

to the atypical growth of the neovascularization. While NO is known to derive vasodilatation and up-regulates regional basal blood flow,⁴ it also activates angiogenic cell migration and proliferation-inducing factors, including fibroblast growth factor 2 and vascular endothelial growth factor.⁵ Because retinal angiogenesis is ongoing in premature infants, NO might have contributed to the atypical neovascularization near the optic disc in our patient.

In animal models of oxygen-induced retinopathy, neovascularization induced by obliteration of the immature capillaries also develops from the optic disc and posterior retina.⁶ Because AP-ROP develops in the posterior retinal area, including zone I, this suggests that immature capillaries may be widely present, and neovascularization arises from the retina near the optic disc. Capillary nonperfusion in vascularized retinas has been identified in eyes with threshold ROP.⁷ Thus, there might be a much wider area of nonperfusion in the posterior retina in eyes with AP-ROP, which should be studied using fluorescein angiography.

Acknowledgments. This work was supported by grants for research on sensory disorders from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.

Key Words: aggressive posterior retinopathy of prematurity, fibrovascular proliferation, photocoagulation, regrowth, vitrectomy

Miina Hiraoka, Sachiko Nishina, Atsuko Nakagawa,
Kentarō Matsuoka, and Noriyuki Azuma
Department of Ophthalmology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

Received: December 11, 2007 / Accepted: April 23, 2008

Correspondence to: Noriyuki Azuma, Department of Ophthalmology, National Center for Child Health and Development, 2-10-1 Okura, Setagaya-ku, Tokyo 157-8535, Japan
e-mail: azuma-n@ncchd.go.jp

DOI 10.1007/s10384-008-0557-3

References

1. Foos RY. Retinopathy of prematurity. Pathologic correlation of clinical stages. *Retina* 1987;7:260-276.
2. International Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. The international classification of retinopathy of prematurity revisited. *Arch Ophthalmol* 2005;123:991-999.
3. Azuma N, Ishikawa K, Hama Y, Hiraoka M, Suzuki Y, Nishina S. Early vitreous surgery for aggressive posterior retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol* 2006;142:636-643.
4. Gross SS, Wolin MS. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu Rev Physiol* 1995;57:737-769.
5. Ziche M, Morbidelli L. Nitric oxide and angiogenesis. *J Neurooncol* 2000;50:139-148.
6. McLeod DS, D'Anna SA, Lutty GA. Clinical and histopathological features of canine oxygen-induced proliferative retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:1918-1932.
7. Schulenburg WE, Tsanaktsidis G. Variations in the morphology of retinopathy of prematurity in extremely low birthweight infants. *Br J Ophthalmol* 2004;88:1500-1503.

Exudative retinal detachment following cataract surgery in Hallermann-Streiff syndrome

Sachiko Nishina · Yumi Suzuki · Noriyuki Azuma

Received: 7 September 2007 / Revised: 17 November 2007 / Accepted: 27 November 2007 / Published online: 12 January 2008
© Springer-Verlag 2007

Abstract

Purpose To report two cases of Hallermann-Streiff syndrome with exudative retinal detachment after cataract surgery.

Methods Case report.

Results Four eyes of two patients with Hallermann-Streiff syndrome developed exudative retinal detachments after lensectomy and anterior vitrectomy at 2 and 4 months of age. Both patients had extreme microphthalmia. The exudative retinal detachment regressed spontaneously in three of the four eyes; however, one eye required subcleral sclerectomy. In one patient, the best-corrected visual acuity was 20/200 at 3 years of age; the other patient had good fixation and following behavior in each eye at 1 year of age.

Conclusions Early surgery to treat congenital cataracts in extremely microphthalmic eyes associated with the Hallermann-Streiff syndrome may induce exudative retinal detachment. However, the retinal detachments tend to regress and may not cause severe visual impairment.

Keywords Hallermann-Streiff syndrome · Exudative retinal detachment · Cataract surgery · Microphthalmos

Introduction

The Hallermann-Streiff syndrome is a rare complex of developmental abnormalities characterized by dyscephaly with

bird face, beak nose and micrognathia, dental anomalies, hypotrichosis, skin atrophy, microphthalmia, congenital cataracts, and proportionate dwarfism [1]. Most cases are sporadic, and the etiology is unknown. Various ocular findings and fundus anomalies have been reported, including vitreous degeneration, retinal folds, coloboma, and Coats' disease; however, a few reports have described detailed fundus changes after cataract surgery [2–4]. To our knowledge, this is the first report on the development of exudative retinal detachments after cataract surgery in four microphthalmic eyes of two patients with the Hallermann-Streiff syndrome.

Case report

Patient 1, a 1-month-old Japanese male infant, referred with a diagnosis of bilateral congenital cataracts and microphthalmia. He had the typical features of the Hallermann-Streiff syndrome, including dyscephaly with beak nose and micrognathia, dental anomalies, hypotrichosis, skin atrophy, and proportionate dwarfism (Fig. 1a). A slit-lamp examination revealed total cataracts, a microcornea (corneal diameter, 7×7.5 mm OD and 8×8.5 mm OS), a shallow anterior chamber, posterior synechiae, and poor pupil dilation in both eyes. Ultrasonography showed bilateral microphthalmia (axial length, 13 mm OD and 14 mm OS) but no other posterior segment anomalies. Lensectomy and anterior vitrectomy via the limbal approach using a 25-gauge surgical system was performed in both eyes at 2 months of age. No intraoperative or postoperative complications developed except for transient corneal edema. Ophthalmoscopy identified small retinal folds between the disc and fovea in both eyes. The aphakic eyes were corrected with glasses, and both eyes developed fixation and following behavior.

The authors have no proprietary interest in any aspect of this report.

S. Nishina (✉) · Y. Suzuki · N. Azuma
Department of Ophthalmology,
National Center for Child Health and Development,
2-10-1 Ohkura, Setagaya-ku,
Tokyo 157-8535, Japan
e-mail: nishina-s@ncchd.go.jp

