

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 10 月 14 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460405

研究課題名(和文) エーラスダンロス症候群・新規病型の臨床的および分子遺伝学的探索

研究課題名(英文) Clinical and molecular investigation for new forms of Ehlers-Danlos syndrome

## 研究代表者

古庄 知己 (KOSHO, Tomoki)

信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・准教授

研究者番号：90276311

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：エーラスダンロス症候群(Ehlers-Danlos症候群；EDS)は、皮膚・関節の過伸展性、各種組織の脆弱性を特徴とする先天性疾患の総称です。現在、6つの大病型およびその他の病型に分類されていますが、これらの分類には当てはまらない患者さんも少なくありません。本研究では、全国からEDSを含めた遺伝性結合組織疾患疑い患者さんを収集し、詳細な臨床的分析と次世代シーケンスを用いた網羅的遺伝子解析により、新たな病型を探索しました。結果、COL5A2遺伝子変異に基づき、乳児期より顕著な皮膚過伸展性・脆弱性、重篤な後側彎症を発症する重症古典型サブタイプなどを発見することに成功しました。

研究成果の概要(英文)：Ehlers-Danlos syndrome (EDS) is a heterogeneous group of heritable connective tissue disorders, the hallmarks of which are skin hyperextensibility, joint hypermobility, and tissue fragility involving the skin, ligaments, joints, blood vessels, and internal organs. It was classified into six major types, and additional forms of EDS have also been identified in association with molecular and biochemical abnormalities. However, we sometimes experience patients who cannot be categorized into any previous forms of EDS. In this study, we aimed to identify new forms of EDS through detailed and comprehensive clinical assessment and next-generation sequencing-based genetic screening. As a result, we have successfully identified several new forms of EDS, including a severe subtype of classical type EDS presenting with marked skin hyperextensibility and fragility as well as severe progressing kyphoscoliosis from infancy, which is caused by COL5A2 mutations.

研究分野：臨床遺伝学

キーワード：エーラスダンロス症候群 新規病型 結合組織疾患 次世代シーケンス 候補遺伝子解析 全エクソーム解析 国際情報交換

## 1. 研究開始当初の背景

**エーラスダンロス症候群 (Ehlers-Danlos 症候群; EDS)** は、皮膚・皮膚の過伸展性、各種組織の脆弱性を特徴とする先天性疾患の総称であり、1/5000 人の頻度で見られる。古典型、関節型、血管型、後側彎型、多発関節弛緩型、皮膚弛緩型の 6 病型に分類されており、コラーゲン分子そのもの、または修飾酵素の遺伝子変異により生じる。近年、主病型に属さない新たな病型が、その遺伝学的、生化学的基盤とともに相次いで発見されている。

我々は、平成 21-23 年度厚生労働省難治性疾患克服研究事業「エーラスダンロス症候群 (主に血管型および新型) の実態把握および診療指針の確立 (EDS 班)」(研究代表者: 古庄知己) を通じて、新しい病型である D4ST1-deficient EDS (EDS, Kosho Type) を発見した。EDS の基本症状に加え、顔貌上の特徴、先天性多発関節拘縮 (内転母指、内反足など)、巨大皮下血腫の反復などの特徴を有する症例を見出し (Kosho et al., Am J Med Genet 138A: 282-287, 2005; Kosho et al., 2010) homozygosity mapping により原因遺伝子 *CHST14* を同定、その進行性結合組織脆弱性の病態が「*CHST14* がコードするデルマトン 4-O-硫酸基転移酵素 1 (D4ST1) の欠損 プロテオグリカンのグリコサミノグリカン側鎖に含まれるデルマトン硫酸がコンドロイチン硫酸に転換 デコリン (代表的なデルマトン硫酸含有プロテオグリカン) を介するコラーゲン細線維の assembly 不全」に基づくことを明らかにした (Miyake et al., 2010)。新規症例および既報告の同一遺伝子異常症例の分析から、EDS の新たな病型であると結論付け、「D4ST1-deficient EDS (DDEDS)」と命名した (Kosho et al., 2011; Shimizu et al., 2011)。本疾患は、デルマトン硫酸生合成経路において初めて発見された欠損症であり、デルマトン硫酸がヒト発生および細胞外マトリックス維持にどのような役割を果たすかを初めて示す重要なモデルと位置づけられている (Zhang et al., Prog Mol Biol Transl, 2010)。

