

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591442

研究課題名（和文） 血管型エーラス・ダンロス症候群本邦例の COL3A1 変異と臨床症状重症度との相関性

研究課題名（英文） Analysis of the genetic and phenotypic findings in Japanese patients with vascular-type Ehlers-Danlos syndrom

研究代表者

旗持 淳 (HATAMOCHI ATSUSHI)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：90172923

研究成果の概要（和文）：血管型 Ehlers-Danlos 症候群(EDS) (MIM 130050) は動脈, 消化管, 妊娠中の子宮の破裂など突然死をもきたしうる重篤な合併症をもつ最重症型 EDS で, 常染色体優性遺伝性疾患である. 血管型 EDS は III 型コラーゲン遺伝子(COL3A1)の変異により III 型コラーゲン分子の異常をきたし発症する. 今回, 我々は当教室で解析を行った本邦の血管型 EDS の COL3A1 の遺伝子変異, 臨床所見および培養線維芽細胞の III 型コラーゲン産生能について検討した. まず RT-PCR によって COL3A1 の cDNA の triple-helix に相当する部位 (3212bp) のシーケンスを解析し, 変異が検出された場合に, さらにそれに相当あるいは関連する変異を genomic DNA で解析した. これまでに血管型は 20 例を遺伝子診断した. 欧米に比べてミスセンス変異に対しスプライス変異が多い傾向にあった (11/20). 遺伝子変異の型や変異の位置と III 型コラーゲン産生量や臨床症状に相関性は見られなかった.

研究成果の概要（英文）：Vascular-type Ehlers-Danlos syndrome(vEDS) is a severe autosomal dominant inherited disorder resulting from mutations within the  $\alpha 1$  type III collagen gene(COL3A1). Sequence analyses of the *COL3A1* gene demonstrated heterozygous point mutations leading to glycine substitution in only nine patients (45%), while heterozygous splice-site mutations at the junction of the triple-helical exons were observed in the remaining 11 patients (55%). The average type III collagen production level in the cultured dermal fibroblasts was 14.6% of the normal value. The types of complication were not associated with specific mutations in *COL3A1*.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	500,000	150,000	650,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	1,500,000	450,000	1,950,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：エーラスダンロス症候群・血管型・Ⅲ型コラーゲン・COL3A1・遺伝子変異

#### 1. 研究開始当初の背景

エーラス・ダンロス症候群は皮膚の過伸展、関節の過可動、組織の脆弱性を特徴とする遺伝性結合組織性疾患で新分類では6型に分類される。その中でも血管型エーラス・ダンロス症候群 (v-EDS) は動脈破裂、消化管破裂や穿孔、妊娠中の子宮破裂など突然死の原因にもなりうる重篤な合併症をきたす最重症型である。これまでに v-EDS の症例の集計と遺伝子解析は欧米では Washington 大学の 220 例 (Pepin, M. et al.: *N Engl J Med* 342:673, 2000)、Mayo Clinic の 31 例 (Oderich, G.S. et al.: *J Vasc Surg* 42: 98, 2005) をはじめいくつかの解析がなされている。欧米の症例は遺伝子変異は triple-helical domain におけるグリシンの置換変異が 2/3 を占め、exon skip など splicing 障害をきたす、triple-helical exon の junction における splice-site mutation が 1/3 である。欧米の例では v-EDS の合併症の種類や頻度と COL3A1 遺伝子型には関連性はないとする報告も多いが Pope らはグリシンの置換変異については exon 36 から 49 と 3'側へ行くに従って異常な臨床所見が増加していくと述べた (Pope, F.M. et al.: *Brit J Dermatol* 135: 163, 1996)。

#### 2. 研究の目的

国内では私共の他では唯一、日本医大の遺伝診療科の渡邊 淳氏のグループ (Watanabe, A. et al.: *Circ J* 71: 261, 2007) が 5 例の v-EDS の遺伝子解析を行い報告しているが、本邦においては多くの症例を対象にした解析はなされておらず、その遺伝子型と線維芽細胞 III 型コラーゲン産生能および臨床症状、特に重症合併症との相関性は皆無である。私共は本邦の v-EDS の COL3A1 遺伝子型と線維芽細胞 III 型コラーゲン産生能および臨床症状、特に重症合併症との相関性を、多数の症例を対象にして解析する。

#### 3. 研究の方法

v-EDS 患者の皮膚線維芽細胞を培養し、生化学的にⅢ型コラーゲンの産生量を測定し、RNA より COL3A1 の cDNA を合成し、シークエンスする。genomic DNA でもさらにシークエンスする。多くの症例を対象としてこれらを解析し、臨床症状との相関性を検討する。

#### 4. 研究成果

今回、我々は当教室で解析を行った本邦の血管型 EDS の COL3A1 の遺伝子変異、臨床所見および培養線維芽細胞の III 型コラーゲン産生能について検討した。まず RT-PCR によって COL3A1 の cDNA の triple-helix に相当する部位 (3212bp) のシークエンスを解析し、変異が検出された場合に、さらにそれに相当あるいは関連する変異を genomic DNA で解析した。これまでに血管型 20 例を遺伝子診断しえた。欧米に比べてスプライス変異が多い傾向にあった (11/20)。遺伝子変異の型や変異の位置と III 型コラーゲン産生量や臨床症状に相関性は見られなかった。

