

## 症例報告

## FBN1 遺伝子第 29 番エクソンのスプライシング異常による 早期発症型 Marfan 症候群の一例

小川 陽介<sup>1)</sup>, 中野 克俊<sup>1)</sup>, 進藤 考洋<sup>1)</sup>, 平田 陽一郎<sup>1)</sup>, 犬塚 亮<sup>1)</sup>,  
藤田 大司<sup>2)</sup>, 武田 憲文<sup>2)</sup>, 谷口 優樹<sup>3)</sup>, 岡 明<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大学医学部附属病院小児科

<sup>2)</sup> 東京大学医学部附属病院循環器内科

<sup>3)</sup> 東京大学医学部附属病院整形外科

### Early-onset Marfan Syndrome Caused by a Splicing Mutation of *FBN1* Exon 29: A Case Report

Yosuke Ogawa<sup>1)</sup>, Katsutoshi Nakano<sup>1)</sup>, Takahiro Shindo<sup>1)</sup>, Yoichiro Hirata<sup>1)</sup>, Ryo Inuzuka<sup>1)</sup>,  
Daishi Fujita<sup>2)</sup>, Norifumi Takeda<sup>2)</sup>, Yuki Taniguchi<sup>3)</sup>, and Akira Oka<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Pediatrics, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

<sup>2)</sup> Department of Cardiovascular Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

<sup>3)</sup> Department of Orthopedic Surgery, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

*FBN1* mutations causing severe and early-onset Marfan syndrome (MFS) cluster in exons 24–32. Here, we report the case of a male patient with early-onset MFS who was born with arachnodactyly, annuloaortic ectasia (AAE), and aortic regurgitation (AR). At 4 years of age, he presented with progressive AAE and severe AR and was referred to our hospital. He immediately underwent David procedure. The DNA sequencing of *FBN1* identified a previously reported *de novo* mutation in the splicing donor site of intron 29 [IVS29+1G>A], and transcript analyses revealed that this mutation had mediated an in-frame skipping of exon 29. Currently, the pathogenic mechanisms underlying MFS are classified as dominant-negative effect or haploinsufficiency of *FBN1*. However, splicing mutations can be associated with both mechanisms and require qualitative and quantitative analyses of the gene products. The severe aortic phenotype in our case appeared to be affected by the “location” (*FBN1* exon 29) and the “type” of mutation (splicing mutation).

Keywords: Marfan syndrome, *FBN1* gene, annuloaortic ectasia, neonatal region, exon skipping mutation

*FBN1* 遺伝子の第 24–32 番エクソンの変異は重症かつ早期発症型の Marfan 症候群を呈することが多いことが知られている。症例は 4 歳男児。新生児期より蜘蛛状指，大動脈弁輪拡張症（AAE），大動脈弁逆流症（AR）を呈し，4 歳時に AAE の著明な進行と AR に伴う心不全を認めたため当院 Marfan 外来に紹介され，4 歳 7 か月時に David 手術を施行された。遺伝学的検査で *FBN1* 遺伝子に *de novo* の既報変異 [IVS29+1G>A] を認め，転写産物の解析により本変異がスプライシングの異常による in-frame の第 29 番エクソンの欠失を来すことを同定した。近年，Marfan 症候群の発症メカニズムは dominant negative effect と haploinsufficiency の二つに大別して論ぜられているが，スプライシング異常に伴う変異の場合はそのどちらの形式もとりうるため，遺伝子産物の質的・量的な評価が必要となる。本症例では，*FBN1* 遺伝子の第 29 番エクソンという変異の「位置」のみならず，スプライシング異常という変異の「形式」もまた，その大動脈病変の重症度に大きく寄与したと考えられた。

2017 年 11 月 29 日受付，2018 年 2 月 14 日受理

著者連絡先：〒963–8558 福島県郡山市西ノ内 2–5–20 太田総合病院附属太田西ノ内病院小児科 小川陽介

doi: 10.9794/jspccs.34.77

## はじめに

Marfan 症候群には重症かつ早期に発症する一群があり、それらの群では *FBNI* 遺伝子の第 24-32 番目のエクソンに変異を有することが多いことが知られている<sup>1)</sup>。また、本疾患は遺伝子型と表現型の相関が乏しいとされているが、近年になってその病態解明が進みつつあり、大動脈病変に関しても haploinsufficiency 型変異やスプライシング異常に伴う変異で重症化・早発化しやすいといった新たな知見が報告されるようになった<sup>2,3)</sup>。今回、*FBNI* 遺伝子第 29 番エクソンにスプライシング異常を有し、幼児期に著明な大動脈弁輪拡張症を来して早期に外科的介入が必要となった Marfan 症候群の一例について経験したため報告し、本疾患に関する近年の知見を踏まえて考察する。

## 症 例

症例：4 歳 6 か月男児

内服薬：carvedilol 3.5 mg, losartan 15 mg

家族歴：Marfan 症候群の家族歴なし

現病歴：新生児期に蜘蛛状指に気づかれ、心臓超音波検査で大動脈基部拡張、大動脈弁逆流症 (AR) を指摘された。Marfan 症候群が疑われ、A 病院で定期的にフォローされていた。2 歳 10 か月時に B 病院に紹介された際の心臓超音波検査で、大動脈弁上部は 50 mm 程度に拡張していたが、AR は軽度であったため、carvedilol と losartan の内服を開始され、定期的に通院を続けていた。4 歳 3 か月時に肺炎を契機に AR の増悪および心機能の低下を認めた。この際に呼吸不全を呈したため、一時は挿管・人工呼吸器管理を要したが、肺炎の改善に伴い 2 週間で退院した。な

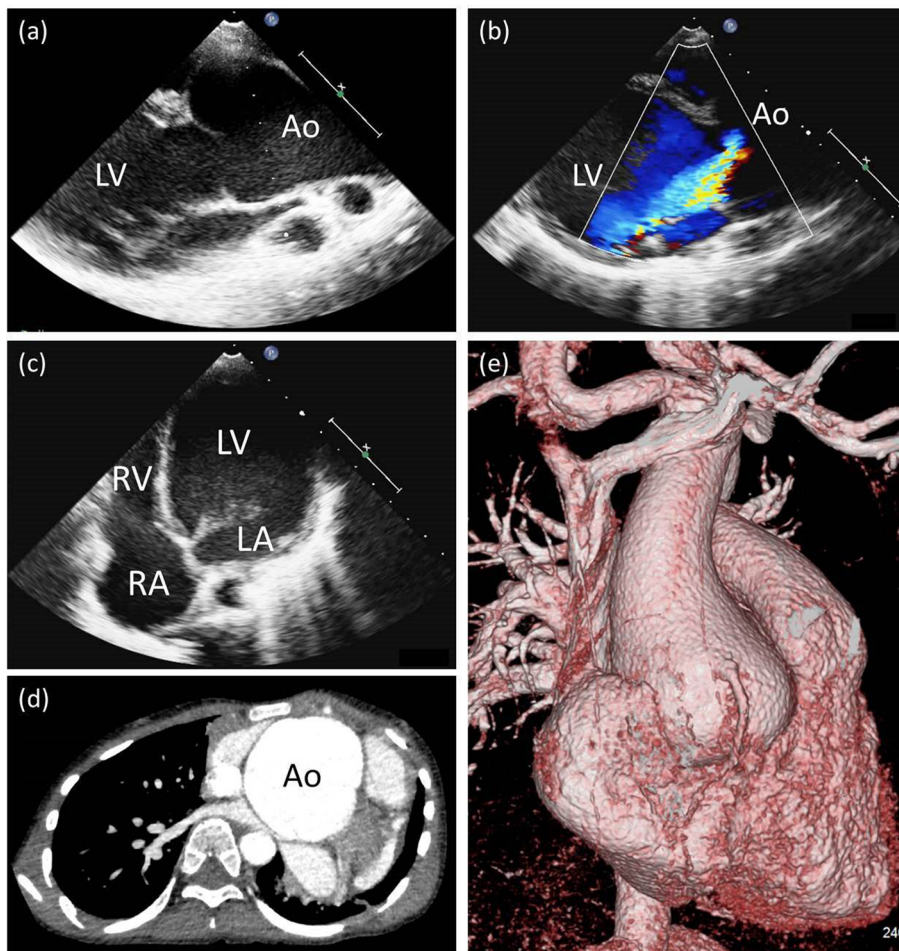


Fig. 1 Echocardiogram and CT scan images

(a) Aortic valve and Valsalva sinus were dilated to 29 mm (206%Normal) and 55 mm (310%Normal) in diameter, respectively (b) Severe aortic regurgitation flow (c) Dilated left ventricle (LVIDd 58mm) (d), (e) Aortic root was dilated to 60 mm without dissection

