

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：82729

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19660

研究課題名(和文)未解決のCoffin-Siris症候群に対する戦略的遺伝子探索

研究課題名(英文)The search for causative gene in Coffin-Siris syndrome

研究代表者

鶴崎 美徳 (Tsurusaki, Yoshinori)

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター(臨床研究所)・臨床研究所・主任研究員

研究者番号：70392040

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：Coffin-Siris症候群(Coffin-Siris Syndrome; CSS)は、1970年にCoffin医師とSiris医師により、知的障害、発育不全、小頭、特異的顔貌、第5指・趾爪の低形成を伴う症候群として初めて報告された。その大多数は孤発例で、遺伝的原因は不明であった。これまで多くのCSS症例を集積し、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子変異の探索を行ってきた。その結果、解析した全症例148症例中88症例(59.5%)でSMARCB1、SMARCA4、SMARCE1、ARID1A、ARID1B、あるいはSOX11のいずれかのサブユニットに変異を認められた。

研究成果の概要(英文)：Coffin-Siris syndrome (CSS; MIM 135900), first described by Coffin and Siris in 1970, is a congenital disorder characterized by intellectual disability, growth deficiency, microcephaly, coarse facial features, and hypoplastic or absent fifth fingernails and/or toenails. The majority of affected individuals represent sporadic cases. In the all patients, 88 out of 148 CSS patients (59.5%) carry a mutation in one of five genes encoding a BAF complex subunit or SOX11; SMARCB1 (10 of 148 patients, 6.8%), SMARCA4 (14 of 148 patients, 9.5%), SMARCE1 (2 of 148 patients, 1.4%), ARID1A (6 of 148 patients, 4.1%), ARID1B (54 of 148 patients, 36.5%) or SOX11 (2 of 148 patients, 1.4%).

研究分野：人類遺伝学

キーワード：Coffin-Siris症候群 疾患責任遺伝子 次世代シーケンズ解析

1. 研究開始当初の背景

Coffin-Siris 症候群 (Coffin-Siris Syndrome ; CSS) は、1970 年に Coffin 医師と Siris 医師により、知的障害、発育不全、特異的顔貌、第 5 指・趾爪の低形成を伴う症候群として初めて報告された。その大多数は孤発例で、遺伝的原因は不明であった。これまでに、CSS に関連して 9p、あるいは 7q32-q34 のトリソミーなどの染色体構造異常が報告されたが、責任遺伝子の同定の契機にはならなかった。

我々は、集積した 22 症例のうち典型例 5 症例の全エクソーム解析 (Whole Exome Sequencing ; WES) を行った。その結果、5 症例のうち 2 症例において、*SMARCB1* に *de novo* 変異が認められ、責任遺伝子が同定された。本遺伝子は、クロマチンリモデリング因子の 1 種である Brg1/Brm-associated factor (BAF) 複合体の構成サブユニットをコードする。そこで、残りの症例を対象に、BAF 複合体の構成サブユニットをコードする遺伝子のタンパク質コーディング領域、およびエクソン/イントロン境界に対して高解像度融解温度曲線解析 (High Resolution Melting analysis ; HRM) により変異解析を行った。その結果、22 症例中 19 症例 (86.4%) で *SMARCB1* (4 症例、18.2%)、*SMARCA4* (6 症例、27.3%)、*SMARCE1* (1 症例、4.5%)、*ARIDIA* (3 症例、13.6%) あるいは *ARIDIB* (5 症例、22.7%) のいずれかのサブユニットに変異を認めた。その中の 1 症例においては、マイクロアレイにより染色体構造異常 (微小欠失) を確認しており、その領域内に *ARIDIB* が含まれていた。

さらに、新たに集積した 49 症例と前回 HRM で変異を認めなかった 22 症例中 3 症例の CSS 症例を対象に、WES を行った。8 症例に対しては、HaloPlex Target Enrichment System (Agilent Technologies 社) にて BAF 複合体の構成サブユニットをコードする 21 遺伝子群をターゲットとしたエンリッチメントを行い、ターゲットリシーケンス解析を行った。その結果、52 症例中 20 症例で *SMARCB1*、*SMARCA4*、あるいは *ARIDIB* の 3 種のいずれかのサブユニットに変異が認められた。最終的に、71 症例中 39 症例 (54.9%) において *SMARCB1* (7 症例、9.9%)、*SMARCA4* (8 症例、11.3%)、*SMARCE1* (1 症例、1.4%)、*ARIDIA* (3 症例、4.2%)、あるいは *ARIDIB* (20 症例、28.2%) のいずれかのサブユニットに変異が認められた。

