

「症例から学ぶ小児内分泌 入門編」

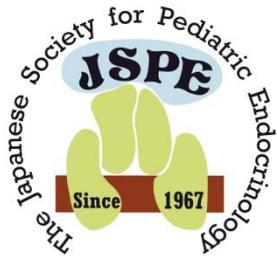


save the children  
NIIGATA UNIV

# 遺伝的異常の診断ABC

新潟大学医歯学総合病院小児科  
長崎 啓祐





# 日本小児内分泌学会 COI開示

筆頭発表者名：長崎 啓祐

日本小児内分泌学会の定める利益相反に関する  
開示事項はありません

# 症例: 14歳女児

主訴: 低身長、無月経

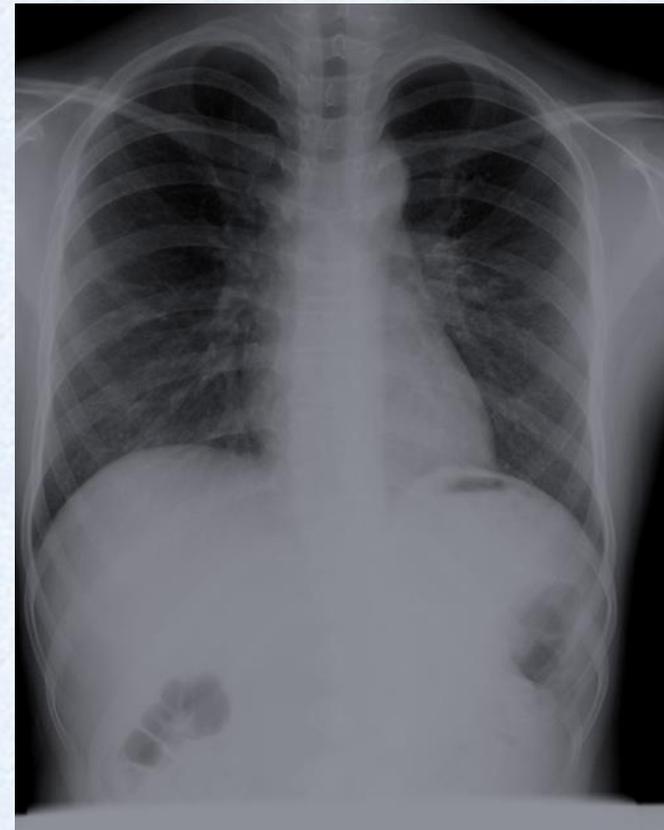
現病歴:

マイコプラズマ肺炎の診断で入院。

入院時の胸部X線で軽度腰部側弯と著明な低身長(-3.8 SD)を認めため、精査を行った。

家族歴: 特記事項なし

父170cm, 母145cm, TH 151 cm



165?cm (叔父よりも小柄だった) □ 145 cm 初潮 13歳 ○



# 既往歴

## 【周産期】

- 妊娠中期に**胎児頸部浮腫**を指摘  
⇒羊水検査で“染色体検査異常なし”
- 妊娠後期:特記すべき異常無し

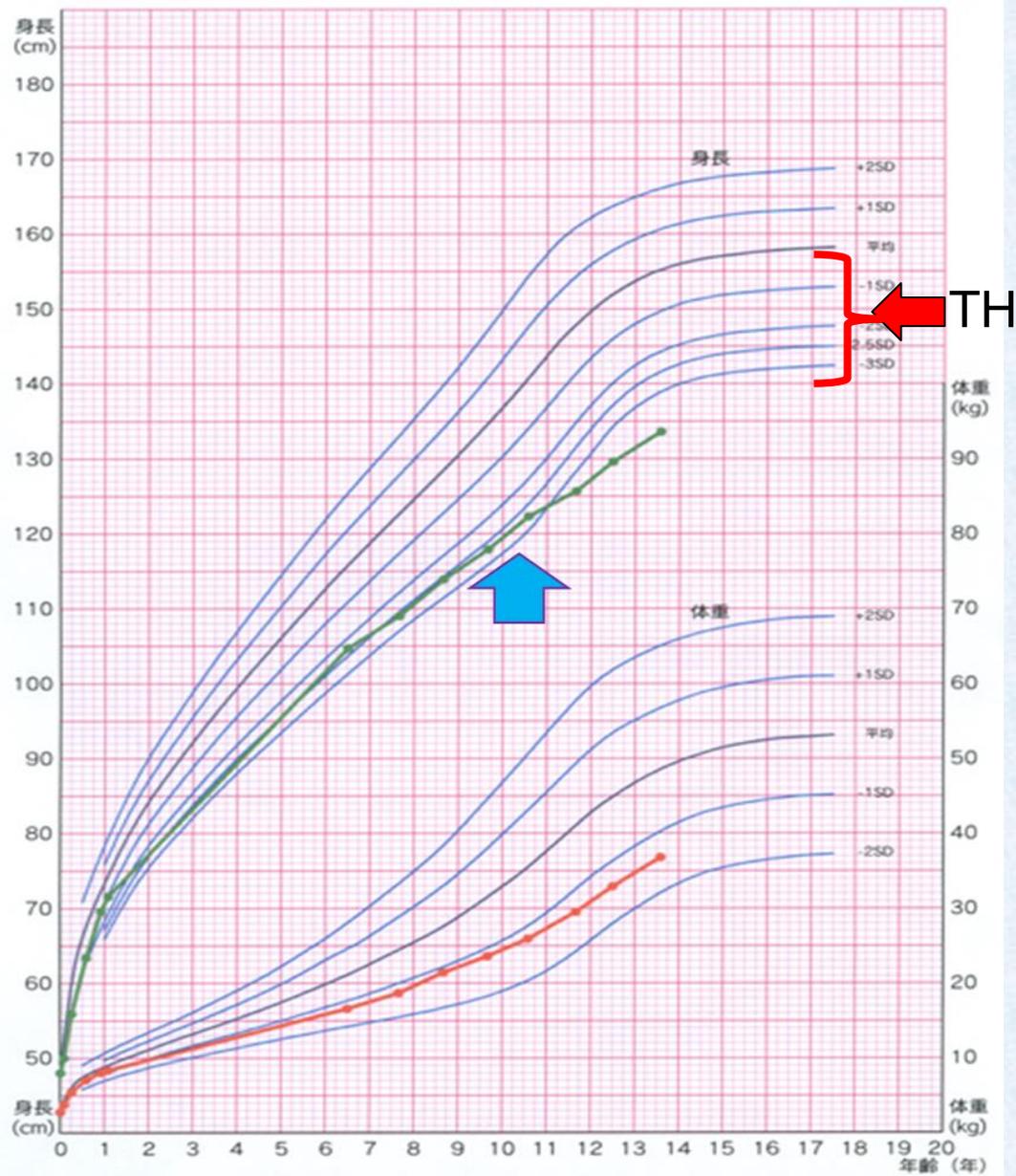
## 【出生歴】

- 在胎37週, 体重2,799 g, 体長 48 cm 正常経膈分娩
- 翼状頸や足背浮腫などなし。
- 仮死や黄疸の遷延なし。その他外表奇形なし。

## 【幼児期以降】

- 中耳炎の既往あり。
- 体格は小さく、小学校で低身長を指摘
- 側弯の指摘なし

# 成長曲線



# 現症：14歳

身長：136.9 cm (-3.8 SD)