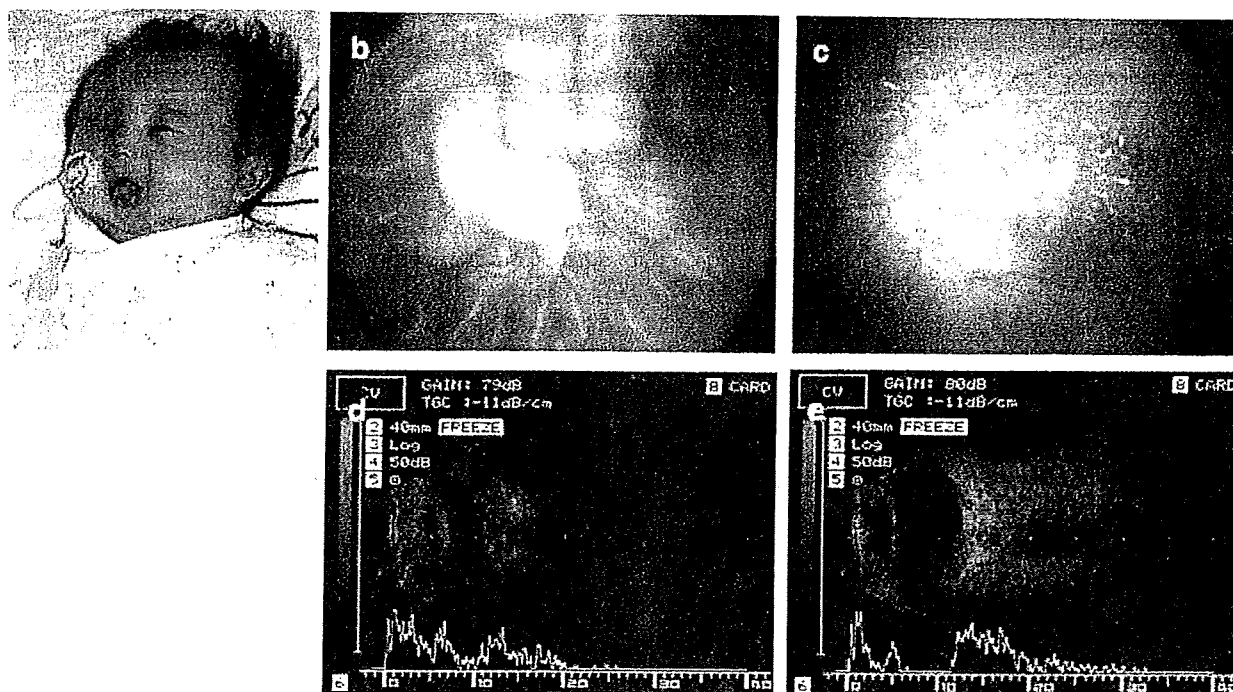


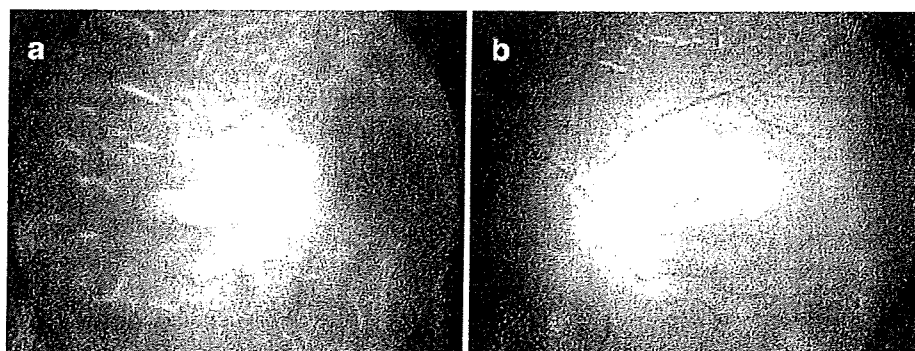
Fig. 1 Patient 1. (a) Facial characteristics at 2 months of age. Bilateral exudative retinal detachments at 7 months of age. The right eye (b) has the more severe retinal detachment and requires subcleral sclerectomy. The left eye (c) also has an exudative retinal detachment

that regressed spontaneously. Ultrasonography shows both right eye (d) and left eye (e) have exudative retinal detachments with choroidal thickening

We examined the patient every month and then at 5 months after cataract surgery (7 months of age) when exudative retinal detachment developed in both eyes (Fig. 1b,c). Ultrasonography also showed bilateral exudative retinal detachment with choroidal thickening (Fig. 1d,e). The retinal detachment spontaneously regressed in the left eye, but progressed and did not regress in the right eye. Following behavior in the right eye deteriorated, and we performed a subcleral sclerectomy twice in that eye using 0.02% mitomycin C at 1 year 9 months and 2 years 4 months of age. The retinal detachment regressed, and at 3 years 5 months of age did not recur in either eye. The best-corrected visual acuity (BCVA) was 2/100 in the right eye and 20/200 in the left eye.

Patient 2, a 5-month-old Japanese female infant, referred with a diagnosis of bilateral retinal detachments after cataract surgery. She had undergone lensectomy and anterior vitrectomy at 4 months of age in another hospital. She exhibited the characteristic features of the Hallermann-Streiff syndrome, including dyscephaly with beak nose and micrognathia, dental anomalies, hypotrichosis, and proportionate dwarfism. A slit-lamp examination showed bilateral aphakia and a microcornea (corneal diameter, 7×7.5 mm OD and 8×8.5 mm OS). Ophthalmoscopy of both eyes showed exudative retinal detachments (Fig. 2). Ultrasonography showed bilateral microphthalmia (axial length, 13 mm OD and 14 mm OS) and retinal detachments with choroidal thickening. The retinal detachments spontaneous-

Fig. 2 Patient 2. Bilateral exudative retinal detachments at 1 years of age. The exudative retinal detachments regressed spontaneously in the right eye (a) and the left eye (b)



ly regressed in both eyes, and the patient had good fixation and following behavior with each eye at 1 year of age.

Discussion

These four eyes of two patients had severe microphthalmos and developed exudative retinal detachments after early surgery for congenital cataracts at 2 and 4 months of age. One of the four eyes required surgery; however, the retinal detachment regressed in three eyes, and the visual acuity was not severely impaired. This suggests that the extreme microphthalmic eye in the Hallermann-Streiff syndrome may have considerable scleral abnormalities that impede transscleral intraocular fluid outflow and result in congestion of the choroidal vein [5]. Early cataract surgery is supposed to induce hypotony, marked intraocular inflammation and transiently accelerate production of a protein-rich exudate. Intraocular fluid outflow may severely be resisted postoperatively and accumulated in choroid without venous drainage. It may possibly cause early onset of exudative retinal detachment in these eyes.

In this syndrome, spontaneous cataract absorption sometimes occurs, but results in deprivation amblyopia, iridocyclitis, and glaucoma [4, 6]. Although exudative retinal detachment tends to occur, it is preferable to perform early cataract surgery using less invasive procedures.

References

1. François J (1958) A new syndrome: Dyscephalia with bird face and dental anomalies, nanism, hypotrichosis, cutaneous atrophy, microphthalmia, and congenital cataract. *Arch Ophthalmol* 60:842–862
2. Cohen MM Jr (1991) Hallermann-Streiff syndrome: a review. *Am J Med Genet* 41:488–499
3. Newell SW, Hall BD, Anderson CW, Lim ES (1994) Hallermann-Streiff syndrome with Coats disease. *J Pediatr Ophthalmol Strab* 31:123–125
4. Hopkins DJ, Horan EC (1970) Glaucoma in the Hallermann-Streiff syndrome. *Br J Ophthalmol* 54:416–422
5. Ryan EA, Zwaan J, Chylack LT (1982) Nanophthalmos with uveal effusion. Clinical and embryologic considerations. *Ophthalmology* 89:1013–1017
6. Wolter JR, Jones DH (1965) Spontaneous cataract absorption in Hallermann-Streiff syndrome. *Ophthalmologica* 150:401–408

Research Letter

SOX10 Mutation in Waardenburg Syndrome Type II

Manami Iso,¹ Maki Fukami,¹ Reiko Horikawa,² Noriyuki Azuma,³
Nobuko Kawashiro,⁴ and Tsutomu Ogata^{1*}

¹Department of Endocrinology and Metabolism, National Research Institute for Child Health and Development, Tokyo, Japan

²Division of Endocrinology and Metabolism, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

³Division of Ophthalmology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

⁴Division of Otorhinolaryngology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

Received 20 February 2008; Accepted 3 May 2008

How to cite this article: Iso M, Fukami M, Horikawa R, Azuma N, Kawashiro N, Ogata T. 2008. *SOX10* mutation in Waardenburg syndrome type II. *Am J Med Genet Part A* 146A:2162–2163.

To the Editor:

Waardenburg syndrome (WS) is a congenital developmental disorder characterized by sensorineural hearing loss and abnormal pigmentation of the eye, hair, and skin [Jones, 2006]. This condition is divided into four types [reviewed in Jones, 2006; Bondurand et al., 2007]. Type I WS (WS1) consists of dystopia canthorum and broad nasal root, and is almost exclusively caused by heterozygous mutations of *PAX3*. Type II WS (WS2) lacks the dystopia canthorum and results from heterozygous mutations of *MITF* (WS2A) in ~15% of patients and homozygous deletions of *SNAI2* (WS2D) in two patients. Type III WS (WS3) (Klein–Waardenburg syndrome), a severe form of WS1, is associated with upper limb defects, and is ascribed to heterozygous or homozygous mutations of *PAX3*. Type IV WS (WS4) (Shah–Waardenburg syndrome) is characterized by Hirschsprung disease, and is caused by heterozygous or homozygous mutations of *EDNRB* or its ligand *EDN3*, or by heterozygous mutations of *SOX10*.

Thus, the underlying causes remain to be clarified in most of the WS2 patients. While a WS2 locus is mapped to chromosome 1p (WS2B) [Lalwani et al., 1994] and chromosome 8q23 (WS2C) [Selicorni et al., 2002], a causative gene(s) has not been identified from these regions. In this regard, Bondurand et al. [2007] have recently identified *SOX10* deletions in patients with WS2, implying that *SOX10* abnormalities can cause WS2 (WS2E) as well as WS4. Here, we describe another case of WS2E caused by heterozygous *SOX10* mutation.

This Japanese girl was born to nonconsanguineous healthy parents at 41 weeks of gestation after an uncomplicated pregnancy and delivery. At birth, her length was 49.6 cm (+0.6 SD), and her weight 3.4 kg (+0.1 SD). She was found to have light blue eyes, and

referred to us at 12 days of age. She manifested hypopigmented irides and a piece of white forelock, but lacked dystopia canthorum, broad nasal root, and Hirschsprung disease. Ophthalmologic examinations revealed bilateral ocular albinism with hypopigmented fundus and hypochromic iris. At 3.5 months of age, auditory brainstem response was performed because of poor responses to sounds, showing bilateral severe sensorineural deafness (hearing level, 90 dB bilaterally). Brain computed tomography showed no abnormal finding. On the basis of the above findings, she was diagnosed as having WS2.

After obtaining written informed consent, direct sequencing was performed for leukocyte genomic DNA of this patient, detecting no abnormality in the coding sequences of *PAX3*, *MITF*, and *SNAI2*. However, we identified a heterozygous *SOX10* frameshift mutation (c.506delC) on exon 4 that is predicted to result in a premature termination at the 284th amino acid (p.Pro169fsX284) (Fig. 1A). The primer sequences and the annealing temperature used were: exon 3, GTTGGACTCTTTGCGAGGAC and ATCCACCCGAAGCTAGAGG (58°C); exon 4, AGCCCCTCTGCTGTCCTCT and CACCCTCAGCTCTGTCATCA (60°C); and exon 5, CTAACCTGCTTCCCCCTTG and CAAGGAACAGGGCACACAG (58°C). This frameshift mutation located within the high mobility group (HMG) DNA-binding domain, and removed the C-terminal part of the HMG domain and the whole transactivation domain. This mutation is predicted to destroy an *NciI* restriction site, and

*Correspondence to: Tsutomu Ogata, M.D., Department of Endocrinology and Metabolism, National Research Institute for Child Health and Development, Tokyo 157-8535, Japan. E-mail: tomogata@nch.go.jp

Published online 14 July 2008 in Wiley InterScience

(www.interscience.wiley.com)

DOI 10.1002/ajmg.a.32403

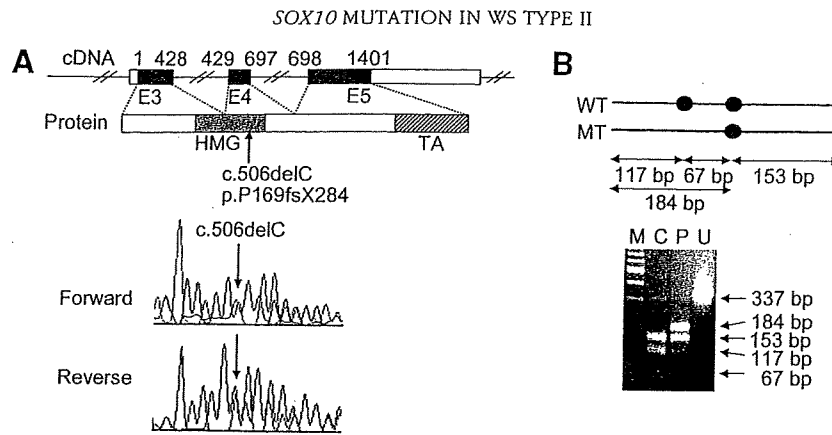


Fig. 1. Mutational analysis of *SOX10*. A: Direct sequencing of exon 4. Shown on the upper part is a schematic representation indicating the coding exons 3–5 (E3–E5) and the functional domains. For the *SOX10* cDNA, the black and white areas denote the coding regions and the untranslated regions, respectively, and the Arabic numbers indicate the cDNA sequence encoded by each exon. For the *SOX10* protein, the gray and striped squares represent the high mobility group (HMG) DNA-binding domain and the transactivating (TA) domain. Electrochromatograms (forward and reverse) indicate a heterozygous c.506delC mutation on exon 4. B: Restriction enzyme analysis. The black circles represent *NciI* restriction sites. PCR products contain naturally occurring two *NciI* sites on the wild-type (WT) exon 4, and one of the two *NciI* sites is predicted to be destroyed on the mutant (MT) exon 4. After *NciI* digestion, WT sequence specific 117 and 67 bp bands only are found for a control subject (C), whereas WT specific 117 bp and 67 bp bands and a MT specific 184 bp band are shown for the patient (P). M: size marker; and U: undigested PCR product (337 bp).

this was confirmed by the *NciI* digestion of the corresponding PCR products (Fig. 1B). While the parents postponed the decision to have the genetic testing, this mutation was absent in 100 control subjects.

The results provide further support for the notion that WS2 can be caused by heterozygous abnormalities of *SOX10* (WS2E). In this regard, a *SOX10* frameshift mutation (c.1076–1077delGA, p.Thr360fsX399) has been identified not only in a patient with a typical WS4 but also in the mother with an apparently WS2-compatible deafness and white forelock only phenotype [Pingault et al., 1998]. In addition, another *SOX10* missense mutation (p.Ser135Thr) has also been detected in a patient with “Yemenite deaf-blind hypopigmentation syndrome” mimicking WS2 [Bondurand et al., 1999]. These findings, together with *SOX10* deletions in patients with WS2 [Bondurand et al., 2007], imply that heterozygous *SOX10* abnormalities lead to not only WS4 but also to the WS2 phenotype. Such phenotypic variability would not be unexpected, because it is known that heterozygous mutations of developmental genes are usually associated with wide range of expressivity and penetrance [Fisher and Scambler, 1994]. In addition, the position of the frameshift mutation on exon 4 may also be relevant to the lack of associated features, because *SOX10* mutations residing on the last exon frequently lead to more severe phenotypes such as chronic intestinal pseudo-obstruction and/or neurological features, probably due to escape from the nonsense mediated mRNA decay [Pingault et al., 2000, 2002; Inoue et al., 2004].

REFERENCES

- Bondurand N, Kuhlbrodt K, Pingault V, Enderich J, Sajus M, Tommerup N, Warburg M, Hennekam RC, Read AP, Wegner M, Goossens M. 1999. A molecular analysis of the yemenite deaf-blind hypopigmentation syndrome: *SOX10* dysfunction causes different neurocristopathies. *Hum Mol Genet* 8:1785–1789.
- Bondurand N, Dastot-Le Moal F, Stanchina L, Collot N, Baral V, Marlin S, Attie-Bitach T, Giurgea I, Skopinski L, Reardon W, Toutain A, Sarda P, Echaieb A, Lackmy-Port-Lis M, Touraine R, Amiel J, Goossens M, Pingault V. 2007. Deletions at the *SOX10* gene locus cause Waardenburg syndrome types 2 and 4. *Am J Hum Genet* 8:1169–1185.
- Fisher E, Scambler P. 1994. Human haploinsufficiency—One for sorrow, two for joy. *Nat Genet* 7:5–7.
- Inoue K, Khajavi M, Ohyama T, Hirabayashi S, Wilson J, Reggin JD, Mancias P, Butler IJ, Wilkinson MF, Wegner M, Lupski JR. 2004. Molecular mechanism for distinct neurological phenotypes conveyed by allelic truncating mutations. *Nat Genet* 36:361–369.
- Jones KL. 2006. Waardenburg syndrome, types I and II. In: Jones KL, editor. *Smith’s recognizable patterns of human malformation*. Philadelphia: Elsevier Saunders. p 278–279.
- Lalwani AK, Baldwin CT, Morell R, Friedman TB, San Agustin TB, Milunsky A, Adair R, Asher JH, Wilcox ER, Farrer LA. 1994. A locus for Waardenburg syndrome type II maps to chromosome 1p13.3–2.1. *Am J Hum Genet* 55:A14.
- Pingault V, Bondurand N, Kuhlbrodt K, Goerich DE, Préhu MO, Puliti A, Herbarth B, Hermans-Borgmeyer I, Legius E, Matthijs G, Amiel J, Lyonnet S, Ceccherini I, Romeo G, Smith JC, Read AP, Wegner M, Goossens M. 1998. *SOX10* mutations in patients with Waardenburg-Hirschsprung disease. *Nat Genet* 18:171–173.
- Pingault V, Guiochon-Mantel A, Bondurand N, Faure C, Lacroix C, Lyonnet S, Goossens M, Landrieu P. 2000. Peripheral neuropathy with hypomyelination, chronic intestinal pseudo-obstruction and deafness: A developmental “neural crest syndrome” related to a *SOX10* mutation. *Ann Neurol* 48:671–676.
- Pingault V, Girard M, Bondurand N, Dorkins H, Van Maldergem L, Mowat D, Shimotake T, Verma I, Baumann C, Goossens M. 2002. *SOX10* mutations in chronic intestinal pseudo-obstruction suggest a complex physiopathological mechanism. *Hum Genet* 111:198–206.
- Selicorni A, Guerneri S, Ratti A, Pizzuti A. 2002. Cytogenetic mapping of a novel locus for type II Waardenburg syndrome. *Hum Genet* 110:64–67.