CSS の 54.9% が 5 つの遺伝子異常で説明可能となったが、それ以外の遺伝子異常の関与も示唆される。そこで、引き続き BAF 複合体の構成サブユニットをコードする遺伝子群に異常を認めない CSS 症例を対象に、WES を行った。その結果、2 症例において *SOX11* に *de novo* 変異を見出した。転写因子である *SOX11* は BAF 複合体ネットワークの下流で、神経細胞の分化制御などに重要な役割を果

たしていることが報告されている。本タンパク質がヒトの脳組織で発現していることを確認し、モデル実験動物のゼブラフィッシュにおいて、モルフォリノアンチセンスオリゴにより相同遺伝子の機能を阻害すると、ゼブラフィッシュの相同遺伝子 *sox11a/b* の機能を阻害したゼブラフィッシュ (*sox11a/b MO*) の頭部は、正常のゼブラフィッシュ (Control MO) と比較して縮小した。この胚に、ヒトの正常型 *SOX11* (*hSOX11-WT*) を発現させると、頭部のサイズが回復した。さらに、*sox11a/b MO* では、Control MO と比べ、中枢神経に顕著な細胞死を認めた。この胚に、*hSOX11-WT* を発現させると、細胞死が抑制された。ヒトの変異型 *SOX11* (*hSOX11-S60P*、*hSOX11-Y116C*) を発現させても抑制効果は得られなかった。このようにゼブラフィッシュを用いた実験において、CSS の症状を模倣していることが証明された。

2. 研究の目的

本研究は、さらに世界中から集積する CSS 症例を対象に、既知および未知遺伝子異常の探索を行い、詳細な分子病理の実態解明を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) CSS 責任遺伝子の変異解析

TruSight One シークエンスパネル (Illumina 社) を用いて、臨床に關与した包括的な 4,813 を超える遺伝子群に対して遺伝子特異的にキャプチャー、および増幅する。この増幅産物をデスクトップ型の NGS、MiSeq (Illumina 社) により解析を行う。コールされた全バリエーションから、BAF 複合体関連遺伝子群、あるいは臨床に關与した遺伝子群の変異の有無を確認する。検出された変異に関しては、通常のキャピラリーシーケンスにより偽陽性の確認を行う。併せて、NGS データを用いたコピー数異常の同定も行う。

(2) 新規責任遺伝子探索

既知疾患責任遺伝子群に異常を認めない CSS 症例とその両親検体を用いて、WES を行う。検出された候補遺伝子について、通常のキャピラリーシーケンスを用いて擬陽性を除外後、両親検索において *de novo* 変異を確認する。併せて、NGS データを用いたコピー数異常の同定も行う。

4. 研究成果

(1) BAF 複合体関連遺伝子の変異探索

引き続き CSS 症例を集積し、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子変異の探索を行ったところ、これまで解析した全症例を含めて、148 症例中 88 症例 (59.5%) で *SMARCB1* (10 症例、6.8%)、*SMARCA4* (14 症例、9.5%)、

SMARCE1 (2 症例、1.4%)、ARIDIA (6 症例、4.1%)、ARIDIB (54 症例、36.5%)、あるいは SOX11 (2 症例、1.4%) のいずれかのサブユニットに変異を認めた (図 1)。

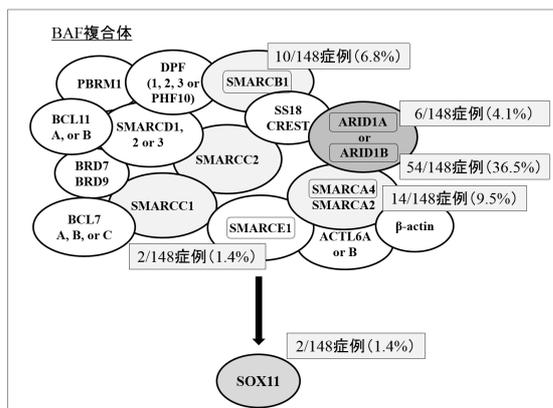


図 1 CSS 症例において変異を認めた BAF 複合体サブユニット、および SOX11

(2) 新規責任遺伝子探索

6 つの既知責任遺伝子群の変異で説明できない CSS 症例群とその両親検体を用いて、WES により遺伝子変異探索を行ったが、新たな責任遺伝子の同定には到らなかった。

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 6 件)

Tsurusaki Y, Ohashi I, Enomoto Y, Naruto T, Mitsui J, Aida N, Kurosawa K.; A novel UBE2A mutation causes X-linked intellectual disability type Nascimento. **Hum Genome Var.** 2017 June 8; 4, 17019. 査読有、DOI: 10.1038/hgv.2017.19.

