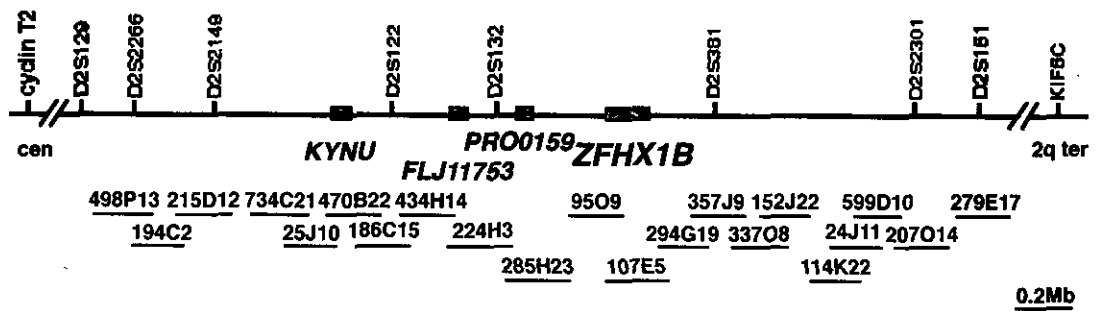


図 1. FISH による 2q22 の断点部位の決定

5 個 (*SCN3A*, *ACVR1*, *GPD2*, *KIF5C*, *Cyclin T2*) の cDNA を用いて FISH を行った。*KIF5C* と *Cyclin T2* の間で転座が見られた。点線は転座した染色体 13 番、実線は染色体 2 番を示す。



FISH (BAC/cDNA)

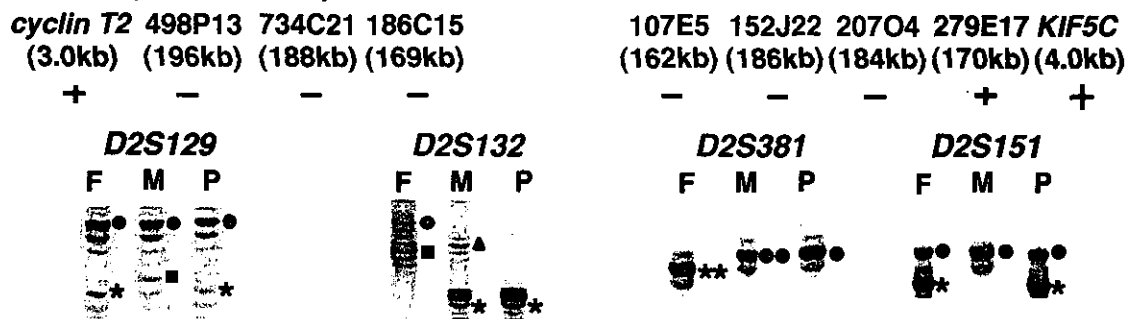
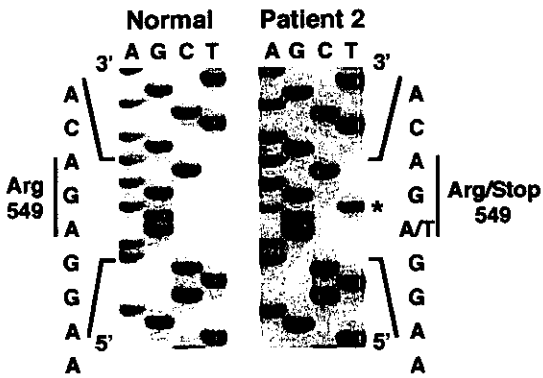


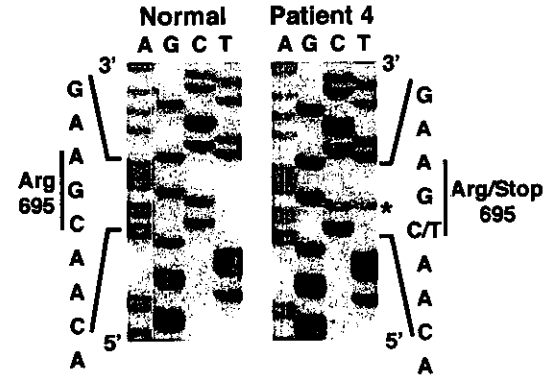
図 2. 症例 1 の 2q22 に見られる染色体欠失

RP11-BAC クローンを用いた FISH と D2S 多型マーカーによる解析により、498P13 と 207O4 の 2 つの RP11-BAC クローンの間には染色体欠失が見られた。欠失領域を青色で示した。現在、4 個 (*KYNU*, *FLJ11753*, *PRO0159*, *ZFH1B*) の遺伝子が含まれる。

1) Patient 2, 1645A→T (R549X)



2) Patient 4, 2083C→T (R695X)



3) Patient 5, 1173 delAACA (392fs394X)

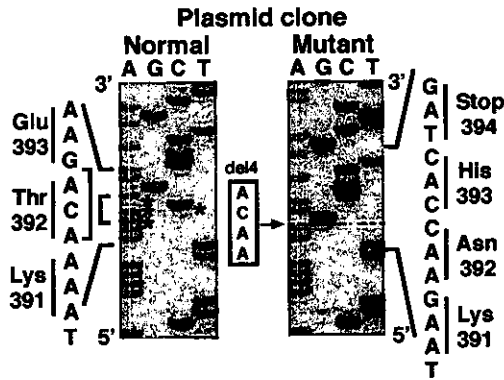


図 3. 症例 2, 4, 5 に見られた *ZFH1B* 変異

症例 2 では 1645 番目の A が T に変化しており、その結果 549 番目の Arg が終止コドン (stop) になっている。同様に症例 4 では 695 番目の Arg が終止コドンになっている。症例 5 では 1173 番目から 4bp (AACA) の欠失が見られ、394 番目のアミノ酸が終止コドンになっている。1)、2)は直接シーケンス法による塩基配列、3)は変異遺伝子をプラスミドにサブクローンした塩基配列を示す (各々右側)。

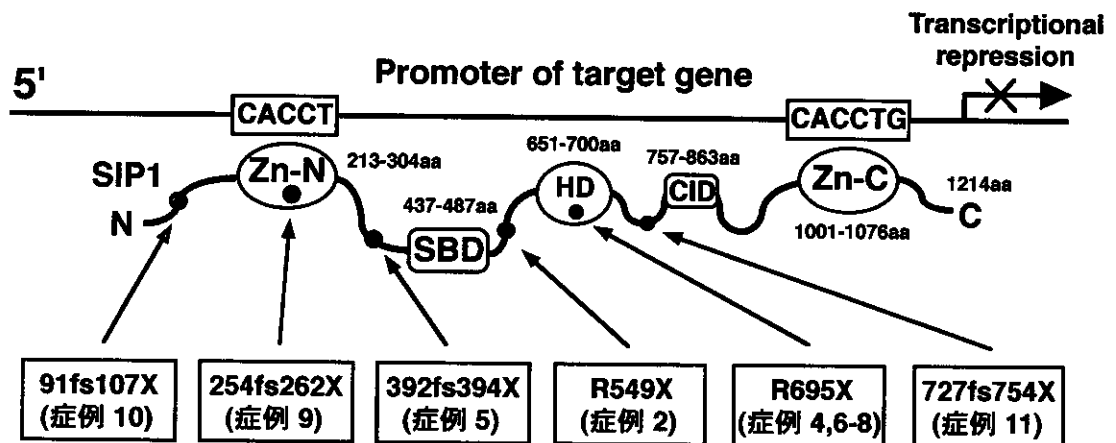


図 4. ヒルシュスプルング症候群の *ZFX1B* 変異

ヒト SIP1 の 5 個の主要ドメインと同定された *ZFX1B* 変異を示す。変異は SIP1 全体に分布している。Zn-N(C): N 末と C 末の zinc finger cluster、SBD: Smad 結合ドメイン、HD: ホメオドメイン様配列、CID: コレプレッサー CtBP 結合配列

表1 ヒルスシュプруг病症候群に見られる臨床症状と ZFHXB 変異

症例 (性、年齢)	変異 (エクソン)	アミノ酸 変化	HSCR	知的障害	てんかん	小頭症	特徴的 顔貌	歩行開始 年齢	心奇形	脳所見 CT、MRI
1 (F, 6)	全欠失	全欠失	+	++	+	+	+	歩行不可	PDA	強度脳萎縮
2 (F, 18)	1645A>T (8)	R549X	+	++	-	+	+	3歳6カ月	PDA/VSD	脳梁欠損
4 (M, 23)	2083C>T (8)	R695X	+	++	+	+	+	8歳	-	未検
5 (M, 23)	1173del4 (8)	392fs394X	+	++	+	+	+	5歳3カ月	PDA	正常
6 (M, 26)	2083C>T (8)	R695X	*	++	+	+	+	6歳	-	未検
7 (M, 28)	2083C>T (8)	R695X	*	++	+	+	+	4歳	VSD	未検
8 (M, 23)	2083C>T (8)	R695X	*	++	+	+	+	2歳6カ月	-	正常
9 (M, 25)	760insCA (6)	254fs262X	-	++	+	+	+	2歳	-	脳萎縮
10 (F, 4)	272delG (3)	91fs107X	-	++	-	+	+	歩行不可	-	脳室拡大
11 (M, 1.5)	2178del2 (8)	727fs754X	*	++	-	+	+	歩行不可	-	脳室拡大

HSCR：ヒルスシュプруг病、PDA：動脈管開存症、VSD：心室中隔欠損症

(+)：症状が見られる、(-)：症状なし、(++)：著明な症状、*：便秘、症例2と7に見られたVSDは自然軽快した。

厚生科学研究費（脳科学研究事業）
分担研究報告書

知的障害を伴ったヒルシュスプルング病の実態調査
中部地区（東海・北陸・甲信越）報告書

分担研究者：長屋 昌宏

（愛知県心身障害者コロニー中央病院 院長）

研究協力者：加藤 純爾、新美 教弘、田中 修一、加藤 禎洋

（愛知県心身障害者コロニー中央病院 小児外科）

研究要旨

2001年に愛知県心身障害者コロニーにおいて発見されたヒルシュスプルング病の新たな関連遺伝子、*ZFH1B*の異常に基づく知的障害を伴ったヒルシュスプルング病について調査する事を目的にした。対象は中部地区に存在する40の小児外科の専門医療施設とした。図1に示した内容からなる調査票を送付し、回答結果を集計分析した。全体で1,344例のヒルシュスプルング病が集計されたが、うち84例、6.3%に知的障害を伴っていた。このうち6例は生後に発生した理由に知的障害の原因を同定できたが、他の78例は先天的な要因か原因不明であった。これらのうち52例、61.9%がDown症で占められた。*ZFH1B*の異常に基づくヒルシュスプルング病に認められる特異な顔貌を伴った症例が13例集計された。この13例と原因不明とされた10例の合わせた23例に遺伝学的追求を今後に行う価値があると思われた。また家族発生例が24家族、中枢性低換気症候群が11例、神経芽腫併発例が3例で集計されたことは、ヒルシュスプルング病の原因が遺伝子異常にあることを強く疑わせる結果となり、さらに神経提の発生との関わりも示唆する結果となった。

A. 研究目的

ヒルシュスプルング病の新たな関連遺伝子が日本において発見され、2001年に報告された。それは2番の染色体に存在する*ZFH1B* (Smad-interacting protein 1, SIP1) という遺伝子である。発見の経緯に触れると、愛知県心身障害者コロニー中央病院で31年間に手術された201例のヒルシュスプルング病の中に5人が通常と異なった臨床経過を示すものがあり、それらは特異な顔貌と身体・

精神共の発達障害、小頭症とてんかんを伴っていた。そしてその1人に2番と13番の染色体に一部転座が発見された。そこで転座が生じた断点を中心に遺伝子分析を行った結果、5人中4人に *ZFHX1B* の異常が発見されたのである。これは知的障害者を多く抱える当施設においては画期的なことであり、小児外科的見地からもヒルシュスプルング病の有力な関連遺伝子と考えられ、しかも広域な臨床像からこの遺伝子は神経提の発生に強く拘わっていることが予測された。そこで、このような病態を伴ったヒルシュスプルング病の実態調査を行うことになり、私は中部地区を担当した。ここではアンケート結果を報告し、併せて我々の症例に関して詳述する。

B. 研究方法

中部地区(山梨、新潟、長野、富山、石川、福井、岐阜、静岡、三重、愛知の各県)の主要小児外科施設へ図1のような内容の調査票を送付した。その主だった内容はヒルシュスプルング病の例数、それに知的障害、身体的発育障害、小頭症、てんかんなどを伴ったヒルシュスプルング病に関する調査からなり、併せて遺伝形式が想定される合併疾患を伴ったヒルシュスプルング病に関して問うた。回答された調査票を集計分析した。我々の症例に関しては診療録などを後方視的に分析した。

C. 研究結果

1. アンケート集計

調査票は40施設中35施設から回答され、回収率は87.5%であった(表1)。

I) *ZFHX1B* (Smad-interacting protein 1, SIP1) の異常に関連した調査

1. ヒルシュスプルング病の総数：ヒルシュスプルング病の例数は0から201例まであり、総数は1,344例となった。
2. 特異な顔貌(眼裂解離、斜視、幅広い鼻根部、尖った顎)を伴った症例：13例、1.0%であった。
3. 知的障害を伴ったヒルシュスプルング病例：84例、6.3%であった。これについては後に詳述する。
4. 身体発育障害を伴った症例：21例、1.6%であった。うち特異な顔貌も伴ったものは9例であった。

5. 小頭症を伴った症例：21 例、1.6%で、うち特異な顔貌も伴ったものは 8 例であった。
6. てんかんを伴った症例：13 例、1.0%で、うち特異な顔貌も伴ったものは 9 例であった。

II) 知的障害例の原因分析

Down 症が 52 例、61.9%と多く、その他の染色体異常が 2 例 (13q(-)と 47XY+der(22) t(11;22)(q23;q11.2)) であった。先天異常として Opitz syndrome が 1 例あった。髄膜炎後遺症などの 2 次的な原因が 6 例含まれた。残りの 23 例のうち 4 例は SIP1 異常が同定された症例であり、9 例が同定されてはいないが、顔貌などからそれが疑われた。そして他の 10 例は原因不明であった。

III) 遺伝子異常が関連すると思われる症例の調査

1. 家族発症例：24 組、1.8%であった。
2. 中枢性低換気症候群 (Ondine's curse) 合併例：11 例 (0.8%) であった。
3. 神経芽腫併発例：3 例、0.2%であった。
4. 他の腫瘍併発例：1 例、0.1%であった。
5. Waardenburg 症候群合併例：認めなかった。
6. すでに報告されている遺伝子異常が同定された例: *RET* が 4 例のみで、*GDNF*, *ENDRB*, *END3*, *Sox10* については同定されなかったか未確認であった。

2. 自験例の分析

201 例のヒルシュスプルング病のうち 23 例、11.4%が知的障害を伴った。知的障害の原因は 8 例が Down 症であり、SIP1 異常症例が 4 例、SIP1 異常が疑われた症例が 3 例、原因不明が 3 例であった。残りの 5 例は後天性の原因であり、髄膜炎が 2 例、水頭症が 1 例、分裂病が 1 例、及び全結腸型に Ondine's curse を伴った症例が 1 例であった。なお原因不明のうちの 1 例は成人発症型のヒルシュスプルング病であった。以下は SIP1 に異常を認めた 4 症例 (表 2) の臨床像を詳述する。

1. 家族歴：性別は男女 2 人ずつである。全例が健康な日本人の両親から出生し、1 から 2 人の姉弟があるが、いずれも健康でヒルシュスプルング病の家族歴は認められない。

