

Kagami-Ogata 症候群：新規ヒトインプリンティング疾患の確立

浜松医科大学 小児科 教授 緒方 勤

はじめに

成長障害ならびに先天異常症候群は、小児内分泌学における最重要課題の1つである。この成長障害は、長らく、auxology（成長学）、単一遺伝子疾患、多因子疾患、環境因子の観点から研究されてきたが、近年、インプリンティングの観点からの研究が進んでいる。インプリンティング遺伝子とは、由来親特異的発現パターンを示す遺伝子であり、胎児・胎盤の成長・発達に決定的な役割を演じている。

本稿では、インプリンティングの概要と、われわれが確立したヒトインプリンティング疾患である Kagami-Ogata 症候群について述べたい。

Key words : インプリンティング、メチル化、メチル化可変領域、由来親特異的発現、Kagami-Ogata 症候群

インプリンティング

インプリンティング遺伝子

遺伝子は、通常、親由来にかかわらず同等に働くが、例外的に、父親由来のときのみ働く遺伝子（父性発現遺伝子 PEG: paternally expressed gene）や母親由来のときのみ働く遺伝子（母性発現遺伝子 MEG: maternally expressed gene）が存在する（図1）。この PEG と MEG を総称してインプリンティング遺伝子と呼ぶ。インプリントとは、ゲノム配列の変化を伴うことなく生じる遺伝子発現抑制で、可變的な後成的修飾（マーキング）により行われる。その機序として、最も重要な所見は、CpG 配列に存在するシトシン C の親由来特異的メチル化である。遺伝子のプロモーター領域には、しばしば CpG 配列が繰り返して存在し、この CpG 配列群の C（シトシン）のメチル化状態は、その遺伝子の発現状態と密接に関連する。

この現象は、通常の遺伝子にも認められるが、インプリンティング遺伝子では、親由来特異的に CpG 配列のメチル化あるいは非メチル化が生じ、このためにメチル化可変領域（DMR: differentially methylated region）と呼ばれる。この DMR のメチル化状態が、当該インプリンティング遺伝子の親由来特異的発現パターンと相関する（図1）。そのため、インプリンティング遺伝子は、DMR 周辺にクラスターを形成してゲノム上に存在し、ドメイン構造を形成する。

この可變的な親由来特異的インプリント機序は、配偶子形成過程において消去され、配偶子の性に一致して再度樹立される。事実、

DMRは、配偶子形成過程においてドラスティックな脱メチル化を受け、その後、配偶子の性に一致するメチル化パターンを示す。

インプリンティング領域



DMR(CpG islands)のメチル化状態

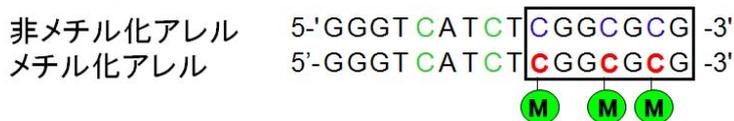


図 1. インプリンティング遺伝子と DMR。PEG は精子由来のときのみ働き、MEG は卵子由来のときのみ働く。DMR は、親由来特異的なメチル化を受ける部位で、インプリンティング遺伝子の発現パターンと密接に関与する。

インプリンティング遺伝子の存在理由

インプリンティング遺伝子は、構造的には 2 個 (1 対) 存在するが、機能的には 1 個しか存在しない。このため、インプリンティング疾患は、1 個の発現している遺伝子障害で発症する。このような遺伝学的脆弱性に曝されてまで、インプリンティング遺伝子が存在する理由として、いくつかの可能性が推測されているが、以下の 2 つが重要と思われる。第 1 は胎盤の進化である。インプリンティング遺伝子は胎盤を有する生物から認められ、ほぼ全てのインプリンティング遺伝子が胎盤で発現している。インプリンティング遺伝子の獲得が胎盤形成と進化を可能にしたと考えられる。そして、個体と胎盤の両者の発育は、PEG により促進され、MEG により抑制される (これを **conflict theory** と呼ぶ)。インプリンティング遺伝子は、この胎児と胎盤の発育バランスを保つ上で決定的な役割を果たすと推測される。第 2 は、単為発生の防止である。有性生殖は、種の多様性を獲得する上で極めて有効なシステムであり、インプリンティング遺伝子の存在は、このシステムを保証するものとなる。