黄斑を形成する遺伝子システムと再生医療への応用

Gene mechanism that relates to formation of the fovea and its contribution to reproducing medicine



東 範行

Noriyuki Azuma

国立成育医療センター眼科

◎黄斑は中心視力を得るための高度な網膜構造である。Pax6 はすべての動物における眼形成の master control 遺伝子であるが、ヒトの黄斑低形成で Pax6 遺伝子の変異が発見されたことから、黄斑の形成に関与していると思われる。Pax6 は選択的スプライスのエクソン 5a を含むアイソフォーム Pax6(+5a)と含まない Pax6(-5a)があり、異なる転写因子の働きをもつが、黄斑の形成には Pax6(+5a)がかかわっていることが示唆された。このような黄斑の形成にかかわる遺伝子システムを応用すれば、網膜の再生において高度な視覚を獲得できることが期待される。



Key word : 黄斑, 形態形成遺伝子, Pax6, 選択的スプライス

黄斑は網膜において高度な視覚である中心視力をつかさどるために細胞が密に集中する特殊な部位である。この形成機構には何らかの遺伝子が働いているはずであるが、これまでほとんど検討されていなかった。先天性の黄斑低形成において眼の形成遺伝子 Pax6 の変異がみつかったことが発端になって、この遺伝子の働きが *in vitro*, *in vivo* で検討され、網膜の高度構造をつくるシステムが明らかになりつつある。

眼形成のmaster control遺伝子Pax6

Pax 遺伝子群は paired box と homeobox を共通モチーフとしてもつ遺伝子ファミリーで、422 のアミノ酸をコードする。Pax 蛋白では paired box から翻訳される paired domain がおもに標的遺伝子に結合する(図 1)。この遺伝子群は最初にショウジョウバエで発見され、脊椎動物では 9 種みつかり、Pax6 はその 6 番目にあたる。ヒトの Pax6 遺伝子は最初に先天無虹彩の原因遺伝子として染色体 11p13 領域の欠失部位から positional cloning によって発見された¹⁾。

その後、この遺伝子がマウスやラットで変異があると小眼球を起こす small eye (Sey) や、ショウジョウバエで複眼が形成されない eyeless と相同であることが判明した。さらに、ショウジョウバエ初期胚のさまざまな部位にこの遺伝子を導入すると (target expression)、触覚や翅、肢などに異所性に複眼が発生したことから、眼の器官全体をつくる強力な形態形成遺伝子であることが明らかになった²⁾。器官の形態形成には全体的に支配する master control 遺伝子があると予測されていたが、下等動物とはいえ、眼というもっとも複雑な器官でその遺伝子がいきなりみつかったのである(図 2)。

その後、さまざまな動物で Pax6 遺伝子が見つかり、脊椎動物、軟体動物の眼や昆虫の複眼だけでなく、プラナリアの原始眼や線虫の光感受性細胞にも存在しており、塩基配列が高度に保存されていたことから、眼の起源に関する考えに大きな転換をもたらした。動物には、種によって複眼、鏡眼、カメラ眼などさまざまな形態の眼があり、従来は 40~60 系統が別々に発生した(収斂進化)と考えられていた。しかし、Pax6 がすべての動物

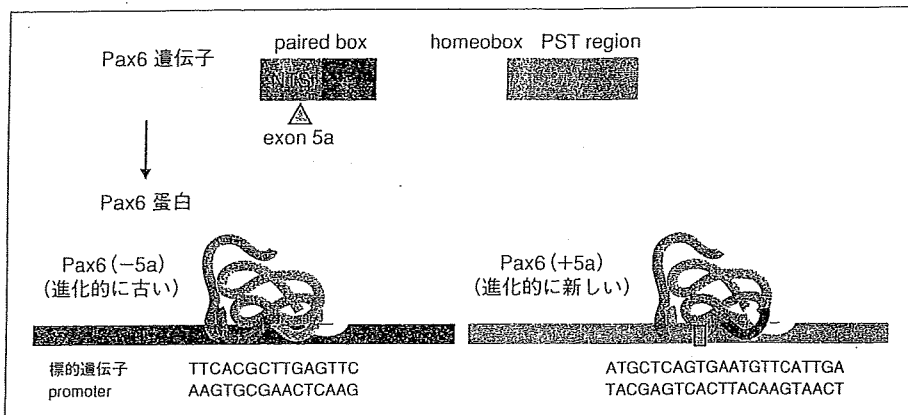


図 1 Pax6遺伝子と蛋白の構造

主要構造として、paired domain(標的 DNA に接触する部位、ここに相当する遺伝子配列を paired box という)、homeodomain(標的 DNA に接触するとともに形態形成遺伝子に特徴的な配列、遺伝子では homeobox)、末尾にプロリン、セリン、スレオニンを多く含む activating domain をもつ。エクソン 5 とエクソン 6 の間に 14 のアミノ酸をコードする選択的スプライスのエクソン 5a があり、2 種類のアイソフォームが作られる。Paired domain はさらに N-terminal subdomain(NTS)と C-terminal subdomain(CTS)の 2 つに分かれ、標的 DNA が異なる。エクソン 5a による 14 アミノ酸が入れば CTS が、入らなければ NTS が働く。

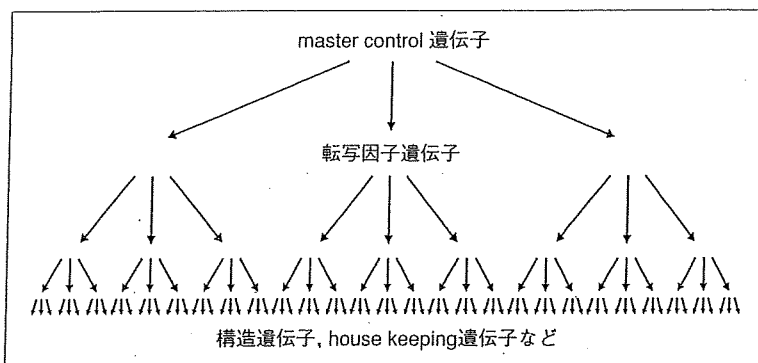


図 2 転写因子遺伝子カスケード

発生において組織ごとに上流遺伝子が下流を支配し、その頂点に器官形成全体を統合する master control 遺伝子が存在する。

の眼に存在することから、眼が原始の祖先動物で光を感じる細胞としてただ一度だけ出現し、進化とともに多彩な形態をとるようになったという単一起源説が支持されるようになった²⁾。

Pax6遺伝子の変異によって起こるヒト眼形成異常

In situ hybridization や免疫染色によって Pax6 の発現を検討すると、発生初期は中枢神経や眼原基、中枢神経では前脳、後脳、神経管脳室復側、下垂体、嗅脳、眼ではまず視溝、ついで眼胞、表

面外胚葉と水晶体板、網膜、角膜の順で、眼球ほぼ全体を網羅している(図 3)³⁾。以上から、この遺伝子に変異が起こればきわめて多くの先天異常を起こすと推察された。

先天無虹彩では多くの変異が見出されてきたが、そのほかにも Peters 奇形のような前眼部形成不全、角膜ジストロフィー、瞳孔形成異常、先天白内障、黄斑低形成、視神経形成不全で変異がみつき(図 4)⁴⁻⁶⁾、Pax6 がヒトでも前眼部から眼底まで広い範囲で眼の形成を担っていることが分子遺伝学からも証明された。太古に光を感じる細胞

