

綜 説

デルマトン4-O-硫酸基転移酵素-1欠損に基づく
新型エーラスダンロス症候群の発見と疾患概念の確立

古 庄 知 己

信州大学医学部附属病院遺伝子診療部

Discovery and Delineation of a New Type of Ehlers-Danlos
Syndrome Caused by Dermatan 4-O-sulfotransferase Deficiency

Tomoki KOSHO

Department of Medical Genetics, Shinshu University School of Medicine

Key words: Ehlers-Danlos syndrome (Kosho Type), dermatan 4-O-sulfotransferase deficiency, decorin, arthrogyriposis, connective tissue fragility

エーラスダンロス症候群 (古庄型), デルマトン硫酸4-O-硫酸基転移酵素欠損症, デコリン, 先天性多発関節拘縮, 結合組織脆弱性

I エーラスダンロス症候群とは

エーラスダンロス症候群 (Ehlers-Danlos 症候群; EDS) は, 皮膚・関節の過伸展性, 各種組織の脆弱性を特徴とする先天性疾患の総称であり¹⁾, 古典型 (Classical type), 関節型 (Hypermobility type), 血管型 (Vascular type), 後側彎型 (Kyphoscoliosis type), 多発関節弛緩型 (Arthrochalasia type), 皮膚脆弱型 (Dermatosparaxis type) の6つの主病型に分類されている。いずれもコラーゲン分子そのもの, または修飾酵素の遺伝子変異により生じる²⁾³⁾。近年, 主病型に属さない新たな病型が, その生化学的, 遺伝学的基盤とともに相次いで発見されている (表1)⁴⁾⁻¹²⁾。最近我々は, 顔貌上の特徴, 先天性多発関節拘縮, 進行性の結合組織脆弱性 (皮膚弛緩, 関節弛緩・変形, 巨大皮下血腫など) を呈する全く新しいタイプのEDS (EDS, Kosho Type; EDSKT) を見出した。本稿では, 患者さんとの出会い, 原因遺伝子単離, 病態解明, そして疾患概念確立に至る経緯を紹介する。

II 患者さんとの出会いと原因遺伝子探索の道のり

1人目の患者さん (表2, 3におけるEDSKT1) に出会ったのは, 筆者が埼玉県立小児医療センター遺伝科に勤務していた2000年である。それまでに, 同センターで古典型患者さんを診察する機会があり, 皮膚が容易に裂け, 関節脱臼を繰り返す, といった症状に悩まされているにも関わらず, 医療者を含めた周囲の理解が得られず, また日本においてはほとんど専門家がいないう「日の当たらない」疾患であることを感じていた。当時7歳の女兒は, 顔貌上の特徴, 内反足を含む先天性多発関節拘縮, くも状指を有し, 年齢とともに皮膚関節の過伸展性・脆弱性が目立ってきていた (図1)。初診時の担当医は, 多発関節弛緩型との診断をしていた。筆者が再診で偶然担当し, 詳しく経過を聞くと, 転倒など軽微な外力で巨大な皮下血腫を生じる重症例であることが明らかになった。診察上も, 独特な手足の変形や手掌の皺といったきわだった特徴を呈していた。以後1年弱の外来診療のなかで, 原因探索として, 典型的ではないが出血症状から血管脆弱性の可能性を考え, まずは血管型EDSの可能性を考えた。皮膚生検を行い, 培養皮膚線維芽細胞を用いたIII型コラーゲン蛋白分析を千葉大学皮膚科簗持 淳助教授 (現獨協医科大学皮膚科教授) に依頼した。結果,

別刷請求先: 古庄 知己 〒390-8621

松本市旭3-1-1 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部

表1 Ehlers-Danlos 症候群の分類

| | 頻度/患者数 | 遺伝形式 | 原因遺伝子 |
|---|------------------|------|---------------------------------|
| 大病型 | | | |
| 古典型 (Classical type) | 1/20,000 | AD | <i>COL5A1</i> , <i>COL5A2</i> |
| 関節型 (Hypermobility type) | 1/5,000~20,000 | AD | 大多数は不明 少数例で <i>TNXB</i> |
| 血管型 (Vascular type) | 1/50,000~250,000 | AD | <i>COL3A1</i> |
| 後側彎型 (Kyphoscoliosis type) | 1/100,000 | AR | <i>PLOD</i> |
| 多発関節弛緩型 (Arthrochalasia type) | 約30人 | AD | <i>COL1A1*</i> , <i>COL1A2*</i> |
| 皮膚脆弱型 (Dermatosparaxis type) | 8人 | AR | <i>ADAMTS-2</i> |
| その他の病型 | | | |
| Brittle cornea syndrome | 11人 | AR | <i>ZNF469</i> |
| EDS-like syndrome due to tenascin-XB deficiency | 10人 | AR | <i>TNXB</i> |
| Progeroid form | 3人 | AR | <i>B4GALT7</i> |
| Cardiac valvular form | 4人 | AR | <i>COL1A2</i> |
| EDS-like spondylocheirodysplasia | 8人 | AR | <i>SLC39A13</i> |
| D4ST-1-deficient EDS | 22人 | AR | <i>CHST14</i> |

AD：常染色体優性遺伝，AR：常染色体劣性遺伝

COL5A1：V型プロコラーゲン $\alpha 1$ 鎖遺伝子，*COL5A2*：V型プロコラーゲン $\alpha 2$ 鎖遺伝子，*TNXB*：テナシンX遺伝子

PLOD：リジルヒドロキシラーゼ遺伝子，*：スプライス異常によるエクソン6のスキップ

ADAMTS-2：プロコラーゲン I N-プロテイナーゼ遺伝子

ZNF469：コラーゲン生合成・組織化に関わる転写因子の遺伝子

B4GALT7： $\beta 4$ ガラクトース転移酵素-7 (GalT-1) 遺伝子

SLC39A13：亜鉛トランスポーター機能を持つタンパクの遺伝子

CHST14：デルマタン4-O-硫酸基転移酵素 (D4ST-1) 遺伝子

III型コラーゲンの産生は正常であり，血管型 EDS は否定され，病型を確定することはできなかった。

2人目の患者さん (EDSKT2) とは，筆者が2003年に当院勤務となってからの出会いである。取り組むべきテーマを見つけられずにいたある日，福岡義光部長 (医学部遺伝医学・予防医学講座教授) に興味のある疾患について聞かれた。「EDS です」と答えると，「外勤先の療育センターに1人いる」とのことであった。26歳になっているはずの女性は，同センターへの通院を終了していた。カルテを見ると，出生直後から当院整形外科で入院・通院加療をしていることがわかった。古いカルテ庫から当院のカルテを取り出すと，EDSKT1と全く同様に出生時には内反足，手指関節拘縮，顔貌上の特徴を認め，その後，皮膚裂傷，関節脱臼，巨大皮下血腫など進行性の結合組織脆弱性を呈していた (図1)。

2人は，これまでの分類には当てはまらない新しい型の EDS であると直感し，論文を作成することにした。文献検索をすると，後側彎型 (旧分類ではVI型) に類似した脊椎変形，皮膚や動脈の脆弱性を呈しているものの，後側彎型の病因である lysyl hydroxylase