2. 現病歴：正常の妊娠を経て、在胎 38 から 41 週で経膈的に出生した。体重は 2800 から 3200g までで平均的であった。頭囲は 31.0 から 33.0cm と日本人の正常値から遙かに小さく、-2.0 から-2.8SD であった。
3. ヒルシュスプルング病について：発症は生後数日であり、腹満と嘔吐を主訴に入院した。無神経節細胞腸管 (aganglionic segment) は rectum が 1 人、rectosigmoid が 3 人と short segment であった。全例が初期治療として sigmoid colon に人工肛門を造設された。著しい発達障害から根治術は通常とは遅れ、生後 12 から 26 ヶ月に Duhamel-Ikeda 法によって行われた。術後経過は全例が順調であった。
4. 心奇形の合併：症例 1, 3, 4 が動脈管開存症を伴い、6 ヶ月から 4 歳 3 ヶ月で結紮術が行われた。症例 1 は加えて心室中隔欠損症も伴ったが加齢とともに自然閉鎖した。症例 2 は心奇形を伴わなかった。
5. 他の合併奇形：症例 2 が肥厚性幽門狭窄症を伴い、1 ヶ月で手術された。症例 3 は頭部 CT 検査によって脳梁欠損症を、また症例 4 は MRI によって高度の大脳皮質の萎縮を伴っていることが明らかにされた。
6. 染色体検査：症例 1, 2, 3 は正常であった。症例 4 が 2 番と 13 番の間とともに q22 で転座を認めた。
7. ZFX1B の分析：症例 1 が 392fs394X、症例 2 が R695X、症例 3 が R549X の変異を認め、症例 5 は ZFX1B を欠損していた。
8. 特異な顔貌について：眼裂離開、斜視、幅広い鼻根部、尖った顎は全例に認められた。症例 2 はそれに低位耳介も伴った。
9. 小頭症とてんかん：小頭症は全例で認められ、脳波での癲癇波も全例で認められた。そして、症例 1, 2, 4 は臨床的にも発作を認めているが、症例 3 は 18 歳の現在も発作に見舞われていない。
10. 身体発達：身長と体重の増加は全例で著しく遅延し、定頸、寝返り、独歩などの開始時期も著しく遅かった。
11. 精神発達：発達指数や、知能指数は全例で極端に低く、症例 1, 2, 3 の教育は養護学校で特殊教育を受け、症例 4 は養護学校小学部で学んでいる。
12. 現況：症例 1 から順に 23, 22, 18, および 6 歳で生存している。歩行は症例 1 と 3 はしっかりとできるが、症例 2 は不安定で、症例 4 は未だ確立していない。身長、体重は全例で平均値を下回っており、症例 1 を除いて-2SD 以下と極端に不足している。頭囲は出生時から小さかったが、加齢とともにその

程度が増していき、現在では -2.9 から -5.7SD にある。言葉は数語を認めるのみで会話は不可能である。また、症例 1 と 3 は異常行動があり、とくに症例 3 には激しい自傷行為を認める。

D. 考察

分子生物学の発達は遺伝学の分野においても隔世の進歩をもたらし、多くの先天異常の原因が遺伝子異常にあることが証明されてきている。外科的先天異常においても同様のことが言えるが、なかでもヒルシュスプルング病はその特異な臨床像から遺伝子異常が強く関わっていると考えられてきた。そして、1993 年に Luo らによって *RET* がヒルシュスプルング病の関連遺伝子として初めて提唱された。それ以来現在までに *GDNF*、*EDNRB*、*EDN 3*、*Sox10* および *ECE1* の 6 個の関連遺伝子が報告されている。従って今回発見された *ZFHX1B* は 7 個目の関連遺伝子ということになるが、臨床像の偏りからもそれは単にヒルシュスプルング病に留まらず、神経提の発生に強く関連している遺伝子と考えられる。ヒルシュスプルング病に知的障害や身体的な発達障害を伴った疾患群としては 1981 年に Goldberg and Shprintzen によって報告された症例があり、現在までに約 20 例の追加報告が認められる。しかし、この疾患群には姉弟発生や家族発生が認められることから単発例である我々の疾患群とは異なっていると考えられる。また、この疾患群に対する遺伝子解析も近年になって *EDNRB* において行われているが、明らかな結論には到っていない。一方、ヒルシュスプルング病に知的障害や身体的な発達障害を伴った今ひとつの疾患群としては 1994 年に Lurie らによって報告されたものがあり、1998 年には Mowat らによって追加報告がなされている。これらはその臨床像から我々の症例と同様の疾患群と思われたが、その遺伝子解析はなされていなかった。しかし、我々が 2001 年 4 月にそれが *ZFHX1B* 遺伝子の異常にあることを報告した後、Cacheux らによって追試が行われ、Mowat によって報告された症例が同様の遺伝子異常であったことが報告された。ここから両者の疾患群は同様のものと考えて良いと思われる。以上の考察から理解されるようにヒルシュスプルング病には種々の表現型が混在しており、知的障害や身体的な発達障害を伴った症例に限ってみてもそれらを単一の原因に絞りきれなかった。今回の調査ではヒルシュスプルング病の 6.3% に知的障害が伴っていた。そのうち 64% は Down 症などの染色体異常が、さらに 7% は生後に獲得した理由(髄膜炎後遺症など)がその原因として明ら