体重：42.5 kg BMI: 22.7 (+0.7 SD)

Arm span: 134 cm

やや幅広い胸、短頸/翼状頸あり

外反肘なし、後頭部低位毛髪線あり

Tanner stage: 乳房 III° 陰毛 I°

# 左手X線

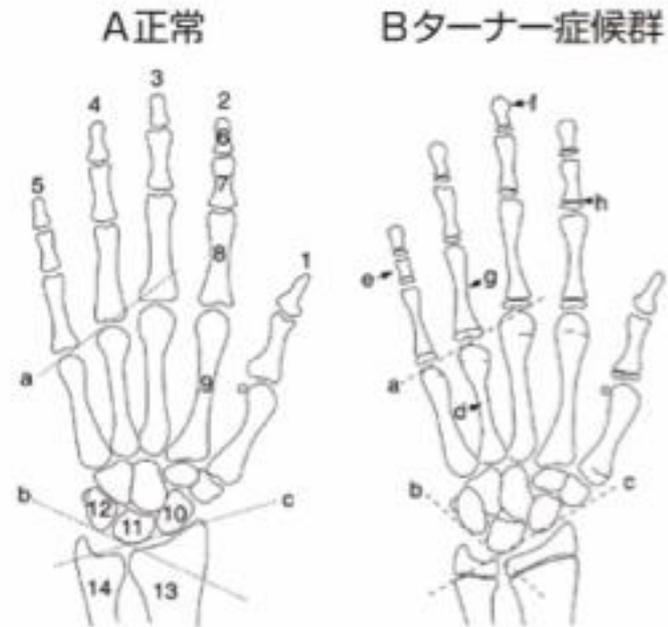


骨年齢: 12.1歳

Metacarpal sign: 陽性

Carpal angle  $110.7^\circ$

(健常者では平均 $131^\circ$ 、ターナー症候群では $117^\circ$ 以下)



手の骨の名称(A)とターナー症候群の手のX線像の特徴(B)

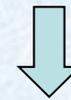
# 血液検査

## <内分泌検査>

FT3	4.2	pg/ml
FT4	1.35	ng/dl
TSH	0.82	μIU/ml
ACTH	12.1	pg/ml
LH	< 0.1	mIU/ml
FSH	1.9	mIU/ml
E2	17.3	pg/ml
IGF-1	262	ng/ml

## <LH-RH負荷試験>

	LH	FSH
負荷前	0.2	1.2
30min	<u>13.7</u>	12.2
60min	9.7	<u>12.6</u>
90min	6.2	11.7
120min	5.2	11.3



思春期相当の反応あり

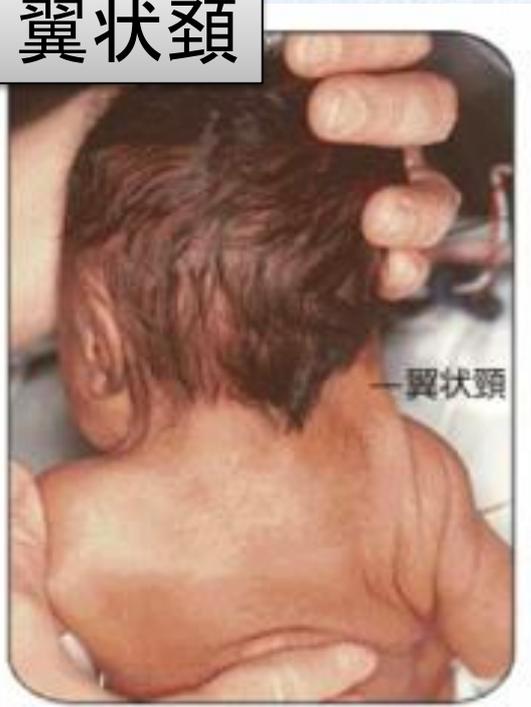
# 症例のまとめ

- 低身長＋ターナー骨格徴候
- 卵巣機能不全なし
- ターナー症候群の10-20%は月経発来があり、本例もターナー症候群を否定出来ず、母と本人に説明し、染色体検査を行った。