の欠損を認めないEDSVIB型 (lysyl hydroxylaseの欠損を伴う通常の後側彎型を EDS VI A と分類する場合) に分類されていたPakistan姉弟例⁽¹¹⁾³⁾に酷似した臨床像であることを見出した (図2)。Lysyl hydroxylase の欠損の有無をスクリーニング (尿デオキシピリジノリン/ピリジノリン比) したが，予想どおり正常パターンであり欠損はなかった。そこで，暫定分類を EDS VI B 型として American Journal of Medical Genetics 誌に報告した¹⁴⁾。EDSKT2および Pakistan 姉弟例の両親が血族結婚であったことから，常染色体劣性遺伝の可能性が推測された。病態解明へ向け，2005年度信州医学振興会医学研究助成および2007年度信州若手研究者萌芽研究支援事業の支援を得て，関連遺伝子解析を行ったが，原因遺伝子を同定することはできなかった。

新規疾患として確立するためにも，また，原因遺伝子を同定するためにも，新たな患者さんの収集が必要であった。そんな折，遠方に在住の EDS 患者さんから「自分の病状は他の病型のだれとも違うと思うので，相談にのってほしい」と話を持ちかけられた。この患者さんが EDSKT3であり，自身の病型診断のために

表3 DAST-1欠損症患者の臨床的特徴

| 家系 | 患者 | 腎 停滯 尿酸 結石 | 眼科 | | | | 発達 | | | | 成長 | | | | 引用文献 | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|----|---------------------|-----|------|----|------|----------|-----|------|--------|------|------|------|------|------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|--|--|------------------------|--|
| | | | その他 | 乳房發育 | 斜視 | 屈折異常 | 緑内障／眼圧上昇 | その他 | 聴覚異常 | 脳室形態異常 | 粗大運動 | 独立年齢 | 精神遅滞 | 在胎週数 | | 出生時身長 (centile or SD) | 出生時体重 (centile or SD) | 出生時頭圍 (centile or SD) | 出生後計測年齢 1 | 身長 (centile or SD) | 体重 (centile or SD) | 頭圍 (centile or SD) | 出生後計測年齢 2 | 身長 (centile or SD) | 体重 (centile or SD) | 頭圍 (centile or SD) | | | | |
| ATCS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 1 | | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Dundar et al., 1997 | |
| 2 | 2 | | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Dundar et al., 2010 | |
| 3 | 3 | | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Sonoda and Koumo, 2000 | |
| 2 | 4 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Janecke et al., 2001 | |
| 5 | 5 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Dundar et al., 2001 | |
| 3 | 6 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 7 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | 9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| II | 11 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| EDSKT | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 2 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 3 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 5 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 7 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | 8 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| MCEDS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 1 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 2 | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

ATCS, adducted thumb-clubfoot syndrome ; EDSKT, Ehlers-Danlos Syndrome, Koshu Type ; MCEDS, Musculocontractural Ehlers-Danlos Syndrome ;

Hy, 遠視 ; My, 近視 ; As, 乱視 ; Ent, 脳室拡大 ; Asym, 脳室左右差 ; No, 歩行不可

‡, IQは7歳2カ月時, Porteus testで91, Goodenough testで86であった [Janecke et al., 2001]。¶, 学習障害

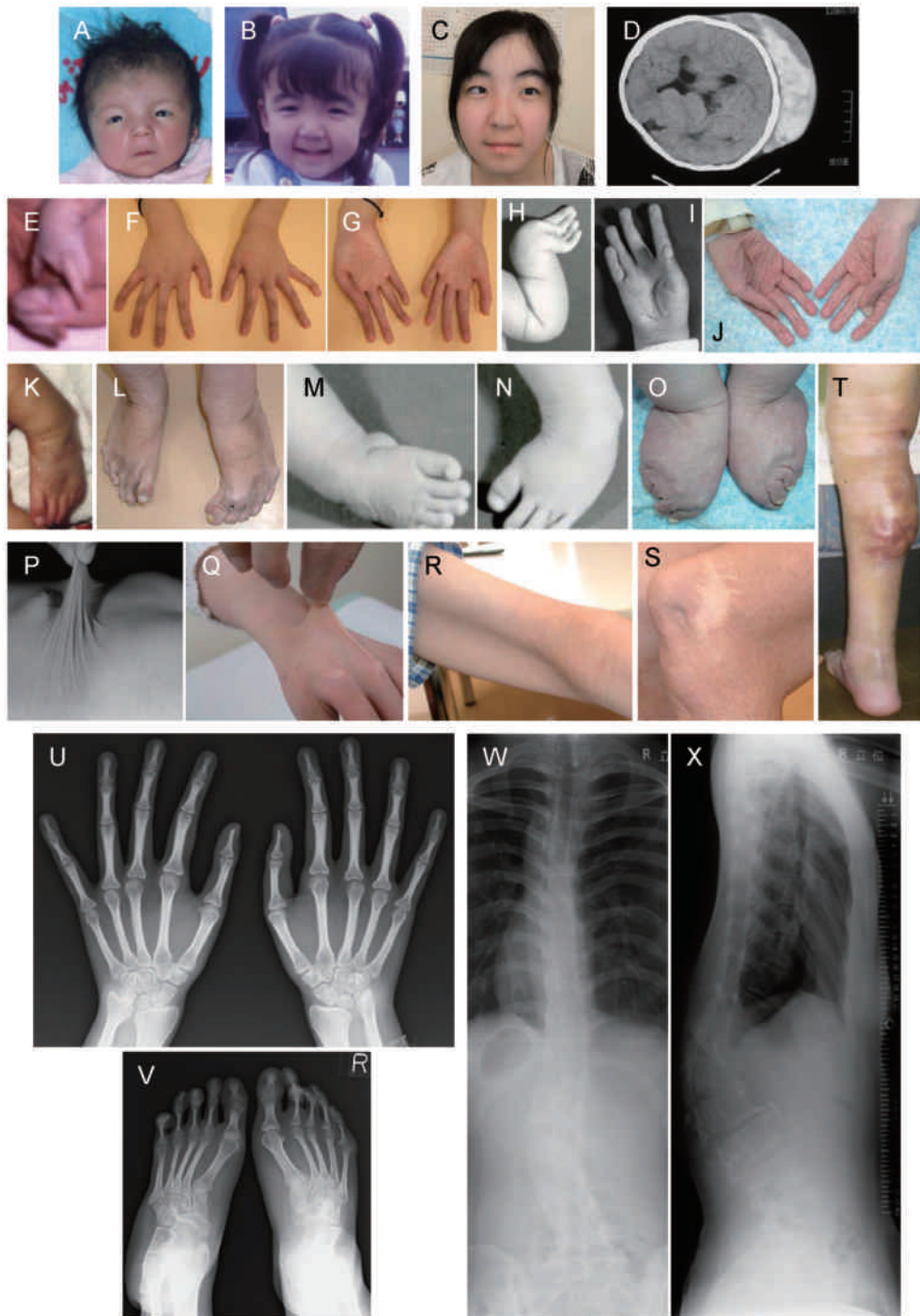


図1 外表写真およびレントゲン写真¹⁴⁾²⁸⁾

EDSKT1: 日齢23 (A, E), 3歳 (B), 6歳 (D), 16歳 (C, F, G, U, V, W, X)。
EDSKT2: 2カ月 (M, N), 3カ月 (H), 1歳2カ月 (P), 5歳 (I), 28歳 (J, O)。
EDSKT3: 新生児 (K), 31歳 (L, R, S)。
EDSKT5: 16歳 (T), 19歳 (Q)。

