体 FISH (fluorescence *in situ* hybridization,

以下 No.21FISH)

末梢血の未培養細胞 (骨髄から流血中に出てきた分化血液細胞) の No.21FISH

口腔粘膜細胞の No.21FISH

抜歯培養線維芽細胞の No.21FISH

FISH のプローブは 21q22.13-q22.2 (D21S259, D21S341, D21S342) を使用した。

モザイク型患者だけでなく、標準型トリソミー 21 等他のダウン症候群患者も同様の解析を行った。

(3) モザイク型患者の合併症、生育歴、発達の状況、知能検査、教育・就労の状況を調査した。

4. 研究成果

(1) モザイク型患者の染色体検査結果

表1：モザイク型患者5人(A～E)の染色体検査結果

順番	性別	検査日年齢	染色体検査方法	trisomy 21: 正常[カウント数](モザイク割合)	
(A)	女	生直後他院	末梢血G-banding	19:11 [30細胞] (63%)	
			11ヶ月	①末梢血G-banding	47,XX,inv(9)(p12q13),+21 [47細胞] (47%) 46,XX,inv(9)(p12q13) [53細胞]
			②末梢血No.21FISH	42:58 [100細胞] (42%)	
			③未培養間期核No.21FISH	signal数 1 [2細胞] signal数 2 [64細胞] signal数 3 [34細胞] (34%)	
			④口腔粘膜No.21FISH	40:60 [100細胞] (40%)	
			2歳9ヶ月	①末梢血G-banding	47,XX,inv(9)(p12q13),+21 [29細胞] (29%) 47,XX,inv(9)(p12q13),+mar [1細胞] 46,XX,inv(9)(p12q13) [70細胞]
			②末梢血No.21FISH	28:72 [100細胞] (28%)	
			③未培養間期核No.21FISH	signal数 1 [6細胞] signal数 2 [157細胞] signal数 3 [42細胞] (20%)	
			④口腔粘膜No.21FISH	signal数 1 [2細胞] signal数 2 [46細胞] signal数 3 [52細胞] (52%)	
			3歳3ヶ月	①末梢血G-banding	47,XX,inv(9)(p12q13),+21 [37細胞] (37%) 46,XX,inv(9)(p12q13) [63細胞]
			②末梢血No.21FISH	36:64 [100細胞] (36%)	
			③未培養間期核No.21FISH	27:73 [100細胞] (27%)	
			④口腔粘膜No.21FISH	34:66 [100細胞] (34%)	
(B)	男	生直後他院	末梢血G-banding	51:49 [100細胞] (51%)	
		7歳1ヶ月	①末梢血G-banding	8:92 [100細胞] (8%)	
			②末梢血No.21FISH	4:96 [100細胞] (4%)	
			③未培養間期核No.21FISH	signal数 1 [1細胞] signal数 2 [94細胞] signal数 3 [5細胞] (5%)	
			④口腔粘膜No.21FISH	60:40 [100細胞] (60%)	
8歳3ヶ月	⑤抜歯培養線維芽細胞No.21FISH	24:76 [100細胞] (24%)			
(C)	女	生直後他院	末梢血No.21FISH	399:601 [1000細胞] (40%)	
		11歳4ヶ月	①末梢血G-banding	7:93 [100細胞] (7%)	
			②末梢血No.21FISH	5:95 [100細胞] (5%)	
			③未培養間期核No.21FISH	signal数 1 [1細胞] signal数 2 [93細胞] signal数 3 [6細胞] (6%)	
			④口腔粘膜No.21FISH	28:26 [54細胞] (52%)	
			④口腔粘膜No.21FISH再検	signal数 1 [1細胞] signal数 2 [54細胞] signal数 3 [45細胞] (45%)	
(D)	女	11ヶ月他院	末梢血G-banding	47,XX+21/46,XX (12%)	
			皮膚培養線維芽細胞G-banding	47,XX+21/46,XX (10%)	
		23歳	①末梢血G-banding	6:94 [100細胞] (6%)	
			②末梢血No.21FISH	3:97 [100細胞] (3%)	
			③未培養間期核No.21FISH	signal数 1 [1細胞] signal数 2 [98細胞] signal数 3 [1細胞] (1%)	
			④口腔粘膜No.21FISH	signal数 1 [4細胞] signal数 2 [74細胞] signal数 3 [22細胞] (22%)	
(E)	女	生直後他院	末梢血G-banding	13:7 [20細胞] (65%)	
		20歳7か月	①末梢血G-banding(他検査会社)	6:94 [100細胞] (6%)	
			①末梢血G-banding(プレートカウント)	5:95 [100細胞] (5%)	
		22歳10ヶ月	②末梢血No.21FISH	3:97 [100細胞] (3%)	
			③未培養間期核No.21FISH	signal数 1 [6細胞] signal数 2 [88細胞] signal数 3 [6細胞] (6%)	
			④口腔粘膜No.21FISH	63:37 [100細胞] (63%)	
			22歳11ヶ月	④抜歯培養線維芽細胞No.21FISH	63:37 [100細胞] (63%)