インプリンティング遺伝子異常による先天疾患発症機序

インプリンティング疾患発症機序は、片親性ダイソミー、エピ変異、インプリンティングドメイン欠失・重複、インプリンティング遺伝子変異に大別される（図2）。片親性ダイソミーは、相同染色体の全てあるいは一部分が共に父親あるいは母親に由来する状態で、trisomy rescue、gamete complementation、monosomy rescue、postfertilization errorで発症する。父親性ダイソミーではPEGの過剰発現とMEGの喪失が、母親性ダイソミーではMEGの過剰発現とPEGの喪失が、疾患発症を招く。エピ変異は、DMRのメチル化異常と定義され、通常メチル化される領域が低メチル化状態となる場合と、通常メチル化されない領域がメチル化状態となる場合の2つのパターンがある。このエピ変異は、母由来インプリンティングドメインの父性化あるいは父由来インプリンティングドメインの母性化を招き、ダイソミーと同様の症状を生じる。インプリンティングドメイン欠失・重複は、非メチル化DMR欠失によるインプリンティングドメインの父性化・母性化やインプリンティング遺伝子発現量の変化によりインプリンティング疾患発症を招く。インプリンティング遺伝子変異は、通常の遺伝子変異と同じであるが、その変異効果が由来する親に依存することが特徴である。すなわち、PEGの変異は父親に由来するときには疾患発症を招くが、母親に由来するときには臨床的効果を生じない。同様に、MEGの変異は母親に由来するときには疾患発症を招くが、父親に由来するときには臨床的効果を生じない。したがって、非メンデル遺伝形式を示す疾患となる。

インプリンティング疾患発症メカニズム (MEG発現増加 and/or PEG発現低下の場合)

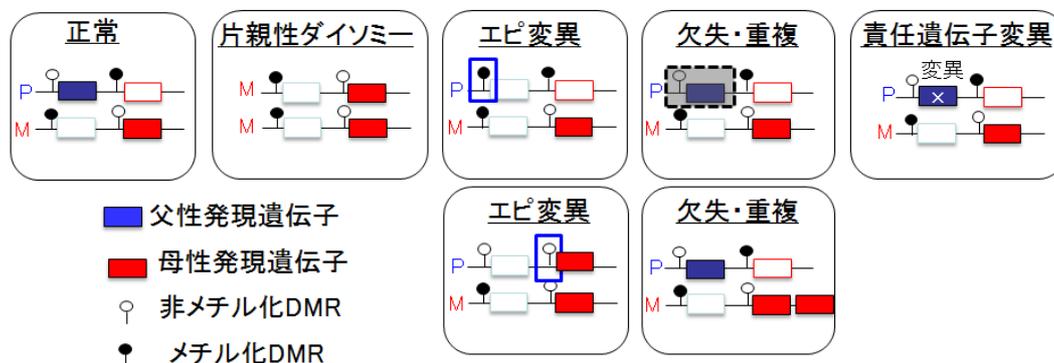


図2. インプリンティング疾患発症機序

Kagami-Ogata 症候群

ヒト第14染色体インプリンティング領域

ヒト第14染色体にはインプリンティング領域が存在する(図3)。このため、父性片親性ダイソミー(1対の染色体が共に父から伝達される状態)(*upd(14)pat*)は、かつて「第14染色体父性ダイソミー症候群」と称された特徴的な症状を呈する。われわれは、現在までに、*upd(14)pat*の表現型を呈する患者34例を解析し(これは、現在までに世界中で同定された患者53例の約2/3を占める)、この疾患単位の発症機序を明らかとした。この業績に対し、Kagami-Ogata症候群という疾患名が与えられ、OMIMにも掲載されている。

その要諦は以下の通りである。

- (1) このインプリンティング領域には、インプリンティングセンターとして機能しうる2つのメチル化可変領域(DMR)~配偶子形成時に樹立されるIG-DMRと受精後に樹立されるMEG3-DMR~が存在する。