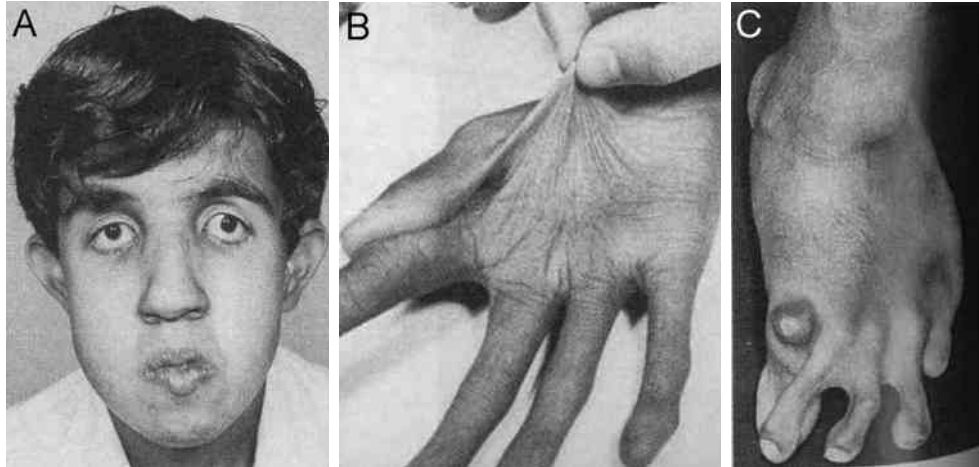


図2 D4ST-1欠損症が疑われる歴史的症例
A, B, C : EDS VI B と分類されてきた Steinmann らが報告した Pakistan 人姉弟例 (写真は弟)¹¹⁾¹³⁾。

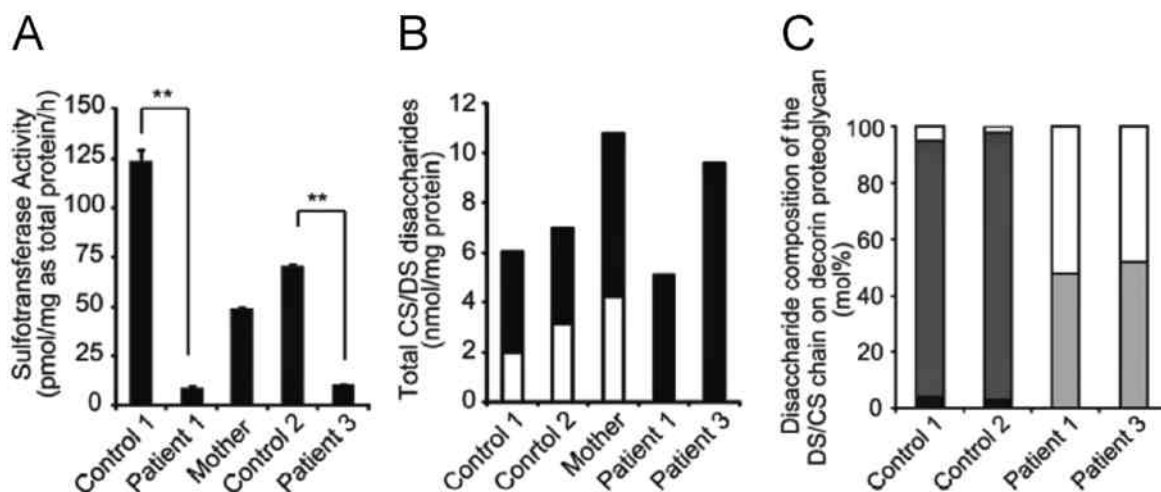
獨協医科大学皮膚科簾持教授の外来に受診、皮膚生検を受けたところであった。その後出会う機会があり、新型 EDS であると確信、入院先の病院に出向き、主治医と情報交換を行うとともに、本人より研究協力の承諾をいただいた。この患者さんの両親も血族結婚であったことが、きわめて重要な意味を持つことになった。

福嶋部長と相談をするなかで、両親が血族結婚の2家系があれば、連鎖解析で遺伝子を単離できるのではないか、ということになった。そこで、先天異常症候群の解析に関して長く共同研究をしてきた横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学の松本直通教授に話を持ちかけた。松本研では、高密度 SNP アレイの登場により、旧来のマイクロサテライトマーカーなどを用いた多型解析では原因遺伝子同定が困難とされていた少数の小家系でも遺伝子単離が可能になりつつあるところであり、快く解析を引き受けて下さることになった。米国で Duane 症候群の遺伝子単離に成功¹⁵⁾し、帰国したばかりの三宅紀子助教(現准教授)が担当することになり、両親血族結婚の2家系を利用した連鎖解析による原因遺伝子単離プロジェクトが動き始めた。あらためて上記3人の患者さんの家族に協力を依頼し、両親、同胞から検体をいただくことができた。

Affymetrix 社の SNP 10K アレイを用いたホモ接合体マッピングにより責任領域を15q15の8.1 Mb に限局 (Lod score 2.885)、さらに、その近傍のマイクロサテライトマーカー解析を用いたハプロタイプ解析により責任領域を7.3 Mb にまで狭小化した。同領域に局在する109遺伝子のなかから機能的に関連性の疑

われる7つの遺伝子を選択し、変異解析を行った。2008年秋、ついに原因遺伝子 *CHST14* を突き止めることに成功した。予想どおり、EDSKT2 および EDSKT3 はミスセンス変異をホモ接合体で、EDSKT1 はミスセンス変異を複合ヘテロ接合体で有していることがわかった¹⁶⁾。 *CHST14* は、デルマトン4-O-硫酸基転移酵素-1 (dermatan 4-O-sulfotransferase-1; D4ST-1) をコードする遺伝子である (図3)¹⁷⁾。D4ST-1 は、プロテオグリカン (proteoglycan; PG) の側鎖であるグリコサミノグリカン (glycosaminoglycan; GAG) を構成するデルマトン硫酸 (dermatan sulfate; DS) の N アセチルガラクトサミン残基の4位に硫酸基を付加する酵素である (図4)^{17)~19)}。しかしながら、糖鎖修飾酵素である D4ST-1 の異常がどのような機序で全身結合組織の顕著な脆弱性を惹起するのかは、不明のままであった。新規疾患として世界に発信していくには、機能解析が必須であり、解決には時間がかかることが予想された。

その後も新たな患者さんとの出会いが続いた。EDSKT4 は、当科の website に相談を持ちかけていただいた札幌医科大学第一内科の石田禎夫准教授、安井寛助教より紹介された。すでに巨大皮下血腫を反復し、特異な骨格症状を有する EDS として論文発表されていた32歳男性患者さんであった²⁰⁾。後に、本患者さんただ1人がナンセンス変異を持つことがわかり、きわめて重要なケースとなった。EDSKT5 は、本症候群の皮膚病理に関する相談に、獨協医科大学皮膚科簾持教授を訪ねたときに出会った患者さんである。当時19歳の彼女は、この土曜日、偶然簾持教授の外来に

図5 糖鎖分析¹⁶⁾

Patient 1はEDSKT1を、Motherはその母親を、Patient 3はEDSKT3を示す。A：培養皮膚線維芽細胞におけるデルマトンに対する硫酸基転移酵素活性。EDSKT1、EDSKT3の酵素活性は著明に減少し、EDSKT1の母親では半分程度に減少している。B：培養皮膚線維芽細胞中に含まれる全CS/DS量。コンドロイチン硫酸(CS)を黒で、デルマトン硫酸(DS)を白で示す。EDSKT1およびEDSKT3では全てCSになっている。C：デコリン(DCN)のグリコサミノグリカン(GAG)鎖に含まれるCS/DS組成。CS分画の[GlcA-GalNAc(4S)]を白で、[GlcA-GalNAc(6S)]を明るい灰色で示す。DS分画の[IdoA-GalNAc(4S)]を暗い灰色で、[IdoA(2S)-GalNAc(4S)]を黒で示す。正常コントロールではほぼDSであるが、EDSKT1およびEDSKT3では全てCSとなっている。