かにされていた。従ってこれらを除いた 23 例に遺伝学的追求の価値があると思われるが、とくに *ZFHX1B* の異常に基づくヒルシュスプルング病に認められる特異な顔貌を伴った症例が 13 例集計されており、これらにはことさら大きな価値があると考えられる。その成果を次年度に期待したい。また家族発症例が 24 家族、中枢性低換気症候群が 11 例、神経芽腫併発例が 3 例で集計されたことは、ヒルシュスプルング病の原因が遺伝子異常にあることを強く疑わせる結果となり、さらに神経提の発生との関わりも強く示唆する結果となった。我々の症例に限ると 11.3%に知的障害を認めており、それは全体での発生率を上回った。それはおそらく設問の特徴から生後に獲得した理由による 2 次的な症例の集計が不正確になったことによると思われる。すなわちこのような症例は全体で 6 例集計されたが、うち 5 例が我々の施設で占められたからである。

E. 結論

1. 中部地区で行ったアンケート調査から特異な顔貌 (眼裂解離、斜視、幅広い鼻根部、尖った顎) を伴ったヒルシュスプルング病は 13 例おり、それは総数 1,344 例の 1.0%であった。
2. この中には我々の施設ですでに *SIP1* 異常が同定された 4 症例が含まれているが、残りの 9 例がそれを強く疑わせた。
3. また原因が同定されなかった症例が 10 例おり、それらの中にも存在する可能性を伺わせた。
4. 知的障害を伴ったヒルシュスプルング病例は 84 例、6.3%と多かったが、うち 61.9%は Down 症で占められた。
5. 次年度では中部地区における *SIP1* 異常症例の実数を求めたい。

F. 研究発表

学会発表

1. 加藤純爾, 長屋昌宏, 新美教弘, 田中修一, 加藤禎洋, 若松延昭: 特異な顔貌と身体精神発達障害を伴ったヒルシュスプルング病症例における新たな遺伝子異常の発見. 第 32 回日本小児消化管機能研究会 2002.
2. M.Nagaya, J.Kato, N.Niimi, S.Tanaka: Experience in 94 neonatal ECMO at an institute in JAPAN. International Society of Artificial Organs (ISAO) 2001.

3. 長屋昌宏, 加藤純爾, 新美教弘, 田中修一, 加藤禎洋, 小林英志: C型食道閉鎖症における上下食道間距離と吻合部の関係. 日本小児外科学会総会 2001.

論文報告

1. M.Nagaya, J.Kato, N.Niimi, S.Tanaka: Extracorporeal membrane oxygenation for newborns with gastric rupture. *Pediatr Surg Int*, 17:35-38,2001.
2. 長屋昌宏、加藤純爾、新美教弘、田中修一、加藤禎洋、甲斐田章子、食道内圧検査と胃食道機能評価。小児外科 33:1289-1294, 2001.

調査票

貴施設名 _____
 所在地 _____
 報告者 _____
 電話 _____ FAX _____

診療年数 年
 その間のヒルシュブルング病(HSCR)の例数 例

A. 今回発見されたZFHX1B (Smad interacting protein-1) の異常に関連した調査

- | | | |
|---|----------------------|---|
| 1. 特徴的な顔貌(hyperterolism, strabismus, wide nasal bridge)を伴った症例 | <input type="text"/> | 例 |
| 2. 知的障害を認める症例 | <input type="text"/> | 例 |
| うち特異な顔貌も伴った症例 | <input type="text"/> | 例 |
| 伴わない症例 | <input type="text"/> | 例 |
| 3. 身体的な発育障害を認める症例 | <input type="text"/> | 例 |
| うち特異な顔貌も伴った症例 | <input type="text"/> | 例 |
| 伴わない症例 | <input type="text"/> | 例 |
| 4. 小頭症を認める症例 | <input type="text"/> | 例 |
| うち特異な顔貌も伴った症例 | <input type="text"/> | 例 |
| 伴わない症例 | <input type="text"/> | 例 |
| 5. てんかんを併発している症例 | <input type="text"/> | 例 |
| うち特異な顔貌も伴った症例 | <input type="text"/> | 例 |
| 伴わない症例 | <input type="text"/> | 例 |

B. 遺伝子異常が関連すると思われる症例の調査

- | | | |
|--|----------------------|---|
| 1. 同胞発生例 | <input type="text"/> | 例 |
| 2. 中枢性低換気症候群(オンディースカース)合併例 | <input type="text"/> | 例 |
| 3. 神経芽腫併発例 | <input type="text"/> | 例 |
| 4. その他の腫瘍(MEN2A, 2B など)併発例 | <input type="text"/> | 例 |
| 5. Waardenburg syndrome 合併例 | <input type="text"/> | 例 |
| 6. すでに明らかにされている遺伝子異常が同定できた症例 | | |
| RET (receptor tyrosine kinase protooncogene) | <input type="text"/> | 例 |
| GDNF (glial cell line derived neurotrophic factor) | <input type="text"/> | 例 |
| ENDRB (endothelin-B receptor gene) | <input type="text"/> | 例 |
| END 3 (endothelin-3 gene) | <input type="text"/> | 例 |
| Sox 10 (gene for a transcription factor) | <input type="text"/> | 例 |

ご協力を深謝いたします。ありがとうございました。

図 1. 中部地区に配付した調査票

表1. 知的障害を伴ったヒルシュスプルング病の実態調査結果（中部地区）

	症例数	率
HSCR総数	1344	100.0
A. 今回発見されたZFHX1Bの異常に関連した調査		
1. 特徴的な顔貌を伴った症例	13	1.0
2. 知的障害を認める症例	84	6.3
Down症数	52	3.9
うち特異な顔貌も伴った症例	13	1.0
伴わない症例	71	5.3
3. 身体的な発育障害を認める症例	21	1.6
うち特異な顔貌も伴った症例	9	0.7
伴わない症例	12	0.9
4. 小頭症を認める症例	21	1.6
うち特異な顔貌も伴った症例	9	0.7
伴わない症例	12	0.9
5. てんかんを併発している症例	13	1.0
うち特異な顔貌も伴った症例	9	0.7
伴わない症例	4	0.3
B. 遺伝子異常が関連すると思われる症例の調査		
1. 同胞発生例	24	1.8
2. 中枢性低換気症候群（オンディーヌカース）合併例	11	0.8
3. 神経芽腫併発例	3	0.2
4. その他の腫瘍(MEN2A, 2B など)併発例	1	0.1
5. Waardenburg syndrome 合併例	0	0.0
6. すでに明らかにされている遺伝子異常が同定できた症例		
RET (receptor tyrosine kinase protooncogene)	4	0.3
GDNF (glia 1 cell line derived neurotrophic factor)	0	0.0
ENDRB (endothelin-B receptor gene)	0	0.0
END3 (endothelin-3 gene)	0	0.0
Sox10 (gene for a transcription factor)	0	0.0

表 2. Summarized clinical features

Items	Details	patient 1	patient 2	patient 3	patient 4
Family	Race of parents	both Japanese	both Japanese	both Japanese	both Japanese
	Brother & sister	a sister & a brother	a sister	two sisters	a sister & a brother
	Consanguinity	yes	yes	yes	yes
	Present state	healthy	healthy	healthy	healthy
	Hirschsprung Disease	none	none	none	none
Pregnancy & labor	Pregnancy	uneventful	uneventful	uneventful	uneventful
	Gestational age	39w2d	38w4d	41w0d	40w4d
	Labour	spontaneous vaginal	spontaneous vaginal	spontaneous vaginal	spontaneous vaginal
	Birth weight	3200g	2800g	3045g	3000g
	Head circumference	31.0cm(-2.4SD)	31.5cm(-2.0SD)	33.0cm(-2.0SD)	31.5cm(-2.8SD)
Year of birth	1977	1978	1982	1994	
Sex	male	male	female	female	
Hirschsprung disease	Onset of symptom	shortly after birth	shortly after birth	shortly after birth	shortly after birth
	Aganglionic segment	short (recto-sigmoid)	short (rectum)	short (recto-sigmoid)	short (recto-sigmoid)
	Initial surgery	sigmoid colectomy	sigmoid colectomy	sigmoid colectomy	sigmoid colectomy
	Radical (age & weight)	12m, 7.2kg	2y2m, 8.2kg	1y0m, 7.0kg	1y6m, 9.0kg
	Surgical procedure	modified Duhamel	modified Duhamel	modified Duhamel	modified Duhamel
	Postoperative course	uneventful	uneventful	uneventful	uneventful
Congenital heart disease	Diseases	PDA+VSD	no	PDA	PDA with PH
	Managements	ligation of PDA at 1y11m		ligation at 4y3m	ligation at 6m
Other associated anomalies			pyloric stenosis (pyloroplasty at 1m)	agenesis of corpus callosum	cerebral cortical atrophy, scoliosis
Chromosome		46,XY	46,XY	46,XX	46,XX(2,13)(q22;q22)
Gene abnormality	ZFHX1B(SIP1)	392fs394X	R695X	R549X	deletion
Facial appearance	Hypertelorism	yes	yes	yes	yes
	Strabismus	yes	yes	yes	yes
	Wide nasal bridge	yes	yes	yes	yes
	Sharp jaw	yes	yes	yes	yes
	Low set ear	no	yes	no	no
Microcephaly		yes	yes	yes	yes
Epilepsy	Seizure	yes (since 1y8m)	yes (since 4y2m)	no	yes (since 11m)
	EEG findings	diffuse irregular polyspike	high voltage slow waves and spike	multifocal spikes	high voltage slow waves and spike
Short stature		yes	yes	yes	yes
Physical development	Head control	5.5m	4m	4m	4m
	Crawling	1y10m	3y10m	2y4m	4y11m
	Walking without support	5y3m	8y0m	3y6m	not yet
	Development	severely retarded	severely retarded	severely retarded	severely retarded
Mental development	DQ	25 at 2y	28 at 3y	10 at 11y	below estimation
	Development	severely retarded	severely retarded	severely retarded	severely retarded
	Education	handicapped class	handicapped class	handicapped class	handicapped class
Present age		23y	22y	18y	6y
Present state	Gait	steadily	staggeringly	steadily	not yet
	Height	162.0cm (-1.5SD)	154.6cm (-2.8SD)	149.0cm (-1.8SD)	101.5cm (-3.0SD)
	Body weight	45.1kg (-1.8SD)	35.6kg (-2.8SD)	37.2kg (-2.2SD)	14.3kg (-2.1SD)
	Head circumference	48.0cm(-5.7SD)	52.0cm (-2.9SD)	49.0cm(-4.4SD)	45.0cm (-5.4SD)
	Speech	a few words	a few words	a few words	none
	Talking	impossible	impossible	impossible	impossible
	Communication	difficult	difficult	difficult	difficult
	Abnormal behavior	yes	no	yes	no
	Self-injury	no	no	yes	no
	Staying		at home	at home	at home

• mean values \pm 1SD of height, body weight, and head circumference of the Japanese:

male adult; 170.4 \pm 5.6cm, 62.0 \pm 9.4kg, 56.0 \pm 1.4cm, respectively.

female adult; 157.9 \pm 5.0cm, 52.8 \pm 7.0kg, 55.2 \pm 1.4cm, respectively.

female 6 year; 116.0 \pm 4.8cm, 21.1 \pm 3.3kg, 52.0 \pm 1.3cm, respectively.