表1に示したように、モザイク型ダウン症患者5人のうち、7~23歳の4人(B~E)は、末梢血G-banding、末梢血No.21FISH、末培養No.21FISHのモザイク率が生直後と比べて激減していた(3~8%)。ところが、幼少の一人(A)は11ヶ月、2歳9ヶ月、3歳3ヶ月の時点でのモザイク率は生直後に比べ、漸減しているが、激減はしていなかった。

一方、口腔粘膜細胞No.21FISHと抜歯培養の線維芽細胞のNo.21FISHのモザイク率は生直後と変わらず減少は見られなかった。

(2)標準型トリソミー21患者7人(16~38歳)と転座型トリソミー21患者(17歳)において同様の染色体検査を行なったところ、全員ともトリソミー21細胞が100%近く(97~100%)維持されていた。モザイク率の時間経過による減少はトリソミーレスキューではない。

この結果から、(1)の理由を考察した。の造血系細胞以外の組織では、モザイク率の減少はなかった。のBリンパ球との骨髄から流血中に出てきた血球細胞のモザイク率は、7歳以降では激減し(3~8%)、ほとんど正常細胞で占められていた。骨髄の中で、造血幹細胞は低酸素の微小環境(ニッチ niche)に存在し、休止期の未分化状態にあるという(Spencer et al. 2014, 田久保 2014)。骨髄中の低酸素などの特殊な微小環境(niche)はトリソミー細胞にとっては正常細胞より生存に不利に働く可能性があり、モザイク率が時間経過により減少すると推定した。

(3)モザイク型患者の生育歴、発達の状況、知能検査、教育・就労の状況

表2:モザイク型患者5人(A~E)の生育歴、発達の状況、知能検査、教育・就労の状況

番号	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)
性別	女	男	女	女	女
年齢(2021/5/1現在)	3歳6ヶ月	9歳10ヶ月	14歳	25歳2ヶ月	25歳4ヶ月
出生時父年齢	43歳11ヶ月	34歳11ヶ月	33歳	35歳	34歳7ヶ月
出生時母年齢	40歳3ヶ月	33歳3ヶ月	36歳	30歳	32歳9ヶ月
血縁結婚	なし	なし	なし	なし	なし
父身長(cm)		183		163	173
母身長(cm)		163.5		163	160
同胞	5歳上姉	3歳上姉:自閉スペクトラム症	2歳上兄	4歳上姉、2歳下妹	2歳上兄:先天性心疾患のため1歳3ヶ月時に死亡
妊娠回数	4	2	3	4	2
出産数	2	2	2	3	2
死産数	0	0	0	0	0
自然流産	2	0	1	0	0
人工流産	0	0	0	0	0
出産時週数	38週1日	40週3日	38週	39週1日	39週
出生時体重(g)	2712	3394	3108	2802	2802
心臓合併症	ASD:自然閉鎖,無治療	ASD,VSD,右肺動脈狭窄,PH	右脚ブロック	TR,MR:16歳でフォロー終了	ASD(II)
その他の合併症		斜視,左停留精巣		自閉スペクトラム症	白内障
入院回数	1	2		2	2
入院内容	肺炎(RS感染症)	心臓手術、心臓カテーテル		手術	マイコプラズマ肺炎(6歳),白内障(24歳)
手術回数	0	1	2	2	1
手術内容		心内修復術(3ヶ月)	扁桃腺摘出(12歳),右聴毛内反症(8歳)	舌小帯短縮術(乳児期)、外斜視(6歳)	両側白内障(24歳)
猿のすわり	4ヶ月	6ヶ月		7ヶ月	4ヶ月
座位	1歳1ヶ月	10ヶ月			7ヶ月
つかまり立ち		11ヶ月			1歳
一人歩き	1歳8ヶ月	1歳3ヶ月	1歳3ヶ月	1歳6ヶ月より後	1歳3ヶ月
一語文	1歳10ヶ月	2歳	2歳	1歳6ヶ月	
二語文	未	3歳	2歳7ヶ月	2歳	
知能検査		8歳(WISC-IV IQ=76)	12歳(WISC-IV;全検査I Q=45,言語理解=60)		10歳(WISC-III:言語性I Q=57,動作性I Q=53,全検査I Q=50) 2015(田中ビネーI Q=44)
脳波		異常なし(8歳)			異常なし(23歳)
MRI		異常なし(8歳)			
療育				療育センターにて	OT,PT,ST,集団(3ヶ月から)、言語(6歳から)
小学校		特別支援学級	普通級(私立,5年生から保健室登校)	普通級	普通級
中学校			特別支援学校中等部	普通級	普通級
高等学校				普通級(市立特進)	サポート校
大学,専門学校等				4大(英語)、就労支援	ビジネス専門学校(2年),就労支援センター(1年半)
就労				会社(正社員)	一般企業(契約社員)
初経			10歳	13歳	10歳