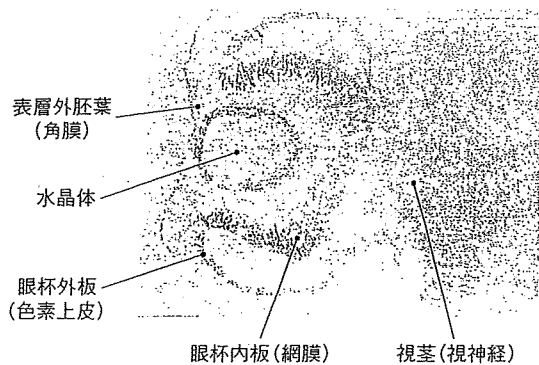


図3 Pax6のモノクローナル抗体による発生ヒト眼 (胎齢5週)の免疫染色³⁾
発生初期では眼球のほぼ全体が染まる。

から出発した遺伝子が進化とともに眼形態形成の中心にいつづけて、角膜、虹彩、水晶体、網膜をつくるようになり、ついには視覚進化の頂点である黄斑を形成するに至ったことになる。

これまでにみつかった Pax6 の変異型と表現型には、遺伝子の変異が重篤なほど表現型も重症であるという法則がある。これは Pax6 に、①一対の対立遺伝子の両方が揃っていないと正常に機能しない (haploinsufficiency)、②遺伝子障害の程度と表現型が相関する (dose dependent)、という特徴があるためである。変異形式がストップコドン、フレームシフト、スプライシングエラーといったナンセンス変異では無虹彩のような眼球全体の形成不全を起こし、1 アミノ酸が置換した軽度なミスセンス変異では角膜、水晶体、網膜などで限局した形成不全を起こす。黄斑のみの形成不全がある孤立性黄斑低形成でみつかった変異はいずれもミスセンス変異である⁴⁻⁶⁾。

|| Pax6の選択的スプライスの働きと黄斑低形成の遺伝子変異

Pax6 遺伝子には、エクソン 5 とエクソン 6 の間に、14 のアミノ酸をコードする選択的スプライスのエクソン 5a が存在する。そして、これが読まれるか読まれないかによって、Pax6 蛋白は 14 アミノ酸が入るもの [Pax6(+5a)] と入らないもの [Pax6(-5a)]、2 種類のアイソフォームがつくられる⁵⁾。Pax6 蛋白では、転写因子として標的 DNA に接着する部位の paired domain があるが、14 ア

ミノ酸はこのなかに存在する。paired domain はさらに N-terminal subdomain と C-terminal subdomain の 2 つに分かれ、異なるタイプの binding consensus をもつ標的 DNA を支配する。しかも生化学的検討によれば両 subdomain はたがいの働きを抑制しあっている。そして、エクソン 5a による 14 アミノ酸が入れば C-terminal が、入らなければ N-terminal が働くので、エクソン 5a は molecular switch の働きをもっている (図 1)⁵⁾。Pax6 の進化からみると、N-terminal subdomain は原始的動物にある基本的なもので、標的 DNA もいくつか判明している。一方、エクソン 5a は無脊椎動物では存在せず、脊椎動物に至って出現したので、C-terminal subdomain が働きはじめたのは進化的に比較的新しい。しかも、その機能はまったく不明で、標的遺伝子もみつかっていない。

これまでに発見された孤立性黄斑低形成の Pax6 ミスセンス変異はことごとく C-terminal subdomain あるいはエクソン 5a のなかに存在する^{4,5)}。したがって、黄斑の形成にはこの C-terminal subdomain が関与していると推測された。

|| 黄斑発生領域における Pax6 アイソフォームの発現

発生期の動物で時期別、眼組織別に mRNA を採取して cDNA を作成し、Pax6 の 2 つのアイソフォームを RT-PCR で検討すると、Pax6(-5a) は発生期全般にわたって広範な組織に発現する。しかし、Pax6(+5a) は発生期後半に後方網膜に強く発現することが示された。さらに免疫染色では、Pax6(-5a) に対する抗体では網膜は後方から前方まで均一に染まるのに対して、エクソン 5a がコードする 14 アミノ酸に対する抗体では黄斑領域を中心とする後極のみに染色がみられ、Pax6(+5a) は黄斑領域に限局して発現することが判明した (図 5)⁷⁾。

|| Pax6 アイソフォームの網膜形成・分化に関する機能

Pax6 が黄斑形成に関与するならば、発生期の網膜に Pax6 を過剰に導入すると網膜の形成が進むはずである。しかし、過去の研究報告は逆の結果

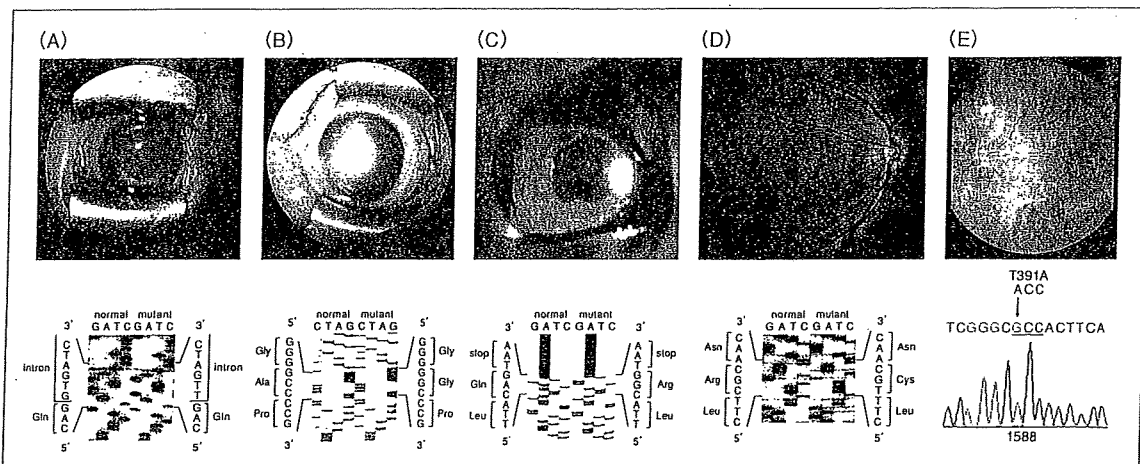


図 4 Pax6の変異が見つかった眼先天異常⁴⁻⁶⁾
 A: 無虹彩, B: 前眼部形成不全, C: 瞳孔形成異常, D: 黄斑低形成, E: 視神経低形成.

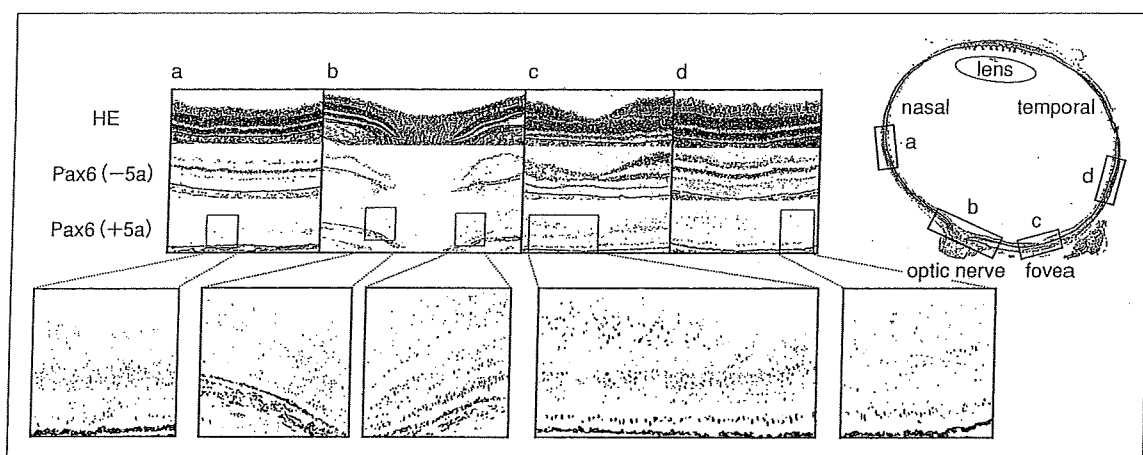


図 5 Pax6アイソフォームの発現期網膜における発現⁷⁾
 出生直後のマーマセット Pax6(-5a)に対する抗体では、網膜は後方から周辺部まで均一に染まるのに対して、エクソン 5a がコードする 14 アミノ酸に対する抗体では黄斑領域を中心とする後極のみに染色がみられる。Pax6(+5a)は黄斑領域に局限して発現することが示唆される。