お、BNPの値は2歳10か月時点のBNP 67pg/mLから、4歳4か月時にはBNP 231pg/mLまで継時的に上昇していた。以上の経過から専門的加療の必要があると判断され、4歳6か月時に当院 Marfan 外来に紹介された。

**理学所見:**身長118cm (+3.5SD), 体重17kg (+0.2SD), 心拍数109bpm, 血圧87/39mmHg, 経皮的酸素飽和度100% (室内気), 両眼瞼裂斜下, 漏斗胸, 両手指の蜘蛛状指, 下節が長い上下肢といった Marfan 症候群に特徴的な身体的徴候を認めた。胸部呼吸音清, 単一I音・II音, 胸骨右縁を最強点とする拡張期雑音を聴取した。腹部肝腫大なし。四肢浮腫なし。眼科診察で水晶体亜脱臼なし。

**検査所見:**当院初診時の血液検査では、BNP 211pg/mLと上昇を認める以外には血算, 生化学, 凝固能に異常を認めなかった。胸部X線写真では、心胸郭比63%で左第4弓の拡大が顕著であった。12誘導心電図では、左室肥大所見およびV4-V6に陰性T波を認め、心筋の障害が示唆された。心臓超音波検査では拡張期左室内径 (LVIDd) 58mmと拡張し、左室駆出分画 (LVEF) 40%と低下していた。また、大動脈弁輪部径29mm (206%Normal), Valsalva 洞径55mm (310%Normal, Z value=15) といずれも著明に拡張しており、重度のARを認めた (Fig. 1(a)~(c))。なお、僧帽弁については逸脱の所見はなく、軽度の逆流を認めるのみであった。胸部造影CTでは大動脈起始部の内径は60mmと拡張を認めたが、大動脈弓や下行大動脈には拡張はなく、大動脈解離の所見も認めなかった (Fig. 1(d) (e))。

### 臨床経過

改訂 Ghent 基準に照らし合わせ、大動脈基部病変の存在と身体的徴候から Marfan 症候群と診断した。本症例は大動脈基部径が50mmを超え、成人の手術適応も満たす著明な大動脈拡張を認めたほか、ARによる左心収縮能の低下も伴っていたため、早期手術が望ましいと判断した。

4歳7か月時に当院心臓外科で David 手術 (自己大動脈弁温存手術) を施行した。なお、術中所見では大動脈弁の破壊はなく、弁の修復は要さなかった。術後の心臓超音波検査ではARの改善が確認されたが、LVEF 30%程度の左室収縮能の低下が遷延し、心室中隔の奇異性運動を伴った。周術期に心筋虚血イベントが発生した可能性を考慮して、術後11日目に心筋シンチを施行したが、梗塞や局所心筋虚血を示唆する

所見は認めなかった。このため、左室収縮能の低下の原因は、術前の長期にわたるARによって生じた慢性心不全にあるものと判断し、心不全治療を強化する方針とした。術後より使用していた milrinone の経静脈的投与に加えて、losartan 15mg/day の内服を再開し、血圧の変動に注意しつつ carvedilol の内服を漸増した。以降はBNPの低下およびLVIDdの緩徐な改善を認め、milrinone は漸減終了し、carvedilol を最終的に5mg/day (0.29mg/kg/day) まで増量して術後63日目に退院した。現在術後2年が経過し、大動脈弁に関しては軽度のARを認めるのみであるが、心不全についてはLVEF 40%, LVIDd 51mm, BNP 100pg/mL程度で退院後から進行はないものの引き続き治療が必要な状態にあり、定期的な外来通院を継続している。