## <染色体検査>

G分染法:46,XX    正常女性核型

# 翼状頸



# 後頭部の毛髮線低位



## 高口蓋

Normal



Mild



Moderate



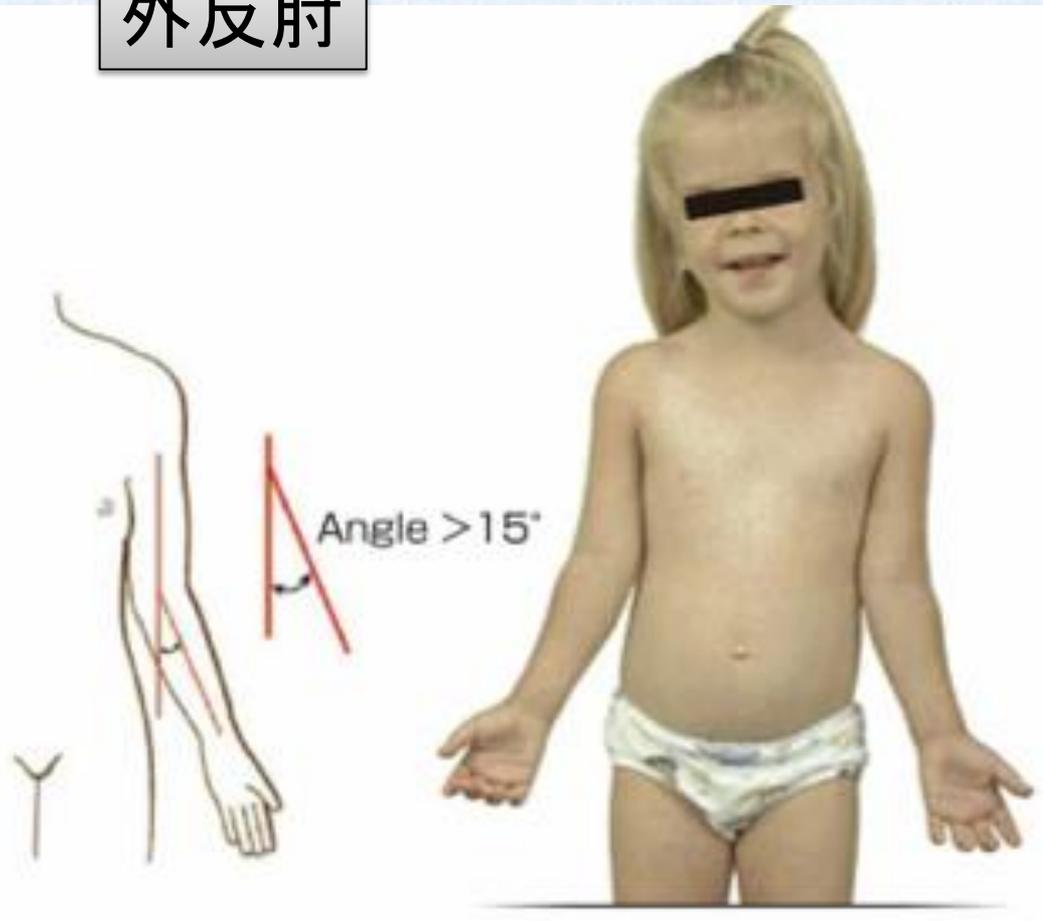
Severe



## 小顎症



# 外反肘



# リンパ浮腫



母斑



爪の低形成



盾状胸



# 症例のまとめ／検討事項

- 低身長＋ターナー骨格徴候
- 卵巣機能不全なし
- 46, XX (G-band)

