

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：83902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461576

研究課題名(和文) 均衡型相互転座や逆位の見られる未知の知的障害の病因解明

研究課題名(英文) Clinical and genetic characterization of patients with intellectual disability caused by chromosome structural abnormalities.

研究代表者

福士 大輔 (Fukushi, Daisuke)

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・遺伝学部・研究員

研究者番号：90397159

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、染色体の構造異常が見られる3名の知的障害児の染色体解析を行った。5番染色体の短腕逆位を伴った症例は、断点と同じ逆位を健康な父親に認めた。12番と20番染色体の両短腕間でのde novoの均衡型相互転座の症例は、12番の断点部位がSOX5の中にあった。Nager症候群の症例は、病因遺伝子SF3B4を含む約347 kbの微小欠失を1q21.2に同定した。以上、第1例は5番染色体短腕の逆位以外が病因であり、第2例はSOX5欠損症、第3例はSF3B4を含む微小欠失が病因であることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We performed clinical and chromosomal analyses of three cases with intellectual disability (ID). Case 1: the chromosomal inversion of 5p11-p15.1 was found to have no association with the severe ID and growth retardation (GR) of the patient, because the inversion with the same breakpoints was also observed in her healthy father. Case 2: we identified a translational breakpoint in SOX5 at 12p12, and thus, this is the second case of SOX5 haploinsufficiency caused by de novo balanced chromosomal translocation presenting with mild ID, characteristic facial appearance, and autistic features. Case 3: Nager syndrome is characterized by retrognathia and radioulnar synostosis, and is mainly caused by the haploinsufficiency of SF3B4. We identified a 347-kb microdeletion that included SF3B4 in 1q21.2 from the patient with Nager syndrome. The deletion contained 19 genes and those genes may be associated with the uncommon features of Nager syndrome, including moderate ID, GR, and profound deafness.

研究分野：細胞遺伝学

キーワード：先天異常 均衡型相互転座 逆位 欠失

1. 研究開始当初の背景

知的障害には特徴的な顔貌、小頭症、先天性心疾患などの様々な合併症が見られるが、その大半は未だ病因が不明である。近年、FISH 法やアレイ CGH の普及により、個々の症例の染色体の欠失や重複の異常を解析できるようになった。

そこで我々は、染色体の均衡型相互転座や染色体欠失などの構造異常が見られる知的障害の症例に着目し、病因遺伝子の同定を目指し研究を行っている。これまでに、*de novo* の均衡型相互転座 t(4;20)(q33;q12)が見られる重度知的障害の症例について、転座断点に局在する *CHD6* (chromodomain helicase DNA 6) の欠損が本症の知的障害の病因である可能性を報告した (Yamada K, Fukushi D, et al., Am J Med Genet., 2010)。このように、染色体の構造異常が見られる場合、構造異常の断点部位を明らかにし、そこに局在する遺伝子を同定することが重要である。

本研究では、愛知県心身障害者コロニー中央病院で加療している 3 症例の染色体の構造異常が見られる知的障害について、その構造異常を明らかにし、臨床所見と病因との関連を解析する。

2. 研究の目的

本研究の対象症例は、(1) 5 番染色体短腕の逆位があり、重度知的障害、難治性てんかん、特異顔貌と成長障害が見られる症例 (症例 1)、(2) 12 番染色体と 20 番染色体の両短腕間での *de novo* の均衡型相互転座があり、軽度知的障害、発語の遅れ、特異顔貌と自閉症が見られる症例 (症例 2)、(3) 顕著な下顎低形成、橈尺骨癒合と中程度の発達遅滞が見られる Nager 症候群 (OMIM 154400) の症例 (症例 3) である。全症例の染色体の構造異常の断点部位を分子細胞遺伝学的に解析し、病因の解明を行う。

3. 研究の方法

(1) 症例 1

染色体逆位の断点部位の同定および病因候補遺伝子の検索は、以下の方法で行った。BAC クローン、あるいは逆位の断点領域近傍に局在する遺伝子のゲノム配列を用いた蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) により、断点部位の絞り込みを行った。その後、PCR 法と塩基配列決定法により断点部位を同定し、健常な父親にも認められる逆位が症例と同一か否かを解析した。家系員 (父、母、症例) のゲノム DNA を用いたエクソーム解析による病因候補遺伝子の検索を開始した。

(2) 症例 2

均衡型相互転座の断点部位および病因遺伝子の同定は、以下の方法で行った。

BAC クローンをを用いた FISH により、

転座断点の絞り込みを行った。

で絞り込んだ断点領域近傍に局在する遺伝子やゲノム配列を参考にして、詳細な FISH や遺伝子の cDNA をプローブに用いたザザンプロット法を行い、断点部位の同定を行った。

(3) 症例 3

Nager 症例は *SF3B4* のハプロ不全が病因である。そこで、*SF3B4* の変異解析と *SF3B4* を含む BAC クローンをを用いた FISH 解析を行った。

SF3B4 の塩基配列の変異の有無は、直接塩基配列決定法により確認した。

で *SF3B4* に変異が認められなかったため、*SF3B4* を含む BAC クローン (RP11-937K15) を用いた FISH により、*SF3B4* を含む欠失や重複の有無を確認した。

4. 研究成果

(1) 症例 1

G バンド法では 5p13.1 と 5p15.1 間の逆位と同定した。さらに、FISH 解析により 5p11 と 5p15.1 間での逆位を確認後、断点領域の絞り込みを行った結果、逆位の断点の p11 側は非遺伝子領域内 (41,989,471 bp)、p15.1 側は *LOC101929454* のイントロン 2 (15,249,288 bp) であった。同一の逆位が健常な父親でも見られた。以上より、本症例の逆位は病因ではないことが明らかになったので、家系員 3 名 (父、母、症例) のエクソーム解析を行い、病因候補遺伝子を複数の遺伝子に限定した。