Miyake N, Abdel-Salam G, Yamagata T, Eid MM, Osaka H, Okamoto N, Mohamed AM, Ikeda T, Afifi HH, Piard J, van Maldergem L, Mizuguchi T, Miyatake S, Tsurusaki Y, Matsumoto N.; Clinical features of SMARCA2 duplication overlap with Coffin-Siris syndrome. **Am J Med Genet A.** 2016 Oct;170(10):2662-70. 査読有、DOI: 10.1002/ajmg.a.37778.

Zarate YA, Bhoj E, Kaylor J, Li D, Tsurusaki Y, Miyake N, Matsumoto N, Phadke S, Escobar L, Irani A, Hakonarson H, Schrier Vergano SA.; SMARCE1, a rare cause of Coffin-Siris Syndrome: Clinical description of three additional cases. **Am J Med Genet A.** 2016 Aug;170(8):1967-73. 査読有、DOI: 10.1002/ajmg.a.37722.

Hempel A, Pagnamenta AT, Blyth M, Mansour S, McConnell V, Kou I, Shiro I, Tsurusaki Y, Matsumoto N, Lo-Castro A,

Plessis G, Albrecht B, Battaglia A, Taylor JC, Howard MF, Keays D, Sohal AS; DDD collaboration, Kühl SJ, Kini U, McNeill A.; Deletions and de novo mutations of SOX11 are associated with a neurodevelopmental disorder with features of Coffin-Siris syndrome. **J Med Genet.** 2016 Mar;53(3):152-62. 査読有、DOI: 10.1136/jmedgenet-2015-103393.

Tsurusaki Y, Tanaka R, Shimada S, Shimojima K, Shiina M, Nakashima M, Saito H, Miyake N, Ogata K, Yamamoto T, Matsumoto N.; Novel compound heterozygous LIAS mutations cause glycine encephalopathy. **J Hum Genet.** 2015 Oct;60(10):631-5. 査読有、DOI: 10.1038/jhg.2015.72.

Asai K, Tani S, Mineharu Y, Tsurusaki Y, Imai Y, Agawa Y, Iwaki K, Matsumoto N, Sakai N.; Familial schwannomatosis with a germline mutation of SMARCB1 in Japan. **Brain Tumor Pathol.** 2015 Jul;32(3):216-20. 査読有、DOI: 10.1007/s10014-015-0213-9.

[学会発表](計 16 件)

Y. Enomoto, Y. Tsurusaki, T. Yokoi, M. Minatogawa, M. Umegae, T. Naruto, T. Shimokaze, K. Kurosawa; Homozygous deletion in RECQL4 caused by the rare identical haplotype, The European Society of Human Genetics 2017 Meeting、Copenhagen (Denmark)、2017 年 5 月 28 日

K. Kosaki, M. Minatogawa, T. Takenouchi, Y. Tsurusaki, F. Iwasaki, T. Uehara, C. J. Curry, K. Kurosawa; Phenotype expansion for Kosaki Overgrowth Syndrome, The European Society of Human Genetics 2017 Meeting、Copenhagen (Denmark)、2017 年 5 月 28 日

Y. Tsurusaki, Y. Enomoto, T. Yokoi, M. Minatogawa, C. Hatano-Abe, K. Ida, T. Naruto, K. Kurosawa; The new phenotype observed in Coffin-Siris syndrome patients with the mutations of the ARID1B、American Society of Human Genetics 2016 Meeting、Vancouver (Canada)、2016 年 10 月 21 日

Y. Enomoto, Y. Tsurusaki, T. Yokoi, M. Minatogawa, C. Hatano-Abe, K. Ida, T. Naruto, J. Mitsui, S. Tsuji, S. Morishita, K. Kurosawa; Whole exome sequence identified disease-causing CNVs off VPS13B responsible for Cohen syndrome in siblings with non-syndromic intellectual disability、American Society of Human Genetics 2016 Meeting、Vancouver (Canada)、2016 年 10 月 20 日

T. Suzuki, N. Miyake, Y. Tsurusaki, M.

Nakashima, H. Saitsu, S. Takeda, N. Matsumoto ; Molecular genetic analysis of 30 families with Joubert syndrome and related disorders、 American Society of Human Genetics 2016 Meeting、 Vancouver (Canada)、 2016 年 10 月 20 日