EDS 班の活動において、多数の EDS 症例を経験するなかで、症状が特異である、既知の病型に類似した症状を有するが原因遺伝子変異を同定できない、など既知の病型には合致しない症例群が多数存在することを見出した。以下、我々が注目している症例群を示す。

(A) 古典型 EDS 類似の皮膚過伸展性・脆弱性、関節過伸展性・反復性脱臼を呈するが、早期発症重症後側彎を合併する症例群。

(B) 下肢の痙性、発達障害を伴い、急速進行性の経過をたどる関節型 EDS 類似の症例群。

(C) 血管型 EDS 類似の血管および腸管脆弱性を有するが、型コラーゲンの異常が検出されない症例群。

(D) DEDS 類似の症状 (先天性多発関節拘縮など) を有するが、*CHST14* 変異が検出されない症例群。

なかでも、関節型 EDS は、頻度が高いにもかかわらず、ほとんどの症例において原因遺伝子は同定されていない。この原因は、本症が heterogeneous すなわち種々の原因遺伝子や病態を有する類似疾患の集合体であるためであると推測される。我々が注目している症例群は、関節型 EDS に分類しうるきわめて均質な症例群であり、突破口になることが期待された。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、全国から収集した EDS を中心とする遺伝性結合組織疾患症例の臨床的分析および次世代シーケンス (NGS) を用いた網羅的遺伝子解析を通じ、上記 4 症例群を中心に、新規 EDS 病型を発見し、その疾患概念を確立することである。

## 3. 研究の方法

(1) 研究体制: 本研究を遂行するために、研究代表者・古庄知己は研究全体の統括、全国医療機関と連携した臨床的分析を、分担者・篠持淳博士 (獨協医科大学皮膚科) は主に全国皮膚科と連携した臨床的分析とコラーゲン分析を、分担者・涌井敬子博士 (信州大学医学部遺伝医学・予防医学教室) は NGS を用いた EDS 関連遺伝子パネル解析を、分担者・松本直通博士・三宅紀子博士 (横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学) はパネル解析陰性例に対するエクソーム解析を、分担者・福嶋義光博士 (信州大学医学部遺伝医学・予防医学教室) は研究全体を俯瞰した倫理的問題への検討を、協力者・森崎裕子博士 (国立循環器病研究センター分子生物学部) および渡邊淳博士 (日本医科大学学生化学・分子生物学/同附属病院遺伝診療科) は EDS 専門家としての情報交換・助言を行う体制を整備した。

(2) 臨床的探索: 全国医療機関から既知の分類に合致しない EDS 症例を収集し (臨床情報、DNA や皮膚線維芽細胞などの生体試料) 新規 EDS として臨床的カテゴリー分けを行う。

(3) 分子遺伝学的探索: 臨床的カテゴリー分けに基づき、次世代シーケンスによる解析を行う。第 1 スクリーニングとして既知の EDS 病型 (および類縁結合組織疾患) の原因遺伝子スクリーニングを、第 1 スクリーニング陰性症例群には第 2 スクリーニングとしてエクソーム解析を行う。

## 4. 研究成果

(1) 臨床的探索: 全国医療機関から EDS を含め遺伝性結合組織疾患が疑われる 168 患者を収集、詳細に臨床情報を分析し、症例群 (A) ~ (D) を中心に新規の病型といえる患者を抽

出した。症例群 A に分類される患者 4 人、症例群 B に分類される患者 6 人、症例群 C に分類される患者 7 人、症例群 D に分類される患者 8 人を見出した。

(2)分子遺伝学的探索: ion PGM™シーケンサによる一次遺伝子スクリーニング体制(既知の EDS 病型および類縁結合組織疾患の原因遺伝子パネル)を構築した。EDS を含め遺伝性結合組織疾患が疑われる患者 168 人の末梢血由来ゲノム DNA を抽出し、遺伝子解析を行った。このうち 49 人において病的変異が検出され、全て Sanger 法で確認された。症例群 A に分類される患者 4 人全員に COL5A2 遺伝子変異が見出され、過去に指摘されることがなかった「古典型 EDS の重症サブタイプ」であると位置づけられた。症例群 B、D の患者に対して、二次スクリーニングである全エクソーム解析を行ったが、病的変異を同定することはできなかった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 13 件)

1. Kono M, Hasegawa-Murakami Y, Sugiura K, Ono M, Toriyama K, Miyake N, Hatamochi A, Kamei Y, Kosho T (corresponding author), Akiyama M. A 45-year-old Woman with Ehlers-Danlos Syndrome Caused by Dermatan 4-O-sulfotransferase-1 Deficiency: Implications for Early Ageing. *Acta Derm Venereol* [Epub ahead of print] 査読有り
2. Mochida K, Amano M (corresponding author), Miyake N, Matsumoto N, Hatamochi A, Kosho T (corresponding author). Dermatan 4-O-sulfotransferase 1-deficient Ehlers-Danlos syndrome complicated by a large subcutaneous hematoma on the back. *J Dermatol* [Epub ahead of print] 査読有り
3. Kosho T. CHST14/D4ST1 deficiency: New form of Ehlers-Danlos syndrome. *Pediatr Int* 58(2): 88-99, 2016. 査読有り
4. Nakagawa H, Wada H, Hajiro T, Nagao T, Ogawa E, Hatamochi A, Tanaka T, Nakano Y. Ehlers-Danlos Syndrome Type IV with Bilateral Pneumothorax. *Intern Med* 54(24): 3181-3184, 2015. 査読有り
5. Kojima A, Saga I, Tomio R, Kosho T, Hatamochi A. Aggressive change of a carotid-cavernous fistula in a patient with Ehlers-Danlos syndrome type IV. *Interv Neuroradiol* 21(3):341-345, 2015. 査読有り
6. Inokuchi R, Kurata H, Endo K, Kitsuta Y, Nakajima S, Hatamochi A, Yahagi N. Vascular Ehlers-Danlos syndrome without the characteristic facial features: a case report. *Medicine* (Baltimore) 93(28): e291, 2014. 査読有り
7. Hatamochi A, Hamada T, Yoshino M, Hashimoto T. The first Japanese case of the arthrochalasia type of Ehlers-Danlos syndrome with COL1A2 gene mutation. *Gene* 538(1): 199-203, 2014. 査読有り
8. Miyake N (corresponding author), Kosho T, Matsumoto N. Ehlers-danlos syndrome associated with glycosaminoglycan abnormalities. *Adv Exp Med Biol* 802: 145-59, 2014. 査読有り
9. Kashizaki F, Hatamochi A, Kamiya K, Yoshizu A, Okamoto H. Vascular-type Ehlers-Danlos syndrome caused by a hitherto unknown genetic mutation: a case report. *J Med Case Rep* 7: 35, 2013. 査読有り
10. Shimaoka Y, Hayashi S, Hamasaki Y, Terui K, Hatamochi A (corresponding author). Patient with the vascular type of Ehlers-Danlos syndrome, with a novel point-mutation in the COL3A1 gene. *J Dermatol* 40(3):226-228, 2013. 査読有り
11. Nakajima M, Mizumoto S, Miyake N (equal contribution), Kogawa R, Iida A, Ito H, Kitoh H, Hirayama A, Mitsubuchi H, Miyazaki O, Kosaki R, Horikawa R, Lai A, Mendoza-Londono R, Dupuis L, Chitayat D, Howard A, Leal GF, Cavalcanti D, Tsurusaki Y, Saito H, Watanabe S, Lausch E, Unger S, Bonafè L, Ohashi H, Superti-Furga A, Matsumoto N, Sugahara K, Nishimura G, Ikegawa S. Mutations in B3GALT6, which encodes a glycosaminoglycan linker region enzyme, cause a spectrum of skeletal and connective tissue disorders. *Am J Hum Genet* 92(6): 927-934, 2013. 査読有り
12. 古庄知己: デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づく新型エーラスダンロス症候群の発見と疾患概念の確立. **日本遺伝カウンセリング学会誌** 34(1): 21-29, 2013. 査読無し
13. 古庄知己: グリコサミノグリカンの異常と新型 Ehlers-Danlos 症候群(古庄型). **病理と臨床** 31(8): 852-860, 2013. 査読無し