Q1.これらの結果でターナー症候群の可能性を否定できるか？

Q2.追加すべき検査は？

# 末梢血リンパ球や頬粘膜による染色体検査

**G分染法(20細胞) → 46,XX**

**1. G分染法(100細胞) → 46,XX**

**2. 末梢血性染色体FISH法 → XX**

**3. 頬粘膜細胞性染色体FISH法 → XX**

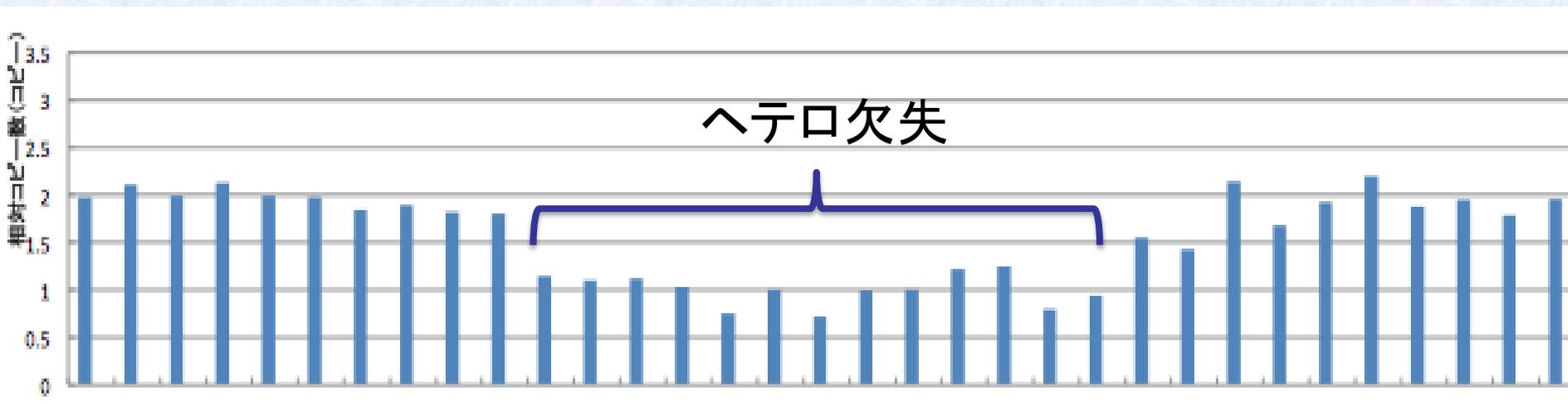
**モザイクの可能性は否定的**

# SHOX遺伝子検査

## ◆ FISH法 (SHOX)

→ SHOX遺伝子領域の欠失なし

## ◆ MLPA (SHOX) → SHOX遺伝子下流に欠失



SHOX遺伝子内の欠失無し

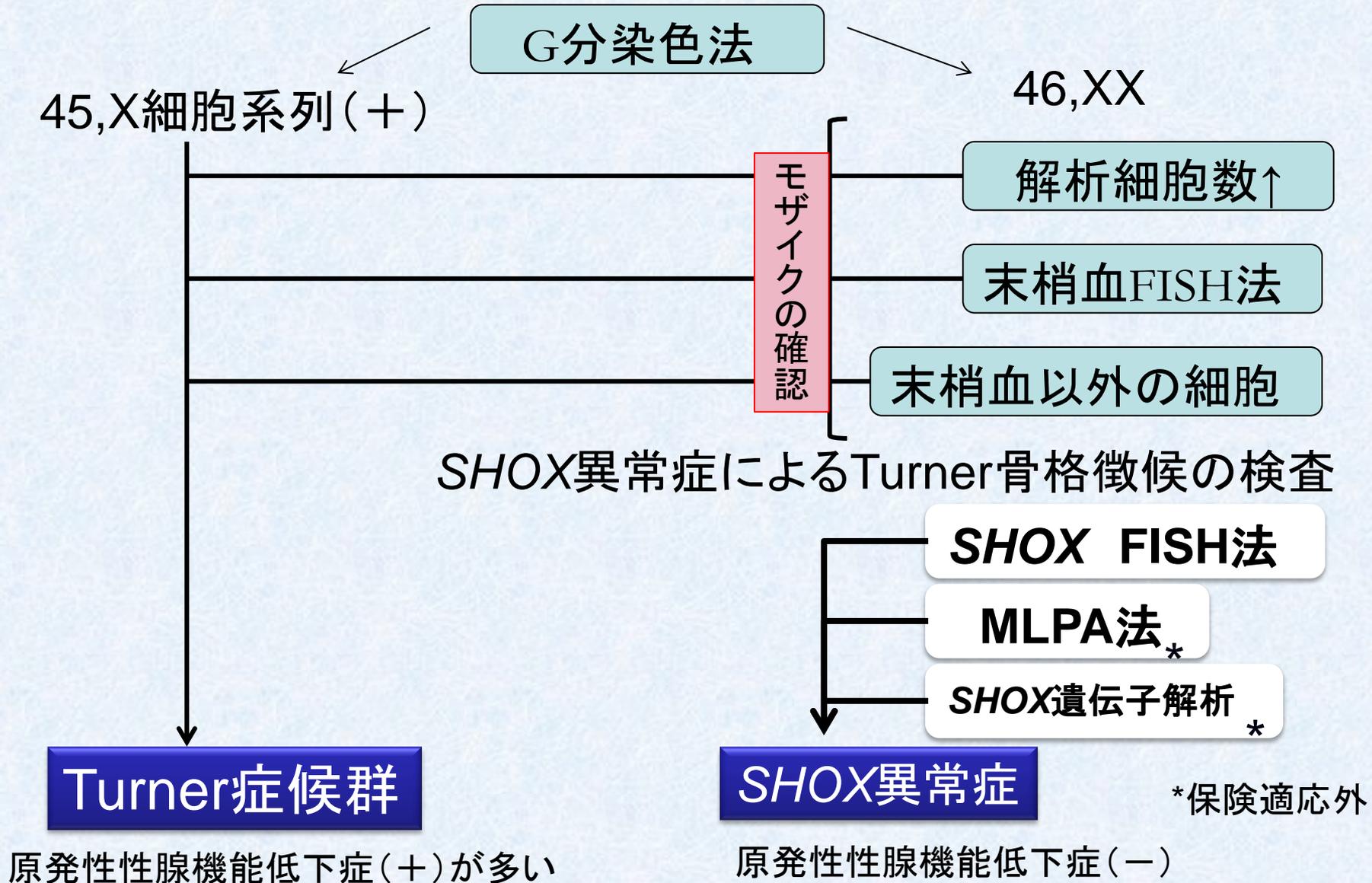
SHOX遺伝子の下流にSHOX regulatory region  
(SHOX-area probe 5,6,7,8,9)を含む欠失あり

# 診断

---

**SHOX異常症による  
低身長、Turner骨格徴候**

# ターナー骨格徴候を呈する低身長女児の検査の流れ



# Q. Turner症候群と確定するための 検査と所見は？

## G分染法

X染色体短腕(Xp)の欠失を確認  
高頻度でモザイク

# 末梢血G分染法

- ✓ 末梢血リンパ球を培養、細胞分裂中期の観察
- ✓ 染色体のカウントは通常20細胞
- ✓ 数の異常や5Mb以上の範囲の構造異常の同定が可能
  - ゲノムの量的不均衡
  - 均衡型構造異常の存在
- ✓ \* 低頻度のモザイクは検出できない可能性

否定できない

カウントする細胞数	除外できるモザイクの95% 信頼限界(%)
10	26
15	19
20	14
30	10
50	6

# X染色体短腕欠失モザイクの否定

1. G分染法での解析細胞数を増やす(20➤50～100細胞)
2. 末梢血によるX染色体(FISH法)検査をする
3. 別な組織(皮膚線維芽細胞の染色体分析、頬粘膜間期核FISH)を行う

# 末梢血リンパ球以外の組織検査

- 培養皮膚線維芽細胞の染色体分析
- 頬粘膜細胞間期核FISH法

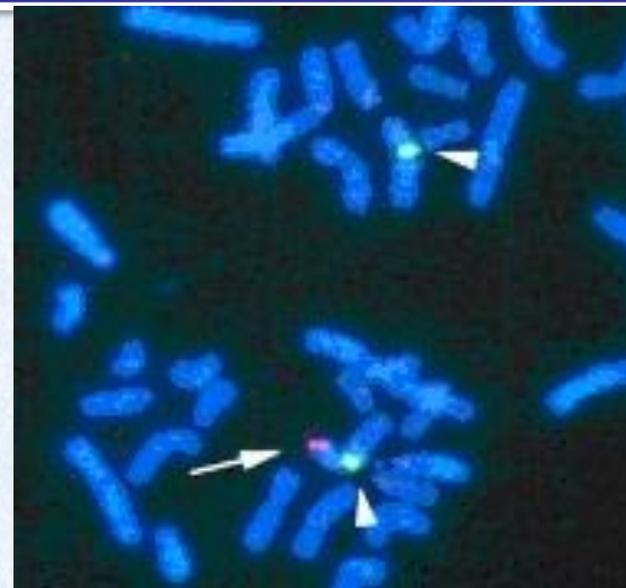
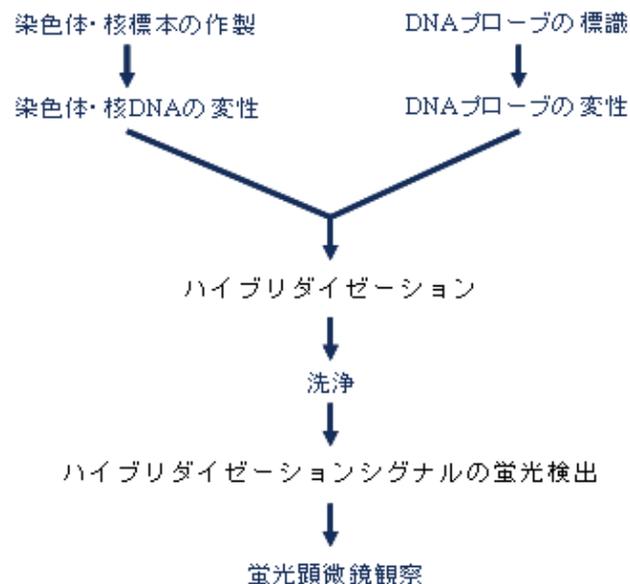
異性間骨髄移植 (BMT)

(滅菌綿棒で擦過し、綿棒ごとスピッツに入れて提出)

