

- 7) Comstock CH : Antenatal diagnosis of placenta previa : a review. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 26 : 89-96, 2005.
- 8) Twickler DM, Lucas MJ, Balis AB, et al : Color flow mapping for myometrial invasion in women with a prior cesarean delivery. *J Matern Fetal Med*, 9 : 330-335, 2000.
- 9) Yang JI, Lim YK, Kim KH, et al : Sonographic findings of placental lacunae and the prediction of adherent placenta in women with placenta previa totalis and prior Cesarean section. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 28 : 178-182, 2006.
- 10) Warshak CR, Ramez E, Hull AD, et al : Accuracy of ultrasonography and magnetic resonance imaging in the diagnosis of placenta accreta. *Obstet Gynecol*, 108 : 573-581, 2006.

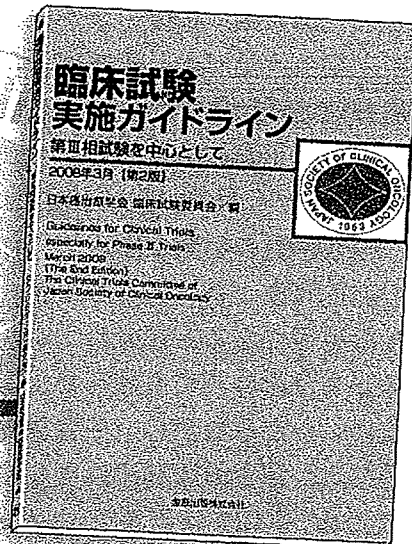
優れた治療法開発のための指針!! 臨床試験に参加する方々、待望の改訂版!!

臨床試験 実施ガイドライン

第Ⅲ相試験を中心として

2008年3月【第2版】

日本癌治療学会 臨床試験委員会 / 編



B5判 56頁 3図 定価2,520円(本体2,400円+税5%)

ISBN978-4-307-00459-6

おもな内容

- I. 本ガイドラインについて II. プロトコルの作成と臨床試験実施の体制概要
 III. 臨床第Ⅲ相試験の計画作成の方法 IV. 臨床試験の実施と集計解析
 V. 臨床試験試験システムや臨床試験にかかわる精度について VI. データの発表について
 VII. 利益相反 (Conflict of Interest) 資料・文献

2008・9

K 金原出版

〒113-8687 東京都文京区湯島2-31-14 電話03-3811-7184(営業部直通) FAX03-3813-0288
 振替00120-4-151494 ホームページhttp://www.kanehara-shuppan.co.jp/

妊娠高血圧症候群の発症および重症化の予知

吉田 敦 増崎 英明



妊娠高血圧症候群の発症および重症化の予知

吉田 敦* 増崎 英明*

妊娠高血圧症候群 (PIH) は母体および児に対して重大な影響を与える疾患であるが、その病態は一様でなく、原因はまだ必ずしも解明されていない。PIH の発症ないし重症化が予測可能であれば、早期からの予防的介入により、本症の臨床的管理の向上が期待されるが、現時点において感度、特異度ともに日常の臨床において十分に有用なものはまだ明らかになっていない。本稿では、現在までに行われてきた発症および重症化予知検査法について、当科での成績も加えて述べる。

はじめに

妊娠高血圧症候群 (PIH) は母体および児に対して重大な影響を与える疾患であるが、その病態は一様でなく、原因はまだ必ずしも解明されていない。近年、PIH の病態として、絨毛外トロホプラストの脱落膜への侵入不全と子宮らせん動脈の remodeling 障害に代表される poor placentation に起因し、胎盤の虚血や低酸素状態をきたし、胎盤より様々なサイトカインないしフリーラジカルなどが産生され、それにより白血球の活性化や血管内皮細胞障害が引き起こされることが明らかになってきた。また、PIH には多因子的な発症様式、すなわち複数の遺伝因子に環境因子が加わって発症するとの考えが受け入れられており、発症しやすさを規定する多くの遺伝子多型が検討され、報告されている。また、妊娠中期における子宮動脈の血流速度波形に異常を認めた場合、PIH が高頻度に発症することが報告されている。さらに、PIH と関連が認められている胎盤機能低下、血管内皮や凝

固系の活性化、および全身の炎症反応の亢進といった病態生理学的な変化をもとに、様々な生化学的マーカーが発症予測因子として提唱されている。しかし、現時点において感度、特異度ともに日常の臨床において十分に有用なものはまだ明らかになっていない。PIH の発症ないし重症化が予測可能であれば、早期からの予防的介入により、本症の臨床的管理の向上が期待される。本稿では、現在までに行われてきた発症および重症化予知検査法について、当科での成績も加えて述べる。

1. 血圧測定

正常妊娠では、妊娠中期において母体循環血漿量や心拍数および心拍出量が増加するが、末梢血管抵抗の低下および胎盤形成による AV シャントにより、母体血圧は生理的に低下する。妊娠中期における血圧測定が PIH 発症予知に有用であるか否かの検討がなされてきている。若年初産婦を対象とした Villar ら¹⁾ の報告によると、妊娠中期の平均動脈圧が 90 mmHg 以上を PIH 発症予知検査陽性とした場合、感度は 8%、発症予知率が 23% であり、拡張期血圧が 15 mmHg 上昇した場合の感度は 39%、発症予

*Atsushi YOSHIDA, Hideaki MASUZAKI
長崎大学産婦人科
〒852-8501 長崎市坂本 1-7-1

表 1 妊娠 22~26 週の血清フィブロンネクチン値による preeclampsia 発症の predictive value

閾値 ($\mu\text{g/ml}$)	感度 (%)	特異度 (%)	Positive predictive value (%)	Negative predictive value (%)	Odds ratio	95% CI
3.5	89	68	17	99	6.3	3.5~11.5
3.7	78	81	23	98	14.6	6.9~30.4
3.8	73	87	29	98	16.1	8.6~30.2
3.9	70	90	32	97	—	6.1~16.4
4.1	63	100	—	97	10.0	—

(文献 4 より一部改変)

知率は 32% であった。妊娠中期の平均動脈圧の測定は、PIH 発症を予知できる可能性があるが、妊娠中期の血圧と妊娠後期の PIH 発症とは関連がなく、発症予知は困難であるとの報告もみられる²⁾。

II. Roll over test (ROT)

PIH では高血圧の出現前に昇圧物質に対する感受性が亢進していることが知られており、血管感受性を評価する検査法としてアンギオテンシン感受性検査、ROT およびハンドグリップテストなどがある。ROT は体位変換時の拡張期圧の上昇幅で、PIH の発症を予知する方法である。左側臥位から仰臥位に体位変換させたとき、拡張期圧が 20 mmHg 以上上昇した場合 ROT 陽性とする。ROT 陽性の場合、アンギオテンシン感受性検査でも感受性が亢進するとされているが、血圧測定法の測定者間での不一致もあり、検査成績にばらつきが多く、臨床的な有用性は少ない。また、検査の時期が妊娠 28~32 週まで行われていることから、早発型の PIH の発見には適切でないことも問題である。ただし、偽陰性は少なく、PIH 非発症の予知としての意義はあると考えられる。

III. 尿酸値

PIH において、腎血流量の低下に伴う血清尿酸値の上昇がしばしば観察され、その重症度を

反映することから早期発見の指標として検討されている。Jacobson ら³⁾ は、妊娠 24 週時に血清尿酸値が 5.9 mg/dl を超えていた場合、陽性予測値が 33% であったと報告した。ただし、高尿酸血症は PIH に特異的な所見ではなく、発症予知の有用性について二重盲検法で検討された報告もない。血清尿酸値は経過や治療判定には有用であるが、PIH 発症予知検査としての有用性は少ないと思われる。

IV. フィブロンネクチン

PIH では、血管内皮細胞の活性化に伴い血管内皮細胞障害の生化学的マーカーである血清中のフィブロンネクチンや凝固第Ⅳ因子が上昇していることが報告されている。Chavarria ら⁴⁾ によると、後に PIH を発症した妊婦は、妊娠 12 週の時点で対照と比較して有意に血清中のフィブロンネクチン値が高値であった (表 1)。ただし、陽性予測値はわずか 29% であり、陰性予測値が 98% であったことから、発症予知よりは、非発症予知に有用と考えられる。