#### 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 12 件)

- ① 松尾沙緒里, 横田雅史, 國井英治, 籠持淳 : 咯血と気胸を繰り返した血管型 Ehlers-Danlos 症候群 (EDS) の 1 例. 臨床皮膚科, 査読有 65 : 403-406, 2011 DOI:<http://www.dermatol.or.jp/>
- ② Omori H, Hatamochi A, Koike M, Sato Y, Kosho T, Kitakado Y, Oe T, Mukai T, Takubo K : Sigmoid colon perforation induced by the vascular type of Ehlers-Danlos Syndrome: Report of a Case. *Surgery Today*, 査読有 41(5) : 733-736, 2011 DOI:10.1007/s00595-010-4316-y
- ③ 緒方健一, 工藤啓介, 土居浩一, 大地哲史, 牧野公治, 籠持淳 : 短期間に大腸穿孔性腹膜炎を 2 回起こした血管型 Ehlers-Danlos 症候群の 1 例. 日本臨床外科学会雑誌, 査読有 72 : 1882-1886, 2011 DOI:<http://ringe.jp/>
- ④ Kosho T, Miyake N, Mizumoto S, Hatamochi A, Fukushima Y, Yamada S, Sugahara K, Matsumoto N:

- A response to : loss of dermatan-4-sulfotransferase 1 (D4ST1/CHST14) function represents the first dermatan sulfate biosynthesis defect, "dermatan sulfate-deficient Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome". Which name is appropriate, "Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome" or "Ehlers-Danlos syndrome"? Hum Mutat、査読有 32 : 1507-1509 , 2011 DOI:10.1002/humu.21586
- ⑤ Kosho T, Miyake N, Hatamochi A, Takahashi J, Kato H, Miyahara T, Igawa Y, Yasui H, Ishida T, Ono K, Kosuda T, Inoue A, Kohyama M, Hattori T, Ohashi H, Nishimura G, Kawamura R, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N: A new Ehlers-Danlos syndrome with craniofacial characteristics, multiple congenital contractures, progressive joint and skin laxity, and multisystem fragility-related manifestations. Am J Med Genet 査読有A 152A: 1333-1346, 2010 DOI:10.1002/ajmg.a.34115
- ⑥ Miyake N, Kosho T, Mizumoto S, Furuichi T, Hatamochi A, Nagashima Y, Arai E, Takahashi K, Kawamura R, Wakui K, Takahashi J, Kato H, Yasui H, Ishida T, Ohashi H, Nishimura G, Shiina M, Saitsu H, Tsurusaki Y, Doi H, Fukushima Y, Ikegawa S, Yamada S, Sugahara K, Matsumoto N: Loss-of-function mutations of CHST14 in a new type of Ehlers-Danlos syndrome. Hum Mutat 査読有 31: 1-9, 2010 DOI:10.1002/ajmg.a.33498
- ⑦ Kawabata Y, Watanabe A, Yamaguchi S, Aoshima M, Shiraki A, Hatamochi A, Kawamura T, Uchiyama T, Watanabe A, Fukuda Y: Pleuropulmonary pathology of vascular Ehlers-Danlos syndrome: spontaneous laceration, haematoma and fibrous nodules. Histopathology 査読有 56: 944-950, 2010
- ⑧ Shimaoka Y, Kosho T, Wataya-Kaneda M, Funakoshi M, Suzuki T, Hayashi S, Mitsuhashi Y, Isei T, Aoki Y, Yamazaki K, Ono M, Makino K, Tanaka T, Kunii E, Hatamochi A: Clinical and genetic features of 20 Japanese patients with vascular-type Ehlers-Danlos syndrome. Br J Dermatol 査読有 163:704-710, 2010 DOI:10.1111/j.1365-2133.2010.09874.x
- ⑨ Sadakata R, Hatamochi A, Kodama K, Kaga A, Yamaguchi T, Soma T, Usui Y, Nagata M, Ohtake A, Hagiwara K, Kanazawa M: Ehlers-Danlos Syndrome Type IV, Vascular Type, Which Demonstrated a Novel Point Mutation in the COL3A1 Gene. Intern Med 査読有 49: 1797-800, 2010 DOI:http://dx.doi.org/10.2169/internalmedicine.49.3435
- ⑩ Okita H, Ikeda Y, Mitsuhashi Y, Namikawa H, Kitamura Y, Hamasaki Y, Yamazaki S, Hatamochi A: A novel point mutation at donor splice-site in Intron 42 of type III collagen gene resulting in the inclusion of 30 nucleotides into the mature mRNA in a case of vascular type of Ehlers-Danlos syndrome. Arch Dermatol Res 査読有 302:395-399,2010 DOI:10.1007/s00403-009-0970-6
- ⑪ Ishiguro T, Takayanagi N, Kawabata Y, Matsushima H, Yoshii Y, Harasawa K, Yamaguchi S, Yoneda K, Miyahara Y, Kagiya N, Tokunaga D, Aoki F, Saito H, Kurashima K, Ubukata M, Yanagisawa T, Sugita Y, Okita H, Hatamochi A : Ehlers-Danlos syndrome with recurrent spontaneous pneumothoraces and cavitory lesion on chest X-ray as the initial complications. Intern Med 査読有 48: 717-722, 2009 DOI:http://dx.doi.org/10.2169/internalmedicine.48.1818
- ⑫ 松下 文、高柳 昇、石黒 卓、原澤慶次、土屋典子、米田紘一郎、宮原庸介、山口昭三郎、矢野量三、徳永大道、斉藤大雄、倉島一喜、生方幹夫、柳沢 勉、杉田 裕、河端美則、沖田 博、籠持 淳、肺裂傷に伴う肺血腫が診断契機となった Ehlers-Danlos症候群の 1 例、日本呼吸器学会雑誌、査読有、47 : 704-710、2009 DOI:http://www.jrs.or.jp/

[学会発表] (計 9 件)

- ① 嶋岡弥生、林 周次郎、濱崎洋一郎、籠持 淳、照井慶太：血管型Ehlers-Danlos症候群の1例、第74回日本皮膚科学会栃木地方会、2011年9月29日、壬生
- ② 古庄知己、三宅紀子、水本秀二、籠持 淳、高橋 淳、鳴海洋子、福嶋義光、菅原一幸、松本直通：デルマトン4-0硫酸基転移酵素欠損に基づく新型エーラスダンロス症候群。第55回 日本人類遺伝学会、2010年10月27日、埼玉
- ③ 籠持 淳：診断のArt：Ehlers-Danlos症候群。第62回日本皮膚科学会西部支部大会 2010年10月24日 倉敷
- ④ Hatamochi A：Clinical and genetic features of Japanese patients with the vascular-type of Ehlers-Danlos syndrome. 9<sup>th</sup> Congress of the German-Japanese Society of Dermatology. June 15-17, 2010, Weimar, Germany
- ⑤ Koyano S, Hatamochi A, Yoshino M, Hashimoto T, Byers PH: A Japanese patient with Arthrochalasia-type Ehlers-Danlos syndrome. 9<sup>th</sup> Congress of the German-Japanese Society of Dermatology. June 15-17, 2010, Weimar, Germany
- ⑥ 古庄知己、籠持 淳、渡邊 淳、森崎裕子、福嶋義光：難治性疾患克服研究事業による血管型エーラスダンロス症候群の実態調査。第34回日本遺伝カウンセリング学会、2010年5月28日、東京
- ⑦ 牧野公治、尹 浩信、緒方健一、籠持 淳：血管型エーラスダンロス症候群の1例。第109回日本皮膚科学会総会、2010年4月16日、大阪
- ⑧ 嶋岡弥生、籠持 淳、菅野美紀、濱崎洋一郎、山崎雙次、船越美由紀、橋本 隆、芳野 信、Peter H. Byers：多発関節弛緩型Ehlers-Danlos症候群(EDS)の1例、第109回日本皮膚科学会総会、2010年4月16日、大阪
- ⑨ 嶋岡弥生、籠持 淳、濱崎洋一郎、山崎雙次、船越美由紀、菅野美紀、大森浩志、S状結腸穿孔を生じた血管型エーラスダンロス症候群(EDS)の1例、第73回日本皮膚科学会東部支部学術大会、2009年9月26日、甲府
- [図書] (計6件)
- ① 籠持 淳：Ehlers-Danlos症候群。皮膚疾患診療実践ガイド、宮地良樹、古川福実編、pp755-756 文光堂 東京、2011
- ② 籠持 淳：その他の皮膚形成異常。皮膚疾患診療実践ガイド、宮地良樹、古川福実編、pp757-758 文光堂 東京、2011
- ③ 籠持 淳：Marfan症候群。今日の皮膚疾患治療指針、塩原哲夫他編、pp545 医学書院 東京、2011
- ④ 籠持 淳：その他の皮膚形成異常症。今日の皮膚疾患治療指針、塩原哲夫他編、pp546-548 医学書院 東京、2011
- ⑤ 籠持 淳：皮膚形成異常症の遺伝相談。今日の皮膚疾患治療指針、塩原哲夫他編、pp981-983 医学書院 東京、2011
- ⑥ 籠持 淳：Ehlers-Danlos症候群。小児科臨床ピクシス年代別子どもの皮膚疾患五十嵐隆、馬場直子編 pp49-51 中山書店 東京 2010

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計◇件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

旗持 淳 (HATAMOCHI ATSUSHI)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：90172923

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

嶋岡弥生 (SHIMAOKA YAYOI)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：70528059

山崎雙次 (YAMAZAKI SOJI)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：80008333

濱 直人 (HAMA NAOTO)

獨協医科大学・医学部・講師

研究者番号：70468346