同じ個体でも・・・

- ・ 異常核型の淘汰によるモザイク比の変化が組織により異なる可能性

# FISH法 (fluorescence in situ hybridization)



## FISH法で委託可能な先天異常疾患 (内分泌関連疾患)

疾患名	領域	診断率
Williams症候群	7q11.23	>99%
Prader-Willi症候群	15q11.2	65~75%
Sotos症候群	5q35	50~70%
22q11.2欠失症候群	22q11.2	>95%
1p36欠失症候群	1p36	>95%
SHOX症候群	Xp22.3	50-60%
ターナー症候群	Xcen	

# 症例の遺伝子検査

G分染法

46,XX 正常女性核型

G分染法  
(100細胞)

46,XX 正常女性核型

性染色体  
FISH法

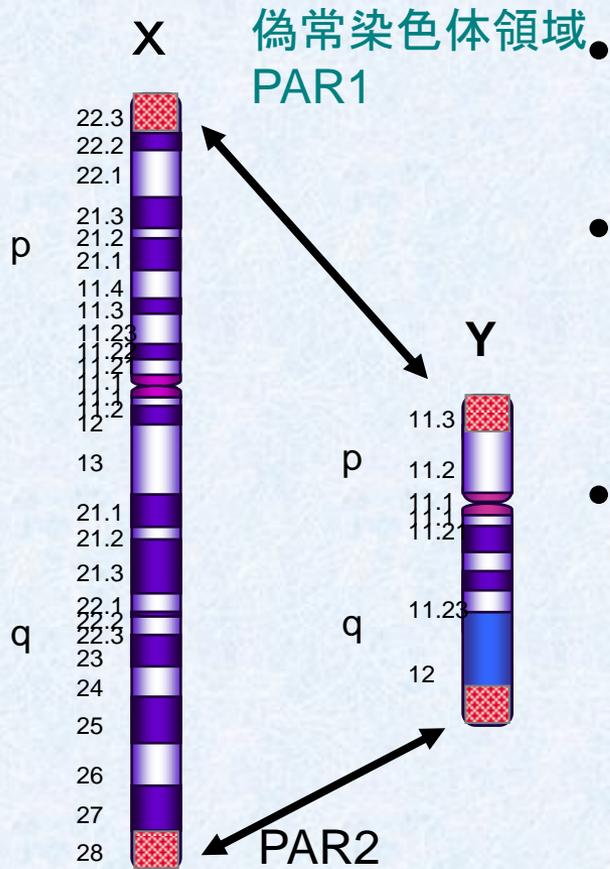
XX 45,Xのcell lineageなし

頬粘膜  
性染色体  
FISH法

XX 45,Xのcell lineageなし

# SHOX遺伝子とは

(Short stature homeobox containing gene)



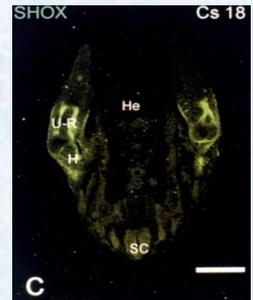
- 1997年に成長促進する遺伝子として発見
- PAR1に含まれるSHOX遺伝子の半量不全(1アリの欠失)がTurner症候群の低身長の原因の一つである。
- 骨成長促進効果と成長板癒合抑制効果を有する。

## 発現パターン解析

在胎8週



在胎12週



ヒト胎児の四肢骨に強く発現

# SHOX遺伝子異常症の症状

---

## 1. 特発性低身長（骨所見正常）

- 特発性低身長患者の約1~2%占める

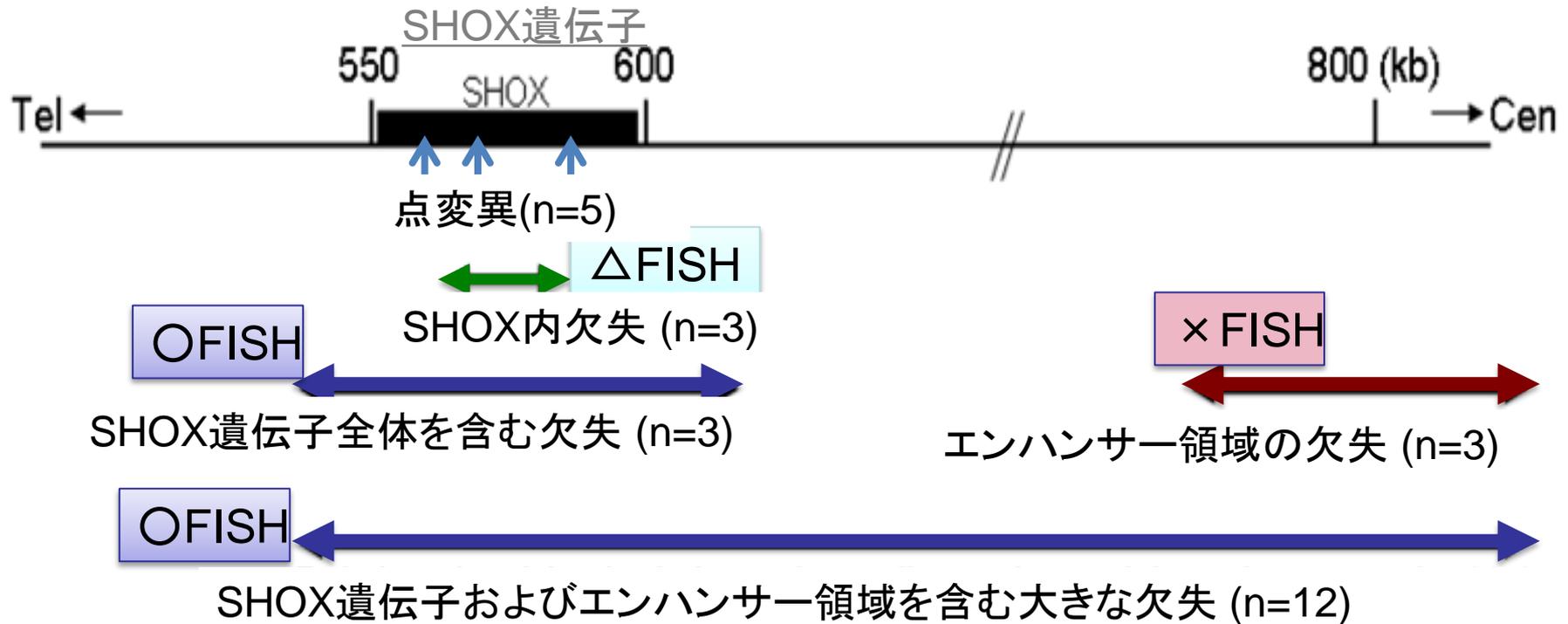
## 2. Leri-Weill dyschondrosteosis (LWD)