[学会発表](計 14 件)

1. Kosho T. Dermatan 4-O-sulfotransferase 1-Deficiency: a new form of Ehlers-Danlos Syndrome characterized by various malformations and progressive multisystem fragility-related manifestations. BMB2015 (2015/12/1-4 於 神戸国際会議場)(ワークショップ、招待口演)
2. 古庄知己, 森崎裕子, 川目裕、園田徹、石川健、小林朋子、青木洋子、大浦敏博、

- 河野通浩、持田耕介、森崎隆幸、**三宅紀子** . デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素 1 (D4ST1) 欠損に基づくエーラスダンロス症候群 (DDEDS) の国際共同臨床調査 . 日本人類遺伝学会第 60 回大会 (2015/10/14-17 於 京王プラザホテル) (口演)
3. 神谷素子、**古庄知己**、高野亨子、山口智美、**涌井敦子**、**福嶋義光** . 早期発症重度後側彎を伴う古典型 Ehlers-Danlos 症候群の 2 症例 . 日本人類遺伝学会第 60 回大会 (2015/10/14-17 於 京王プラザホテル) (ポスター)
  4. **Kosho T**, Syx D, Van Damme T, **Morisaki H**, Kawame H, Sonoda T, Hilhorst-Hofstee Y, Maugeri A, Voermans N, Mendoza-Londono R, Wierenga K, Jayakar P, Ishikawa K, Kobayashi T, Aoki Y, Watanabe S, Ohura T, Kono M, Mochida K, Morisaki T, **Miyake N**, Malfait F. Natural history of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos Syndrome (DDEDS): from an international collaborative clinical study by the International Consortium for EDS. American Society of Human Genetics 65<sup>nd</sup> Annual Meeting, Baltimore, Oct 6-10, 2015 (Plenary presentation)
  5. **古庄知己**、山口智美、石川真澄、黄瀬恵美子、高野亨子、中村勝哉、**涌井敦子**、**福嶋義光** . 次世代シーケンシングを用いた遺伝性結合組織疾患パネル解析 . 日本人類遺伝学会第 59 回大会 (2014/11/19-22 於: タワーホール船堀, 東京) (口演)
  6. **Kosho T**, Ishikawa M, Kise E, Takahashi J, Yuzuriha S, **Fukushima Y**. Intra-nasal DDVP administration for the prevention of massive subcutaneous hematoma in dermatan 4-O-sulfotransferase 1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos Syndrome (DDEDS). American Society of Human Genetics 64<sup>th</sup> Annual Meeting, San Diego, Oct 18-22, 2014 (Poster presentation)
  7. **古庄知己**、山口智美、石川真澄、黄瀬恵美子、**涌井敦子**、**福嶋義光** . 次世代シーケンシングを用いた遺伝性結合組織疾患の候補遺伝子解析 . 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 (平成 26 年 6 月 27 日~29 日 於 近畿大学ノーベンパーホール、東大阪) (口演)
  8. **Kosho T**, Saka S, Tsumita N, Kasahara Y, Mizumoto S, Yue F, Kobayashi M, Nakayama J, **Miyake N**, Nomura Y, **Hatamochi A**, **Fukushima Y**, **Matsumoto N**, Sugahara K, Sasaki K, Takeda S, Okada T: Phenotypic Features of Knockout Mice for dermatan 4-O-sulfotransferase 1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos Syndrome (DDEDS). The European Human Genetics Conference 48<sup>th</sup>, Milan, May 31-June 3, 2014 (Poster presentation)
  9. **古庄知己**、**三宅紀子**、**福嶋義光** . D4ST1-deficient Ehlers-Danlos 症候群における iPS 細胞とノックアウトマウスの確立 . 第 117 回日本小児科学会学術集会 (平成 26 年 4 月 11-13 日 於 名古屋国際会議場) (口演)
  10. **古庄知己**、坂翔太、積田奈々、笠原優子、岳鳳鳴、水本秀二、小林身哉、中山淳、野村義宏、**三宅紀子**、**松本直通**、**涌井敦子**、**福嶋義光**、**旗持淳**、菅原一幸、佐々木克典、武田伸一、岡田尚巳 . DDEDS の疾患モデルとしての D4st1 欠損マウスの表現型解析 . 第 37 回日本小児遺伝学会 (平成 26 年 4 月 10 日 於 名古屋市立大学、名古屋) (口演)
  11. **古庄知己**、岳鳳鳴、坂翔太、積田奈々、笠原優子、岡田尚巳、水本秀二、小林身哉、中山淳、**三宅紀子**、野村義宏、江良折実、**旗持淳**、石川真澄、**涌井敦子**、**福嶋義光**、**松本直通**、菅原一幸、佐々木克典、武田伸一 . デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素 (D4ST1) 欠損による Ehlers-Danlos 症候群 (DDEDS) の疾患モデルの構築と検証 . 日本人類遺伝学会第 58 回大会 (2013/11/21-23 於: 江陽グランドホテル) (口演)
  12. **Kosho T**, Yue F, Saka S, Tsumita N, Kasahara Y, Okada T, Mizumoto S, Kobayashi M, Nakayama J, **Miyake N**, Nomura Y, Era T, **Hatamochi A**, **Fukushima Y**, **Matsumoto N**, Sugahara K, Sasaki K, Takeda S. Establishment and Validation of iPS Cells and Knockout Mice for dermatan 4-O-sulfotransferase 1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos Syndrome (DDEDS). American Society of Human Genetics 63<sup>rd</sup> Annual Meeting, Boston, Oct 22-26, 2013 (Poster presentation)
  13. **古庄知己**、**三宅紀子**、**福嶋義光** . デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づく新型エーラスダンロス症候群の発見 . 第 116 回日本小児科学会学術集会 (平成 25 年 4 月 19 日 於 広島) (口演)
  14. **古庄知己**、**三宅紀子**、**福嶋義光**、**松本直通** . D4ST1 欠損に基づく Ehlers-Danlos 症候群の遺伝子解析状況 . 第 36 回日本小児遺伝学会 (平成 25 年 4 月 18 日 於 エソール広島、広島) (口演)
- [図書] (計 3 件)
1. **Kosho T (corresponding author)**, Mizumoto S, Sugahara K. Carbohydrate (N-acetylgalactosamine 4-O)-sulfotransferase 14 (CHST14). In: *Handbook of glycosyltransferases and related genes, 2nd edition* (Taniguchi N, Honke K, Fukuda M, Narimatsu H, Yamaguchi Y, Angata T, eds), Springer, 1707