を示していた。Pax6 の変異をもつマウスは小眼球になるが、一方で、Pax6 を過剰に導入したトランスジェニックマウスをつくっても小眼球が生ずる⁸⁾。ここから Pax6 の発現量は少なくとも多過ぎても正常に機能しないという考えが定着した。しかし、トランスジェニックマウスでは、導入した Pax6 が眼球だけでなく、中枢や視神経など多くの組織に発現する。小眼球は発生のわずかな均衡がくずれば容易に起こるので、多くの組織に Pax6 が異常量発現すれば、組織間相互作用が障害され、結果として小眼球になることも考えられる。網膜

への Pax6 の影響を知るためには網膜だけに遺伝子を導入しなければならない。そこでニワトリの発現期網膜に electroporation で Pax6 を直接導入した。Electroporation で導入した遺伝子は細胞質内で短期間発現するので、発生のような一時期に働く遺伝子の機能を観察する点では都合がよい。

発生初期(stage 12~16)の網膜に、エクソン 5a を含まない Pax6 のアイソフォーム Pax6(-5a)を導入すると網膜が厚くなり、神経節細胞が増加し(図 6-B)、神経線維が硝子体腔に向かって増加した(図 6-C)。導入直後では神経芽細胞の分裂が充

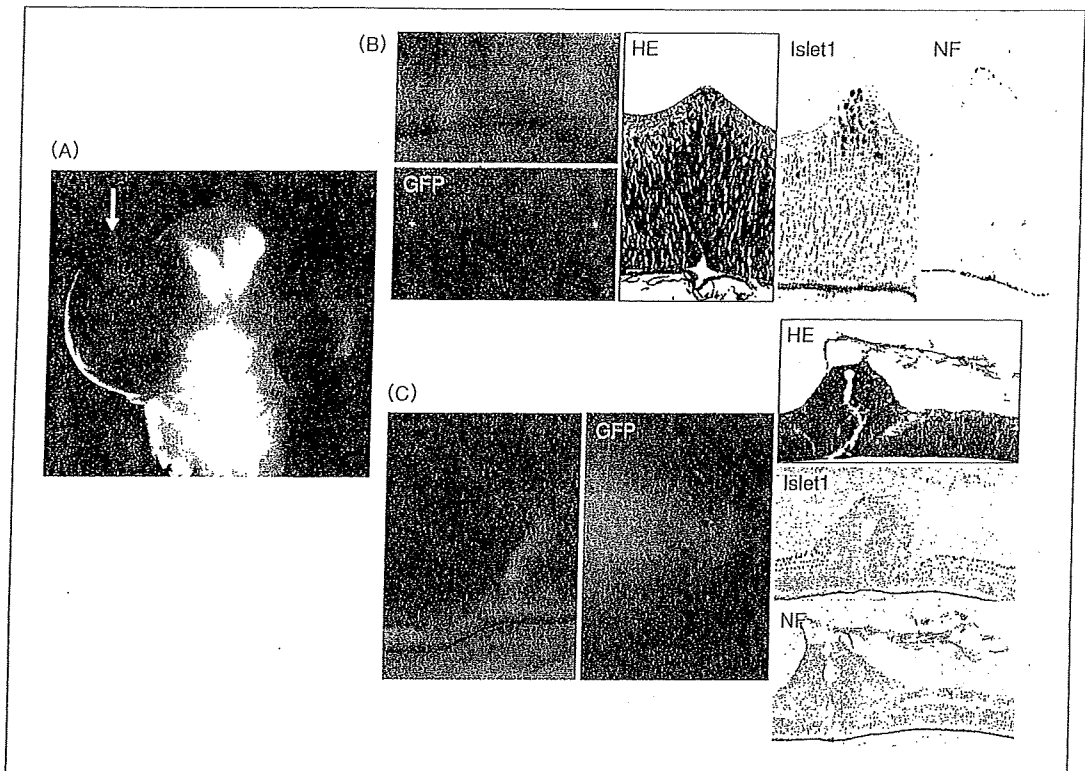


図 6 鶏胚へのPax6(-5a)導入による網膜の発育亢進¹⁷⁾

2日胚に導入，8日胚の所見。
 A：Pax6(-5a)を入れた右眼が大きくなる(矢印)。B：網膜が厚くなり，GFPで遺伝子の導入が確認され，組織所見では神経節細胞が増加している。C：網膜から硝子体腔へ線維構造が立ち上がり，組織所見では神経線維である。

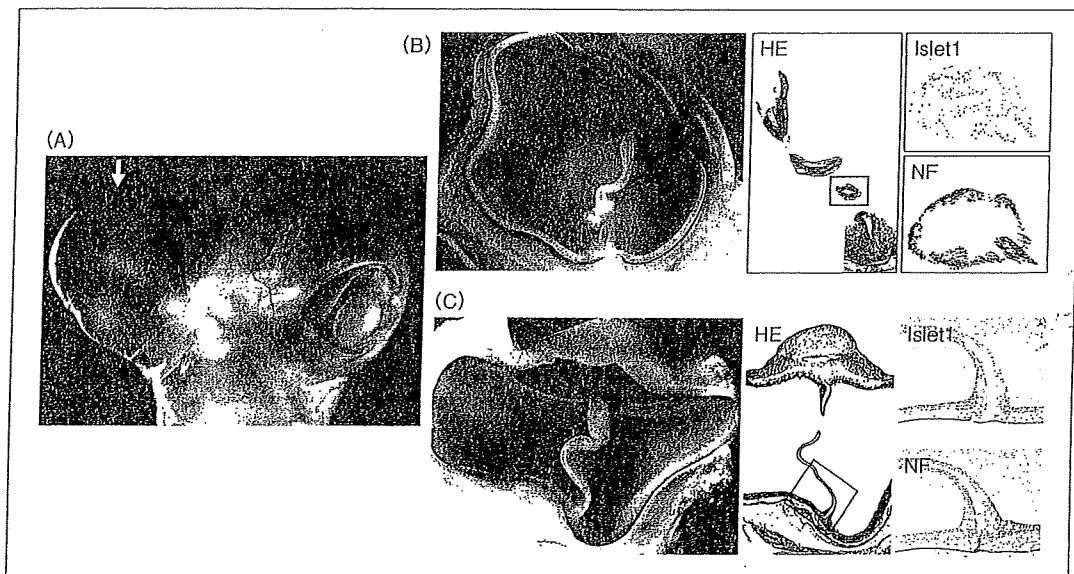


図 7 鶏胚へのPax6(+5a)導入による網膜の発育亢進¹⁷⁾

2日胚に導入，10日胚の所見。
 A：Pax6(+5a)を入れた右眼が極度に大きくなる(矢印)。B：網膜から茎状構造が立ち上がり，組織所見では管状の網膜で層構造はほぼ保たれている。C：網膜が水平に過剰発育して折りたたまれている。