入院中に行われた本症例の Sanger 法による遺伝子解析では、*FBN1* 遺伝子に既報変異 [IVS29+1G>A] を認めた。一方で両親には変異が認められず、*de novo* の変異と判断した (Fig. 2(a))。続いて本変異の変異形式を特定するために、本症例の *FBN1* 遺伝子の cDNA の解析を行った。まず、RNeasy Mini Kit (Quiagen, Hilden, Germany) を用いて本症例とその両親の白血球から total RNA を抽出し、抽出した産物をもとに random hexamers および SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen, Waltham, MA) を用いて一本鎖 cDNA を作成した。続いて、第28番エクソンと第30番エクソンに位置する配列に対応したプライマーを用いて cDNA の PCR を行った。PCR 産物の電気誘導では、wild type に一致する287bpのバンドのほか、患児にのみさらに短い164bpのバンドが検出された (Fig. 2(b))。最後に、増幅した cDNA 断片を direct sequencing により配列解析したところ、123bp に相当する in-frame の第29番エクソンの欠失 (exon skipping mutation) が確認された (Fig. 2(c))。これらの解析から、本変異がスプライシング異常によって *FBN1* 遺伝子第29番エクソンの欠失を来していることを証明した。

### 考 察

Marfan 症候群は全身性の結合組織障害を呈する遺伝性疾患であり、fibrillin-1 タンパクをコードする *FBN1* 遺伝子が責任遺伝子として同定されている<sup>4)</sup>。本疾患は *FBN1* 遺伝子の変異の形式によって幅広い表現型を示すが、その中でも重症かつ早期に発症する一群が知られており、早期発症型 Marfan 症候群や新生

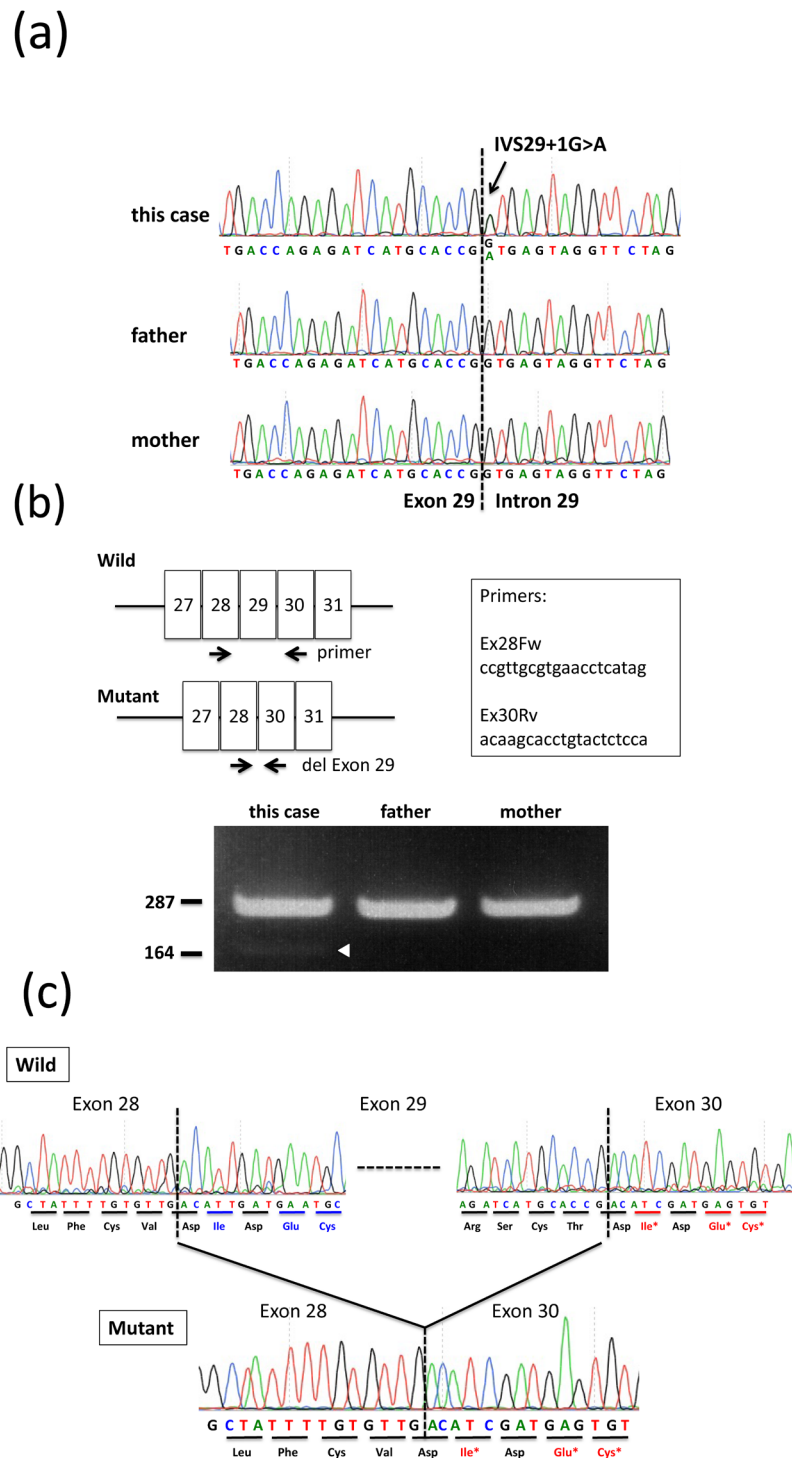


Fig. 2 Genetic findings

(a) *FBN1* genome analysis shows a *de novo* mutation: a heterozygous single-based substitution in the splicing donor site of intron 29 [IVS29+1G>A] in the patient, but not in his parents. (b) Splice analysis of exon 29. [upper panel] PCR primers (arrows) are designed for the splice analysis of exon 29. [lower panel] Each band means cDNA fragments containing exons 28–30 from white blood cells of the patient (lane 1) and his parents (lane 2, 3). Lanes 2 and 3 show a single band corresponding to the wild-type cDNA fragments of 287-bp, while lane 1 shows the other dark band corresponding to the mutant cDNA fragments of 164-bp. The doublet bands indicate the presence of the splicing mutation. (c) Direct cDNA sequencing of wild-type (top) and mutant (bottom) fragments in the patient reveals a 123-bp deletion corresponding to exon 29.

児 Marfan 症候群などと呼ばれ、一般に予後不良群として区別される。こうした一群では *FBNI* 遺伝子の第 24–32 番エクソン (“neonatal region”) の変異と強い相関があることが知られており<sup>1,5)</sup>、とくに、この neonatal region 内の変異が大動脈病変の重症化のリスクファクターであることが近年広く認知されるようになった<sup>1,6)</sup>。

本症例は幼少期から著明な大動脈弁輪部の拡張を認め、早期発症型 Marfan 症候群の臨床像を呈した。遺伝子解析では *FBNI* 遺伝子のイントロン 29 のスプライスドナーサイトに *de novo* の変異を認めた。本変異は Maeda らの早期発症型 Marfan 症候群の症例で既に報告されており<sup>7)</sup>、第 29 番エクソンの欠失を来すスプライシング異常であることが考察されているが、実際に転写産物もしくはタンパクの欠失は確認されていなかった。今回の報告では cDNA の PCR および配列解析を加えることで、本変異により *FBNI* 遺伝子の第 29 番エクソンが欠失することが実際に証明され、neonatal region の部分的欠失が本症例の重症度に深く寄与しているものと推測された。

2010 年に Ghent 基準が改訂されて遺伝子検査が診断項目の一つに追加され、その意義が重要視されるようになった<sup>8)</sup>。それに伴い、*FBNI* 遺伝子の変異の報告総数も増加の一途をたどっており、genotype-phenotype correlations が乏しいとされる本疾患の遺伝学的背景についても理解が進みつつある。そもそも歴史的には、本疾患で 50% 程度を占めるミスセンス変異 (missense mutation) の挙動をもとに「dominant negative effect (強制阻害効果)」が本疾患の主要な遺伝学的メカニズムとされ、変異型タンパクが正常型タンパクの重合と機能を阻害すると考えられてきた<sup>9)</sup>。しかしその後、*FBNI* 遺伝子の変異形式として 30% 程度を占める、ナンセンス変異 (nonsense mutation) やフレームシフト変異 (frame shift mutation) を含めた “premature termination codon (PTC)” 型変異においては、変異遺伝子の転写産物は NMD (nonsense mediated decay) の機構により分解され、実際の microfibril の形成には関わらないことが証明された<sup>10)</sup>。つまり、Marfan 症候群の疾患病原性を決めるのは、変異型タンパクの存在にあるのではなく、正常型タンパクの量に依存するという「haploinsufficiency (ハプロ不全)」のメカニズムも主張されるようになった<sup>11,12)</sup>。このような経緯を踏まえて最近では、Marfan 症候群の変異形式は、ミスセンス変異を中心とする dominant negative effect (DN) 型変異と PTC 型変異を中心とする haploinsufficiency (HI) 型変異の

