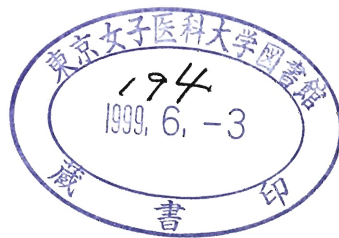


22q11.2 欠失症候群の原因遺伝子の単離・同定

09670843

平成9年度～平成10年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）研究成果報告書



平成11年3月

研究代表者 松岡 瑠美子
(東京女子医科大学医学部助手)



研究組織

研究代表者: 松岡 瑠美子 (東京女子医科大学医学部助手)
研究分担者: 今村 伸一郎 (東京女子医科大学医学部助手)
研究分担者: 門間 和夫 (東京女子医科大学医学部教授)

研究経費

平成9年度	1,700千円
平成10年度	1,300千円
計	3,000千円

研究発表

1. 学会誌等

- 1) Hiroyuki Yamagishi, et al. A molecular pathway revealing a genetic basis for human cardiac and craniofacial defects. *Science* 283;1158-1161, 1999.
- 2) Rumiko Matsuoka, et al. Molecular and clinical study of 183 patients with conotruncal anomaly face syndrome. *Hum. Genet.* 103;70-80, 1998.
- 3) Hiroyuki Yamagishi, et al. CATCH22 in monozygotic twins manifesting discordant phenotypes. *Am. J. Med. Genet.* 78;319-321, 1998.
- 4) Kazumasa Iwai, et al. Mental disorders of del22q11.2 syndrome (CATCH22): Cross-sectional and longitudinal observation of 8 cases. *J Tokyo Wom Med Univ* 68;338-345, 1998.
- 5) 岩井一正、他: "22q11.2 欠失症候群(CATCH22)の精神障害". *精神医学* 40;167-174, 1998.
- 6) 木村美佐、他: 22q11.2 欠失症候群 180 例における欠失領域の検討. *日本小児循環器学会誌* 14;128, 1998.
- 7) Kazuo Momma, et al. Truncus arteriosus communis associated with chromosome 22q11 deletion. *J. Am. Col. Cardiol.* 30;1067-1071, 1997.
- 8) 松岡瑠美子、他: 先天性心臓疾患の遺伝子診断 22q11.2 欠失症候群を中心として. *Jpn. Circ. J.* 61;82, 1997.

2. 口頭発表

- 1) 木村美佐、他:22q11.2 欠失症候群 180 例における欠失領域の検討。
第 34 回日本小児循環器学会総会 1998.7.22
- 2) Rumiko Matsuoka, et al. Genotype-Phenotype correlations in del 22q11.2 syndrome and long QT syndrome. The Fifth International Symposium on Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease. 1998.12.9
- 3) Atsuyoshi Takao, et al. Conotruncal anomaly face syndrome. Chromosome 22q11 deletion. Second World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery. 1997.5.11
- 4) Kazuo Momma, et al. Congenital heart disease associated with chromosome 22q11 deletion. Second World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery. 1997.5.13.
- 5) 松岡瑠美子、他:先天性心臓疾患の遺伝子診断 22q11.2 欠失症候群を中心として. 第 61 回日本循環器学会学術集会 1997.4.2

3. 出版物

- 1) 松岡瑠美子:"先天性心血管疾患と遺伝子異常". Heart View 3;46-52, 1999.
- 2) Atsuyoshi Takao, et al. Conotruncal anomaly face syndrome. Chromosome 22q11 deletion. In Proceedings of the Second World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery. Imai Y, Momma K, eds. Futura. NY pp.4-10, 1998.
- 2) Kazuo Momma, et al. Congenital heart disease associated with chromosome 22q11 deletion. In Proceedings of the Second World Congress of Pediatric Cardiology and Cardiac Surgery. Imai Y, Momma K, eds. Futura. NY pp.409-411, 1998.
- 3) 松岡瑠美子:"DiGeorge syndrome". 診断と治療 増刊号 86;763-764, 1998.
- 4) 松岡瑠美子:"先天性心疾患の遺伝子診断". SRL 宝函 21;121-129, 1997.
- 5) 松岡瑠美子:"22q11.2 欠失症候群(CATCH22)". 小児科診療 7;1125-1131, 1997.
- 6) 松岡瑠美子:"DiGeorge 症候群の病因". 小児内科 29;969-976, 1997.
- 7) 松岡瑠美子:"DNA 診断". 小児科臨床別冊 50;243-253, 1997.
- 8) 松岡瑠美子:"顔貌の異常". 小児科診療 増刊号 60;165-170, 1997.
- 9) 安藤正彦、他:"先天性心臓疾患の成因と遺伝子相談". 臨床発達心臓病学 (改訂 2 版) pp92-102, 1997.