- 橈骨の変形・中肢骨短縮→**Madelung変形**
- しばしばTurner骨格徴候
- 80~90%においてSHOX半量不全

## 3. Turner骨格徴候の一部



# SHOX 遺伝子異常症の原因



原因不明 (n=3)

Fukami M et al. J Hum Genet. 2008

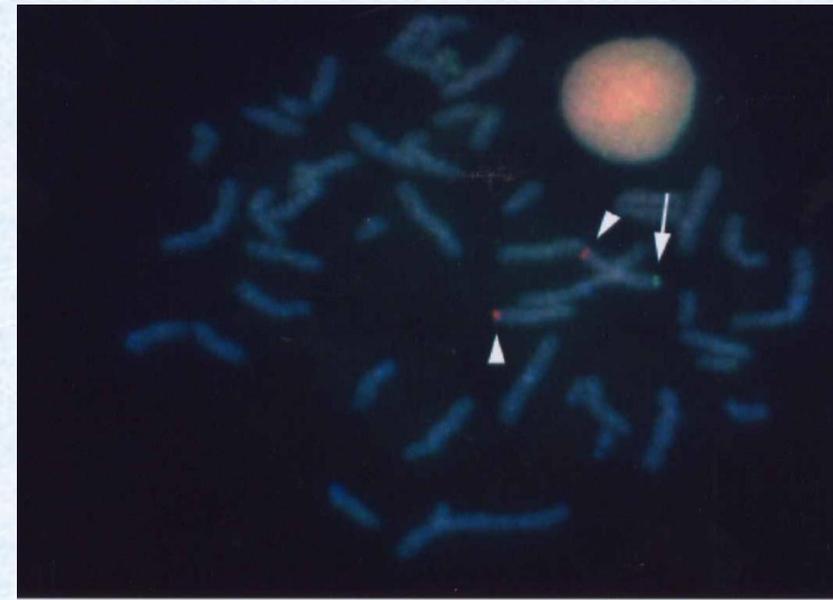
エンハンサー領域内にSHOX発現調節配列が存在し、SHOXの発現異常を招く

# SHOX遺伝子解析(FISH法)の結果

## ➤ SHOX遺伝子領域の欠失なし

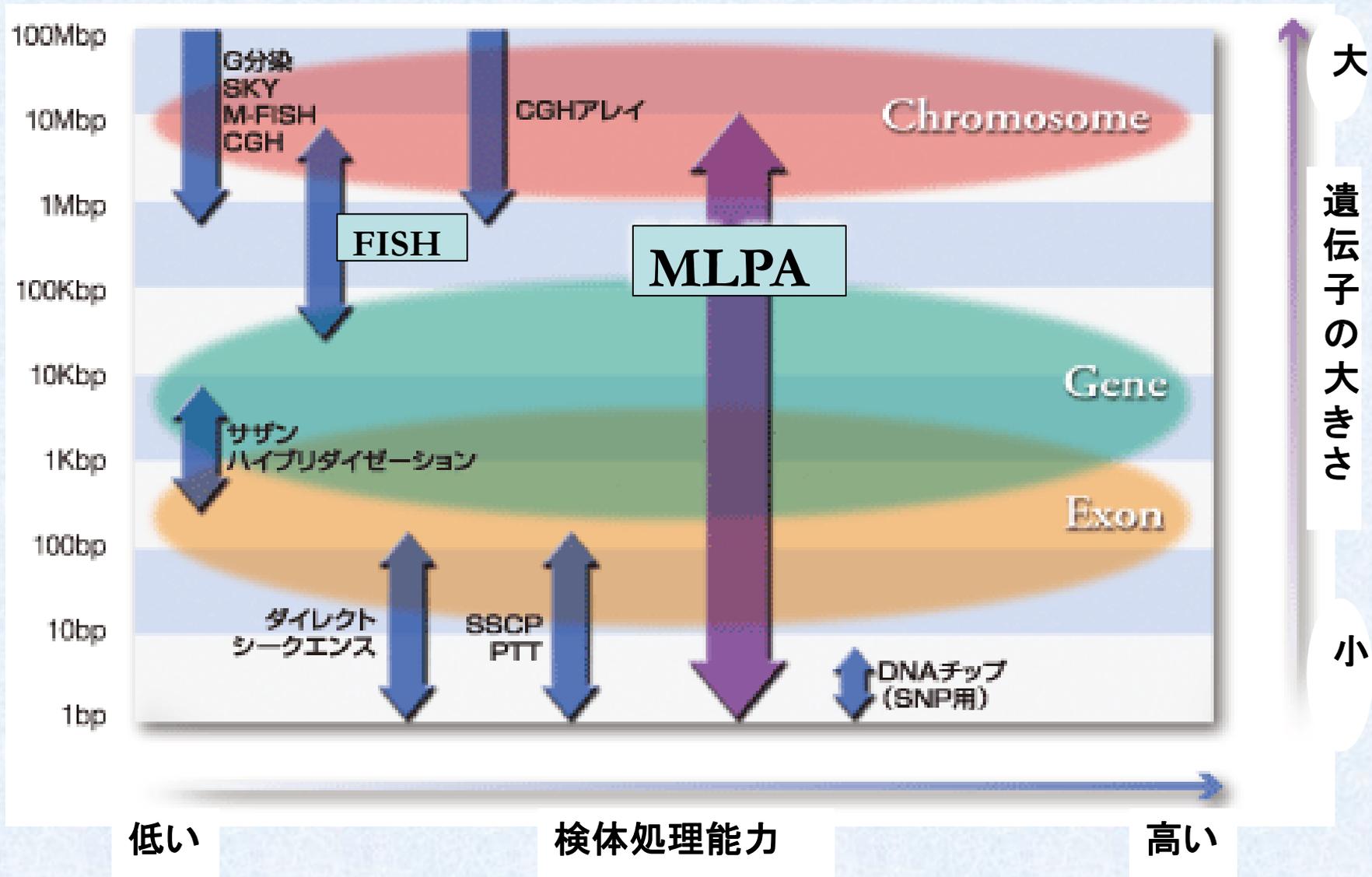
- SHOX遺伝子近傍の周辺が反復配列に富むため、不均衡交叉が生じやすい欠失が多い。
- 本法での診断率は60%程度
- その他、エンハンサー領域の欠失、exonレベルでの微小欠失、遺伝子内変異など
  - MLPA法

(参考 SHOX欠失例)