V. 凝固系の活性化

血小板の減少と血小板機能不全は PIH の特徴的な所見であり、血小板の破壊が亢進することで、幼若で大きな血小板が増加し、結果として血小板の容積が増加する。Ahmed ら⁵⁾ は血小板容積の増加が PIH の発症マーカーになり

表2 Preeclampsia 重症度別の妊娠中期 (17~28週: stage 1), 後期 (preeclampsia 発症の3週間以内: stage 2), preeclampsia 発症後 (endpoint) における Cell-free-fetal DNA 量

	stage 1		stage 2		endpoint	
	N	mean f-DNA GE/ml	N	mean f-DNA GE/ml	N	mean f-DNA GE/ml
Controls	137	16 ± 6	112	75 ± 12	24	114 ± 47
Cases	138	36 ± 6 [#]	41	176 ± 19 [†]	24	232 ± 42 [§]
軽症 PE	92	35 ± 7	28	135 ± 32	27	234 ± 50
重症 PE	46	36 ± 10	13	270 ± 46 [‡]	14	216 ± 44

PE: Preeclampsia, GE: Genome-equivalents [‡]p<0.001 [†]p<0.01 [‡]p<0.05 [§]p<0.0001
(文献10より一部改変)

うると報告している。また、妊娠中はプラスミノーゲンアクティベーターインヒビター (PAI) が増加しているため、線溶系の活性は通常低下している。PIHでは血管内皮機能障害のため、PAI-1がPAI-2に比べて増加している。Chapellら⁶⁾は、PAI-1とPAI-2の比によって、PIH発症のハイリスク群を予知しうると報告している。また、血小板の活性化を把握することによるPIH早期発見の試みとして、Konijnenbergら⁷⁾は妊娠13~20週の妊婦を対象として血小板膜上の接着分子の発現を用いたprospective studyを行っており、なかでもCD63の発現は早期発見に有用であると報告している。

VI. サイトカイン

PIHにおいては子宮らせん動脈の病理組織学的変化や攣縮に伴う子宮胎盤血流量の減少によって、胎盤に酸化ストレスが生じ、それによって様々なサイトカインが反応性に産生されると考えられている。これらは胎盤局所の血管内皮や白血球、マクロファージ、リンパ球から産生される。炎症性サイトカインが産生され、それらが母体に作用して白血球の活性化および血管内皮細胞障害を引き起こし、PIHの病態形成に関与していると推測されている。

TNF- α をはじめとする多くのサイトカイン濃度がPIHでは上昇していることが報告されているが、PIHの発症予知に十分に有用である

とのデータはいまだ報告されていない⁸⁾⁹⁾。

VII. 胎盤由来のホルモン、タンパク質

胎盤の虚血によって生じる炎症反応のカスケードにより、胎盤からは様々なタンパク質が産生されており、それらはPIHの予知に有用である可能性がある。PIHでは正常妊娠と比較して、CRH (Corticotrophin releasing hormone) やhCG、アクチビンA、インヒビンAなどが上昇していることが報告されている。

VIII. 胎児DNA

母体血中の胎児DNAは、PIHの発症予知に有用であることが報告されている。血管内皮細胞の活性化と炎症が同時に起こり、胎児成分が母体血中に流入する。Leveineら¹⁰⁾は、妊娠初期の胎児DNAはPIHの発症予知に有用であると報告している (表2)。

IX. 子宮動脈血流速度波形

妊娠初期には子宮動脈血流速度波形で末梢血管における血管抵抗の存在を示す切れ込み (ノッチ) が拡張期の早期にみられるが、この波形は妊娠経過とともに変化し、通常胎盤側の血管抵抗が低下する妊娠20週頃にはノッチはほぼ消失する。PIHなど血管抵抗が上昇してい

表3 子宮動脈血流速度波形と妊娠高血圧症候群

	妊娠高血圧症候群あり	妊娠高血圧症候群なし	計
両側性ノッチあり	11 (22.5%)	29 (77.5%)	40
両側性ノッチなし	4 (2.7%)	144 (97.3%)	148
計	15	173	188

p<0.05

表4 Preeclampsia 群における M235T 多型と T235 アレルの頻度およびその他の PIH 群, 対照群との比較

診断	No.	遺伝子型				T235 アレルの頻度	
		MM	MT	TT	χ^2 (p)	q	χ^2 (p)
初産 preeclampsia	41	3	23	15		0.65	
その他の PIH	108	33	55	20	10.9 (0.0042)	0.44	10.1 (0.0015)
高リスク対照	93	34	37	22	12.2 (0.0022)	0.44	10.1 (0.0015)
低リスク対照	478	177	220	81	18.3 (0.0001)	0.40	18.9 (0.0001)

(文献 12 より一部改変)

る病態では、ノッチが消失しない例が存在し、これは子宮血管抵抗の増大をよく反映していると考えられる。特に両側性ノッチの存在は妊娠高血圧腎症と強く関連することが報告されている¹¹⁾。現時点では、PIH を発症しやすい高リスク群の一部を子宮動脈血流速度波形を用いて同定可能である。

当科では、合併症妊娠、既往妊娠で産科合併症を生じた例など PIH のハイリスク症例を多く管理しているが、妊娠初期より一貫して当科で妊娠管理した症例について、妊娠 19~21 週での両側性ノッチと PIH との関連を検討した。両側性ノッチがみられた場合、40 例中 11 例 (22.5%) に妊娠高血圧症候群を発症していたのに対し、両側性ノッチがみられなかった場合には 148 例中 144 例 (97.3%) で PIH は発症しておらず、両側性ノッチと PIH には有意な関連が認められた。また、両側性ノッチが認められなかった 148 例のうち、最終的に PIH になったのはわずかに 4 例 (2.7%) であり、いずれも軽症の妊娠高血圧であった。また、妊娠高血圧腎症において、両側性ノッチの有無によりその発症週数、重症例の頻度が異なるか検討したが、

表5 MTHFR 遺伝子多型と妊娠高血圧症候群

	T/T	C/C+C/T	計
妊娠高血圧症候群	25 (24.0%)	79 (76.0%)	104
対照	29 (13.0%)	190 (87.0%)	219
計	54	269	323

p<0.05

両側性ノッチがみられる場合、妊娠高血圧腎症がより早期に発症し (29.9 週 vs 32.6 週, p<0.05)、重症例がより高頻度であった (68% vs 47%, p<0.05)。このように、ハイリスク群においては、両側性ノッチは PIH の発症および重症化の予知に有用な検査であると思われる。

X. 遺伝子多型

PIH は家族内発症しやすいことが知られており、従来より遺伝因子の関与が指摘されていた。現在では PIH の発症に遺伝的素因が関与していることに疑う余地はない。HLA との関連を示唆する報告もみられたが、現在では否定的である。最初に遺伝子変異と PIH との関連

表6 MTHFR 遺伝子多型と子宮動脈両側性ノッチによる重症妊娠
高血圧腎症の発症予測

	odds ratio	95% CI
MTHFR 遺伝子多型 T/T	2.1	0.9~5.5
両側性ノッチ	7.8	2.0~27.9
MTHFR 遺伝子多型 T/T+両側性ノッチ	8.2	3.0~33.3

を報告したのは Ward ら¹²⁾であり、アンギオテンシノーゲン遺伝子の 235 番目のアミノ酸がメチオニンからスレオニンに変異している多型 (M235T) 変異について検討し、変異型である T235 アレル頻度と PIH の間に有意な関連を認めた。しかしながら、この結果に否定的な報告もみられている。その後これまでに、多くの単一遺伝子変異と PIH との関連が検討されてきたが、PIH の発症、重症化の予知に有効であるとの合意を得られたものはいまだにみられていない。