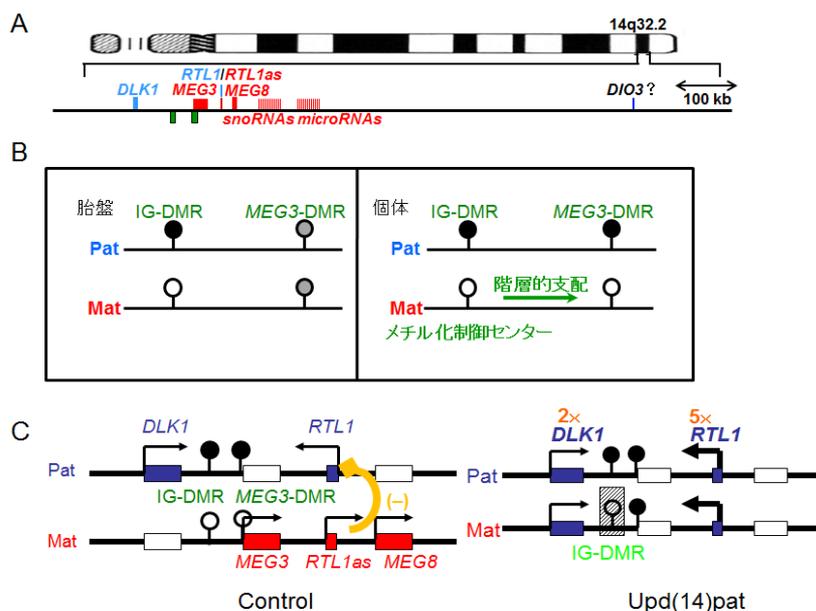


図3. 第14染色体長腕のインプリンティング領域。

- A: この領域の物理地図。PEGは青、MEGは赤、DMRは緑で示す。
- B: DMRのメチル化パターン。●は高メチル化、○は低メチル化、灰色は非DMRを示す。個体(Body)では、母由来MEG3-DMRの欠失が父由来染色体同様の発現パターンを、胎盤(Placenta)では母由来IG-DMRの欠失が父由来染色体同様の発現パターンを招く。個体では母由来IG-DMRが欠失するとMEG3-DMRが高メチル化状態となる。
- C: *RTL1*と*RTL1as*(micro DRNAs)の相互作用。*RTL1as*が欠失すると*RTL1*の発現量は約2.5倍増加する。

- (2) 個体では、2つの IDMR は共に父由来のときに高メチル化状態、母由来のときに低メチル化状態で存在するが、胎盤では、IG-DMR のみ個体と同様の DMR として存在し、MEG3-DMR は親由来にかかわらず低メチル化状態で存在する。
- (3) IG-DMR は胎盤におけるインプリンティングセンターであり、MEG3-DMR は個体におけるインプリンティングセンターである。
- (4) IG-DMR は個体における MEG3-DMR のメチル化パターン制御機能を有する。
- (5) 第 14 染色体父性ダイソミーと同じ症状が、母由来 DMR を含む微細欠失やエピ変異（高メチル化）で生じる。
- (6) 母性発現遺伝子 *RTL1as* にコードされる *microRNA* は *RTL1* の発現抑制機能を有する。
- (7) *upd(14)pat* の表現型の表現型は主に父性発現遺伝子 *RTL1* の過剰発現による。

臨床像

現在までに報告されている 53 名の患者のうち、34 名はわれわれが報告している。これらの患者を対象とする詳細な検討を行い、以下を明らかとした。

- (1) 診断特異的的症状：(i) 豊かな頬と突出した人中を呈する顔貌（乳児期から小児期を通じて全例）、(ii) 胸部レントゲン上の *coat hanger angle* の増加（乳児期から小児期を通じて全例）とベル型胸郭（乳児期のみ全例）（図 4）；
- (2) 特徴的的症状：腹壁異常（臍帯ヘルニアなど全例）、羊水過多（頻度：33/34）、胎盤過形成（頻度：23/27）；
- (3) ありふれているが重要な症状：出生時過体重（頻度：全例平均以上）、精神運動発達遅滞（頻度：全例）、摂食嚥下困難（頻度：31/33）；
- (4) その他：肝芽腫（頻度：3/34）、早期死亡（頻度：8/34）（分母は各症状について調査し得た人数）。したがって、診断特異的的症状が揃えば臨床診断は確定的であり、特徴的的症状や重要な症状が認められれば、より確実である。