(pp1135-1148), 2014.

2. **Kosho T (corresponding author).**  
Discovery and delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase-1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos syndrome. In: *Current Genetics in Dermatology* (Oiso N, Kawada A, eds), InTech, Croatia, 158 (pp73-86), 2013.
3. **古庄知己**：その他の遺伝性大動脈瘤・大動脈解離—血管型エーラスダンロス症候群．最新医学別冊 **新しい診断と治療のABC(42) 大動脈瘤・大動脈解離**，鈴木亨，永井良三（編）274 (85-92), 2013.

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

古庄 知己 (KOSHO, Tomoki)

信州大学・学術研究院医学系 (医学部附属病院)・准教授

研究者番号：90276311

### (2)研究分担者

福嶋 義光 (FUKUSHIMA, Yoshimitsu)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：70273084

旗持 淳 (HATAMOCHI, Atsushi)

獨協医科大学医学部・教授

研究者番号：90172923

松本 直通 (MATSUMOTO, Naomichi)

横浜市立大学医学研究科・教授

研究者番号：80325638

三宅 紀子 (MIYAYE, Noriko)

横浜市立大学医学部・准教授

研究者番号：40523494

涌井 敬子 (WAKUI, Keiko)

信州大学・学術研究院医学系・講師

研究者番号：50324249

### (3)連携研究者

森崎 裕子 (MORISAKI, Hiroko)

国立循環器病研究センター研究所・室長

研究者番号：40311451

渡邊 淳 (WATANABE, Atsushi)

日本医科大学医学部・准教授

研究者番号：10307952