

発達障害・過成長児に対するソトス症候群鑑別スクリーニング検査法の開発

富田博秋, 小野千晶

東北大学災害科学国際研究所 災害精神医学分野

【研究の背景】

小児期の顕著な過成長、特異的頭顔面の他に自閉症、注意欠陥多動性障害などの精神発達障害を中心に多様な症状を呈するソトス症候群は常染色体優性遺伝性疾患であり、NSD1 遺伝子の染色体微細欠失または点変異が原因と考えられている。本症が NSD1 はヒストン修飾活性、転写調節に関わることが知られるが機能の詳細は不明で、現状では本症のスクリーニングから遺伝子診断に至るまでの流れは効率的ではなく、診断に至っていないケースが多い。NSD1 の染色体微細欠失は臨床検査で特定できるが、点変異の特定は時間と費用の問題から臨床レベルではほとんど行われていない。また、NSD1 の欠失や変異によらないソトス症候群様の表現型を来す症例があることも知られる。

【目 的】

発達早期の過成長を特徴とするソトス症候群は、NSD1 遺伝子のハプロ不全に起因する。NSD1 遺伝子は他の遺伝子発現を調整することで、発達障害の兆候を含む多様な症状を引き起こすと考えられている。現状では効率的な診断法がないこともあり、本症が見逃される傾向にある。我々はこれまでにソトス症候群の診断マーカー遺伝子の開発を目指し、診断のついたソトス症候群罹患者の Bリンパ芽球を用いて、マイクロアレイおよび定量 PCR による発現解析を行っている。その結果、遺伝子発現がソトス症候群で増加・減少する遺伝子群、その中でも NSD1 遺伝子の微細欠失/点変異のいずれか、によらず本症で発現調節を受け、顕著に発現が上昇する 2 遺伝子(SFN、POMC)と減少する 2 遺伝子(DUSP23、PRSS16)を特定している。本研究では本症の血液検体を用いたこれらの遺伝子の発現の検証実験を行い、有効な鑑別スクリーニング法を開発するとともに、発達障害の兆候を来す分子メカニズムを解明することを目的とする。

【方 法】

提供を受けたソトス症候群と診断された対象者の血液検体より PBMC を調製した。総 RNA を抽出した後、cDNA を合成し、診断マーカー候補遺伝子(SFN、POMC および DUSP23)の発現を qRT-PCR により定量した。また、ソトス症候群の迅速かつ有効な診断スキームの作製も試みた。

条件

	Forward Primer sequence	Reverse Primer sequence	Annealing
SFN	ACTACGAGATCGCCAACAGC	CGTCCACAGTGTTCAGGTTGT	55°C
POMC	GCGCCCAGTGAAGGTGTA	TCAGCTCCCTCTTGAAGTCC	64°C
DUSP23	CCTTCTACCAGGCCCTCACT	CAGTACAAGCCTCCCCTTCA	56°C

・機器; CFX96 Real-Time PCR Detection System

・試薬; iQ SYBER Green Supermix (Bio-Rad Laboratories Inc.)

・PCR 条件; 95°C 3min / (96°C、10sec / annealing、30sec) × 50cycle

【結 果】

ソトス症候群と診断された対象者から採取した血液検体を用いて診断マーカー候補遺伝子の内、発現増加が認められている候補遺伝子(SFN、POMC)と、減少が認められている遺伝子(DUSP23)の発現量を測定し、その比を算出した結果、POMC/DUSP23 遺伝子発現比において、B リンパ芽球を対象とした研究と同様の POMC/DUSP23 発現比が >1 の傾向が認められた。

【考 察】

本研究により B リンパ芽球で顕著に発現が異なる遺伝子に関して、末梢血成分に関しても同じ傾向が再現され、診断への有用性が示唆された。今回作製した臨床診断に向けたスキームに対し再度検証を行うため、新たに再現実験を行うための検体を集積する体制の準備を完了し、現在、試料をさらに集積中である。これらの知見によって得られた、ソトス症候群における NSD1 遺伝子の染色体微細欠失や点変異に依存しないソトス症候群の診断法の確立は、高い確度でソトス症候群への罹患の有無を特定することができ、スクリーニングから遺伝子診断に至るまでの臨床診断の効率が向上し、正確な診断に基づく療育や治療、予後予測が可能となることが期待される。また、NSD1 遺伝子の欠失や変異によらないソトス症候群様の表現型を来す症例も少なからず存在すると考えられるが、これらの遺伝子の発現を検証することにより、原因の特定が可能になることが期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

発達早期の過成長に発達障害を伴う症例は稀ならず臨床の現場でみられるが、効率的なスクリーニング法がないことから、見逃されることも少なくない。ソトス症候群における NSD1 遺伝子の染色体微細欠失や、点変異に依らないソトス症候群の診断法の確立は、血液検体を用いて、発現調節を受ける遺伝子群の発現量を定量することにより、高い確度でソトス症候群への罹患の有無を特定することができ、スクリーニングから遺伝子診断に至るまでの臨床診断の効率が向上し、正確な診断に基づく、療育、治療、予後予測が可能となることが期待される。また、NSD1 遺伝子の欠失や変異によらないソトス症候群様の表現型を来す症例も少なからず存在すると考えられるが、共通の遺伝子の発現変化を有する症例についても原因の特定が可能になることが期待される。

更に、本研究の知見により NSD1 遺伝子のハプロ不全により脳内での発現が低下する分子が特定されることにより、発達障害全体の病態の理解と診断法・治療法の開発の糸口となる可能性が期待される。

【参考・引用文献】

Kurotaki, N., Imaizumi, K., Harada, N., Masuno, M., Kondoh, T., Nagai, T., Sugimoto, T. (2002). Haploinsufficiency of NSD1 causes Sotos syndrome. *Nature genetics*, 30 (4), 365-366.

Yoneda Y, Saitsu H, Touyama M, Makita Y, Miyamoto A, Hamada K, Kurotaki N, Tomita H, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Ogata K, Naritomi K, Matsumoto N. (2012)

Missense mutations in the DNA-binding/dimerization domain of NFIX cause Sotos-like features. *J Hum Genet*, 57(3), 207-211.