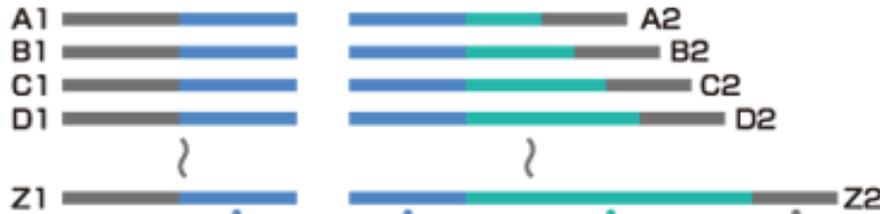


← : SHOX (Xp22.3)probe のシグナル(緑色)  
← : TelVysion Xq/Yq probe のシグナル(赤色)

# 遺伝的検査イメージ



# MLPA法 Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification



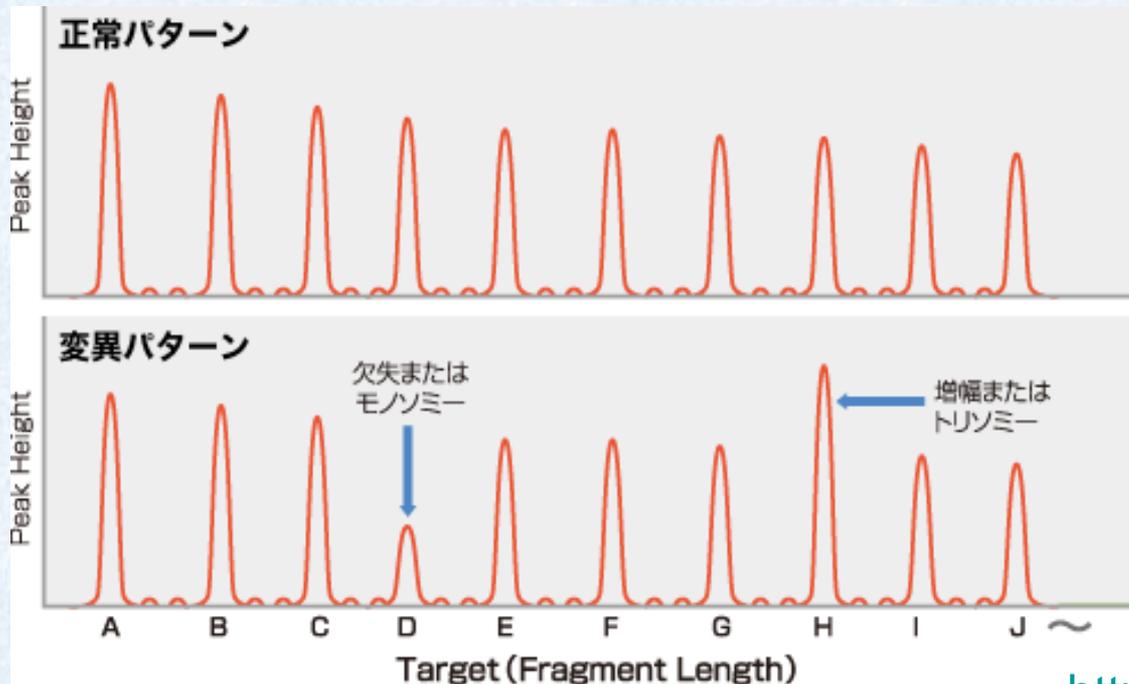
1. プローブのハイブリダイゼーション
2. PCR法による増幅反応
3. PCR産物をフラグメント解析

