

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860915

研究課題名(和文) Coffin-Siris症候群の新規責任遺伝子探索及び分子病理の解明

研究課題名(英文) Identification of disease-causing genes for Coffin-Siris syndrome

研究代表者

鶴崎 美德 (Tsurusaki, Yoshinori)

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：70392040

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：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報告されたCoffin-Siris症候群(CSS)は、その大多数は孤発例で遺伝的原因は不明であった。我々はCSSの責任遺伝子として、クロマチンリモデリング因子の1種であるBAF複合体の構成サブユニットをコードする5つの責任遺伝子(SMARCB1、SMARCA4、SMARCE1、ARID1A、あるいはARID1B)を同定した。さらに、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症例に関して、全エクソーム解析により新規遺伝子変異探索を行った結果、2例においてSOX11にde novo変異を見出した。

研究成果の概要(英文)：Coffin-Siris syndrome 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. The genetic cause for this syndrome has not been elucidated. We reported that five genes are mutated in CSS, all of which encode subunits of the Brahma-associated factor (BAF) (also known in yeast as the SWI/SNF) ATP-dependent chromatin-remodeling complex: SMARCB1, SMARCA4, SMARCE1, ARID1A, and ARID1B. In addition, we perform whole-exome sequencing in additional CSS patients, identifying de novo SOX11 mutations in two patients with a mild CSS phenotype.

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 全エクソーム解析

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。我々は、集積した CSS の 22 例のうち、臨床症状から典型例 5 例を選択し、全エクソームシーケンス (WES) を行い、うち 2 例においてクロマチンリモデリング因子の 1 種である BAF 複合体の構成サブユニットをコードする遺伝子、*SMARCB1* の *de novo* 変異を同定した。さらに残りの 20 例の BAF 複合体の構成サブユニットをコードする遺伝子群の変異スクリーニングにおいて、17 例で *SMARCB1*・*SMARCA4*・*ARID1A*・*ARID1B*・*SMARCE1* の 5 つのいずれかに変異を認めた。

2. 研究の目的

本研究は、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) BAF 複合体関連遺伝子の変異探索
HaloPlex ターゲットエンリッチメントシステム (Agilent 社) を用いて、BAF 複合体関連遺伝子に対してプローブライブラリーを作製する。そのプローブと CSS 症例のゲノム DNA を用いてハイブリダイズさせる。ストレプトアビジン磁気ビーズによりハイブリダイズしたターゲット断片を回収し PCR を行い、BAF 複合体サブユニットをコードする遺伝子群のみを特異的に増幅させる。この増幅産物を用いて、MiSeq (Illumina 社) により、ペアエンドリード解析を行う。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の確認を行う。

(2) 新規責任遺伝子探索

BAF 複合体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 症例とその両親検体を用いて、WES を行う。SureSelect Human All Exon Kit (Agilent 社) と HiSeq2000 (Illumina 社) によりペアエンドリード解析を行う。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。

(3) 機能解析

遺伝子が同定されたら遺伝子産物の性状に応じた機能解析を行う。

4. 研究成果

(1) BAF 複合体関連遺伝子の変異探索
新たに集積された症例を対象に、WES、あるいはターゲットリシーケンスにより既知責任遺伝子の変異を確認したところ、*SMARCB1*、*SMARCA4*、*ARID1B* のいずれかに変異を認めた。最終的に、集積した CSS 症例の 54.9% (71 例中 39 例) において、*SMARCB1*・*SMARCA4*・*ARID1A*・*ARID1B*・*SMARCE1* の 5 つのいずれかに変異を認めた (図 1)。

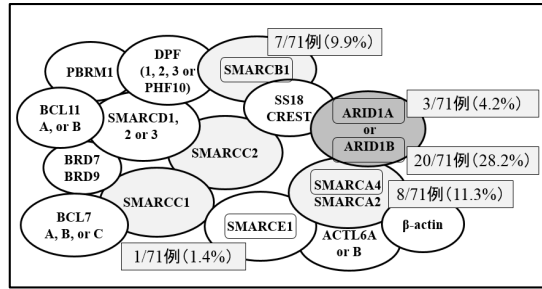


図 1 CSS 症例において変異を認めた BAF 複合体サブユニット (四角囲い)