本教室でも、日本人において PIH との関連が報告されている MTHFR 遺伝子多型について検討した。MTHFR は葉酸の代謝に関与する酵素の一つであり、MTHFR 遺伝子の 677 番目の塩基がシトシン (C) からチミン (T) に変化する場合があり、MTHFR 遺伝子多型は、心血管疾患から胎児の神経管閉鎖障害まで、様々な疾患との関連が報告されている。MTHFR 遺伝子多型のうち MTHFR の酵素活性が低い 677TT 型では、葉酸欠乏による血漿総ホモステイン値の上昇が顕著であることが判明している¹³⁾。わが国における T/T の頻度は約 15% と報告されている¹⁴⁾。対照群では MTHFR 遺伝子多型の変異型ホモである T/T は 219 例中 29 例 (13%) であったが、PIH では 104 例中 25 例 (24%) と T/T が有意に高率でみられた。また、対象を妊娠高血圧腎症に限って検討すると、軽症群では T/T の頻度が 23 例中 18 例 (11.6%) であり、対照群 (219 例中 29 例, 13%) と差はなかったのに対し、重症群では 46 例中 15 例 (32.7%) であり、T/T の頻度が有意に高率であった。また、重症妊娠高血圧腎症の発症

予測に、MTHFR 遺伝子 C677T 多型 TT と両側性ノッチの有無が有用か否かをロジスティック回帰分析して検討したところ、MTHFR 遺伝子 C677T 多型 TT と両側性ノッチともに重症妊娠高血圧腎症発症のオッズ比は高値であったが、特に双方をともに有していた場合、オッズ比は 8.2 と最も上昇していた。このように、現時点では単独の遺伝子多型では発症予測は困難であるが、できる限り多数の候補遺伝子について遺伝子多型を調べることで、および子宮動脈血流速度波形など前述してきた他の予知因子と組み合わせることで、PIH の発症、重症化の予測が可能になる可能性があると考えられる。

おわりに

PIH の発症および重症化の予知に有用性が報告されている種々の方法について概説した。これまでに様々な検査法が検討されてきているが、いまだ確定的なものは存在していない。現時点では、単一の検査法に頼るよりも、異なった視点からの複数の検査法を組み合わせることで、PIH の発症および重症化の予測が可能になることが期待される。また、母体血中胎児 DNA と PIH の関連など、新しい知見も報告されており、今後のさらなる発展が期待されよう。

文 献

- 1) Villar MA, Shibai BM : Clinical significance of elevated mean arterial blood pressure in second trimester and threshold increase in systolic or

- diastolic blood pressure during third trimester. *Am J Obstet Gynecol*, **160** : 419-423, 1989.
- 2) Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M : World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol*, **104** : 1367-1391, 2004.
 - 3) Jacobson SL, Imhof R, Manning N, et al : The value of Doppler assessment of uteroplacental circulation in predicting preeclampsia or intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol*, **162** : 110, 1990.
 - 4) Chavarria ME, Lara-Gonzalez L, Gonzalez-Gleason A, et al : Maternal plasma cellular fibronectin concentration in normal and preeclamptic pregnancies : A longitudinal study for early prediction of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, **187** : 595-601, 2002.
 - 5) Ahmed Y, van Iddekinge B, Paul C, et al : Retrospective analysis of platelet numbers and volumes in normal pregnancy and in preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol*, **100** : 216-220, 1993.
 - 6) Chappel LC, Seed PT, Briley A, et al : A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, **187** : 127-136, 2002.
 - 7) Konijnenberg A, van der post JA, Albano JD, et al : Can flow cytometric detection of platelet activation early in pregnancy predict the occurrence of preeclampsia? A prospective study. *Am J Obstet Gynecol*, **177** : 434-442, 1997.
 - 8) Savvidou MD, Lees CC, Parra M : Levels of C-reactive protein in pregnant women who subsequently develop preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol*, **109** : 297-301, 2002.
 - 9) Takacs P, Green KL, Nikaao A, et al : Increased vascular endothelial cell production of interleukin-6 in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, **188** : 740-744, 2003.
 - 10) Levine R, Qian C, LeShane E, et al : Two-stage elevation of cell free DNA in maternal sera before onset of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, **190** : 707-713, 2004.
 - 11) 大口昭英, 水上尚典, 佐藤郁夫 : 妊娠中毒症発症の予知—子宮動脈血流速度波形による—. *産婦の世界*, **51** : 925-929, 1999.
 - 12) Ward K, Hata A, Jeunemaitre X, et al : A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. *Nat Genet*, **4** : 59-61, 1993.
 - 13) 浜島伸之 : 神経管閉鎖障害 : 葉酸欠乏と MTHFR 遺伝子多型 : *Brain and Spinal Cord*, **13**(3) : 1-3, 2006.
 - 14) Murakami S, Matsubara S, Saito M, et al : The relation between plasma homocysteine concentration and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in pregnant women. *J Obstet Gynaecol Res*, **27**(6) : 349-352, 2001.

別刷

癌と化学療法

VOL.35(2008)

婦人科癌化学療法時の悪心・嘔吐に対する
インジセトロン塩酸塩の有効性および安全性

牛嶋 公生 和氣 徳夫 小林 裕明 蜂須賀 徹 土岐 尚之
増崎 英明 小寺 宏平 瓦林達比古 江本 精 嘉村 敏治

癌と化学療法社

Printed in Japan © 禁無断転載・複写複製

● 原 著 ●

婦人科癌化学療法時の悪心・嘔吐に対する インジセトロン塩酸塩の有効性および安全性

牛嶋 公生^{*1} 和氣 徳夫^{*2} 小林 裕明^{*2} 蜂須賀 徹^{*3} 土岐 尚之^{*3}
増崎 英明^{*4} 小寺 宏平^{*4} 瓦林達比古^{*5} 江本 精^{*5} 嘉村 敏治^{*1}

[*Jpn J Cancer Chemother* 35(7): 1169-1173, July, 2008]

The Efficacy and Safety of Indisetrone Hydrochloride for the Management of Nausea/Vomiting Caused by Chemotherapy for Gynecologic Cancer: Kimio Ushijima^{*1}, Norio Wake^{*2}, Hiroaki Kobayashi^{*2}, Toru Hachisuga^{*3}, Naoyuki Toki^{*3}, Hideaki Masuzaki^{*4}, Kohei Kotera^{*4}, Tatsuhiro Kawarabayashi^{*5}, Makoto Emoto^{*5}, Toshiharu Kamura^{*1} (^{*1}Dept. of Obstetrics and Gynecology, Kurume University School of Medicine, ^{*2}Dept. of Gynecology and Obstetrics Graduate School of Medical Sciences Kyushu University, ^{*3}Dept. of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health, ^{*4}Dept. of Obstetrics and Gynecology, Nagasaki University School of Medicine, ^{*5}Dept. of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Fukuoka University)

Summary

This clinical trial was designed to evaluate the efficacy and safety of indisetrone hydrochloride an oral 5-HT₃ receptor antagonist, for the management of nausea/vomiting caused by chemotherapy for gynecologic cancer with paclitaxel/carboplatin or docetaxel/carboplatin.

Indisetrone hydrochloride (8 mg) was administered orally to 46 gynecologic cancer patients at 0.5 hours before administration of the above chemotherapy agents. Number of patients who showed nausea or vomiting for 24 hours was counted. The complete vomiting inhibition rate at 24 hours after chemotherapy was 89.1% (41/46), and nausea inhibition rate was 71.7% (33/46). No serious adverse events were observed. These findings indicate that prophylactic administration of indisetrone hydrochloride is safe and useful for inhibition of nausea/vomiting caused by cancer chemotherapy. Key words: Indisetrone hydrochloride, Oral 5-HT₃ receptor antagonist, Nausea, Vomiting, Gynecologic cancer (Received Apr. 21, 2008/Accepted May 29, 2008)

要旨 新しい5-HT₃受容体拮抗型制吐剤であるインジセトロン塩酸塩 (シンセロン[®]錠 8 mg) のタキサン, プラチナ併用化学療法時の有効性, 安全性を検討する多施設共同第Ⅱ相試験を行った。対象はパクリタキセルもしくはドセタキセルとカルボプラチン併用化学療法を行う婦人科悪性腫瘍患者 46 名で, 抗癌剤投与開始前 30 分にシンセロン[®]錠 8 mg を 1 回経口投与し, 以後 24 時間の悪心・嘔吐回数を 6 時間ごとに調査した。主要評価項目として, 悪心・嘔吐の発現しなかった症例の割合を完全悪心, 嘔吐抑制率として算出した。

シンセロン[®]錠 8 mg の予防的投与により, 治療開始後 24 時間の完全嘔吐抑制率は 89.1%, 完全悪心抑制率は 71.7% と良好な結果であり, 重篤な副作用は認められず, 本薬剤のタキサン, プラチナ併用化学療法時の悪心嘔吐に対する有効性, 安全性が示された。

はじめに

抗悪性腫瘍剤による副作用のなかで悪心・嘔吐は発現頻度が高く, 身体的・精神的にも患者に苦痛を与え, 治

療の継続に支障を来す障害の一つである。近年, 化学療法時の急性期の悪心・嘔吐には 5-HT₃受容体拮抗型制吐剤が有用であり, 婦人科癌の化学療法時にも常用されている。しかし, 多くの 5-HT₃受容体拮抗型制吐剤はシ

^{*2} 九州大学大学院医学研究院・生殖病態生理学

^{*3} 産業医科大学・産科婦人科

^{*4} 長崎大学医学部・産科婦人科

^{*5} 福岡大学医学部・産科婦人科

スプラチンを投与する患者を対象に評価が行われており、卵巣癌をはじめとする化学療法で最も汎用されているパクリタキセル+カルボプラチン (TC) 療法やドセタキセル+カルボプラチン (DC) 療法のカルボプラチンとタキサン系薬剤を対象とした臨床試験は報告がない。

2006年のASCO (American Society of Clinical Oncology) の悪心・嘔吐ガイドラインでは、タキサン系は低度リスクに分類され、カルボプラチンは中等度リスクに分類されている¹⁾。TC療法、DC療法ともカルボプラチンを含む治療のため、悪心・嘔吐の予防としては5-HT₃受容体拮抗型制吐剤とデキサメタゾンの投与が推奨され、またaprepitant (本邦未承認のNK₁受容体拮抗剤)の投与も推奨されている。特に5-HT₃受容体拮抗型制吐剤については、経口剤の有効性と安全性は注射剤と同等であるため、経口剤が推奨されている。

インジセトロン塩酸塩 (商品名: シンセロン[®]錠 8 mg) は、新規のジアザピシクロアミン誘導体であり、経口剤の5-HT₃受容体拮抗型制吐剤である²⁾。本剤は5-HT₃受容体拮抗作用に加えて、5-HT₄受容体にも拮抗作用を示すという薬理学的特徴を有しており、従来の5-HT₃受容体拮抗型制吐剤に比べてより高い有効性が示唆されている³⁾。

以上の背景から、婦人科癌の化学療法時の適切な制吐療法を探索するため、経口剤であるインジセトロン塩酸塩の婦人科癌化学療法時における悪心・嘔吐に対する有効性、安全性を検討することを目的として本臨床試験を実施した。

I. 対象と方法

1. 対象

本試験は、パクリタキセル+カルボプラチン療法 (TC療法) またはドセタキセル+カルボプラチン療法 (DC療法) が施行される婦人科癌を有する症例のうち、以下の基準を満たすものを対象とした。

- ① 年齢: 20歳以上 80歳以下
- ② 入院・外来は問わない
- ③ 抗悪性腫瘍剤の投与量は問わない
- ④ 各薬剤の禁忌に該当しない症例

また、下記の除外基準のうちいずれかに該当する症例を対象から除外した。

- ① インジセトロン塩酸塩投与前 24時間以内に悪心、嘔吐 (嘔吐反射を含む) が発現した症例
- ② 脳転移、髄膜浸潤、てんかん、活動期の消化性潰瘍等の嘔吐を誘発しやすい疾患を合併している症例
- ③ 消化管通過障害により悪心、嘔吐 (嘔吐反射を含む) が発現している症例

④ 試験期間中に放射線療法を予定している症例

⑤ 肝臓、腎臓または心臓に重篤な機能障害を有している症例

⑥ 妊婦または妊娠している可能性のある症例および授乳中の症例

⑦ 薬剤過敏症の既往歴のある症例

⑧ 他の臨床試験 (あらゆる領域の未承認薬を含む) に参加中の症例

⑨ 今回の試験開始前 1 か月以内に、治験薬 (あらゆる領域の未承認薬) が投与された症例、あるいは前回の臨床試験が今回の試験開始の 1 か月以上前でも治験薬による副作用の影響が持ち越されている症例

⑩ 試験責任医師または試験分担医師が試験の対象として不適当と判断した症例

2. 方法

1) 投与方法

インジセトロン塩酸塩を抗悪性腫瘍剤投与 30分～2時間前に 8 mg (1錠) 経口投与し、抗悪性腫瘍剤投与後 24時間を試験期間とした。1症例当たり 1コースの化学療法をもって試験の評価を行った。

2) 併用薬剤

インジセトロン塩酸塩投与前日から試験期間終了まで薬効評価に影響を及ぼす他の5-HT₃受容体拮抗型制吐剤の併用は原則禁止した。ただし、インジセトロン塩酸塩の効果が不十分で救済を必要とする場合は可とした。

その他の併用薬については、タキサン系薬剤の抗アレルギーもしくは浮腫予防に用いられる副腎皮質ステロイド製剤は従来どおり使用して差し支えないこととし、合併症等に対する治療薬は用法・用量を変更しない限り継続することができることとした。

3. 評価

1) 完全嘔吐抑制率

最初の抗悪性腫瘍剤投与開始後 24時間において嘔吐の発現の有無を 6時間ごとに調査し、まったく嘔吐の発現しなかった症例数の割合で評価した。

2) 完全悪心抑制率

最初の抗悪性腫瘍剤投与開始後 24時間において悪心の発現の有無を 6時間ごとに調査し、悪心の発現しなかった症例数の割合で評価した。

1), 2) の項目については、全症例、TC療法・DC療法別、および合併症の有無で検討した。

3) 安全度

主治医の判断において、インジセトロン塩酸塩との因果関係が否定できない副作用を下記の 4段階で総合的に評価した。

1. 安全である (副作用はみられなかった)

表 1 参加施設

久留米大学医学部・産科婦人科
九州大学大学院医学研究院・生殖病態生理学
産業医科大学・産科婦人科
長崎大学医学部・産婦人科
福岡大学医学部・産婦人科

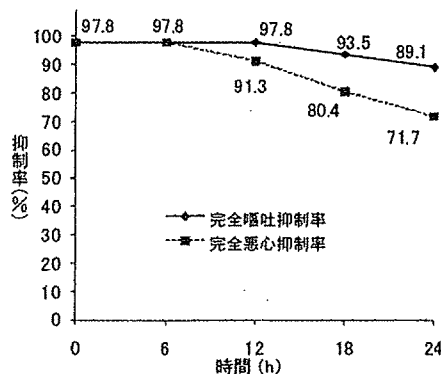


図 1 インジセトロン塩酸塩による完全嘔吐抑制率と完全悪心抑制率の経時的推移

2. ほぼ安全である (副作用はみられたが、特に処置を必要としなかった)
 3. 安全性に問題あり (処置を必要とする副作用がみられた)
 4. 安全でない (高度な副作用がみられた)
- 全症例のうちほぼ安全以上を示した割合を安全度として算定した。

II. 結 果

1. 患者背景

2006 年 9 月～2007 年 9 月に表 1 に示した 5 施設において、パクリタキセル+カルボプラチン (TC) 療法またはドセタキセル+カルボプラチン (DC) 療法を施行された婦人科癌を対象とし、46 例が登録された。癌腫別では卵巣癌が 28 例 (60.9%) と最も多く、次いで子宮体癌 13 例 (28.3%) であった。レジメン別では TC 療法施行例が 35 例、DC 療法施行例が 11 例であった。合併症は 9 例に認められ、主な合併症は糖尿病 4 例、高血圧 3 例であった (表 2)。