(2) 症例 2

G バンド法では 12p11.2 と 20p11.2 に切断点を持つ *de novo* の均衡型相互転座が同定されている。FISH 解析により、転座断点部位を 12p12.1 と 20p12.3 に絞り込んだ。さらに、BAC クローンや *SOX5* のゲノム配列を用いた FISH による解析を進めた結果、12p12.1 の転座断点を *SOX5* のエクソン 6 近傍 (NM_152989.3) の約 24 kb の領域に、20p12.3 の断点を非遺伝子領域 (約 50 kb) に絞り込んだ (図 1)。

以上より、本症例は *SOX5* のハプロ不全による *SOX5* 欠損症であり、*de novo* の均衡型相互転座を伴う世界で 2 例目の症例であった。

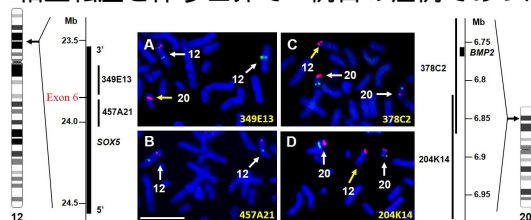


図 1

(3) 症例 3

本症例は Nager 症候群 (OMIM 154400)

であり、Gバンド核型は正常で、病因遺伝子 *SF3B4* の塩基配列に変異は認められなかった。そこで、*SF3B4* の欠失を疑い、この遺伝子を含む BAC クローン (RP11-937K15) で FISH を行った結果、*SF3B4* の欠失が認められた。次に、SNP アレイにより同欠失領域の解析を行った結果、*SF3B4* を含む 1q21.2 に約 347 kb の微小欠失を同定した (図 2)。同欠失領域には 19 個の遺伝子が局在している。本症例で見られた成長障害や高度難聴は Nager 症候群では稀な症状であり、*SF3B4* 以外の遺伝子と関連する可能性が示唆された。

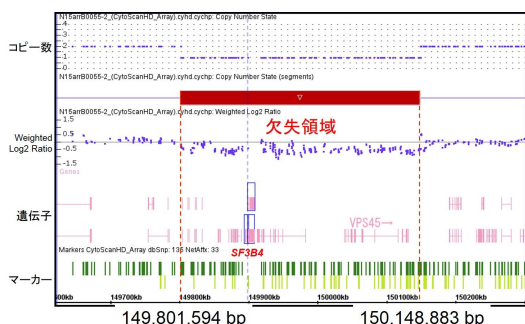


図 2

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 5 件)

1. Yamada K, Aiba K, Kitaura Y, Kondo Y, Nomura N, Nakamura Y, Fukushi D, Murayama K, Shimomura Y, Pitt J, et al. Clinical, biochemical and metabolic characterisation of a mild form of human short-chain enoyl-CoA hydratase deficiency: significance of increased N-acetyl-S-(2-carboxypropyl)cysteine excretion. *J Med Genet.* 52(10):691-698, 2015. 査読有

2. Yamada Y, Nomura N, Yamada K, Kimura R, Fukushi D, Wakamatsu N, Matsuda Y, Yamauchi T, Ueda T, Hasegawa H, et al. Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiencies: *HPRT1* mutations in new Japanese families and PRPP concentration. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 33(4-6):218-222, 2014. 査読有

3. Yamada Y, Nomura N, Yamada K, Matsuo M, Suzuki Y, Sameshima K, Kimura R, Yamamoto Y, Fukushi D, Fukuhara Y, et al. The spectrum of *ZEB2* mutations causing the Mowat-Wilson syndrome in Japanese populations. *Am J Med Genet A.* 164A(8):1899-1908, 2014. 査

読有

4. Naiki M, Ochi N, Kato YS, Purevsuren J, Yamada K, Kimura R, Fukushi D, Hara S, Yamada Y, Kumagai T, et al. Mutations in *HADHB*, which encodes the β -subunit of mitochondrial trifunctional protein, cause infantile onset hypoparathyroidism and peripheral polyneuropathy. *Am J Med Genet A.* 164A(5):1180-1187, 2014. 査読有

5. Fukushi D, Yamada K, Nomura N, Naiki M, Kimura R, Yamada Y, Kumagai T, Yamaguchi K, Miyake Y, Wakamatsu N. Clinical characterization and identification of duplication breakpoints in a Japanese family with Xq28 duplication syndrome including *MECP2*. *Am J Med Genet A.* 164A(4):924-933, 2014. 査読有

[学会発表](計 2 件)

1. 福士大輔, 水野誠司, 稲葉美枝, 鈴木 香, 野村紀子, 鈴木康予, 山田憲一郎, 若松延昭 : *SF3B4* の欠失が見られる Nager 症候群の 1 症例. 日本人類遺伝学会第 60 回大会 2015 年 10 月 16 日 東京

2. 福士大輔, 山田憲一郎, 野村紀子, 内木美紗子, 木村礼子, 山田裕一, 熊谷俊幸, 山口久美子, 三宅能成, 若松延昭 : 家族性 Xq28 重複症候群の染色体重複機構の解明. 日本人類遺伝学会第 59 回大会・日本遺伝子診療学会第 21 回大会 2014 年 11 月 22 日 東京

[図書](計 0 件)

[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 0 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

福士 大輔 (Fukushi Daisuke)
愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・遺伝学部・研究員
研究者番号：90397159

(2) 研究分担者

山田 裕一 (Yamada Yasukazu)
愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・遺伝学部・室長
研究者番号：70191343

山田 憲一郎 (Yamada Kenichiro)
愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・遺伝学部・主任研究員
研究者番号：30291173

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号：