遺伝子診断フローチャート

以上の成果から、われわれは遺伝子診断フローチャートを作成した（図 5）。これにより、Kagami-Ogata 症候群の遺伝子診断が可能である。

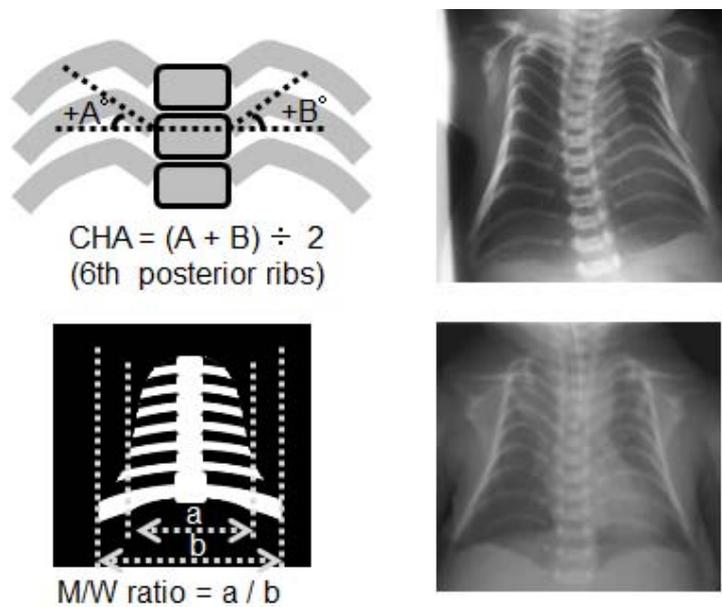


図 4. 診断特異的なレントゲン像。上向きの肋骨とベル型胸郭

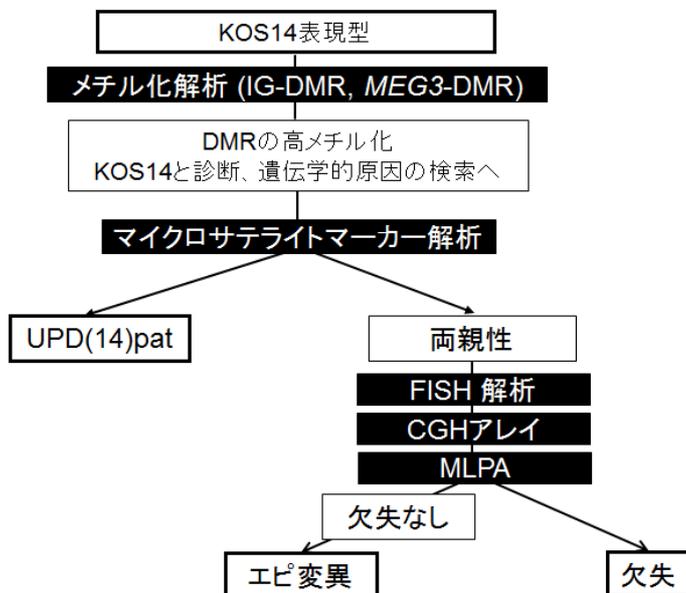


図 5. 遺伝子診断フローチャート

代表的症例

Kagami-Ogata 症候群と Temple 症候群症状を呈する症例が共存する 3 世代家系である (図 6)。この家系では、IG-DMR、DLK1, GTL2 を含む約 109 kb の欠失が存在し、この欠失は母に由来するとき IG-DMR の過剰メチル化と典型的 Kagami-Ogata 症候群症状を、父に由来するとき IG-DMR の低メチル化とやや軽度の Temple 症候群という upd(14)pat 関連疾患を招く。この典型的 Kagami-Ogata 症候群 upd(14)pat 症状は、母由来の IG-DMR 欠失がインプリンティングドメインの父性を招き、その結果、RTL1 が機能的 RTL1 antisense の不在下において 2 つのアリルから発現するため著増する (約 5 倍) ことに帰着できる。やや軽度の upd(14)pat 症状は、父由来の IG-DMR 欠失がインプリンティング遺伝子の発現パターンに影響しないため、単純に DLK1 の欠失に帰着できる。