(2) 新規責任遺伝子探索

5 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ところ、2 例において *SOX11* の *de novo* 変異を同定した (図 2)。

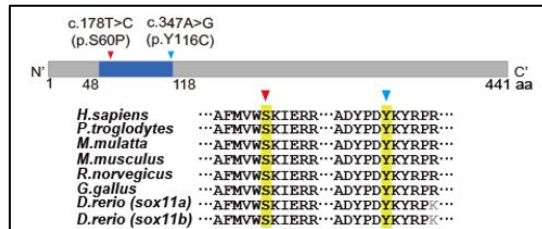


図 2 CSS 2 例に認められた *SOX11* の *de novo* 変異。両変異共に哺乳類からゼブラフィッシュまで保存されたアミノ酸の変化をもたらす変異であった。

(3) *SOX11* の機能解析

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。本遺伝子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、頭部の縮小 (図 3)、中枢神経の細胞死 (図 4) などの異常が認められ、CSS の症状を模倣していた。

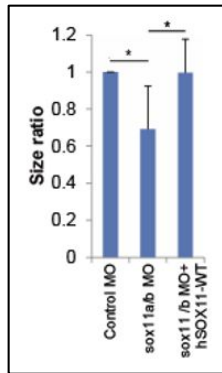


図3 sox11 機能阻害ゼブラフィッシュにおける頭部の縮小。ゼブラフィッシュの相同遺伝子 sox11a/b の機能を阻害したゼブラフィッシュ (sox11a/b MO) の頭部は、正常のゼブラフィッシュ (Control MO) と比較して縮小した。この胚に、ヒトの正常型 SOX11 (hSOX11-WT) を発現させると、頭部のサイズが回復した。

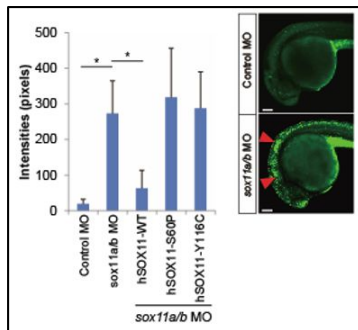


図4 sox11 機能阻害ゼブラフィッシュの中枢神経で生じた細胞死。sox11a/b 遺伝子機能を阻害したゼブラフィッシュ (sox11a/b MO) では、正常のゼブラフィッシュ (Control MO) と比べ、中枢神経に顕著な細胞死を認めた (赤い矢尻で表示、グリーン点状シグナル)。この胚に、ヒトの正常型 SOX11 (hSOX11-WT) を発現させると、細胞死が抑制された。ヒトの変異型 SOX11 (hSOX11-S60P、hSOX11-Y116C) を発現させても抑制効果は得られなかった。

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)

Miyake N, Tsurusaki Y, Matsumoto N. ; Numerous BAF complex genes are mutated in Coffin-Siris syndrome. **Am J Med Genet C Semin Med Genet.** 2014 Sep;166C(3):257-61. 査読有、DOI : 10.1111/cge.12586.

Tsurusaki Y, Koshimizu E, Ohashi H, Phadke S, Kou I, Shiina M, Suzuki T, Okamoto N, Imamura S, Yamashita M, Watanabe S, Yoshiura KI, Kodera H, Miyatake S, Nakashima M, Saitsu H, Ogata

K, Ikegawa S, Miyake N, Matsumoto N. ; *De novo SOX11* mutations cause Coffin-Siris syndrome. **Nat Commun.** 2014 Jun 2;5:4011. 査読有、DOI : 10.1038/ncomms5011.

Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh R, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Saito S, Matsumoto N. ; Whole exome sequencing revealed biallelic *IFT122* mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss. **Clin Genet.** 2014 Jun;85(6):592-4. 査読有、DOI : 10.1111/cge.12215.

Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, Dalal A, Al-Kindy A, Liebelt J, Mowat D, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. ; Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder. **Clin Genet.** 2014 Jun;85(6):548-54. 査読有、DOI : 10.1111/cge.12225.

Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. ; Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature. **Am J Med Genet A.** 2013 Jun;161A(6):1221-37. 査読有、DOI : 10.1002/ajmg.a.35933.

[学会発表](計 8 件)

鶴崎 美徳、大橋 博文、岡本 伸彦、奥水 江里子、中島 光子、才津 浩智、三宅 紀子、松本 直通；全エクソーム解析による先天性異常症候群コフィン-サイリス症候群の新規責任遺伝子 *SOX11* の同定、第 59 回日本人類遺伝学会・第 21 回日本遺伝子診療学会 合同大会、タワーホール船堀 (東京都江戸川区) 2014 年 11 月 20 日

Y. Tsurusaki, M. Nakashima, H. Saitsu, N. Miyake, N. Matsumoto ; Coffin-Siris syndrome is a BAF complex disorder, American Society of Human Genetics 2014 Meeting, San Diego (USA) 2014 年 10 月 19 日

鶴崎 美徳、中島 光子、才津 浩智、三宅 紀子、松本 直通；次世代シーケンサーを用いた Coffin-Siris 症候群の責

任遺伝子の同定、第 54 回日本先天異常学会、麻布大学（神奈川県相模原市）
2014 年 7 月 26 日

岡本伸彦、**鶴崎 美德**、三宅 紀子、松本
直通；Coffin-Siris 症候群の表現型多様
性と診断基準作成の試み、第 37 回日本
小児遺伝学会学術集会、名古屋市立大学
（愛知県名古屋市）2014 年 4 月 10 日
鶴崎 美德、三宅 紀子、松本 直通；ク
ロマチンリモデリングと先天異常、第 58
回日本人類遺伝学会（シンポジウム）
江陽グランドホテル（宮城県仙台市）
2013 年 11 月 22 日

鶴崎 美德、中島 光子、才津 浩智、三
宅 紀子、松本 直通；次世代シーケン
サーを用いた反復性流産の疾患責任遺
伝子の同定、第 58 回日本人類遺伝学会、
江陽グランドホテル（宮城県仙台市）
2013 年 11 月 22 日

植田 紀美子、川戸 和美、松田 圭子、
三島 祐子、山本 悠斗、**鶴崎 美德**、松
本 直通、岡本 伸彦；コフィン・サイリ
ス症候群における高カルシウム尿症、第
58 回日本人類遺伝学会、江陽グランド
ホテル（宮城県仙台市）2013 年 11 月
22 日

清水 健司、大竹 明、**鶴崎 美德**、松本 直
通、大橋 博文；ARIDIA 新規フレーム
シフト変異を認めた Coffin-Siris 症候
群女児、江陽グランドホテル（宮城県仙
台市）2013 年 11 月 22 日

〔図書〕(計 2 件)

鶴崎 美德；実験医学別冊「次世代シー
クエンス解析スタンダード」実践編- 2
「2. エクソームシークエンス解析」；株
式会社羊土社、2014 年 8 月 23 日

鶴崎 美德、松本 直通、次世代シーク
エンサーを用いたメンデル遺伝性疾患の解
析、先端医学社、分子精神医学 13(2): 108
-113、2013 年 4 月 10 日

〔産業財産権〕

出願状況(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 美德**、三宅 紀子
権利者：横浜市立大学
種類：特許
番号：特願 2012-136
出願年月日：平成 24 年 1 月 4 日
国内外の別：国内

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.yokohama-cu.ac.jp/univ/pr/pr
ess/140529_amedrc.html](http://www.yokohama-cu.ac.jp/univ/pr/pr
ess/140529_amedrc.html)

6 . 研究組織

- (1) 研究代表者
鶴崎 美德 (TSURUSAKI, Yoshinori)
横浜市立大学・医学部・助教
研究者番号： 70392040
- (2) 研究分担者 なし
- (3) 連携研究者 なし