受診していた。待合室にたたずむ彼女の様子から、新型EDSと直感し、簀持教授に聞いたところ、「実はちょうど相談したいと思っていた患者さんが今日来ている」とのことであった。急遽診察をさせていただき、研究協力の同意を得て、検体をいただくことができた。EDSKT6は当時4歳の女兒である。2009年のEDS患者会に際し、簀持教授から、「今度の会に新型EDS疑いのお子さんに行くから、相談にのってあげてほしい」と伝達されていた。参加したところ、前を通り過ぎた女兒の様子を見て新型EDSと確信、その後かかりつけの病院にうかがい、診察をさせていただき、研究協力の同意を得て、検体をいただくことができた。そして、これら3人すべてに*CHST14*の変異が検出された。

D4ST-1のクローニングは米国Washington大学病理学のBaenziger博士らの研究チームによって行われたが¹⁷⁾、熾烈なデッドヒートを演じていた¹⁸⁾のが北海道大学大学院先端生命科学研究院プロテオグリカニングナリング医療応用研究室の菅原一幸教授(当時は神戸薬科大学)らの研究チームであった。菅原教授に、新型EDS患者細胞の機能解析を依頼したところ、快く引き受けて下さり、菅原教授、山田修平准教授、そして水本秀二博士研究員による精緻な糖鎖分析が始まっ

た。D4ST-1酵素活性を調べると、患者由来培養皮膚線維芽細胞ではコントロールに比べて著明に低下していること、保因者であるEDSKT1の母では半分程度に低下していることが明らかになった(図5A)¹⁶⁾。次に、培養皮膚線維芽細胞中に含まれるDSとコンドロイチン硫酸(chondroitin sulfate; CS)の含有量を比較すると、コントロールではDS、CSともに存在したが、患者由来細胞ではDSが消失し、CSのみとなっていた(図5B)¹⁶⁾。さらに、DSを含有する代表的なPGであるデコリン(decorin; DCN)に着目した。DCNはDSからなる1本のGAG鎖を有するが、患者細胞においてはDSが消失し、全てCSになっていた(図5C)¹⁶⁾。DCNは、GAG鎖がコラーゲン細線維(collagen fibrils)間の距離を調節することによって、これを密に束ね(assembly)、細胞外マトリックスを形成するのに重要な役割を果たす²¹⁾²²⁾。DCNが、糖鎖修飾酵素異常とコラーゲン・ネットワークの構築とをつなぐリンクになっている可能性が高まったのである。これを裏付けるには、病理組織所見の解釈が必須と考えられた。簀持教授、三宅准教授と検討を重ね、患者皮膚の電子顕微鏡像において、コラーゲン細線維が正常人のように密に束ねられず、ばらけて存在することを突き止めた(図6)¹⁶⁾。以上から、少なくとも

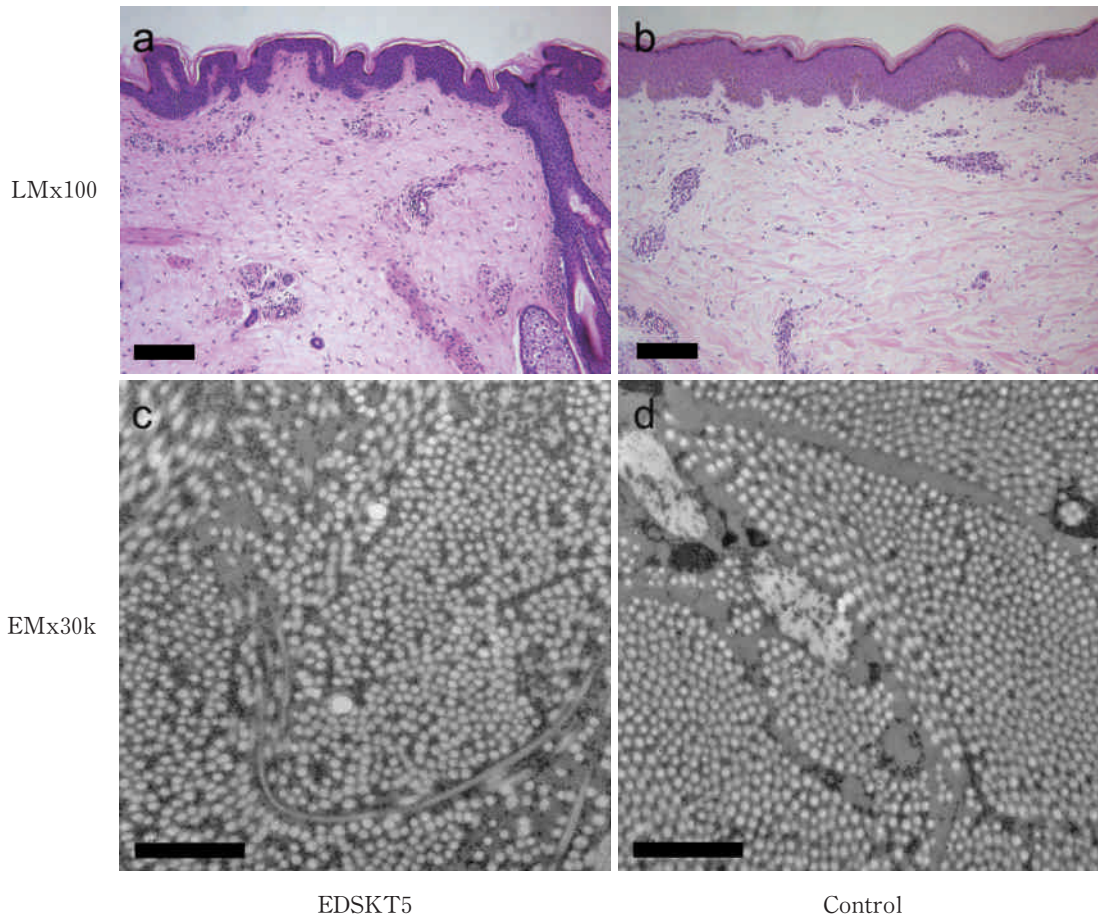


図6 病理解析の結果¹⁶⁾

- a, b : H&E染色による光顕所見(×100)。EDSKT5 (a)では, コントロール (b) に比べ, コラーゲン線維束が繊細に見える。スケールバーは500 μmを示す。
- c, d : 電顕所見(×30,000)。EDSKT5 (c)では, コントロール (d) に比べ, コラーゲン細線維の径は同等であるが, ばらけて存在していることがわかる。スケールバーは1 μmを示す。

本症候群における進行性結合組織脆弱性の主たる発症機構は「D4ST-1欠損→DCNに付加するGAGの組成変化(DSが消失しCSに置換)→DCNが媒介するコラーゲン細線維のassembly不全」(図7)という病態である可能性が高いと考えた¹⁶⁾。

インパクトの高い研究成果であることを確信し, 松本研と協力して投稿の準備をしていた2009年12月11日の朝のことであった。いつものようにアメリカ人類遺伝学会会員に毎月電子配信されてくるAmerican Journal of Human Genetics誌の目次にD4ST-1の文字を見つけた。*CHST14*の変異に基づくD4ST1の欠損が, 内転母指および内反足を特徴とする新しい先天性多発関節拘縮症(arthrogryposis) “adducted thumb-clubfoot syndrome (ATCS)”を引き起こすとの報告であった²³⁾。両親血族結婚の3家系を用いたホモ接合体マッピングは全く同じ手法であった。筆頭