• mean values \pm 1SD of head circumference at birth of the Japanese:

gest. age/head circumference; 38w/34.0 \pm 1.25cm, 39w/34.5 \pm 1.25cm, 40w/35.0 \pm 1.25cm, 41w/35.5 \pm 1.25cm

厚生科学研究費（脳科学研究事業）
分担研究報告書

知的障害を呈する巨大結腸症の集積とその患者の臨床型の確立
—関東地区における調査—

分担研究者：佐伯 守洋（国立小児病院 副院長）

研究協力者：黒田 達夫（国立小児病院 外科医長）

研究要旨

関東地区の日本小児外科学会認定施設を対象に、本研究班の研究目的に基づいて遺伝子異常の背景が疑われるヒルシュスプルング病症例に関するアンケート調査を行った。このうち国立小児病院の1症例に関しては、東大和療育センターの江添先生を介して愛知県コロニー研究所にてZFHX1B (SIP1) 遺伝子の解析が行われた。一時調査に回答のあった施設は大学病院 11、小児総合医療施設（小児病院）4、一般病院小児外科 4 の計 19 施設で、調査対象となったヒルシュスプルング病症例は、各施設 3～36 年の診療年数の間で合計 1,278 例であった。

SIP1 遺伝子異常に関連する症状として、知的障害と特異な顔貌を呈する症例数は 10 例 (0.78%) であった。一方、中枢性低換気症候群は 7 例 (0.55%)、Waardenburg 症候群は 5 例 (0.39%) であり、神経堤の発育、分化に関係に深い SIP1 遺伝子異常は、いわゆる神経堤障害性疾患 (neurocristopathy) の中核をなす疾患である可能性が考えられた。

自験例の解析では SIP1 遺伝子のホットスポットにナンセンス変異が発見された。この症例は生直後より特異な顔貌を呈し、いわゆる floppy infant であった。さらに、消化器、循環器、泌尿器と多臓器にわたる先天異常を指摘されており、4 歳 6 ヶ月の現在、発達を認めるものの発達障害が顕著で、つかまり立ちはできない。若松、長屋らの報告している症例と比較して、多臓器にわたる先天異常や発達遅滞の程度がより重症であると思われ、今後の経過に関しては prospective な観察が注目される。

A. 研究の背景・目的

若松、長屋らによって報告されたヒルシュスプルング病患者における SIP1 遺伝子の異常は、臨床的には知能障害などの特異な臨床像を呈する一群のヒルシュスプルング病症例の診断、管理の上で重要であり、また、神経系、特に神経堤の発育分化の観点より本症の病因を解明する上で極めて重要な手掛かりを提供するものと思われる。しかしながら、知能発育障害や特異な顔貌を伴った特異な臨床像を呈するヒルシュスプルング病症例は極めて稀であり、このような症例の集積と解析が必要と考えられる。本研究では、関東地区を対象にしてこのような症例を探し出し、その頻度を調べる目的で、地区内の小児外科施設の協力を得て調査、分析を行った。

B. 研究の対象と方法

1. 関東地区の日本小児外科学会の認定施設を対象に、本研究班の統一プロトコールに基づいたアンケート調査を行った。
2. 国立小児病院の1症例に関しては、東大和療育センターの江添先生を介して患児の血液検体を愛知県コロニー研究所へ送られ、遺伝子異常の解析が行われた。この症例に関しては、国立小児病院においても遺伝子異常の検査に関して母親に説明され、インフォームドコンセントが得られた。

C. 研究結果

1. 関東地区アンケート調査集計

1) 回答施設および調査症例数

これまでの一次調査に協力して回答のあった施設は大学病院 11、小児総合医療施設（小児病院）4、一般病院小児外科4の計 19 施設であった。

これらの施設で調査対象となったヒルシュスプルング病症例は、各施設の3～36年の診療年数の間で合計 1,278 例であった。

2) SIP1 遺伝子異常に関連した臨床症状

上記の対象のうち、SIP1 遺伝子異常の症例と類似の症状、所見のあった症例数は、以下のものであった。

特異な顔貌を呈した症例

(21trisomy など既知の疾患を除く) 10 例

知能障害を認める症例

(21trisomy など既知の疾患を除く)	18例
このうち特異な顔貌を合併する症例	10例
身体的発育障害を認める症例	4例
このうち特異な顔貌を合併する症例	1例
小頭症を呈する症例	2例
このうち特異な顔貌を合併する症例	1例
てんかんを併発している症例	4例
このうち特異な顔貌を合併する症例	2例