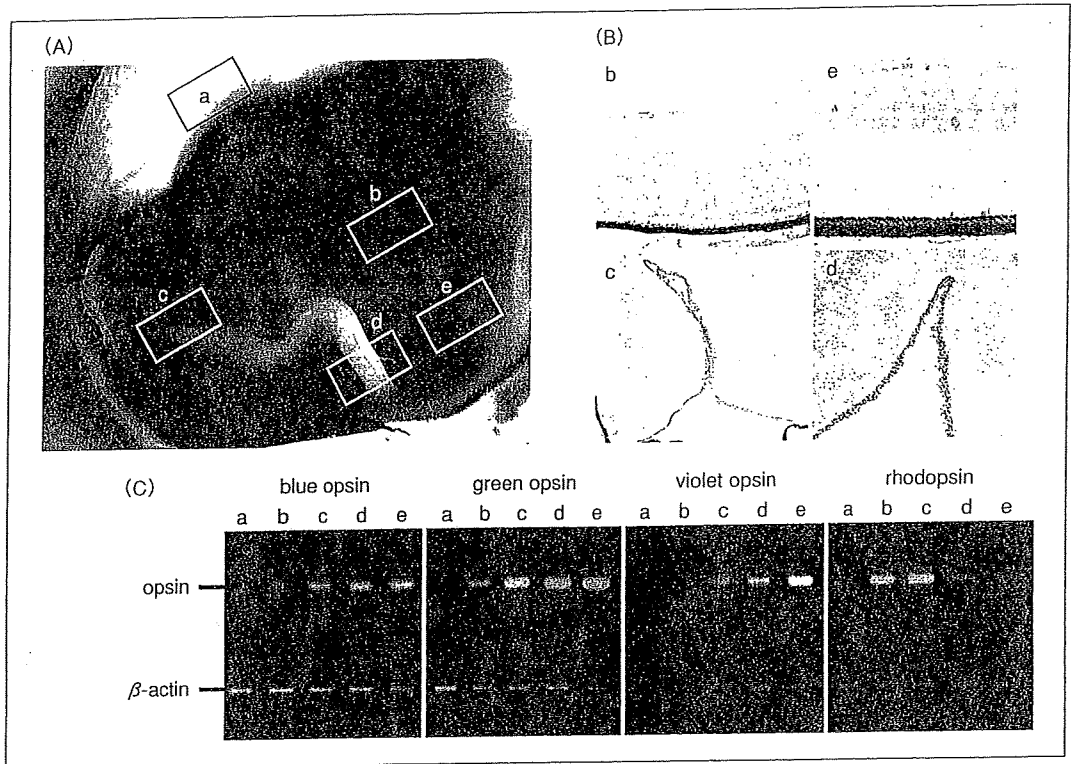


図 8 鶏胚へのPax6(+5a)導入による異所性錐体細胞の形成⁷⁾
 2日胚に導入, 19日胚の所見. A: 網膜が過剰に発育した嚢を形成. この嚢内では, 周辺部(c)に本来は少ないオプシンをもつ錐体細胞が形成されている. B: 免疫染色, C: RT-PCR.

進しており, Pax6 は網膜の成長を担っていると考えられた⁷⁾.

つぎに, エクソン 5a を含む Pax6(+5a)を導入すると網膜から硝子体腔へ茎状構造が立ちあがった.これはすべて網膜であり, 神経細胞と神経線維で構成されていた.茎状に伸びた組織では網膜が管状になっており, しかも視細胞から神経節細胞に至る層構造がほぼ形成されていた(図 7-B).また, 網膜が硝子体腔へ折りたたまれる所見もみられた(図 7-C).網膜が水平方向へ過剰に発育し, 抵抗の少ない硝子体腔へ伸展したと考えられる.

したがって, 網膜を成長させる働きは Pax6(-5a)より Pax6(+5a)のほうがはるかに強いことが明らかになった.さらに, 錐体視細胞が少なく杆体細胞がおもに存在する網膜周辺部に Pax6(+5a)を導入すると, 異所性に錐体細胞の形成が観察された(図 8)⁷⁾.この Pax6(+5a)による網膜の発育と錐体細胞の分化が硝子体腔へ突出せず網膜内の 1カ所に集中すれば, 黄斑になるのかもしれない.

Pax6 を入れた領域の眼球は拡大し, 角膜と水晶体が対側へ偏位した.この作用は Pax6(-5a)より Pax6(+5a)のほうが強かった(図 6-A, 図 7-A)⁷⁾.眼球は発生初期には頭の横にあり, 鼻側と耳側が同じ大きさであるが, 発生が進むと眼球の位置が頭の横から顔の前へ向くとともに耳側が大きくなる.網膜の成長が進むと眼球が成長し, 一方, 網膜の形成不全では小眼球になることから, 眼球の大きさには網膜の成長が関わっている.眼球の耳側が鼻側比べて大きいのは Pax6(+5a)が耳側後極で強く発現して網膜の発育を進めるためであると考えられる. Pax6 にこのエクソン 5a が現れたのは脊椎動物になってからであるが, 魚類で網膜の構造は急速に複雑化し, 黄斑が生まれたのは, このエクソン 5a の追加が関与したことも示唆される.

|| Pax6などの眼形成遺伝子を用いた網膜の再生
 Pax6/eyeless を異所導入すると昆虫ではほぼ完

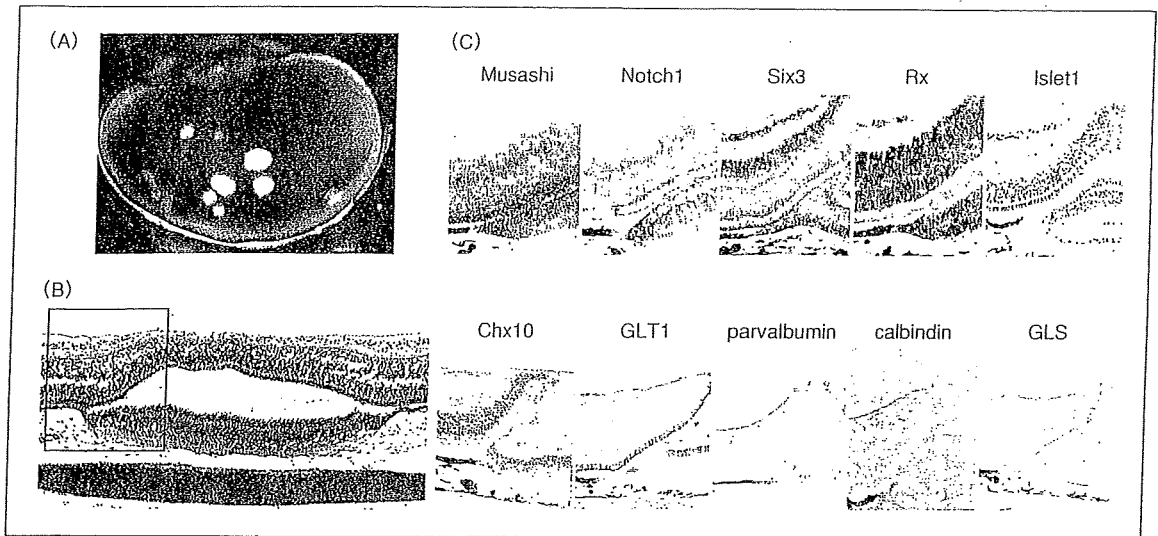


図9 Pax6の導入による網膜色素上皮から網膜への分化転換¹⁷⁾

3日胚に導入, 14日胚の所見. 遺伝子が導入された色素上皮は斑状に(A), 網膜へ分化転換している(B). この異所網膜は *in situ* hybridization や免疫染色で網膜固有の遺伝子・蛋白発現がみられ(C), ほぼ完全な層構造をもつが, 層の方向は眼杯が折りたたまる向きに応じて本来の網膜と背合わせになっている.

全な複眼が形成される²⁾. Pax6/eyeless 下流の eyes absent, sine oculis/Six, dachshund, Rx, teashirt の導入では小さい複眼が形成されるが⁹⁻¹²⁾, 哺乳類では, Pax を導入してもアフリカツメガエルの幼生で不完全な構造の異所眼が形成されるにすぎない¹³⁾. また, Six6, Rx を発生期の脳や網膜色素上皮に導入すると, 不完全ながら網膜組織が形成されるが¹⁴⁻¹⁶⁾, Pax6 を導入するとかなり完全な層構造をもつ網膜を形成することができる(図9)¹⁷⁾. この網膜形成における Pax6(-5a)と Pax6(+5a)の働きの違いは現在検討中であるが, 過去の研究からみて Pax6(+5a)のほうがより高度な網膜を形成できる可能性がある⁷⁾.

近年, 網膜色素変性症モデル動物や患者で, 障害された黄斑部網膜下に胎児網膜を移植して視力が改善したことが報告された^{18,19)}. 未熟な胎児網膜がレシピエント網膜内で分化し, シナプスを形成すると思われる. 網膜色素変性症では視細胞以外の網膜構造はある程度温存されており, 胎児網膜由来の視細胞のシナプスが繋がったと推測される. 自己の虹彩や色素上皮に網膜の形態形成遺伝子を導入あるいは発現誘導して網膜を再生できれば, やや不完全な構造であっても, このような網膜移植に利用できることが期待される.

おわりに

網膜の重症疾患で悩まされている患者や医師にとって, 網膜を再生させて失われた視覚を還元させる医療は大きな夢である. しかし, 構造が複雑な網膜をシナプスごと再構築することが難しく, 中枢への神経投射を的確に還元しないかぎり有用な視力が得られない. できても, せいぜい光覚や手動弁の視力あるいは視野をすこし広げる程度と考えられていた. しかし, 近年の再生医学研究によって視覚の還元への道はすこしずつ着実に進歩している. 黄斑を形成する遺伝子システムを解明して再生医療に利用すれば, 高度な視覚構造が還元できると期待される.