二つに分けて論ぜられている<sup>3)</sup>。重症度についても、これまで HI 型変異は DN 型変異よりも軽症な表現型が多く、Ghent 基準を満たさないものが多いとされてきたが<sup>9,13)</sup>、近年ではむしろ HI 型変異でも重症例が多く、とくに大動脈病変の重症度との関連が強いとする報告もされるようになった<sup>2,3)</sup>。

一方、スプライシング異常に伴う変異 (splicing mutation) は、*FBNI* 遺伝子の変異の 10~20% 程度を占め、この変異では、in-frame か out-of-frame かで遺伝子産物の挙動が変化するため一概に DN 型変異か HI 型変異かを論ずることはできないが<sup>14,15)</sup>、とくに本症例で認められた in-frame exon skipping mutation に限れば一般的に DN 型の変異形式に分類されている<sup>14)</sup>。DN 型変異は HI 型変異に比べて mild な表現型を呈することが多いとする近年の知見に基づけば in-frame exon skipping mutation の重症度もそれほど高くないことが予想されるが、実際には neonatal region 以外のエクソンの欠失であっても新生児 Marfan 症候群や重症 Marfan 症候群の病態をとる症例が少なからず認められており<sup>14-16)</sup>、in-frame exon skipping mutation 自体を重症化のリスクファクターとする報告もある<sup>14)</sup>。また、通常 DN 型変異では変異型タンパクは正常型タンパクとほぼ同数存在するはずであるが、変異型タンパクの生成が有意に減少する in-frame exon skipping mutation の症例の報告もあり<sup>17)</sup>、dominant negative effect 単独では説明がつかないケースも存在する。このようにスプライシング異常に伴う変異ではミスセンス変異や PTC 型変異とは異なる挙動を示している可能性があるが、症例数が限られるためその全貌は明らかになっておらず、症例ごとに実際に生成されている転写産物やタンパクの解析を行うことで疾患病原性のメカニズムを調べることが望まれる。

ここで、本症例の遺伝学的解析に戻ると、*FBNI* 遺伝子の PCR 産物の電気誘導では、正常アレル由来の cDNA のほかに、変異アレル由来の cDNA のバンドも検出されており、正常型タンパクに加えて変異型タンパクも合成されていることがうかがえるため、過去の報告と同様に DN 型の変異形式が想定される。しかし一方で、正常型 cDNA のバンドに比べて変異型 cDNA のバンドは明らかに薄く、実際に生成される変異型タンパクは正常型タンパクに比べて有意に少ないことが予想される。この原因として、今回の変異に伴って別のスプライシング配列 (cryptic splice site) が現れ、予想とは異なるスプライシングを来している可能性についても検討したが、われわれが調べ

Table 1 Recommendations of surgical timing for patients with Marfan syndrome

adults	children	this case
Ao root diameter > 45 mm	① Ao root diameter $\geq 200\%$ normal (Hannover Medical School) <sup>18)</sup>	Ao root diameter 55 mm
Ao root diameter $\geq 40$ mm if:	② Ao root diameter Z value $\geq 5$ (German Heart Centre) <sup>19)</sup>	310% normal
i. past history of Ao dissection	③ the same as adults (Johns Hopkins Hospital) <sup>20)</sup>	Z value = 15
ii. family history of Ao dissection		
iii. women contemplating pregnancy (Japanese Circulation Society) <sup>22)</sup>		

The patient's aneurysm satisfied all the criteria for adults and children.

た範囲では cryptic splice site の候補となりうる配列を見いだすことはできなかった。また、out-of-frame の exon skipping mutation であれば NMD の機構により変異遺伝子の転写産物が分解されることは知られているが<sup>2)</sup>、in-frame exon skipping mutation でもそうした現象が起きるのかについては定かではなく、結果として今回の検討では変異型 cDNA が減少した機序を解明するには至らなかった。しかし、今回の実験系は定量的な評価を目的としたものではないため推測の範囲でしか述べることはできないにしても、本症例では疾患病原性を決めるほど変異型タンパクが生成されていない可能性があり、むしろ正常型タンパクの量が減少したことによる haploinsufficiency の関与が否定できない。HI 型変異は上述のとおり大動脈病変の重症化との関連が指摘されており、本症例の表現型に作用した可能性も考えられる。今回の解析をもって in-frame exon skipping mutation と haploinsufficiency を関連づけるのは尚早であるが、上述のとおりスプライシング異常に伴う変異の挙動については依然として不明確な点が多く、今後検討すべき課題である。いずれにせよ、本症例が早期から重度の大動脈病変を発症した背景には、neonatal region という変異の「位置」に加えて、in-frame exon skipping mutation という変異の「形式」もまた重症化のリスクファクターとして働いたのではないかと推測される。このように Marfan 症候群の表現型の多様性には、FBNI 遺伝子の変異の「位置」と「形式」の両者が関係しており<sup>13)</sup>、さらに遺伝子産物の質的・量的なバランスが複雑に作用している<sup>12)</sup>。そのため、本疾患の病態解明をさらに進めるうえでは、遺伝子変異の解析のみならず、遺伝子産物の質的・量的な評価も必要となってくるのが予想されるが、とくに小児領域ではまだそうした解析の報告がほとんどなく、今後症例を重ねた検討が必要である。

最後に本症例の手術適応について述べたい。Marfan 症候群に起因する大動脈弁輪拡張症に対して、

小児期の大動脈基部置換術の適応については明確なコンセンサスが得られていない。Hannover Medical School の Ono らの報告では、大動脈基部径が 200% Normal を超える場合を手術適応としており<sup>18)</sup>、同じドイツの German Heart Centre Munich の Lange らは大動脈基部径の Z value が 5 を超える場合を手術適応として提唱している<sup>19)</sup>。一方で、12 歳未満の Marfan 症候群では大動脈の拡張が進んでも解離することは非常にまれであり、大動脈基部径の Z value を手術適応の指標にする必要はないという意見もある。そうした視点から、Johns Hopkins Hospital の Patel らは、小児であっても成人の手術適応に準ずるという立場に立っている<sup>20)</sup>。また、弁温存術を選択する場合には、大動脈弁の破壊が進行する前に手術を行う必要がある<sup>21)</sup>。本症例に関しては、①いずれの施設の手術適応も満たす大動脈基部径の拡張を認め (Table 1)、② AR の継時的な進行を伴い、③心収縮能の低下を来している、という 3 点から早期手術の適応と考えられた。なお、本症例は術後も心機能の低下が遷延し、長期にわたる AR が慢性心不全を招いたと判断されたが、より早期の外科的介入が予後を改善しえた可能性もある。しかし、幼児期の大動脈基部置換術の報告は決して多くなく、長期的な予後を推測するにはさらなる症例の蓄積が望まれる。

## 結 語

著明な大動脈弁輪拡張症を呈し、AR に伴う心不全を伴ったため、4 歳時に David 手術を行った早期発症型 Marfan 症候群の一例を経験した。遺伝学的検索で FBNI 遺伝子に既報変異 [IVS29+1G>A] を認め、本変異がスプライシングの異常により第 29 番エクソンの欠失につながることを証明した。本症例の表現型の重症度には neonatal region の変異であることと in-frame exon skipping mutation であることの両者が