著者は世界に先駆けて2家系を報告した²⁴⁾²⁵⁾トルコErciyes大学遺伝学のDündar教授, 遺伝子解析を行ったのは責任著者で1家系の報告をしていた²⁶⁾オーストリアInnsbruck医科大学小児科のJanecke教授らのチーム, そして糖鎖解析を行ったのはまたもやBaenziger教授らのチームであった。新しいarthrogryposisとして報告されていた日本人兄弟例も含まれていた²⁷⁾。我々は, 幼児から成人にかけての患者さんを見てきたが, 診療においてEDSとの認識がゆらぐことはなかった。出生時には確かに特徴的な手指の内転と内反足を含む多発関節拘縮を呈しており, 一時的にarthrogryposisと診断された患者さん, arthrogryposisの1つFreeman-Sheldon症候群と診断された患者さんはいたが, ATCSは全くノーマークであった。我々の発見した新型EDSとATCSが同一疾患か否か, これにより, 我々の知見の価値が決まると

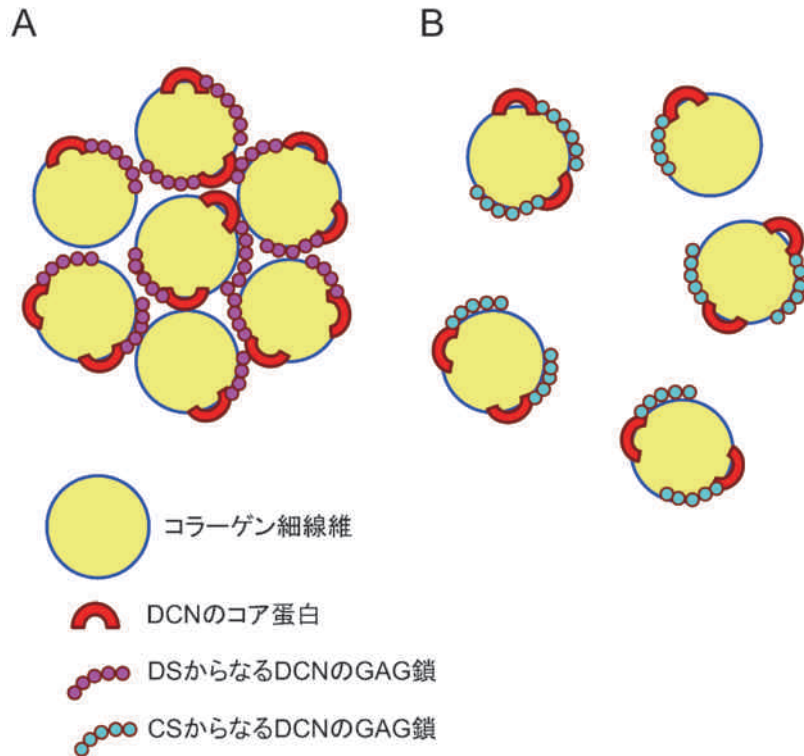


図7 推定される進行性結合組織脆弱性の発症機構

A: 正常。B: D4ST-1欠損症。D4ST-1欠損に基づきデコリン (DCN) に付加するグリコサミノグリカン (GAG) 鎖の組成変化, すなわちデルマトン硫酸 (DS) が消失しコンドロイチン硫酸 (CS) に置換, が生じ, DCN が媒介するコラーゲン細線維の assembly 不全を来すと考えられる。なお, DCN が媒介するコラーゲン細線維の assembly モデルは, Nomura らが提唱するもの²²⁾を示す。

考えられた。Dündar 教授らの論文を精読したところ, 加齢に伴い結合組織脆弱性が明らかになると言及されており, また全く同一の遺伝子変異もあり, 同一疾患といずれは分類される予感があったが, 縦断的な臨床情報が乏しいこと, 皮膚病理組織を正常と解釈したことなどから, 現時点で同一疾患とは結論できないと位置付け, 投稿を急ぐことにした。しかしながら, 新型 EDS が臨床的にどのようなものかをアピールしきれないこと, そしてやはり先行論文があることが影響したのであろう, high impact journals に受理されることはなかった。松本教授, 三宅准教授と話し合いを重ね, 詳細な臨床像を古庄が, 遺伝子単離および機能解析を三宅准教授が別々に投稿し, 同一疾患であるかもしれないがまずは新型 EDS と位置付け, その原因遺伝子を独立して単離したと位置付けた。そしてようやく2010年4月14日に臨床像が American Journal of Medical Genetics 誌²⁸⁾に, 5月25日に病態が Human Mutation 誌¹⁶⁾に受理された。まもなく奇形症候群の世界的データベースである London Dysmorphology Database (<http://www.lmdatabases.com/index.html>)

およびPOSSUM (<http://www.possu.net.au/>) から, 掲載許可を求める問い合わせがあり, 我々の報告した6例は, 暫定的に EDSKT と称されることになった。

III 疾患概念の確立へ向けて

筆者らの報告にわずかに遅れる形で, EDS を含めた結合組織疾患の研究を長年引っ張ってきたベルギー Ghent 大学病院遺伝学 De Paepe 教授と Malfait 先生らのチームから, D4ST-1の欠損が, EDS VI B に分類されていた2家系(トルコ人, インド人)3症例の原因であると報告された。ATCS, EDSKT を含めて同一疾患と位置付けられ, Musculocontractural EDS (MCEDS) との名称が提案された²⁹⁾。

ATCS, EDSKT, MCEDS は同一遺伝子変異に基づくが臨床的には異なる allelic diseases なのか, 同一疾患の家族間または年齢による variability といえるのかを結論付けるためには, ATCS 患者において情報の乏しい学童以降の状況, また EDSKT 患者において情報の乏しい乳幼児期の状況を把握することが

不可欠と考えられた。ちょうどその折、埼玉県立小児医療センター遺伝科清水健司先生、大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科岡本伸彦部長から、それぞれ2歳、6歳の新たなEDSKT患者さんがいることをうかがった。そこで、この2症例の臨床経過および身体所見に関する詳細な記載と、これらを含めこれまでEDSKT, ATCS, MCEDSとして報告された全22症例の包括的レビューからなる論文を作成、疾患概念を確立するものとしてAmerican Journal of Medical Genetics誌に投稿し、先頃出版された³⁰⁾。以下、本論文の内容から本症の全貌を概説する(表2, 3)。

① **CHST14 変異の種類**: V49Xが2家系(ATCS, MCEDS)に、K69Xが1家系(EDSKT)に、R135Gが1家系(ATCS)に、L137Qが1家系(ATCS)に、F209Sが1家系(EDSKT)に、R213Pが1家系(ATCS)に、P281Lが8家系(EDSKT)に、C289Sが1家系(EDSKT)に、Y293Cが4家系(ATCS, EDSKT)に、E334GfsX107が1家系(MCEDS)に検出された(図3)。

② **顔貌上の特徴**: 出生時~乳児早期, ATCS, EDSKT, MCEDSともに、大きい大泉門、眼間開離、小さく、垂れ下がった(斜下)眼瞼裂、青色強膜、短い鼻、低形成の鼻柱、低位かつ後傾した耳介、高口蓋、長い人柱、薄い上口唇、小さい口、小さく後退した下顎が認められた(図1A, B)。学童期以降、EDSKTにおいては、下顎が突出した細長い顔になり、左右非対称さも伴っていた(図1C)。この特徴は、ATCSの年長児例(6歳, 8歳, 15歳)およびMCEDS(21歳)においても認められた。ATCSの日本人同胞例においては、それぞれ口唇口蓋裂、粘膜下口蓋裂が認められた。