ASD:心房中隔欠損、ASDII:下縁欠損を伴う二次口欠損型心房中隔欠損、VSD:心室中隔欠損

モザイク型ダウン症候群患者の運動発達は標準型トリソミー21に比べて比較的早く、一語文や二語文の始語も早い。IQも標準型に比べると高い。先天性心疾患などの合併症は標準型と変わらない。成人に達した2人(D, E)は、知的障害はあるが、四年制大学や専門学校を卒業し、企業に就職して社会人として生活していることが特筆される。

これらは日本人モザイク型ダウン症候群患者の臨床、遺伝カウンセリング、保育や教育に資するデータであると考えられる。

<引用文献>

- Annual report with data for birth defects surveillance
http://www.icbdsr.org/wp-content/annual_report/Report2014.pdf (2021/6/12 参照)
- Collmann RD, Stroller A. Data on mongolism in Victoria, Australia: prevalence and life expectation. *J Ment Defic Res* 7, 1963, 60-68
- Glasson EL et al. The changing survival profile of people with Down's syndrome: implications for genetic counselling. *Clin Genet* 62(5), 2002, 390-393
- 梶井正, わが国の高齢出産と Down 症候群増加傾向の分析. *日本小児科学雑誌*, 111(11), 2002, 1426-1428
- Masaki M, Higurashi M et al. Mortality and survival for down syndrome in Japan. *Am J Hum Genet* 33(4), 1981, 629-639
- Papavassiliou P et al. Mosaicism for trisomy 21. *Am J Med Genet* 167, 2014, 26-39
- Spencer JA et al. Direct measurement of local oxygen concentration in the bone marrow of live animals. *Nature* 508(7945), 2014, 269-273
- 高野貴子, 高木晴良. ダウン症候群の保育、療育、就学、就労、退行、医療機関受診の実態, *小児保健研究*, 70(1), 2011, 54-59
- 田久保圭誉. ニッチによる造血恒常性維持, *生化学*, 86, 2014, 755-765
- Yang Q et al. Mortality associated with Down's syndrome in the USA from 1983 to 1997: a population-based study. *Lancet* 359(9311), 2002, 1019-1025
- 横浜市立大学先天異常モニタリングセンター <https://icbdsr-j.jp> (2021/6/12 参照)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takako Takano, Kazuhiko Nakabayashi, Hideomi Ota, Yasuhiro Arai, Hiromi Kamura, Kenichiro Hata	4. 巻 63(4)
2. 論文標題 Tetrasomy 21 pter q21.3 due to an extra +dic(21;21)mat in a severely psychomotor-retarded female patient without Down syndrome phenotype.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Medical Genetics	6. 最初と最後の頁 103824
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejmg.2019.103824	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 高野貴子	4. 巻 オンライン
2. 論文標題 Down症候群	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 今日の臨床サポート 改訂第4版 (電子版2020/5/15)	6. 最初と最後の頁 オンライン
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 片口桂、高野貴子	4. 巻 59
2. 論文標題 大学内の障害児通所療育施設「わかさグループ」の療育の変遷	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 小児の精神と神経	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takako Takano, Michio Akagi, Haruyoshi Takaki et al.	4. 巻 0:e000414
2. 論文標題 Sex Differences in Congenital Heart Disease in Down Syndrome: Study Data from Medical Records and Questionnaires in a Region of Japan.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMJ Paediatrics Open	6. 最初と最後の頁 1-3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bmjpo-2018-000414	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Takako Takano, Kazuhiko Nakabayashi, Hideomi Ota, Yasuhiro Arai, Hiromi Kamura, Kenichiro Hata
2. 発表標題 Tetrasomy 21 pter q21.3 due to an extra +dic(21;21) in a severely psychomotor-retarded female without Down syndrome phenotype.
3. 学会等名 European Human Genetics Conference (ESHG 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takako Takano
2. 発表標題 Sex differences in congenital heart disease in Japanese Down Syndrome.
3. 学会等名 14th International Conference on Pediatric Neonatal Healthcare (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 片口桂、高野貴子
2. 発表標題 大学内の障害児通所療育施設「わかくさグループ」の療育の実践
3. 学会等名 第119回日本小児精神神経学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高野貴子、内城美咲子
2. 発表標題 保育現場でのプレパレーションの応用
3. 学会等名 第65回日本小児保健協会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤木美智男、高野貴子、高木晴良、萩原教文、犬塚亮、金子正英、小野博、野木森宣嗣
2. 発表標題 Down症候群に合併する先天性心疾患の性差（第3報）
3. 学会等名 日本小児科学会第122回学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高野貴子
2. 発表標題 発達障害と遺伝の考え方
3. 学会等名 2020年度発達障害医学オンラインセミナー（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 高野貴子ほか	4. 発行年 2019年
2. 出版社 総合医学社	5. 総ページ数 758
3. 書名 小児科診療ガイドライン 第4版	

1. 著者名 高野貴子ほか	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本発達障害連盟	5. 総ページ数 88
3. 書名 発達障害医学の進歩 33集	

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------