2. 効 果

インジセトロン塩酸塩を予防的に投与することで、抗悪性腫瘍剤投与直後から 6 時間までの完全嘔吐抑制率、完全悪心抑制率とも 97.8% (45/46 例) を示し、経時的に抑制率は低下するものの、主要評価項目である抗悪性腫瘍剤投与後 24 時間の完全嘔吐抑制率は、89.1% (41/46 例) と良好な結果であった。また、完全悪心抑制率は 71.7% (33/46 例) であった (図 1)。

表 2 患者背景

症例数	46 例
年齢 (中央値)	57.5 歳 (26～78)
PS	0 46 例
	1 0 例
現疾患	卵巣癌 28 例*
	子宮頸癌 2 例
	子宮体癌 13 例*
	腹膜癌 2 例
	陰癌 1 例
	卵管癌 1 例
合併症	なし 37 例
	あり 9 例

	糖尿病 4 例**
	高血圧症 3 例**
	不整脈 1 例
	高脂血症 1 例**
	頸椎脊椎管狭窄症 1 例**
	不安障害 1 例
	うつ病 1 例
レジメン	TC 療法 35 例
	DC 療法 11 例

*: 現疾患の重複あり 1 例

** : 合併症の重複あり 3 例

レジメン別による制吐効果を比較したところ、TC 療法と DC 療法では、完全嘔吐抑制率、完全悪心抑制率ともに差はなかった (完全嘔吐抑制率; $p=0.83$, 完全悪心抑制率; $p=0.93$, χ^2 検定) (表 3)。また TC 療法において、パクリタキセルの 1 日投与量が高用量の群 (≥ 130 mg/m²) と低用量 (<130 mg/m²) の群に分けて比較した場合においても、完全嘔吐抑制率、完全悪心抑制率ともに差はなかった (完全嘔吐抑制率; $p=0.66$, 完全悪心抑制率; $p=0.48$, χ^2 検定) (表 3)。合併症の有無で比較した場合においても、完全嘔吐抑制率、完全悪心抑制率ともに差はなかった (完全嘔吐抑制率; $p=0.98$, 完全悪心抑制率; $p=0.20$, χ^2 検定) (表 3)。

3. 有害事象

grade 1 の頭痛 2 例、潮紅 2 例が認められたが、インジセトロン塩酸塩との因果関係が疑われる重篤な副作用は認められなかった。

4. 安全度

「安全である」との回答が 95.7% (44/46 例), 「ほぼ安全である」との回答が 4.3% (2/46 例) であり、安全度は 100% であった。「問題あり」, 「安全でない」との回答はなかった (表 4)。

III. 考 察

悪性腫瘍に対する治療において抗悪性腫瘍剤による化学療法は重要な位置を占めている。とりわけ卵巣癌にお

表 3 制吐効果の比較

レジメン/合併症	n	完全悪心抑制率	p 値*	完全嘔吐抑制率	p 値*
全症例	46	71.7% (33/46)	—	89.1% (41/46)	—
TC 療法	35	71.4% (25/35)	0.93	88.6% (31/35)	0.83
DC 療法	11	81.8% (8/11)		90.9% (10/11)	
TC 療法 (≥130 mg/m ²)	29	69.0% (20/29)	0.48	89.7% (26/29)	0.66
TC 療法 (<130 mg/m ²)	6	83.0% (5/6)		83.0% (5/6)	
合併症 なし	37	67.6% (25/37)	0.20	89.2% (33/37)	0.98
合併症 あり	9	88.9% (8/9)		88.9% (8/9)	

*: χ^2 検定

表 4 安全度

1	2	3	4	安全度
安全である	ほぼ安全	問題あり	安全でない	
44 (95.7%)	2 (4.3%)	0	0	100%

いては、Ia期を除くほとんどの症例が化学療法の対象となることから、円滑な化学療法遂行のために、補助療法の果たす役割は重要である。特に、悪心・嘔吐は患者が最も苦痛を訴える自覚症状であり、その症状軽減を目的とした制吐剤の投与は必須である。

本試験におけるインジセトロン塩酸塩投与による完全嘔吐抑制率は、89.1% (41/46 例) と良好な結果であった。嘔吐が発現した症例 5 例に関しても grade 1 が 1 例、grade 2 が 4 例であり、重篤な症例は認められなかった。よって、タキサン系薬剤の種類および投与方法にかかわらず、インジセトロン塩酸塩を予防的投与することによって急性期の悪心・嘔吐の抑制が可能となることが示唆された。

カルボプラチンおよびタキサン系薬剤を対象に 5-HT₃受容体拮抗薬の評価がなされた臨床試験はこれまで報告されていないが、卵巣癌を対象とした TC 療法と DC 療法の効果を比較した海外大規模試験の報告によると、完全嘔吐抑制率は TC 療法群で 91.0%、DC 療法群で 93.1% であり、単純に比較はできないが本試験の結果は制吐効果において遜色ないものであった⁴⁾。

インジセトロン塩酸塩は経口投与後速やかに吸収され、t_{max}はおおよそ 1.21 時間と他の類薬と比較して早いことが特徴である⁵⁾。実際、抗悪性腫瘍剤投与 30 分前にイ

ンジセトロン塩酸塩を経口投与することにより、抗悪性腫瘍剤投与直後から 98.7% (45/46 例) と高い抑制率が示されている (図 1)。

また、インジセトロン塩酸塩の半減期はおおよそ 4.40 時間であるが⁶⁾、半減期を過ぎた 6 時間後、12 時間後においても完全嘔吐抑制率は 98.7% (45/46 例) と高い抑制率を維持している。先に報告されたオンダンセトロン塩酸塩との二重盲検ランダム化比較試験においても、インジセトロン塩酸塩は抗悪性腫瘍剤投与 12 時間後における有効率 (悪心・嘔吐に対するシスプラチン投与後の総合評価) で、インジセトロン塩酸塩群は 91.7%、オンダンセトロン塩酸塩群は 80.8% と有意差 (p=0.04, Wilcoxon 検定) を認めており、本試験結果が支持される⁶⁾。

抗悪性腫瘍剤投与後に生じる悪心・嘔吐は、抗悪性腫瘍剤により腸管のエントロクロマフィン (EC) 細胞から惹起されたセロトニン (5-HT) が腹部求心性迷走神経末端や脳の 5-HT 受容体を刺激し、その信号が嘔吐中枢および化学受容器引金帯 (CTZ) に伝達されることで発現する⁷⁾。インジセトロン塩酸塩は経口剤であることから、腸管から吸収される際に 5-HT₃受容体拮抗剤の作用点である EC 細胞上の 5-HT₃受容体に速やかに結合して 5-HT の遊離を抑制し、それと同時に迷走神経末端の 5-HT₃受容体にも結合することで求心性迷走神経から中枢への信号を遮断することで高い制吐効果が期待できるものと考えられる⁸⁾。また、5-HT₄受容体は 5-HT₃受容体の介する迷走神経刺激を補佐しているとされているが、インジセトロン塩酸塩は 5-HT₃受容体拮抗作用に加えて、5-HT₄受容体にも拮抗作用を示すという薬理的な特

徴を有しており、よって本剤の高い制吐効果の根拠となると思われる^{3,8)}。

有害事象に関しては、grade 1の頭痛2例、潮紅2例が認められた。どちらも、他の5-HT₃受容体拮抗薬においても数%の割合で報告されている副作用である。また頭痛に関しては、同じく制吐目的で投与されているデキサメタゾンにおいても9~30%の発現が報告されている⁹⁻¹¹⁾。ただし、これらの有害事象は併用している抗癌剤の影響も考えられる。

そこで安全性に関しては、本検討では安全度を評価基準とした。安全度評価によりインジセトロン塩酸塩の安全性を総合的に検討した結果、「安全である」との回答が95.7% (44/46例)であり、「ほぼ安全である」と回答した2例と合わせると全例において「ほぼ安全」以上の評価であった(表3)。

おわりに

以上のことより、婦人科癌領域においてTC療法もしくはDC療法施行時に発現する急性期(抗癌剤投与後24時間以内)の悪心・嘔吐に対する経口5-HT₃受容体拮抗型制吐剤インジセトロン塩酸塩の有効性および安全性が示された。

今後、本剤の使用頻度の増加に伴い、消化器毒性が軽減され、TC療法・DC療法の円滑な遂行に寄与するものと思われる。

謝辞 稿を終えるに当たり、研究推進にご協力いただいた久留米大学・村上文洋氏、九州大学・小川伸二氏、矢幡秀昭氏、福岡大学・辻岡寛氏、堀内新司氏、宮原大輔氏に深謝致します。

文 献

- 1) Kris MG, Hesketh PJ, Somerfield MR, *et al*: American Society of Clinical Oncology Guideline for Antiemetics in Oncology: Update 2006. *J Clin Oncol* 24(18): 2932-2947, 2006.
- 2) 塚越 茂: 本邦で開発された新規制吐剤塩酸インジセトロン (Indisetron Hydrochloride) について. *癌と化学療法* 32(4): 567-573, 2005.
- 3) 谷口 偉, 渡邊史子, 萩原幸一郎: 新規5-HT₃受容体拮抗薬 Indisetron Hydrochloride の薬理作用 薬理と治療 32(11): 789-797, 2004.
- 4) Vasey PA, Jayson GC, Gordon A, *et al*: Phase III randomized trial of docetaxel-carboplatin versus paclitaxel-carboplatin as first-line chemotherapy for ovarian carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 96(22): 1682-1691, 2004.
- 5) 山田 禎, 田所豊博, 中田文久・他: 塩酸インジセトロン錠の健康成人における薬物動態および安全性の検討. *薬理と治療* 32(11): 807-813, 2004.
- 6) 忽滑谷直孝, 仁井谷久暢, 佐久間昭・他: Cisplatin等の抗悪性腫瘍剤誘発の悪心、嘔吐に対する塩酸インジセトロン錠の臨床効果—塩酸オンダンセトロン錠を対照とした二重盲検ランダム化比較試験—, *薬理と治療* 32(11): 839-853, 2004.
- 7) Endo T, Minami M, Monma Y, *et al*: Vagotomy and ondansetron (5-HT₃ antagonist) inhibited the increase of serotonin concentration induced by cytotoxic drugs in the area postrema of ferrets. *Biogenic Amines* 9(3): 163-175, 1992.
- 8) 遠藤 泰, 南 勝: 制吐薬とセロトニン. *Clin Neurosci* 21(6): 674-675 2003.
- 9) Shinkai T, Saijo N, Eguchi K, *et al*: Antiemetic efficacy of high-dose intravenous metoclopramide and dexamethasone in patients receiving cisplatin-based chemotherapy: a randomized controlled trial. *Jpn J Clin Oncol* 16(3): 279-287, 1986.
- 10) Sekine I, Nishikawa Y, Kakinuma R, *et al*: Phase II study of high-dose dexamethasone-based association in acute and delayed high-dose cisplatin-induced emesis—JCOG study 9413. *Br J Cancer* 76(1): 90-92, 1997.
- 11) Sekine I, Nishikawa Y, Kakinuma R, *et al*: A randomized cross-over trial of granisetron and dexamethasone versus granisetron alone: The role of dexamethasone on day 1 in the control of cisplatin-induced delayed emesis. *Jpn J Clin Oncol* 26(3): 164-168, 1996.

平成21年度研究成果の刊行物・別冊



A ZRS Duplication Causes Syndactyly Type IV With Tibial Hypoplasia

Lingqian Wu,^{1,2*} Desheng Liang,^{1,2} Norio Niikawa,^{2,3} Fen Ma,⁴ Miao Sun,⁴ Qian Pan,¹ Zhigao Long,¹ Zhongmin Zhou,¹ Koh-ichiro Yoshiura,^{2,5} Hua Wang,⁶ Daisuke Sato,^{2,5} Gen Nishimura,⁷ Heping Dai,¹ Xue Zhang,⁴ and Jiahui Xia¹

¹National Laboratory of Medical Genetics, Central South University, Changsha, Hunan, China

²Solution Oriented Research of Science and Technology (SORST), Japan Science and Technology Agency (JST), Kawaguchi, Japan

³Research Institute of Personalized Health Sciences, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido, Japan

⁴McKusick-Zhang Center for Genetic Medicine, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing, China

⁵Department of Human Genetics, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

⁶Women and Children's Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan, China

⁷Department of Radiology, Tokyo Metropolitan Kiyose Children's Hospital, Tokyo, Japan

Received 27 September 2008; Accepted 22 December 2008

TO THE EDITOR:

Point mutations in the highly conserved sequence of the long-range sonic hedgehog (*SHH*) regulator (*ZRS*) at 7q36.3 cause preaxial polydactyly (PPD) [Lettice et al., 2002, 2003; Gurnett et al., 2007; Furniss et al., 2008]. Genomic duplications of *ZRS* cause the triphalangeal thumb-polysyndactyly syndrome (TPTPS) and syndactyly type IV (SD4) [Klopocki et al., 2008; Sun et al., 2008]. SD4 (OMIM 186200) is a rare disorder first described by Haas [1940] [see also Gillessen-Kaesbach and Majewski, 1991; Rambaud-Cousson et al., 1991; Sato et al., 2007; Sun et al., 2008]. Patients with this condition have complete syndactyly of all fingers with polydactyly, and cup-shaped hands due to flexion of fingers. We previously assigned SD4 to a 17.39-cM region at 7q36 in a Chinese SD4 family with tibial hypoplasia using linkage and haplotype analyses, however, direct sequencing of the patients' DNA showed no pathogenic mutation in *LMBR1*, *SHH* or the conserved sequence of *ZRS* [Sato et al., 2007]. Here, we confirm that SD4 with tibial hypoplasia is caused by a genomic duplication involving *ZRS*, which may lead to abnormal regulation of *SHH* expression.

The family studied here is the same one reported previously [Sato et al., 2007], including eight affected individuals who had complete syndactyly of all fingers, polydactyly, cup-shaped hands, and occasionally hypoplastic tibiae, which lead to a diagnosis of Haas type mirror-image polydactyly of hands and feet (SD4) with tibial hypoplasia. DNA samples were extracted from six affected and five unaffected individuals of the family after obtaining written informed consent in accordance with study protocols approved by the University Ethics Committees.

To test whether SD4 with tibial hypoplasia is associated with a copy number mutation, we used a qPCR assay to determine RCN of

How to Cite this Article:

Wu L, Liang D, Niikawa N, Ma F, Sun M, Pan Q, Long Z, Zhou Z, Yoshiura K-I, Wang H, Sato D, Nishimura G, Dai H, Zhang X, Xia J. 2009. A *ZRS* duplication causes syndactyly type IV with tibial hypoplasia.

Am J Med Genet Part A 149A:816–818.

ZRS based on the $\Delta\Delta$ Ct method [Sun et al., 2008] and detected a *ZRS* duplication in one affected individual (III-5) of the SD4 family. Using this qPCR assay, we confirmed that the duplication cosegregated with the limb phenotype in all affected relatives but was not detected in any unaffected relatives or in 50 unrelated control Han Chinese. To determine the size of the genomic duplication, we

Grant sponsor: NSFC, China; Grant number: 30571021; Grant number: 30730097; Grant sponsor: National Key Technologies R&D Program, China; Grant number: 2006BAI05A08; Grant sponsor: SORST, Japan Science and Technology Agency (JST); Grant sponsor: Scientific Research on Priority Areas "Applied Genomics, Japan; Grant number: 17019055.

L. Wu and D. Liang contributed equally to this work.

*Correspondence to:

Dr. Lingqian Wu, National Laboratory of Medical Genetics, Central South University, 110 Xiangya Road, Changsha, Hunan 410078, China.

E-mail: wulingqian@sklmg.edu.cn

Published online 16 March 2009 in Wiley InterScience

(www.interscience.wiley.com)

DOI 10.1002/ajmg.a.32740

TABLE I. Clinical Phenotypes of 16 Reported Families With Mutations of *ZRS*

Mutations types Clinical diagnosis, families [Refs.]	7 Point mutations PPD2/3, 8 [1–3]	8 Duplications		
		SD4, 1 [4]	SD4-severe, 1 [5]	TPTPS, 6 [4, 6]
Polydactyly				
Pre-axial	+	+	+	+
Post-axial	–	+	+	+
Hand	+	+	+	+
Foot	+	–	+	+
Mirror image	–	+	+	–
Triphalangeal thumb				
Single	+	–	–	+
Duplication	+	+	+	+
Syndactyly				
Complete	–	+	+	+
Partial	–	+	+	+
Cutaneous	–	+	+	+
Osseous	–	–	–	+
Hand	–	+	+	+
Foot	–	–	+	+
Cup-shaped hand	–	+	+	–
Tibial hypoplasia	–	–	+	–

1. Lettice et al. [2003]; 2. Gurnett et al. [2007]; 3. Furniss et al. [2008]; 4. Sun et al. [2008]; 5. Present study; 6. Klopocki et al. [2008].

tions. This may indicate that there is no correlation between phenotypic severity and the extent of duplications and in turn implies that a critical region for the disorders may exist within the smallest duplication. For detection of the copy number mutation, while the multiple qPCR assay used in the present study is rapid, sensitive and cheap, the SNP array method provides more precise results helpful for breakpoint mapping.

REFERENCES

- Furniss D, Lettice LA, Taylor IB, Critchley PS, Giele H, Hill RE, Wilkie AO. 2008. A variant in the sonic hedgehog regulatory sequence (*ZRS*) is associated with triphalangeal thumb and deregulates expression in the developing limb. *Hum Mol Genet* 17:2417–2423.
- Gillessen-Kaesbach G, Majewski F. 1991. Bilateral complete polysyndactyly (type IV Haas). *Am J Med Genet* 38:29–31.
- Gurnett CA, Bowcock AM, Dietz FR, Morcuende JA, Murray JC, Dobbs MB. 2007. Two novel point mutations in the long-range *SHH* enhancer in three families with triphalangeal thumb and preaxial polydactyly. *Am J Med Genet Part A* 143A:27–32.
- Haas SL. 1940. Bilateral complete syndactylism of all fingers. *Am J Surg* 50:363–366.
- Heutink P, Zguricas J, van Oosterhout L, Breedveld GJ, Testers L, Sandkuijl LA, Snijders PJ, Weissenbach J, Lindhout D, Hovius SE, Oostra BA. 1994. The gene for triphalangeal thumb maps to the subtelomeric region of chromosome 7q. *Nat Genet* 6:287–292.
- Kantaputra PN, Chalidapong P. 2000. Are triphalangeal thumb-polysyndactyly syndrome (TPTPS) and tibial hemimelia-polysyndactyly-triphala-geal thumb syndrome (THPTTS) identical? A father with TPTPS and his daughter with THPTTS in a Thai family. *Am J Med Genet* 93:126–131.
- Klopocki E, Ott CE, Benatar N, Ullmann R, Mundlos S, Lehmann K. 2008. A microduplication of the long range *SHH* limb regulator (*ZRS*) is associated with triphalangeal thumb-polysyndactyly syndrome. *J Med Genet* 45:370–375.
- Lettice LA, Horikoshi T, Heaney SJ, van Baren MJ, van der Linde HC, Breedveld GJ, Joosse M, Akarsu N, Oostra BA, Endo N, Shibata M, Suzuki M, Takahashi E, Shinka T, Nakahori Y, Ayusawa D, Nakabayashi K, Scherer SW, Heutink P, Hill RE, Noji S. 2002. Disruption of a long-range cis-acting regulator for *Shh* causes preaxial polydactyly. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:7548–7553.
- Lettice LA, Heaney SJ, Purdie LA, Li L, de Beer P, Oostra BA, Goode D, Elgar G, Hill RE, de Graaff E. 2003. A long-range *Shh* enhancer regulates expression in the developing limb and fin and is associated with preaxial polydactyly. *Hum Mol Genet* 12:1725–1735.
- Rambaud-Cousson A, Dudin AA, Zuaite AS, Thalji A. 1991. Syndactyly type IV/hexadactyly of feet associated with unilateral absence of the tibia. *Am J Med Genet* 40:144–145.
- Sato D, Liang D, Wu L, Pan Q, Xia K, Dai H, Wang H, Nishimura G, Yoshiura K, Xia J, Niikawa N. 2007. A syndactyly type IV locus maps to 7q36. *J Hum Genet* 52:561–564.
- Sun M, Ma F, Zeng X, Liu Q, Zhao XL, Wu FX, Wu GP, Zhang ZF, Gu B, Zhao YF, Tian SH, Lin B, Kong XY, Zhang XL, Yang W, Lo W, Zhang X. 2008. Triphalangeal thumb-polysyndactyly syndrome and syndactyly type IV are caused by genomic duplications involving the long-range, limb-specific *SHH* enhancer. *J Med Genet* 45:589–595.
- Tsukurov O, Boehmer A, Flynn J, Nicolai JP, Hamel BCJ, Traill S, Zaleske D, Mankin HJ, Yeon H, Ho C, Tabin C, Seidman JG, Seidman C. 1994. A complex bilateral polysyndactyly disease locus maps to chromosome 7q36. *Nat Genet* 6:282–286.
- Zguricas J, Heus H, Morales-Peralta E, Breedveld G, Kuyt B, Mumcu EF, Bakker W, Akarsu N, Kay SP, Hovius SE, Heredero-Baute L, Oostra BA, Heutink P. 1999. Clinical and genetic studies on 12 preaxial polydactyly families and refinement of the localisation of the gene responsible to a 1.9 cM region on chromosome 7q36. *J Med Genet* 36:32–40.

Prenatal Diagnosis of Costello Syndrome Using 3D Ultrasonography Amniocentesis Confirmation of the Rare HRAS Mutation G12D

Hideo Kuniba,^{1,2*} Ritsuko K. Pooh,³ Kensaku Sasaki,⁴ Osamu Shimokawa,⁴ Naoki Harada,⁴ Tatsuro Kondoh,^{2,5} Masanori Egashira,² Hiroyuki Moriuchi,² Koh-ichiro Yoshiura,¹ and Norio Niikawa^{1,6}

¹Department of Human Genetics, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

²Department of Pediatrics, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

³CRIFM Clinical Research Institute of Fetal Medicine PMC, Osaka, Japan

⁴Kyushu Medical Science Nagasaki Laboratory (KMS), Nagasaki, Japan

⁵Department of Clinical Genetics, Misakae-no-sono Mutsumi, Institute for Severe Intellectual/Motor Disabled Persons, Isahaya, Japan

⁶Research Institute of Personalized Health Sciences, Health Sciences University of Hokkaido, Tobetsu, Japan

Received 8 February 2008; Accepted 12 March 2008

TO THE EDITOR:

Costello syndrome (CS, OMIM #218040) is a rare disorder with a distinctive facial appearance, prenatal overgrowth, poor postnatal growth, loose skin of the hands and feet, characteristic hand position, developmental delay, papillomata, cardiac abnormalities, and tumor predisposition. *HRAS* is the only gene currently known to be causative for CS [Aoki et al., 2005; Nava et al., 2007; Rauen, 2007]. Almost all of the mutations of the *HRAS* gene in CS patients which have been reported subsequently have been diagnosed after infancy [Estep et al., 2006; Gripp et al., 2006; Kerr et al., 2006; Schulz et al., 2008] except for patients presenting with severe neonatal manifestation of CS [Lo et al., 2008]. We report on the first patient with prenatally diagnosed CS due to the rare c.35G > A, p.G12D *HRAS* mutation.

A 31-year-old G2P1 woman was referred at 23 weeks of gestation for ultrasonography which showed polyhydramios, good fetal movement, and overgrowth with estimated body weight 1,300 g (+5.3 SD using a Japanese fetal growth curve). There was no pleural effusion, ascites or subcutaneous edema. Craniofacial features included large head (+3.0 SD), pointed chin, full cheeks, wide nasal bridge, and low-set ears (Fig. 1A), but no macroglossia, omphalocele, hydrocephalus, or brain anomalies. The size of the abdomen was equivalent to that of a fetus at 28–31 weeks gestation. The fetal stomach could not be identified. Hepatomegaly was detected, but the other visceral organs were normal. The extremities were normal in length without deformity, although the wrists were deviated laterally.

Cytogenetic and molecular analyses were performed after obtaining informed consent from parents. Standard chromosomes analysis by amniocentesis showed normal karyotype: 46,XY. The deletion of *NSD1* responsible for Sotos syndrome was not detected

How to Cite this Article:

Kuniba H, Pooh RK, Sasaki K, Shimokawa O, Harada N, Kondoh T, Egashira M, Moriuchi H, Yoshiura K, Niikawa N. 2009. Prenatal diagnosis of Costello syndrome using 3D ultrasonography amniocentesis confirmation of the rare *HRAS* mutation G12D.

Am J Med Genet Part A 149A:785–787.

by fluorescence in situ hybridization (data not shown). By the time CS was suspected, the volume of amniotic fluid was only 1.8 ml which was frozen and stored in the clinic. To perform molecular diagnosis for CS, DNA was extracted with QIAvac vacuum manifold (Qiagen, Chatsworth, CA) from the specimen, and whole genome amplification was carried out with GenomePlex Whole Genome Amplification Kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), according to the manufacturer's instructions. In this procedure, 3 µg of DNA was obtained. All *HRAS* coding exons and their flanking intronic sequences were analyzed by direct sequencing on an ABI 3100 automated sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA), and a rare missense mutation was found, that is, c.35G > A, p.G12D (Fig. 1B).

*Correspondence to:

Dr. Hideo Kuniba, Department of Pediatrics, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Sakamoto 1-12-4, Nagasaki 852-8523, Japan. E-mail: kuniba03@nifty.com

Published online 18 July 2008 in Wiley InterScience

(www.interscience.wiley.com)

DOI 10.1002/ajmg.a.32335

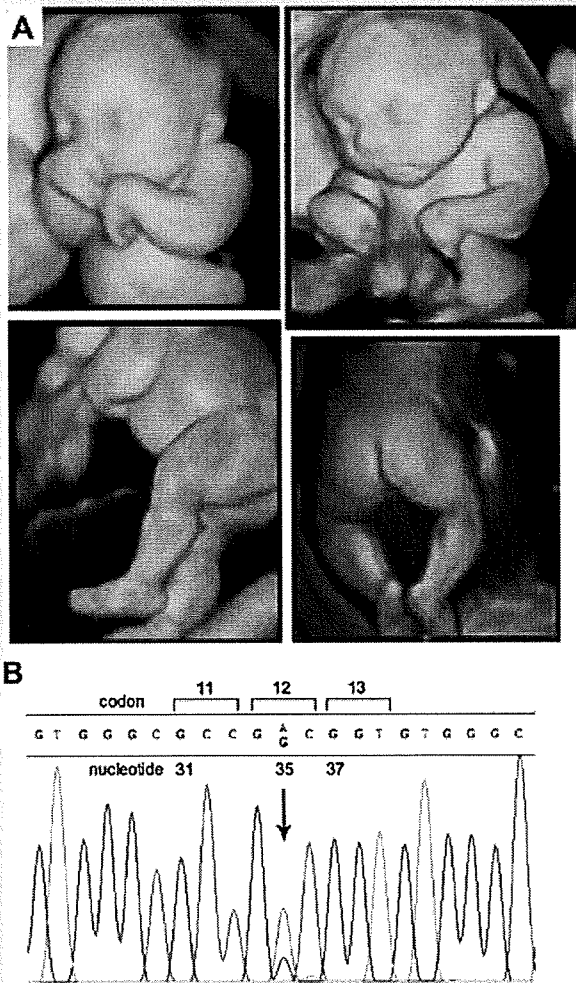


FIG. 1. A: Three-dimensional ultrasound images of the fetus at 24 weeks of gestation with overgrowth and so-called "coarse face". Note his left hand presenting ulnar deviation and flexion of the wrist. B: Electropherogram of *HRAS* showing missense mutation at codon 12, c.35G > A, p.G12D. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at www.interscience.wiley.com.]

The mother had been transported to a pediatric hospital after the fetal evaluation, and the fetus subsequently developed pleural effusion and deteriorated. He was born at 31 weeks gestation via cesarean. He weighed 2,926 g (+4.2 SD) and developed respiratory failure, severe hypoglycemia, cardiac hypertrophy and renal failure. Although he was treated in neonatal intensive care unit, he died soon after birth due to multiple organ failures. Permission for autopsy was not granted. We were unable to study the parental origin [Sol-Church et al., 2006; Zampino et al., 2007] because DNA samples from the mother and his 33-year-old father had not been obtained.

Prenatal overgrowth and polyhydramnios were prominent in this case. Dysmorphic facial features and flexion of the wrist, imaged with striking clarity by three-dimensional (3D) ultrasonography led us to a clinical diagnosis of CS. Prenatal overgrowth syndromes include relatively few conditions, that is, Sotos syndrome, Simpson–Golabi–Behmel syndrome, Beckwith–Wiedemann syndrome, and CS. The presence of polyhydramnios which occurs in over 90% of pregnancies with CS, supported by the 3D ultrasonographic imaging of facial features (broad nose, puffy cheeks, so-called "coarse" face, pointed chin, and flexion of the wrist) made the diagnosis likely. Three-dimensional ultrasonography is clearly more beneficial than two-dimensional (2D) ultrasonography in a diagnosis of genetic syndromes, since we can see overall fetal image of malformation which we hardly get with conventional 2D ultrasonography [Lee and Simpson, 2007]. The phenotype of Noonan syndrome often overlaps with that of CS, and the prenatal findings of Noonan syndrome, polyhydramnios and so-called "coarse face" in a fetus with the T854C mutation in the *PTPN11* gene, have been reported [Levaillant et al., 2006], although that fetus with Noonan syndrome did not develop overgrowth.

CS was diagnosed clinically in the prenatal period in monozygotic twins who died 57 days of life after birth at 30 weeks of gestation due to respiratory failure [Van den Bosch et al., 2002]. Molecular diagnosis was not available. Neonatal deaths in two patients with CS confirmed by molecular diagnosis of G12D *HRAS* mutation were reported by Lo et al. [2008]. One patient was born at 36 weeks gestation weighing 2,950 g developed hypoglycemia, persistent and severe jaundice, persistent respiratory distress with tracheomalacia, bronchomalacia and chylothorax. The baby also had clenched hands, atrial septal defect, paroxysmal multifocal atrial tachycardia, pulmonary lymphangiectasia, and renal failure. She died at age 3 months due to respiratory failure. The other patient was a girl born at 37 weeks gestation weighing 3,115 g had hypoglycemia, rhizomelic limb shortening and flexion contractures at the wrist, hypertrophic cardiomyopathy, dysplastic pulmonary valve, atrial fibrillation, cardiac failure and persistent hyponatremia due to renal sodium leakage. She became ventilator dependent and died at 3 months of age from sepsis and renal failure. Both had pregnancies complicated by polyhydramnios. Lo et al. [2008] suggested that differences in activating potential of G12D mutations in *HRAS* gene may result in severe manifestations, such as hypoglycemia, renal abnormalities, severe early cardiomyopathy, and congenital respiratory abnormalities, which result in multiple organ failure.

We believe this is the first case of prenatally diagnosed CS confirmed with molecular genetic analysis with a G12D mutation in *HRAS* gene. The mutation was not observed in previous natural history studies of CS, perhaps because of the rarity of the mutation and the fact that the patients die in early infancy. Our findings contribute to the natural history of this mutation which includes a severe clinical course. If prenatal ultrasonographic findings show both polyhydramnios and overgrowth, CS should be considered despite its rarity. Molecular diagnosis should be offered in the perinatal period without hesitation.