③ **骨格系の特徴**: 先天性多発関節拘縮は、ATCS, EDSKT, MCEDSいずれにおいても必発症状であった。とりわけ、母指の内転および屈曲拘縮、内反足が特徴的であった(図1E, H, K, M, N)。その後手指は、「先細り」「細長い」「筒状」などと表現される独特な形態を呈した(図1F, G, I, J)。EDSKTにおいては、手指の動きの異常(II-V指のDIP関節、母指のIPおよびMP関節の屈曲・伸展ができない。II-V指のMP関節もほとんど屈曲・伸展ができない)が認められる症例もあった。臍の付着異常を呈する症例もあった。小児期、側彎、後側彎といった脊椎異常(図1W, X)、外反扁平足などの足部変形(図1L, O)が生じ、進行した。マルファン症候群様体型、関節脱臼の反復、胸郭変形(平坦、漏斗胸、鳩

胸)も認められた。レントゲン上、EDSKTの5症例において手指骨および中手骨の骨幹狭小化(図1U)が、ATCSの1症例およびEDSKTの4症例において足趾骨および中足骨の骨幹狭小化(図1V)が検出された。「背の高い」椎体がEDSKTの5症例(11歳以上, 図1W, X)、MCEDSの1症例において検出されたが、EDSKTの2小児例(2歳)においては検出されなかった。

④ **皮膚の特徴**: EDSKT, MCEDSのほとんどの症例が、皮膚過伸展性~弛緩(図1P, Q, R)、内出血しやすい、脆弱性(容易に離開し、萎縮性瘢痕を形成, 図1S)、末端早老症ともいえる手掌の深い皺(図1G, I, J)、圧迫への過敏性(上腕での血圧測定が疼痛のためできない)、皮下感染(膿瘍)の反復と瘻孔形成といった皮膚症状を呈していた。過剰な手掌の皺や創部の治癒遅延、内出血のしやすさは、ATCS症例においても認められた。手掌の皺は年齢とともに深くなる傾向にあった(図1G, I, J)。

⑤ **心臓血管症状**: EDSKTの7症例が、巨大皮下血腫を経験していた(図1D, T)。これは、しばしば急激に進行し、入院、輸血、外科的ドレナージを要する重篤な出血に至っており、皮下の動脈または静脈の破裂によるものと推測された。出血時間は、ATCSの1症例、EDSKTの1症例において延長していたが、EDSKTの3症例においては正常範囲内であった。ATCSの2症例、EDSKTの2症例が先天性心疾患を有していた(心房中隔欠損が最多で3症例に認められた)。大動脈弁および僧帽弁の逆流を有するEDSKTの1症例は、感染性心内膜炎を併発した。

⑥ **呼吸器症状**: EDSKTの3成人症例が、(血)気胸を発症した。

⑦ **消化器症状**: EDSKTの7症例、MCEDSの1症例において便秘が、EDSKTの1症例、MCEDSの1症例において腹痛が認められた。ATCSの1症例は共通腸管膜を、別の1症例は胃結腸ひだの欠損および特発性の小腸捻転を呈した。EDSKTの1思春期例は閉塞性イレウスを伴う急性重症胃潰瘍を、2成人例は大腸憩室炎、穿孔を生じた。MCEDSの1症例は、軸捻転に伴う十二指腸閉塞を呈した。

⑧ **泌尿生殖器症状**: ATCSの1症例、EDSKTの2症例、MCEDSの2症例において、腎・膀胱結石が認められた。ATCSの2症例、MCEDSの1症例において、水腎症が認められた。EDSKTの2症例において、拡張し、収縮しない膀胱を呈し、尿路感染症を

反復した。MCEDS の 1 症例では、腎下降と尿道狭窄に伴う水腎症を呈した。ATCS の 5 症例、EDSKT の 3 症例において、停留精巣が認められた。そのうち、EDSKT の 1 症例では、小児期に精巣固定術が行われたが、成人後に性腺機能低下症を呈した。思春期以降の女性症例である EDSKT の 3 症例（うち 2 症例は正常月経、1 症例は初潮遅延と月経不順を呈した）、MCEDS の 2 症例において、乳房発育不全が認められた。妊娠経験のある女性症例はいなかった。

⑨ 眼症状：ATCS の 4 症例、EDSKT の 7 症例において斜視が認められた。EDSKT の 6 症例、MCEDS の 3 症例において屈折異常が認められた。ATCS の 1 症例、EDSKT の 3 症例、MCEDS の 2 症例において緑内障・眼圧上昇が認められた。EDSKT の 2 症例、MCEDS の 1 症例において小角膜、小眼球症が認められ、EDSKT の 1 症例、MCEDS の 2 症例において網膜剥離が認められた。

⑩ 耳症状：EDSKT の 4 症例、MCEDS の 2 症例において聴覚低下（うち EDSKT の 3 症例は高音域の低下）が認められた。

⑪ 成長：ACTS, EDSKT, MCEDS のなかで成長データの SD 値が得られた症例について検討した。出生時身長は平均 -0.5 SD, 体重は平均 -0.6 SD, 頭囲は平均 -0.2 SD であり、軽度の子宮内成長遅延を呈した。出生後の身長は平均 -0.9 SD, 体重は平均 -1.5 SD, 頭囲は平均 -0.2 SD であり、やせ型で相対的頭囲拡大を伴う軽度の成長遅延を呈した。

⑫ 発達・脳神経症状：ATCS の 2 症例、EDSKT の 7 症例、MCEDS の 3 症例において粗大運動発達遅延が認められた。独歩ができた症例では、開始年齢の中央値は 2 歳 1 カ月（1 歳 5 カ月～4 歳）であった。EDSKT の 1 症例（32 歳）は、重度の足部変形と筋力低下により支えなしの独歩はできなかった（図 1 O）。ATCS の 2 症例、EDSKT の 2 症例が軽度の精神遅滞を呈した。ATCS の 1 症例は、1.5 歳の時点では全般的な精神運動発達遅滞を呈していたが、7 歳時の IQ は 90 であった。ATCS の 5 症例、EDSKT の 2 症例において、脳 CT/MRI 上、脳室拡大または左右差が認められた。ATCS の 1 症例では左の透明中隔欠損が認められた。EDSKT の 1 症例では脊髄係留が認められた。

比較的重症例が多く含まれ、また観察時期が出生時から幼少期に集中していた ATCS は、arthrogryposis syndrome すなわち多発関節拘縮症のカテゴリーとし

てとらえられていた。他方、MCEDS は思春期以降の臨床像から EDS のカテゴリーとしてとらえられていた。我々の見出した EDSKT は年齢の幅が広く（2 歳～32 歳）、かつ詳細な情報を入手できたことから、出生時、小児期から成人期に至る臨床像の変化を克明に示しており、D4ST-1 欠損に基づくこれらの症例が、臨床的にも同一疾患とすることを結論付けるものであった。皮膚・関節の過伸展性、各種組織の脆弱性という EDS の中核症状を持つことから、arthrogryposis syndrome というカテゴリーより、臨床的に EDS とのカテゴリーの方が妥当と考えられた。病因論的にも、進行性の結合組織脆弱性に関しては、「D4ST1 欠損→デコリンに付加するグリコサミノグリカンの組成変化（デルマタン硫酸の消失）→デコリンが媒介するコラーゲン細線維の assembly 不全」といったコラーゲンの生合成異常と位置付けられ、EDS との分類が妥当と考えられた。以上から、「D4ST-1-deficient EDS」との疾患名を提案した³⁰⁾。