Y. Tsurusaki, Y. Enomoto, T. Yokoi, C. Hatano, K. Ida, K. Kurosawa ; Next-generation sequencing identifies novel ARID1B mutations in patients with Coffin-Siris syndrome、 The 13th International Congress of Human Genetics in 2016、 Kyoto、 2016 年 4 月 3 日

T. Yokoi, C. Hatano, **Y. Tsurusaki**, Y. Enomoto, T. Naruto, K. Kurosawa ; Gross insertion in FBN1 causes Marfan syndrome、 The 13th International Congress of Human Genetics in 2016、 Kyoto、 2016 年 4 月 3 日

鶴崎 美徳、中島 光子、才津 浩智、三宅 紀子、松本 直通 ; 高グリシン血症の責任遺伝子 LIAS の新規複合ヘテロ接合体変異の同定、日本人類遺伝学会第 60 回大会、京王プラザホテル(東京都新宿区)、2015 年 10 月 15 日

横井 貴之、羽田野 ちひろ、**鶴崎 美徳**、榎本 友美、成戸 卓也、林 至恩、小林 正久、井田 博幸、黒澤 健司 ; EGFR の機能喪失型変異の複合ヘテロ接合体を有する一男児例、日本人類遺伝学会第 60 回大会、京王プラザホテル(東京都新宿区)、2015 年 10 月 15 日

鶴崎 美徳 ; 全エクソーム解析によるコフィン - シリス症候群の責任遺伝子の同定、日本人類遺伝学会第 60 回大会、京王プラザホテル(東京都新宿区)、2015 年 10 月 16 日

鈴木 敏史、**鶴崎 美徳**、三宅 紀子、中島 光子、才津 浩智、竹田 省、松本 直通 ; 全ゲノムシーケンスを用いた転座および逆位切断点の同定、日本人類遺伝学会第 60 回大会、京王プラザホテル(東京都新宿区)、2015 年 10 月 16 日

三宅 紀子、**鶴崎 美徳**、輿水 江里子、新川 詔夫、松本 直通 ; Wiedemann-Steiner 症候群における新規 KMT2A 変異と臨床症状の検討、日本人類遺伝学会第 60 回大会、京王プラザホテル(東京都新宿区)、2015 年 10 月 17 日

Y. Tsurusaki, M. Nakashima, H. Saitsu, N. Miyake, N. Matsumoto ; Novel compound heterozygous LIAS mutations cause glycine encephalopathy、 American Society of Human Genetics 2015 Meeting、 Baltimore (USA)、 2015 年 10 月 9 日

N. Miyake, **Y. Tsurusaki**, E. Koshimizu, N. Niikawa, N. Matsumoto ; Clinical and genetic analysis of Wiedemann-Steiner syndrome caused by KMT2A mutations、

American Society of Human Genetics 2015 Meeting、 Baltimore (USA)、 2015 年 10 月 9 日

T. Yokoi, C. Hatano, **Y. Tsurusaki**, Y. Enomoto, T. Naruto, S. Hayashi, M. Kobayashi, H. Ida, K. Kurosawa ; Loss of function mutation of EGFR in compound heterozygous state causes severe skin defect, gastrointestinal dysfunction and electrolyte imbalance、 American Society of Human Genetics 2015 Meeting、 Baltimore(USA)、 2015 年 10 月 8 日

鶴崎 美徳、大橋 博文、岡本 伸彦、輿水 江里子、中島 光子、才津 浩智、三宅 紀子、松本 直通 ; コフィン - シリス症候群の新規責任遺伝子 SOX11 の同定、第 55 回日本先天異常学会学術集会・第 38 回日本小児遺伝学会学術集会 合同大会、パシフィコ横浜会議センター(神奈川県横浜市)、2015 年 7 月 25 日

〔図書〕(計 1 件)

鈴木 敏史、**鶴崎 美徳**、松本 直通 ; 遺伝子医学 MOOK 28 号「ますます臨床利用が進む遺伝子検査」; 株式会社メディカル ドウ、2015 年 4 月 30 日、32 - 37

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 1 件)

名称 : コフィン - シリス症候群の検出方法
発明者 : 松本 直通、**鶴崎 美徳**、三宅 紀子
権利者 : 横浜市立大学

種類 : 特許

番号 : 特許 6004287

出願年月日 : 2012 年 12 月 20 日

取得年月日 : 2016 年 9 月 16 日

国内外の別 : 国内

〔その他〕

ホームページ等 なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

鶴崎 美徳 (TSURUSAKI, Yoshinori)

神奈川県立こども医療センター・

臨床研究所・主任研究員

研究者番号 : 70392040

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし