

## 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 6 月 1 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22790972

研究課題名（和文） パリスターホール症候群の臨床像の確立

研究課題名（英文） Clinical characteristics of Pallister-Hall syndrome in Japan

研究代表者

鳴海 洋子 (NARUMI YOKO)

信州大学・医学部・助教

研究者番号：60523074

研究成果の概要（和文）：パリスターホール症候群は多指、視床下部過誤腫などを主徴とする先天奇形症候群である。本邦におけるパリスターホール症候群の分子遺伝学的、臨床的検討を行い、臨床像確立を目指した。原因遺伝子 *GLI3* 遺伝子変異陽性の患者では、泌尿生殖器異常の合併を認めた。汎下垂体機能低下症を持たない、女兒例にも認めた。パリスターホール症候群での泌尿生殖器異常は汎下垂体機能低下症と関連して起こる異常ではないと考えられた。本研究結果からはパリスターホール症候群では下垂体機能異常の有無にかかわらず、泌尿生殖器の精査が重要であるという医療管理方針の確立と、泌尿生殖器の発生段階での *GLI3* 遺伝子関与についての基礎的知見が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Pallister-Hall syndrome (PHS) is a rare congenital disorder, characterized by hypothalamic hamartoma, and polydactyly. We performed molecular genetics analysis and investigated clinical manifestations in Japanese patients with PHS. In this study, we aimed to establish clinical presentation of PHS in Japan. *GLI3* mutation-positive patients, including women without hypopituitarism had urogenital abnormalities. These results suggested that urogenital abnormalities in PHS have little association with hypopituitarism. The present study showed that clinical investigation of urogenital abnormalities are considered in patients with PHS, even those without hypopituitarism and *GLI3* gene might be related to urogenital development.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：小児科学

キーワード：パリスターホール症候群、視床下部過誤腫、多指症、外性器異常

## 1. 研究開始当初の背景

パリスター・ホール症候群 (Pallister-Hall 症候群, PHS) は多指、視床下部過誤腫、二分喉頭蓋、鎖肛、下垂体機能不全などを特徴とする先天奇形症候群である。現在までに 100 例未満の患者の存在が把握される希少疾患である (Biesecker et al: AJMG, 1996)。常染色体優性遺伝形式をとり、孤発例が多いが家族例では症状に多様性があり、その臨床診断は困難なことがある。1997 年に原因がソニックヘッジホッグ (Sonic-Hedgehock、以下 SHH) シグナル伝達経路の発現調節に関わる転写因子 GLI-KRUPPEL FAMILY MEMBER 3 (以下 *GLI3*) の遺伝子変異であることが明らかになった (Kang S et al: Nat Genet, 1997)。*GLI3* はパリスター・ホール症候群以外にもグレイグ頭部多趾症 (Greig cephalopoly-syndactyly syndrome, GCPS) や軸前性多指症、軸後性多指症の一型の原因遺伝子としても知られる。*GLI3* は転写因子の一つであり、SHH シグナル伝達経路上で転写の活性と抑制 2 通りの制御機能を持つ。マウスの解析からは、*GLI3* は中枢神経系や指趾の発生に関わり、他に SHH が関与する顔面や内胚葉発生にも関わるとされる。パリスター・ホール症候群モデルマウスの表現型解析では、特有の臨床症状の一部を認めたが (Bose et al: Hum Mol Genet, 2002)、このような解析モデルを通してヒトにおける *GLI3* の機能を考察するには限界がある。本症候群では *GLI3* 遺伝子変異を持つことから、その臨床像を通して動物モデルや細胞モデルでは解析不能な *GLI3* の新たな機能やヒトの発生に及ぼす影響についても推察することが可能と考えられる重要な疾患である。しかし、パリスター・ホール症候群は疾患頻度が稀な上に、臨床症状の多様性から診断されていない患

者も多いと予想され、十分に臨床像が確立していないのが現況である。

## 2. 研究の目的

パリスター・ホール症候群についての自然歴や臨床症状については海外でも限られた症例数での報告しかなく (Jonston et al: Am J Hum Genet, 2005)、いまだ不明な点も多い。本研究では、1) 分子遺伝学的解析手法を用いて本邦におけるパリスター・ホール症候群の診断確定と患者頻度を明らかにし、2) 変異が同定された症例での臨床症状を収集して遺伝子型と表現型の相関を検討し、本邦におけるパリスター・ホール症候群の自然歴を明らかにすると共にその臨床像を確立することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) 患者検体収集

国内小児専門病院を中心とする医療機関に書面にて問い合わせを行い、臨床診断でパリスター・ホール症候群と診断された患者を対象として試料の収集を行う。本研究は信州大学医倫理委員会にて承認されているものであり、患者向け説明書に基づいて担当医師が十分に利益・不利益を説明した上で、協同意見を得られた患者には同意書署名による確認を経て患者から血液 5ml を採取する。

### (2) 分子遺伝学的手法を用いた解析

患者の白血球由来の DNA を用いて polymerase chain reaction (PCR) 法、ダイレクトシーケンス法により *GLI3* 遺伝子塩基配列を確定する。塩基配列変化が同定できなかった患者については Multiplex Ligation-dependent probe Amplification (MLPA) 法やヒトゲノム全域をカバーする NimbleGen CGX-3 cytogenetics array (Roche NimbleGen, Inc., Madison, WI) を用いてアレイ CGH を行い *GLI3* 遺伝子のコピー数、その

他のゲノム DNA のコピー数を含めた量的異常について解析を行う。

### (3) 臨床所見の収集および解析

上記検査にて変異が同定された患者の臨床症状、自然歴の収集を行い、遺伝子型と表現型の相関を検討すると共に自然歴及び臨床像の確立を行う。

## 4. 研究成果

### (1) 患者検体収集

国内における PHS 患者の実数把握と試料収集を行うために、まず、国内で PHS として報告された症例についてデータベースを用いて検索した。1983 年から 2011 年の期間に計 18 回報告されており、そのうち、年齢や性別、症状の情報から同一患者と推察される報告を除き、9 人が確認された。筆頭発表者または責任著者に宛て、報告患者の問い合わせ及び解析研究協力を依頼した。そのうち、患者の死亡、所在不明などの理由で研究協力が得られなかったのが 4 例、研究協力希望は 2 例、無回答は 3 例であった。

次に、日本小児遺伝学会を通じて、国内の小児病院に勤務する遺伝科医に問い合わせたところ、現在患者をフォロー中は 2 施設で、計 2 例が確認された。そのうち、患者からの研究協力が得られたのは 1 例であった。

また、さらに全国の医療施設を対象とした調査をおこなった。対象は日本小児総合医療施設協議会に加盟している小児専門病院 24 施設で、PHS の特徴的臨床症状よりその診療と密接に関係すると考えられる小児科、内分泌科、形成外科、脳神経外科を主とする計 71 診療科を調査対象とした。各診療科宛に、PHS 患者の受診状況について郵送にて問い合わせを行った。

全 71 診療科のうち回答が得られたのは 34 診療科であった。施設間の患者の重複は除外し、計 4 施設で PHS 患者の受診が確認されたが、患者が現在も診療を継続しており、遺伝学的解析への協力が得られたのは 1 名であった。

本研究による調査によって、現在国内で確認されている PHS 患者数は 12 人であり、調

査前に実際に把握している患者と合わせると 15 名の患者の存在が把握された。

### (2) 分子遺伝学的手法を用いた解析

患者 15 名のうち、計 8 名から解析協力を得られた為、担当医師からの内容説明後、研究協力同意書を得て、血液検体を収集した。白血球由来 DNA を用いて *GLI3* 遺伝子変異の検索を行った。解析 8 名中 3 名で *GLI3* 遺伝子変異が同定された。

患者 3 名で同定された *GLI3* 遺伝子変異は全てナンセンス変異であり、変異はエキソン 13-15 内に存在し、変異の集積が見られた。いずれの変異もこれまで報告のない変異であったが、3 名中 2 名の患者で両親解析を行い、いずれの変異も両親には同定されなかった為、新生突然変異であると考えられた。また、患者 3 名中 2 名で同定された変異は同じヌクレオチドの一塩基置換を伴う変異であった。両者は血縁関係がなく、同ヌクレオチド部位は変異の集積部位である可能性が示唆された。

### (3) 臨床所見の収集および解析

*GLI3* 遺伝子変異が同定された 3 名については詳細な臨床症状を担当医師から得て解析を行った。全例でこれまで PHS に特徴的とされてきた二分喉頭蓋裂、心臓の合併症状を認めなかった。3 名中 2 名でこれまで頻度が少ないとされてきた外性器奇形や精神発達遅滞を伴うことが明らかとなった。3 名の患者は男女比が 1:2 で、腎合併症は 3 名中 1 名（腎低形成）、外性器異常を認めたのは 3 名中 2 名（小陰茎及び陰嚢低形成、子宮瘤水症）であった。このことから *GLI3* 遺伝子の泌尿生殖器発生における関与が推察された。本研究の成果については American Journal of Medical Genetics 誌に論文報告を行い、また国内外学会でも成果報告をおこなった。

*GLI3* 遺伝子変異陰性であった患者は、さらに MLPA およびアレイ CGH によって *GLI3* 遺伝子内コピー数およびゲノムコピー数について解析を行ったが、これらの検査で明らかでないコピー数異常が検出された患者はいなかつ

た。次に一部の検体において SHH シグナル伝達経路周辺領域を含む候補遺伝子解析を進めたが、これまでに新規原因遺伝子の同定には至っていない。今後は *GLI3* 遺伝子変異陰性患者について、引き続き候補遺伝子の解析を行い、新規遺伝子の同定を目指す。

#### 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 4 件)

(1) Narumi Y. Clinical variability in patients with NOTCH2 mutations: report of six patients with Hajdu-Cheney syndrome and a patient with serpentine fibula polycystic kidney syndrome. *Am J Med Genet A*, 2012, [Submit] 査読有

(2) Narumi Y., Shiohara M, Wakui K, Hama A, Kojima S, Yoshikawa K, Amano Y, Kosho T, Fukushima Y Myelodysplastic syndrome in a child with 15q24 deletion syndrome 2012 *Am J Med Genet A*: 412-416 査読有

(3) Narumi Y., Shiihara T, Yoshihashi H, Sakazume S, van der Knaap MS, Nishimura-Tadaki A, Matsumoto N, Fukushima Y Hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum in an infant with Down syndrome 2011 *Clin Dysmorphol*:166-167 査読有

(4) Narumi Y., Kosho T, Tsuruta G, Shiohara M, Shimazaki E, Mori T, Shimizu A, Igawa Y, Nishizawa S, Takagi K, Kawamura R, Wakui K, Fukushima Y. Genital abnormalities in Pallister-Hall syndrome: Report of two

patients and review of the literature, 2010 *Am J Med Genet A*: 3143-3147, 査読有.

[学会発表] (計 6 件)

(1) 鳴海洋子、古庄知己、中村恒一、西村玄、福嶋義光 NOTCH2 遺伝子変異を伴う Hajdu-Cheney 症候群の 1 例 日本人類遺伝学会第 56 回大会 2011 年 11 月 12 日 幕張

(2) 鳴海洋子、塩原正明、涌井敬子、血小板減少、好中球減少を伴う 15q24 欠失症候群の 1 例. 日本小児遺伝学会第 34 回学術集会, 2011 年 8 月 11 日, 横浜.

(3) Narumi Y., Kosho T, Tsuruta G, Shiohara M, Shimazaki E, Mori T, Shimizu A, Igawa Y, Kawamura R, Wakui K, Fukushima Y Genital abnormalities in Pallister-Hall syndrome: two case report 60th Annual Meeting American Society of Human Genetics 2010 年 11 月 5 日、米国、ワシントン DC

(4) 鳴海洋子、古庄知己、鶴田悟郎、塩原正明、井川靖彦、川目裕、河村理恵、涌井敬子、福嶋義光 Pallister-Hall 症候群 3 例の臨床症状の検討 日本人類遺伝学会第 55 回大会、2010 年 10 月 30 日、さいたま市

(5) 鳴海洋子、古庄知己、山下浩美、玉井眞理子、河村理恵、涌井敬子、関島良樹、櫻井晃洋、福嶋義光 信州大学病院における「アレイ外来」の取り組み 第 33 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 2010 年 5 月 29 日 東京

(6) 鳴海洋子、古庄知己、鶴田悟郎、塩原正明、井川靖彦、川目裕、河村理恵、涌井敬子、福嶋義光 Pallister-Hall 症候群 3 例の臨床

症状の検討 第33回日本小児遺伝学会学術  
集会 2010年4月22日 盛岡

〔図書〕(計1件)

鳴海洋子 今日の小児治療指針第15版 2012  
年 p.188 医学書院.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鳴海 洋子 (NARUMI YOKO)

信州大学・医学部・助教

研究者番号：60523074