本論文を投稿した 5 日後、Human Mutation 誌 online 版の Letter to the Editors に Janecke 教授らの意見が掲載された。Janecke 教授らは、ATCS, EDSKT, MCEDS は D4ST-1 欠損に基づく臨床的にも同一疾患であること、しかし、EDS との分類は臨床医にとっても、研究者にとっても混乱をまねくものであると主張した。その根拠は、先天性多発関節拘縮、顔貌上の特徴、口唇口蓋裂、腸の異常、腎の異常、腎結石、筋緊張低下など EDS において通常見られない症状があること、および、分子病態が EDS と異なること、であった。そして、「Dermatan sulfate-deficient adducted thumb-clubfoot syndrome」という疾患名が妥当であると結論付けた³¹⁾。

これに対し、我々は、先の論文を引用しながら、臨床的にも、病因論的にも D4ST-1-deficient EDS との疾患名が妥当であるとする反論を同誌 Letter to the Editors に投稿し、受理されたところである³²⁾。

IV ま と め

我々を含む世界 3 グループが独立に発見した ATCS, EDSKT, MCEDS は、D4ST-1 欠損に基づく臨床的にも同一の疾患である。その症状は、進行性結合組織脆弱性（皮膚過伸展・脆弱性、全身関節弛緩・慢性脱臼・変形、巨大皮下血腫など）および発生異常（顔貌の特徴、先天性多発関節拘縮など）に特徴付けられ、EDS の新病型と結論付けられる。本症の進行性結合

組織脆弱性に関する症状(皮膚過伸展・脆弱性，全身関節弛緩・慢性脱臼・変形，巨大皮下血腫など)は，「デルマタン硫酸欠乏による，デコリンが媒介するコラーゲン細線維の assembly 不全」により説明可能であるが，顔貌の特徴，先天性多発関節拘縮，先天性心疾患，脳神経異常など発生異常と位置付けられる症状もある。このことは，D4ST-1欠損に基づくデルマタン硫酸の欠乏状態が，結合組織の維持のみならず胎児発生においても影響を及ぼしている可能性を示唆している。ATCS，EDSKT，MCEDS を含めた D4ST-1欠損症は，デルマタン硫酸合成経路において唯一同定されている欠損症であり，デルマタン硫酸がヒト発生および細胞外マトリックス維持にどのような役割を果たすのかを初めて示すモデル疾患であるとして脚光を浴びている³³⁾。

筆者は，小児科をバックグラウンドとする clinical geneticist である。Clinical genetics の醍醐味は，1人の患者さんとの出会いを大切に，その人生や家族とじっくり向き合いながら，同時に疾患の本質を臨床的に，また，病因論的につきつめ，新たな疾患概念を構築し，普遍的な生物学的意義を見出し，そして根本的

治療の可能性を探ることにある。筆者は，幸運にも，1人の患者さんとの出会いに始まり，約10年間の歳月をかけて，様々な専門家との共同研究のなかで，症例を集積し，そして，病態を解明することができた。今後も，学内外の共同研究者・医療者の方々とともに，患者さんの健康状態や生活の質が少しでもよくなるよう，本症の病態解明および治療法の開発に，力を尽くしていきたい。

謝 辞

研究に協力して下さった患者さん，ご家族の方々，そして，多くの共同研究者の方々に深謝いたします。また，ともに患者さんを診療している医療者の方々，とりわけ運動機能学講座加藤博之教授，高橋 淳講師，そして形成再建外科学講座松尾 清教授，杠 俊介准教授，永井史緒先生には，心より感謝申し上げます。本研究は，信州医学振興会医学研究助成（2005年度），信州若手研究者萌芽研究支援事業（2007年度），および厚生労働科学研究費補助金・難治性疾患克服研究事業（2009～2011年度）の支援を得て行われた。

文 献

- 1) Steinmann B, Royce PM, Superti-Furga A: The Ehlers-Danlos syndrome. In: Royce PM, Steinmann B (eds), Connective tissue and its heritable disorders. Wiley-Liss, pp 431-523, New York, 2002
- 2) Beighton P, De Paepe A, Steinmann B, Tsipouras P, Wenstrup R: Ehlers-Danlos syndromes: revised nosology, Villefranche, 1997. Am J Med Genet 77: 31-37, 1998
- 3) Mao JR, Bristow J: The Ehlers-Danlos syndrome: on beyond collagens. J Clin Invest 107: 1063-1069, 2001
- 4) Kresse H, Rosthøj S, Quentin E, Hollmann J, Glossl J, Okada S, Tonnesen T: Glycosaminoglycan-free small proteoglycan core protein is secreted by fibroblasts from a patient with a syndrome resembling progeroid. Am J Hum Genet 41: 436-453, 1987
- 5) Quentin E, Gladen A, Roden L, Kresse H: A genetic defect in the biosynthesis of dermatan sulfate proteoglycan: galactosyltransferase I deficiency in fibroblasts from a patient with a progeroid syndrome. Proc Nat Acad Sci USA 87: 1342-1346, 1990
- 6) Okajima T, Fukumoto S, Furukawa K, Urano T, Furukawa K: Molecular basis for the progeroid variant of Ehlers-Danlos syndrome: identification and characterization of two mutations in galactosyltransferase I gene. J Biol Chem 274: 28841-28844, 1999
- 7) Almeida R, Lavery SB, Mandel U, Kresse H, Schwientek T, Bennett EP, Clausen H: Cloning and expression of a proteoglycan UDP-galactose: beta-xylose beta-1,4-galactosyltransferase I: a seventh member of the human beta4-galactosyltransferase gene family. J Biol Chem 274: 26165-26171, 1999
- 8) Schalkwijk J, Zweers MC, Steijlen PM, Dean WB, Taylor G, van Vlijmen IM, van Haren B, Miller WL, Bristow J: A recessive form of the Ehlers-Danlos syndrome caused by tenascin-X deficiency. N Engl J Med 345: 1167-1175, 2001
- 9) Schwarze U, Hata R, McKusick VA, Shinkai H, Hoyme HE, Pyeritz RE, Byers PH: Rare autosomal recessive