関与したと考えられ、本疾患の病態解明には遺伝子変異の同定のみならず、その遺伝子産物の質的・量的な評価も必要となる可能性が示唆された。

#### 利益相反

本論文について、開示すべき利益相反 (COI) はない。

#### 引用文献

- 1) Faivre L, Collod-Beroud G, Loeys BL, et al: Effect of mutation type and location on clinical outcome in 1,013 probands with Marfan syndrome or related phenotypes and FBN1 mutations: An international study. *Am J Hum Genet* 2007; **81**: 454–466
- 2) Baudhuin LM, Kotzer KE, Lagerstedt SA: Increased frequency of FBN1 truncating and splicing variants in Marfan syndrome patients with aortic events. *Genet Med* 2015; **17**: 177–187
- 3) Franken R, Groenink M, de Waard V, et al: Genotype impacts survival in Marfan syndrome. *Eur Heart J* 2016; **37**: 3285–3290
- 4) Diets HC, Cutting GR, Pyeritz RE, et al: Marfan syndrome caused by a recurrent *de novo* missense mutation in the fibrillin gene. *Nature* 1991; **352**: 337–339
- 5) Putnam EA, Cho M, Zinn AB, et al: Delineation of the Marfan phenotype associated with mutations in exon 23–32 of the FBN1 gene. *Am J Med Genet* 1996; **62**: 233–242
- 6) Detaunt D, Faivre L, Collod-Beroud G, et al: Cardiovascular manifestations in men and women carrying a FBN1 mutation. *Eur Heart J* 2010; **31**: 2223–2229
- 7) Maeda J, Kosaki K, Shiono J, et al: Variable severity of cardiovascular phenotypes in patients with an early-onset form of Marfan syndrome harboring FBN1 mutations in exons 24–32. *Heart Vessels* 2016; **31**: 1717–1723
- 8) Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, et al: The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet* 2010; **47**: 476–485
- 9) Dietz HC, McIntosh I, Sakai LY, et al: Four novel FBN1 mutations: Significance for mutant transcript level and EGF-like domain calcium binding in the pathogenesis of Marfan syndrome. *Genomics* 1993; **17**: 468–475
- 10) Judge DP, Biery NJ, Keene DR, et al: Evidence for a critical contribution of haploinsufficiency in the complex pathogenesis of Marfan syndrome. *J Clin Invest* 2004; **114**: 172–181
- 11) Lima BL, Santos EJ, Fernandes GR, et al: A new mouse model for marfan syndrome presents phenotypic variability associated with the genetic background and overall levels of Fbn1 expression. *PLoS One* 2010; **5**: e14136
- 12) Aubart M, Gross MS, Hanna N, et al: The clinical presentation of Marfan syndrome is modulated by expression of wild-type FBN1 allele. *Hum Mol Genet* 2015; **24**: 2764–2770
- 13) Faivre L, Collod-Beroud G, Callewaert B, et al: Clinical and mutation-type analysis from an international series of 198 probands with a pathogenic FBN1 exons 24–32 mutation. *Eur J Hum Genet* 2009; **17**: 491–501
- 14) Liu W, Qian C, Comeau K, et al: Mutant fibrillin-1 monomers lacking EGF-like domains disrupt microfibril assembly and cause severe Marfan syndrome. *Hum Mol Genet* 1996; **5**: 1581–1587
- 15) Tjeldhorn L, Amundsen SS, Barøy T, et al: Qualitative and quantitative analysis of FBN1 mRNA from 16 patients with Marfan Syndrome. *BMC Med Genet* 2015; **16**: 113
- 16) Le Gloan L, Hauet Q, David A, et al: Neonatal Marfan syndrome: Report of a case with an inherited splicing mutation outside the neonatal domain. *Mol Syndromol* 2016; **6**: 281–286
- 17) Liu W, Schrijver I, Brenn T, et al: Multi-exon deletions of the *FBN1* gene in Marfan syndrome. *BMC Med Genet* 2001; **2**: 11
- 18) Ono M, Goerler H, Boethig D, et al: Current surgical management of ascending aortic aneurysm in children and young adults. *Ann Thorac Surg* 2009; **88**: 1527–1533
- 19) Lange R, Badiu CC, Vogt M, et al: Valve-sparing root replacement in children with aortic root aneurysm: Mid-term results. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013; **43**: 958–964
- 20) Patel ND, Arnaoutakis GJ, George TJ, et al: Valve-sparing aortic root replacement in children: Intermediate-term results. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2011; **12**: 415–419
- 21) Zanotti G, Vricella L, Cameron D: Thoracic aortic aneurysm syndrome in children. *Semin Thorac Cardiovasc Surg: Pediatr Card Surg Ann* 2008; **11**: 11–21
- 22) JCS Joint Working Group: Guidelines for diagnosis and treatment of aortic aneurysm and aortic dissection. *Circ J* 2013; **77**: 789–828