研究成果

『研究目的』

円錐動脈幹異常顔貌症候群(Conotruncal anomaly face syndrome: CAFS)は、1976年高尾らのグループより記載され、独特な顔貌と円錐動脈幹異常(ファロー四徴症、肺動脈狭窄症、総動脈幹症)を伴い、しばしば胸腺の低形成と細胞性免疫の異常が合併する。CAFSはまたDiGeorge症候群(DGS)、velo-cardio-facial症候群との表現型が重なり合う症候群で、WilsonらによりCATCH22と総称され、いずれも染色体22番q11.2の部分欠失を共有する隣接遺伝子症候群である。さらにOpitz-GBBB症候群にも22q11.2欠失が認められ、表現型は多彩になってきた。しかしこれらの表現型と遺伝子異常との関係はいまだ明らかにされていない。本研究は、我々の教室で長年に渡り、臨床研究を続けてきたDGSを含むCAFSに関して、分子遺伝学的アプローチを試み、本症候群の原因遺伝子を探ることを目的とした。

『研究実施計画』

我々は、現在までにN25DGCR(D22S75, Oncor社)プローブを用いたFISH(Fluorescent In Situ Hybridization)法により、染色体22q11.2に微少欠失を持つ180症例

- ・ 散発性CAFS 128例
- ・ 家族性CAFS 17家系(親15例、子19例)
- ・ 散発性DGS 18例

これらの症例について、20種類以上のプローブを用いてFISH法を行い、その欠失領域の大きさと表現型を比較することにより、責任遺伝子領域を限定した。限定された領域内に存在する原因遺伝子の同定を行うため、責任遺伝子領域を含む最小染色体領域におけるBACクローンによるコンテイングを作製した。作製したコンテイングに含まれるBACクローンを制限酵素で断片化し、サザンブロット法により制限酵素地図を作成した。得られたBACゲノムDNAの塩基配列の決定ならびにcDNAの単離を行い原因遺伝子の可能性のある遺伝子検索を行った。

『結果』

CATCH22は染色体22q11.2の部分欠失を原因とした心奇形(Cardiac defects)、異常顔貌(Abnormal faces)、胸腺の低形成(Thymic hypoplasia)、口蓋裂(Cleft palate)、低カルシウム血症(Hypocalcemia)などの臨床スペクトラムの頭文字をとって、Wilsonらにより提唱された複合隣接遺伝子症候群である。

染色体22q11.2の部分欠失はDiGeorge症候群(以下DGS)、円錐動脈幹異常顔貌症候群: Conotruncal anomaly face syndrome(CAFS)、軟口蓋心臓顔貌

症候群:Velo-cardio-facial syndrome(VCFS)の3症候群、さらに McDonald-McGinnらにより眼間開離、尿道下裂、喉頭・気管・食道奇形を示す Opitz GBBB 症候群の幾つかの症例にも存在することが報告された。すなわち、染色体 22q11.2 の部分欠失を共通に持つこれら4つの症候群は、特異顔貌(円錐動脈幹異常顔貌;CAF)を共通に伴うが、特異顔貌以外の表現型のスペクトラムは CATCH22 よりさらに広範囲であることより本複合隣接遺伝子症候群は CATCH22 と呼称するより、我々は本症候群を 22q11.2 欠失症候群と呼称することにした。この呼称は現在広く受け入れられてきている。