Fwユニバーサル  
プライマー配列

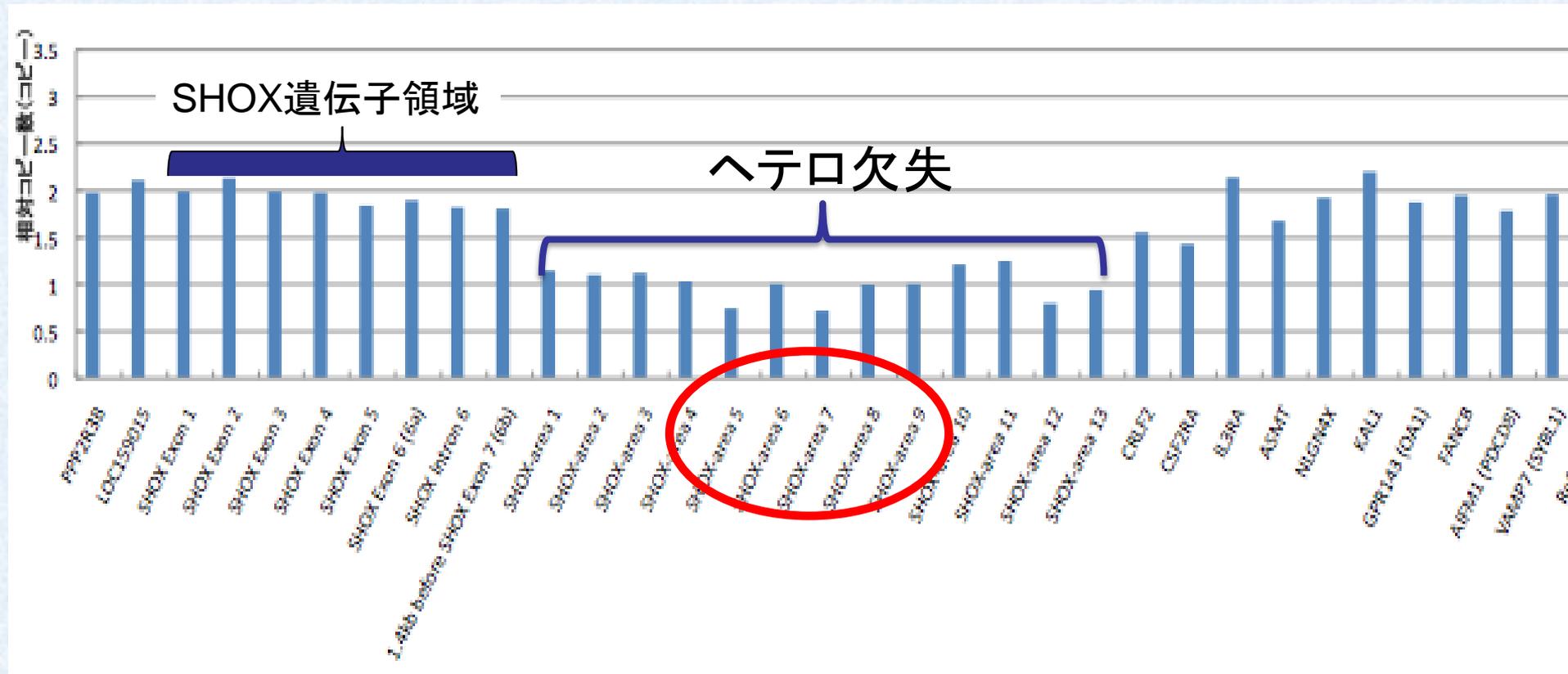
標的遺伝子に特異的に  
ハイブリダイゼーションする塩基配列

サイズ調節  
塩基配列

Rvユニバーサル  
プライマー配列



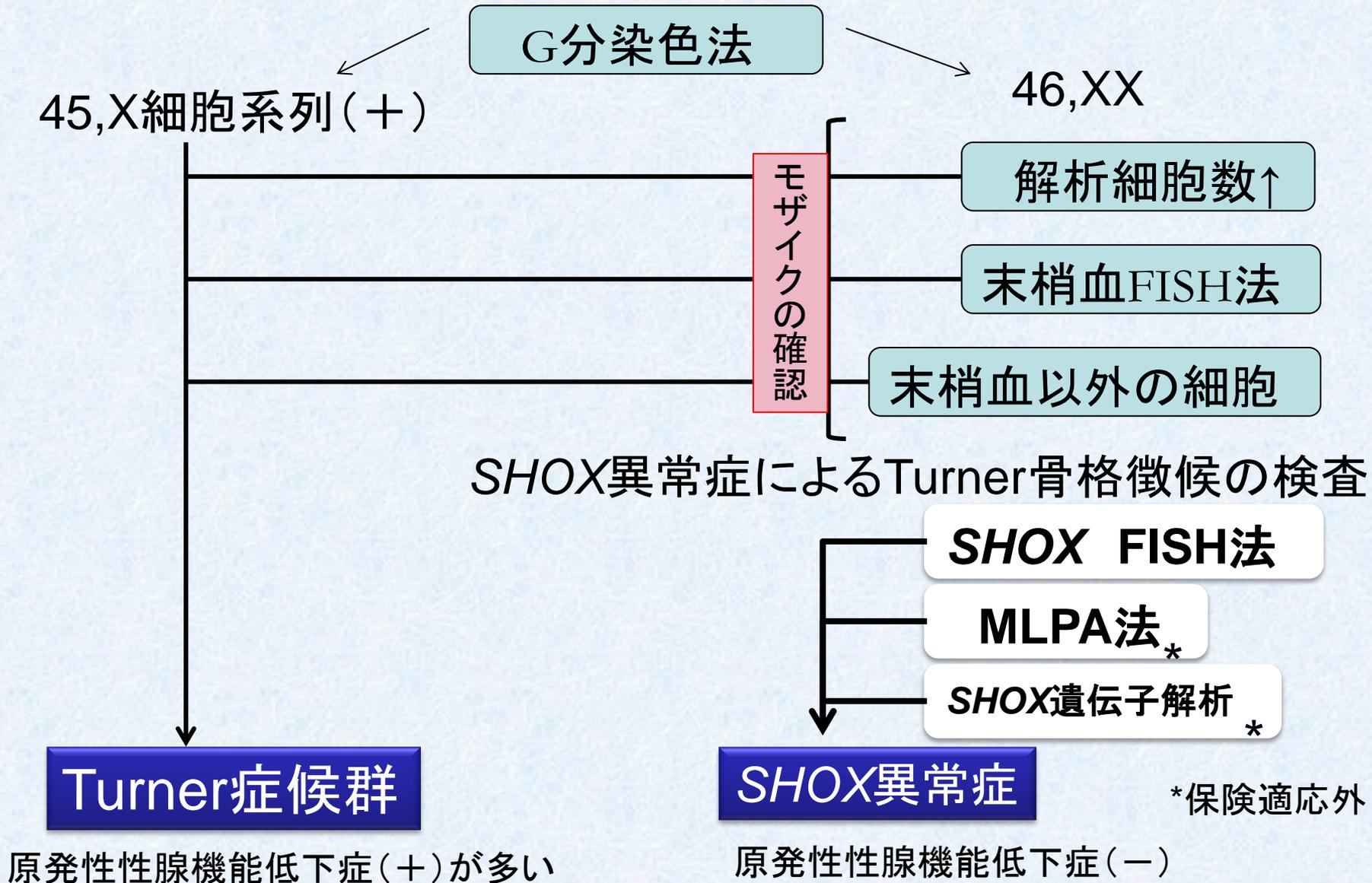
# 患児SHOX解析 (MLPA法)



SHOX遺伝子内の欠失無し

SHOX遺伝子の下流に存在するSHOX regulatory region  
の欠失あり

# ターナー骨格徴候を呈する低身長女児の検査の流れ



# 結語

---

- ・今回我々は、低身長・Turner骨格徴候をきたす女兒においてMLPA法によりSHOX エンハンサー領域の微小欠失を確認できた1例を経験した。
- ・低身長、Turner骨格徴候を呈する症例において、モザイクを含むTurner症候群が否定的であれば、SHOX遺伝子異常症を考えるべきである。

# 遺伝学的検査と結果の解釈

全染色体検査	保険適応
Gバンド分染法(その他高精度分染法など)	○
マイクロアレイ染色体	×
次世代シーケンス解析	×

特定の領域	保険適応
FISH法	○
MLPA法	△ ジストロフィン遺伝子のみ
直接シーケンス法	△ 先天性疾患、難聴等
次世代シーケンス解析	×

# 遺伝学的検査と結果の解釈

- ✓ 染色体検査含めた遺伝学的検査は、検査の意義や必要性を説明し、意思確認書を取得する。
  - 疾患に対する十分な知識が必要
  - 低身長女兒全員に安易に検査すべきでない
- ✓ 疾患毎の各検査の診断率
  - 検査の限界を充分説明する
- ✓ 得られた結果と臨床診断の整合性を検討
  - 結果報告書をそのまま伝えるべきでない。

# Take home message

- ターナー骨格徴候を呈する低身長女児の検査の流れ
  1. 末梢血リンパ球G分染法
  2. 組織間モザイク比率の相違（頬粘膜細胞などの別の組織でも検討）
  3. 卵巣機能不全なければSHOX異常症の検討を
- 小児内分泌科医は、遺伝学的検査に熟知すべきである。