3) 他の遺伝子異常に関連した症例

SIP1 以外の既知の遺伝子異常による症候群や、遺伝的背景の強い症候群に関する調査結果は以下のものであった。

同胞発症のヒルシュスプルング病症例	11例
中枢性低換気症候群	7例
神経芽腫合併例	2例
その他の腫瘍 (MEN など) 合併例	0例
Waardenburg 症候群	5例
RET 遺伝子異常の証明された症例	2例
GDNF 遺伝子異常の証明された症例	0例
ENDRB 遺伝子異常の証明された症例	1例
END3 遺伝子異常の証明された症例	0例
Sox10 遺伝子異常の証明された症例	0例

2. 自験例の解析

症例：N.B. H9年6月6日生 4歳6ヵ月、男児

診断：ヒルシュスプルング病

動脈管動脈瘤

尿道下裂

脳波異常 (軽度)

精神発達遅滞

発育障害、発達障害

家族歴：血族婚なし 同胞 7歳の兄が1名 健康 類症なし

現病歴：

妊娠3ヵ月時に切迫流産、母体安静を要した。

39週に頭圍自然分娩で出生。臍帯巻絡あり、すぐ泣かなかった。

生下時体重3115g、頭圍33cm。

生直後より腹部膨満に気づかれ、生後2日目に国立小児病院新生児科に入院。

精査によりヒルシュスプルング病と診断された。この際動脈管動脈瘤を指摘された。保存的管理の方針で生後40日目に退院。

5ヵ月時に再度入院し、ヒルシュスプルング病の根治手術を受けた。切除標本の病理組織学的検討より無神経節部は直腸までの「直腸型」と診断された。術後ガスの排出は良く見られ、肛門指診でもアカラジアの所見はみられないが自排便はほとんど見られず、グリセリン浣腸による排便管理を要した。

退院後もグリセリン浣腸による排便管理をしている。

1歳ごろ動脈管動脈瘤は機能的に自然閉鎖した。

2歳時に中耳炎に対してチューブを留置された。

3歳時に尿道下裂の手術を施行された。

身体所見：

身長96cm、体重13Kg 頭圍47cm 胸圍57cm（4歳6ヵ月、現在）

小頭症とhypertelorismあり 特異な顔貌を呈する

心肺 聴診上以上なし 腹部 肝脾腫なし

四肢 手足とも指が細い 右拇指のMP関節の伸展制限あり

固視、追視あり 左眼球 外転制限あり 瞳孔左右差なし

眼振なし、表情筋左右差なく、麻痺みられず 嚥下障害なし

筋緊張はやや低下 筋力は正常

深部腱反射 上肢正常 下肢 PTR はやや亢進（左右差なし）

Babinski 反射 なし 不随意運動なし

発育・発達：

発達は予定9ヵ月、座位14ヵ月、寝返り2歳、四つ這い4歳。

つかまり立ちは出来ない

有意語はなく言語理解もみられず

脳波に軽度の異常を指摘されているが、現在までけいれん発作はない。

発達はおくれながらも認められる。

7ヵ月齢より自傷行為を指摘されている（手で顔を叩く）

遺伝子解析結果：

2083 番目の C (シトシン) が T (チミン) に変化 (2083C→T)。その結果、695 番目のアミノ酸 (アルギニン) が終止コドンに変わっており (R695X)、そこで蛋白質は終わる。(ナンセンス変異)

D. 考察

今回の関東地区のアンケート調査は、一次調査の段階で回答施設が 18 例で回答率は非常に低くなっているが、回答施設には症例の集中する主要な小児病院、大学が多く含まれており、症例数で見ると回答率以上に地区の症例を網羅しているのではないかと思われる。

今回の一次調査で集められた症例中で、SIP1 遺伝子異常に関連の症状として知能障害と特異な顔貌を呈する症例の数を見ると、10 例 (0.78%) に過ぎなかった。ヒルシュスプルング病の観点から見ると、本疾患は遺伝的背景が乏しく合併奇形の少ない先天性疾患として知られ、既知の原因遺伝子のうち最も発現頻度の高い RET 遺伝子の異常でも 5% 程度の頻度と報告されている。このため本疾患の病因は multi-genetic、multi-factorial とする考えが一般的である。一方、中枢性低換気症候群や Waardenburg 症候群など、大きな遺伝子的エピソードの部分症として発生するヒルシュスプルング病の存在が知られている。今回の調査でこのような症例は中枢性低換気症候群が 7 例 (0.55%)、Waardenburg 症候群が 5 例 (0.39%) であり、この観点より神経堤の発育、分化に関係の深い SIP1 遺伝子異常は、これらと同様にいわゆる神経堤障害性疾患 neural crestopathy の中核をなす疾患である可能性が考えられる。

臨床的に小頭症合併のヒルシュスプルング病症例は稀であった。また脳波異常までひろげてもてんかんなど中枢神経系症状を呈する症例はあまり多く無かった。動物実験的にも Sip-1 遺伝子異常が homo である症例は高率に胎児死亡となることが知られており、神経系分化の早い段階に関与する本遺伝子の変異で、出生後外科手術の対象となりう症例は SIP1 遺伝子異常のある母集団のごく一部である事が考えられる。

関東地区では RET や ENDRB などの遺伝子異常の証明されている症例はごくわずかしは見られなかった。これは地区でこれらの解析を積極的に進めている研究室がなく、解析の対象となった症例そのものが少ないためと考えられる。

自験例の解析により SIP1 遺伝子異常が、ホットスポットのナンセンス変異と