CAFS の心奇形は Fallot 四徴、特に肺動脈閉鎖、右大動脈弓、鎖骨下動脈起始異常の合併、心室中隔欠損などである。染色体 22q11.2 の欠失を伴った DGS の心血管異常は大動脈離断(B型)が最も多くファロー四徴、心室中隔欠損、総動脈管残遺と続き、右側/高位大動脈弓、主要大動脈肺動脈側副血行路、鎖骨下動脈起始異常、動脈管開存などの合併血管異常は CAFS と同じく多いが DGS に見られる大動脈離断は CAFS には認められない。即ち DGS は CAFS に比べ比較的 自然予後外科治療成績の悪い心血管異常をもつものが多い。心血管異常の他に眼瞼下垂、眼位異常、また軽度の知能発達障害、学習能力障害を示すものが多く、精神異常、鎖肛、鼠径ヘルニア、尿道下裂、副鼻腔炎、中耳炎、扁桃腺炎、反復性呼吸器感染、脊椎異常、指趾の異常、小人症、血小板減少などの多様の合併症を認める事が判明した。

22q11.2 欠失症候群の頻度は本邦では出生 5000 人に 1 人とその頻度は Down 症候群に続いて多いが、その遺伝様式は、ほとんどが散発例であり、CAFS の 13%に遺伝性の本疾患を認める(このうち母親に欠失を認めた例が 88%と多い)。この症候群には性差が無いことにより、この事実は本症候群の男性が家族を持つことが困難であるという社会的要因に加え、男性患者では生殖適応度(reproductive fitness)が低下している可能性も示唆していると考えられた。DGS の頻度は 22q11.2 欠失症候群の約 15%で、大多数(85%)は CAF を有し、家族内発症例を認めない。本症候群のように高精度分染法でも検出しにくい微少欠失の同定には FISH 法が用いられるが、染色体 22q11.2 に欠失を認めた症例は全例 CAF を伴っている。DGS では染色体 22q11.2 欠失以外にも、染色体 10p13 の微少欠失の報告がある。

表現型と欠失領域との関係を調べるため、N25DGCR プローブにて 22q11.2 に欠失の認められた 180 例(CAFS:162 例、DGS:18 例)を対象として、染色体 22q11.2 の責任領域に存在する 20 種類以上のプローブを用いて FISH 法を行い、欠失領域の大きさの検索を行った結果、CAFS では欠失のテロメア端に 5 種類のタイプが存在し、欠失が一番大きいタイプ(A)が最も多く 91%で、中間型の B タイプが 4%、より短いタイプ C、D、E が 6%であった。DGS では 18 例全例でテロメア端は A タイプ(約 3 Mb)の欠失を認め CAFS より欠失領域

が染色体末端に広がっている例が多いことが確認された。

円錐動脈幹心奇形の病因遺伝子と考えられる候補遺伝子としては、すでに約 20 個の候補クローンがアメリカ、ヨーロッパと日本において単離同定されている。右室の形成に関与する dHAND 遺伝子は 22q11.2 欠失症候群/CATCH22 の病因と考えられている神経堤細胞の発生に必要であることがアメリカの Srivastava のグループにより報告され、最近 Srivastava のグループと我々の共同研究により、dHAND 遺伝子欠失マウスと正常マウスを用いたサブトラクション・クローニング法により得られた遺伝子の一つ (UFD1L) が染色体 22q11.2 欠失領域上の塩基配列に一致し、in situ hybridization 法による発現パターンも胎児期の神経堤細胞由来の組織に一致することを確認した。一人の症例で UFD1L のエクソン 1-3 の微小欠失が認められた。またその他の 180 例全てにおいても欠失が認められた。22q11.2 欠失症候群の主たる原因となる遺伝子がユビキチンファミリーの UFD1L である可能性を示した (Science 283;1158-1161, 1999)。このことから先天性の頭頸部および心臓奇形の発症に、ユビキチン関連蛋白質分解過程という分子メカニズムが関与する可能性を示したことにより、この領域における奇形発症の分子メカニズムを解明する端緒を開いた。

今後、多様な表現型、遺伝的異質性をもつ本症候群の成因、および発症のメカニズムの全容解明を行う予定である。