- cardiac valvular form of Ehlers-Danlos syndrome results from mutations in the COL1A2 gene that activate the nonsense-mediated RNA decay pathway. *Am J Hum Genet* 74 : 917-930, 2004
- 10) Abu A, Frydman M, Marek D, Pras E, Nir U, Reznik-Wolf H, Pras E : Deleterious mutations in the zinc-finger 469 gene cause brittle cornea syndrome. *Am J Hum Genet* 82 : 1217-1222, 2008
 - 11) Fukuda T, Civic N, Furuichi T, Shimoda S, Mishima K, Higashiyama H, Idaira Y, Asada Y, Kitamura H, Yamasaki S, Hojyo S, Nakayama M, Ohara O, Koseki H, dos Santos HG, Bonafe L, Ha-Vinh R, Zankl A, Unger S, Kraenzlin ME, Beckmann JS, Saito I, Rivolta C, Ikegawa S, Superti-Furga A, Hirano T : The zinc transporter SLC39A13/ZIP13 is required for connective tissue development ; its involvement in BMP/TGF- β signaling pathways. *PLoS One* 3 : e3642, 2008
 - 12) Giunta C, Elcioglu NH, Albrecht B, Eich G, Chambaz C, Janecke A, Yeowell H, Weis MA, Eyre DR, Kraenzlin M, Steinmann B : Spondylocheiro dysplastic form of the Ehlers-Danlos syndrome-an autosomal recessive entity caused by mutations in the zinc transporter gene SLC39A13. *Am J Hum Genet* 82 : 1290-1305, 2008
 - 13) Steinmann B, Gitzelmann R, Vogel A, Grant ME, Harwood R, Sear CHJ : Ehlers-Danlos syndrome in two siblings with deficient lysyl hydroxylase activity in cultured skin fibroblasts but only mild hydroxylysine deficit in skin. *Helv Paediat Acta* 30 : 255-274, 1975
 - 14) Kosho T, Takahashi J, Ohashi H, Nishimura G, Kato H, Fukushima Y : Ehlers-Danlos syndrome type VIB with characteristic facies, decreased curvatures of the spinal column, and joint contractures in two unrelated girls. *Am J Med Genet Part A* 138A : 282-287, 2005
 - 15) Miyake N, Chilton J, Psatha M, Cheng L, Andrews C, Chan WM, Law K, Crosier M, Lindsay S, Cheung M, Allen J, Gutowski NJ, Ellard S, Young E, Iannaccone A, Appukuttan B, Stout JT, Christiansen S, Ciccarelli ML, Baldi A, Campioni M, Zenteno JC, Davenport D, Mariani LE, Sahin M, Guthrie S, Engle EC : Human CHN1 mutations hyperactivate alpha2-chimaerin and cause Duane's retraction syndrome. *Science* 321 : 839-843, 2008
 - 16) Miyake N, Kosho T, Mizumoto S, Furuichi T, Hatamochi A, Nagashima Y, Arai E, Takahashi K, Kawamura R, Wakui K, Takahashi J, Kato H, Yasui H, Ishida T, Ohashi H, Nishimura G, Shiina M, Saitsu H, Tsurusaki Y, Doi H, Fukushima Y, Ikegawa S, Yamada S, Sugahara K, Matsumoto N : Loss-of-function mutations of *CHST14* in a new type of Ehlers-Danlos syndrome. *Hum Mutat* 31 : 966-974, 2010
 - 17) Evers MR, Xia G, Kang HG, Schachner M, Baezinger JU : Molecular cloning and characterization of a dermatan-specific *N*-acetylgalactosamine 4-O-sulfotransferase. *J Biol Chem* 276 : 36344-36353, 2001
 - 18) Mikami T, Mizumoto S, Kago N, Kitagawa H, Sugahara K : Specificities of three distinct human chondroitin/dermatan *N*-acetylgalactosamine 4-O-sulfotransferases demonstrated using partially desulfated dermatan sulfate as an acceptor : implication of differential roles in dermatan sulfate biosynthesis. *J Biol Chem* 278 : 36115-36127, 2003
 - 19) 水本秀二, 菅原一幸 : グリコサミノグリカン合成の微調節メカニズム. 古川綱一, 遠藤玉夫, 岡 昌吾, 本家孝一, 加藤晃一 (編), 糖鎖情報の独自性と普遍性, 蛋白質核酸酵素増刊, pp 1448-1455, 共立出版, 東京, 2008
 - 20) Yasui H, Adachi Y, Minami T, Ishida T, Kato Y, Imai K : Combination therapy of DDAVP and conjugated estrogens for a recurrent large subcutaneous hematoma in Ehlers-Danlos syndrome. *Am J Hematol* 72 : 71-72, 2003
 - 21) Trowbridge JM, Gallo RL : Dermatan sulfate : new functions from an old glycosaminoglycan. *Glycobiol* 12 : 117R-125R, 2002
 - 22) Nomura Y : Structural change in decorin with skin aging. *Connect Tissue Res* 47 : 249-255, 2006
 - 23) Dündar M, Müller T, Zhang Q, Pan J, Steinmann B, Vodopiutz J, Gruber R, Sonoda T, Krabichler B, Utermann G, Baenziger JU, Zhang L, Janecke AR : Loss of dermatan-4-sulfotransferase 1 function results in adducted thumb-clubfoot syndrome. *Am J Hum Genet* 85 : 873-882, 2009
 - 24) Dündar M, Demiryilmaz F, Demiryilmaz I, Kumandas S, Erkilic K, Kendirch M, Tuncel M, Ozyazgan I, Tolmie JL : An autosomal recessive adducted thumb-club foot syndrome observed in Turkish cousins. *Clin Genet* 51 : 61-

64, 1997

- 25) Dündar M, Kurtoglu S, Elmas B, Demiryilmaz F, Candemir Z, Ozkul Y, Durak AC: A case with adducted thumb and club foot syndrome. *Clin Dysmorphol* 10 : 291-293, 2001
- 26) Janecke AR, Unsinn K, Kreczy A, Baldissera I, Gassner I, Neu N, Utermann G, Müller T: Adducted thumb-club foot syndrome in sibs of a consanguineous Austrian family. *J Med Genet* 38 : 265-269, 2001
- 27) Sonoda T, Kouno K: Two brothers with distal arthrogryposis, peculiar facial appearance, cleft palate, short stature, hydronephrosis, retentio testis, and normal intelligence: a new type of distal arthrogryposis? *Am J Med Genet* 91 : 280-285, 2000
- 28) Kosho T, Miyake N, Hatamochi A, Takahashi J, Kato H, Miyahara T, Igawa Y, Yasui H, Ishida T, Ono K, Kosuda T, Inoue A, Kohyama M, Hattori T, Ohashi H, Nishimura G, Kawamura R, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N: A new Ehlers-Danlos syndrome with craniofacial characteristics, multiple congenital contractures, progressive joint and skin laxity, and multisystem fragility-related manifestations. *Am J Med Genet Part A* 152A : 1333-1346, 2010
- 29) Malfait F, Syx D, Vlummens P, Symoens S, Nampoothiri S, Hermanns-Lê, Van Lear L, De Paepe A: Musculocontractural Ehlers-Danlos syndrome (former EDS type VIB) and adducted thumb clubfoot syndrome (ATCS) represent a single clinical entity caused by mutations in the dermatan-4-sulfotransferase 1 encoding *CHST14* gene. 2010. *Hum Mutat* 31 : 1233-1239, 2010
- 30) Shimizu K, Okamoto N, Miyake N, Taira K, Sato Y, Matsuda K, Akimaru N, Ohashi H, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, Kosho T: Delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 deficient Ehlers-Danlos syndrome: observation of two additional patients and comprehensive review of 20 reported patients. *Am J Med Genet Part A* 155 : 1949-1958, 2011
- 31) Janecke AR, Baenziger JU, Muller T, Dündar M: Letter to the Editors. Loss of dermatan-4-sulfotransferase 1 (D4ST1/*CHST14*) function represents the first dermatan sulfate biosynthesis defect, "Dermatan sulfate-deficient adducted thumb-clubfoot syndrome". *Hum Mutat* 32 : 484-485, 2011
- 32) Kosho T, Miyake N, Mizumoto S, Hatamochi A, Fukushima Y, Sugahara K, Matsumoto N. 2011. A response to: Loss of dermatan-4-sulfotransferase 1 (D4ST1/*CHST14*) function represents the first dermatan sulfate biosynthesis defect, "dermatan sulfate-deficient adducted thumb-clubfoot syndrome". Which name is appropriate, "adducted thumb-clubfoot syndrome" or "Ehlers-Danlos syndrome"? *Hum Mutat* (in press)
- 33) Zhang L, Muller T, Baenziger JU, Janecke AR: Congenital disorders of glycosylation with emphasis on loss of dermatan-4-sulfotransferase? *J Med Genet* 93 : 289-307, 2010

(H 23. 7. 4 受稿)