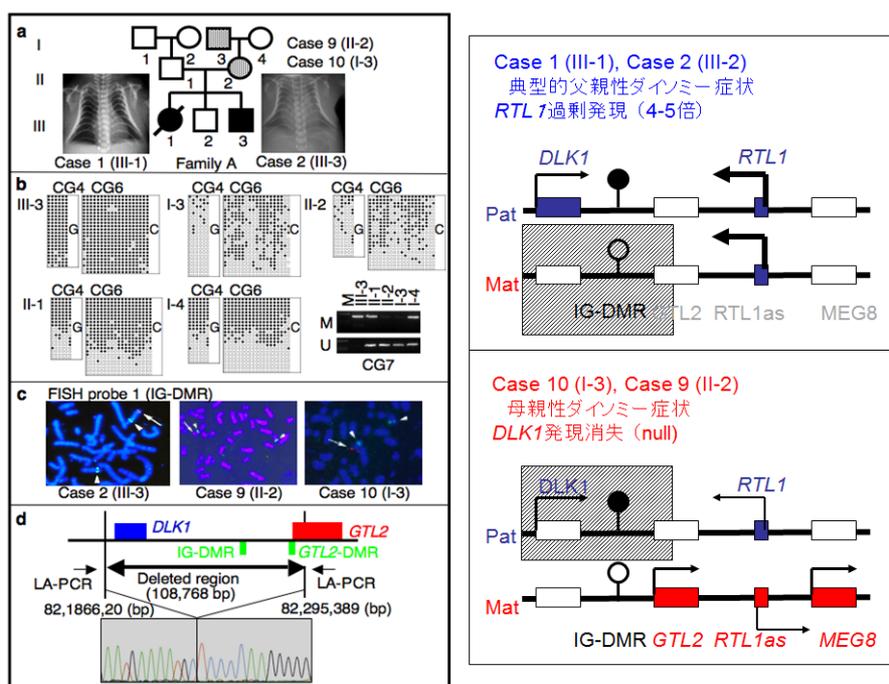


図 6. Kagami-Ogata 症候群と Temple 症候群を呈する患者が共存する家系。
 a: 黒は upd(14)pat 症状、灰色は upd(14)mat 症状を有する患者。
 b: IG-DMR の bisulfite sequencing。黒はメチル化 CpG, 白は非メチル化 CpG を示す。各ラインは 1 個のクローンを示す。CG7 は MEG3-DMR であり、メチル化特異的プライマーと非メチル化特異的プライマーを用いた PCR 結果を示す。
 c: IG-DMR に対する FISH (赤が IG-DMR、緑はコントロール)。
 d: 切断点と融合点を示すクロマトグラム。

胎盤解析

この領域のインプリンティング遺伝子は末梢血で発現していないため、胎盤を用いて発現解析を行ない、上記の発現パターンを確認した。すなわち、母由来染色体のIG-DMR欠失やエピ変異がインプリンティングドメインの父性化に合致する発現パターンを生じること、および、Kagami-Ogata症候群様患者のRTL1の発現量が顕著に増加していること、ならびに患者の胎盤が大きく、絨毛拡張を伴うことを見いだした。

おわりに

近年、ヒトインプリンティング疾患の臨床および研究が急速に進展している。臨床的には、診断・治療ガイドラインを作成するための国際会議が開催されるようになり、Silver-Russell症候群のガイドラインが公表され、現在、偽性副甲状腺機能低下症などの疾患で同様の国際会議が開催されている。そして、小児慢性特定疾病や指定難病制度の対象疾患の中にも多くのインプリンティング疾患が含まれるようになってきた。今後、Kagami-Ogata症候群を含む多くのインプリンティング疾患の診断・治療の向上が期待される。

【文献】

Kagami-Ogata症候群に関する代表的な論文を記載する。

1. Kagami M, Sekita Y, Nishimura G, Irie M, Kato F, Okada M, Yamamori S, Kishimoto H, Nakayama M, Tanaka Y, Matsuoka K, Takahashi T, Noguchi M, Tanaka Y, Masumoto K, Utsunomiya T, Kouzan H, Komatsu Y, Ohashi H, Kurosawa K, Kosaki K, Ferguson-Smith AC, Ishino F, Ogata T. Deletions and epimutations affecting the human 14q32.2 imprinted region in individuals with paternal and maternal upd(14)-like phenotypes. *Nat Genet* 40 (2): 237–242, 2008.
2. Kagami M, O'Sullivan MJ, Green AJ, Watabe Y, Arisaka O, Masawa N, Matsuoka K, Fukami M, Matsubara K, Kato F, Ferguson-Smith AC, Ogata T. The IG-DMR and the *MEG3*-DMR at human chromosome 14q32.2: hierarchical interaction and distinct functional properties as imprinting control centers. *PLoS Genet* 6 (6): e1000992, 2010.
3. Kagami M, Kato F, Matsubara K, Sato T, Nishimura G, Ogata T. Relative frequency of underlying genetic causes for the development of UPD(14)pat-like phenotype. *Eur J Hum Genet* 20 (9): 928–932, 2012.
4. Kagami M, Kurosawa K, Miyazaki O, Ishino F, Matsuoka K, Ogata T. Comprehensive clinical studies in 34 patients with molecularly defined UPD(14)pat and related conditions (Kagami-Ogata syndrome). *Eur J Hum Genet* 23 (11): 1488–1498, 2015.
5. Ogata T, Kagami M. Kagami-Ogata syndrome: a clinically recognizable upd(14)pat and related disorder affecting the chromosome 14q32.2 imprinted region. *J Hum Genet* 61 (2): 87–94, 2016.