文献

- 1) Ton, C. T. T. et al. : *Cell*, 67 : 1059-1074, 1991.
- 2) Callaerts, P. et al. : *Annual. Rev. Neurosci.*, 20 : 483-532, 1997.
- 3) Nishina, S. et al. : *Bx. J. Ophthalmol.*, 83 : 723-727, 1999.
- 4) Azuma, N. et al. : *Nat. Genet.*, 13 : 141-142, 1996.
- 5) Azuma, N. et al. : *Am. J. Hum. Genet.*, 65 : 656-663, 1999.
- 6) Azuma, N. et al. : *Am. J. Hum. Genet.*, 72 : 1565-1570, 2003.
- 7) Azuma, N. et al. : *Hum. Mol. Genet.*, 14 : 735-745, 2005.
- 8) Schedl, A. et al. : *Cell*, 86 : 71-82, 1996.

臨床医に必要な CCS の知識

国立成育医療センター 第一専門診療部

横谷 進

はじめに

小児の悪性疾患は、「小児がん」と総称され、その中には、白血病、悪性リンパ腫、脳腫瘍、小児固形腫瘍などが含まれている。小児がんに対する治療法の進歩により、長期生存率はこの数 10 年間に急速し改善した。それに伴い、救命のみならず与えられた長い一生の健康状態や QOL の改善にも強い関心が寄せられるようになってきた。そのような流れの中で、小児がん自体やそれに対する強力な治療が長期にわたる機能障害をしばしば引き起すことから、晩期合併症への適切な対応が求められるようになった^{1), 2)}。晩期合併症の中では、内分泌機能障害が最も高い頻度で起こることが分かっている。内分泌合併症は、基本的に生涯にわたることから、成人内分泌科医の理解と積極的な関与が必須である。多くの成人内分泌科医が積極的に関わるためのイントロダクションとして、本稿が役立つことを強く期待したい。

1. CCS における内分泌合併症の重要性

小児がんからの長期生存者は、CCS (Childhood Cancer Survivors) と呼ばれ、日本では「小児がん経験者」と呼ばれている。小児がんの長期生存率は、北米における 5 年生存率で見ると、1965 年の 20% から 1995 年の 66% へと急速に上昇しており、さらに最近では、約 80% の長期生存が見込まれている。日本でもそれに近い生存率に上昇してきていると推測される。北米では、若年成人の 350-600 人に 1 人がすでに CCS であると言われており、今後も、しばらくは増加傾向が続くと考えられている¹⁾。

小児がんに対しては、極めて強力な治療が行われてきた。1970 年 - 1986 年に北米で行われた治療内容を見ると、手術療法 81.2%、化学療法 80.5%、放射線療法 67.9% となっており、85.7% の CCS には、これらの 2 つ以上の併用療法により治療されていた¹⁾。腫瘍自体やこれらの強力な治療の結果、さまざまな晩期合併症が引き起される。内分泌障害、末梢・中枢神経障害、心筋障害、腎障害、運動障害、肝炎、二次がんなど種々の合併症が知られている。晩期合併症の中では、内分泌障害の割合が最も高く、CCS のうちの約 40% が内分泌合併症を有すると報告されている(表 1)³⁾。また、主な内分泌

合併症は表 2 に挙げた通りである。

上述の若年者に占める CCS の割合と、その中で内分泌合併症を有する割合から単純に計算すると、若年者の約 900-1,500 人に 1 人が内分泌合併症を有する CCS であることになる。これは、他の内分泌疾患の頻度と比べると極めて高く、成人内分泌科医がすでに多数の経験をしていてもおかしくない対象であると推測される。日本中でおそらくは数万人の内分泌障害合併 CCS がいるが、その多くが適切に診療されていない可能性が高い。成人内分泌科医の間で CCS に関する専門的な知識が共有され、また、このような点について社会に広く注意が喚起されなければならない。

Tab. 1 Late Effects after Childhood Cancer Therapy³⁾

Functional group	n	%
Endocrine	120	41
Organ toxicity	74	26
Mobility	50	17
Neuropsychological	44	15
Infertility	40	14
Sensory	38	13
Cosmetic	28	10

Tab. 2 起こりうる内分泌障害

1. GHD と成長障害
2. 性腺機能異常
3. その他の下垂体機能不全
4. 甲状腺機能低下症
5. 骨粗鬆症
6. 肥満・メタボリックシンドローム

2. 成長障害と成長ホルモン分泌不全低身長症

白血病や脳腫瘍を中心として、CCS では成長障害を生ずることが多い。北米の研究では、小児期の脳腫瘍患者のうちで成人に達した者の平均身長は、同性の同胞に比べて、男子で 10cm、女子で 7cm 低かった(それぞれ、 $p < 0.01$)と報告されている⁴⁾。その原因には、(1)成長ホルモン分泌不全(GHD)、(2)中枢性または原発性甲状腺機能低下症、(3)中枢性思春期早発症による骨成熟促進、といった内分泌疾患以外に、(4)原疾患と集中的治療に伴う低栄養・異化亢進、(5)骨(とくに脊髄)の放射線障害などが考えられ、実際にはこれらが組み合わさって成人身長を低くするように作用していることが多い。

成長ホルモン(GH)は、視床下部・下垂体へのさまざまな侵襲に対して最も分泌不全を起こしやすい前葉ホルモンである。わずかに 7Gy の頭部照射でも、小児では GHD が起こりうると言われており、18Gy を超えれば珍しくなく起こる。40Gy を超えれば、数年以内にほぼ 100% に GHD が合併する。このような放射線感受性の高さから、脳腫瘍に対する頭部照射だけでなく、骨髄幹細胞移植のための全身照射などでも GHD は高い頻度で起こると考えるべきである。放射線照射量が多ければ多いほど短期間に高率で、少ない照射では 10 年にも及ぶ経過で徐々に、GHD が完成する。

小児期の GHD は、成長速度の低下で見つけることができる。原疾患や治療によりその可能性がある判断される CCS では、成長曲線を描きながらフォローし、標準成長曲線に比べて成長速度(成長曲線の傾き)が低下してきた場合には、GHD を疑うべきである。脳内の器質的原因や頭部放射線照射の既往のある CCS では、GHD の診断には 1 種類の GH 分泌刺激試験で十分であると考えられている(厚生労働省研究班による診断の手引き)⁵⁾。もし、GH 分泌低下が認められない場合にも、GHD は年の単位で完成するので、しばらく後に再検査を行うと分泌低下を示すことも珍しくない。

小児期の脳腫瘍や頭部放射線照射に伴う GHD は、(少なくとも数年を経過した後は)重症 GHD であることが多い。したがって、これらの GHD を伴う CCS は、大部分が成人重症 GHD に移行する。成長のための小児期の治療から正常な代謝のための成人期の治療へ、なるべく短い期間の休業で移行できることが目標である。小児期から成人期への GHD のトランジションについては、日本小児内分泌学会からガイドラインが公表されている⁶⁾。CCS における成人 GHD が増加していくにあたり、多くの CCS 患者が生涯にわたって成人内分泌科医によりフォローされ、GHD が適切に管理されることが望まれる。

3. ゴナドトロピン-性腺系の機能異常

ゴナドトロピン(Gn)-性腺系の活動は、視床下部からの Gn 放出ホルモン(GnRH)によって調節されて

いる。思春期以前には、GnRH の脈動的分泌は振幅と頻度が生理的に低く抑えられているが、思春期には、GnRH が増加して Gn-性腺系の活動が活発になる。頭部照射では、18Gy を超えると女子において GnRH 分泌の抑制がはずれて、早い年齢で Gn-性腺系が賦活化され、思春期早発症を来すことが珍しくない。30Gy を超えると男子でもその可能性がある。40Gy を超えると、逆に GnRH 分泌が障害されて、しばしば中枢性性腺機能不全を起こす。また、40Gy 以上では、視床下部による抑制が解除されてプロラクチン分泌が増加し、高プロラクチン血症を来すことがあり、これも性腺機能を抑制する原因になる。

一方、性腺自体は、放射線や化学療法によって直接に障害されることがある。アルキル化剤、とくに 3 サイクル以上の MOPP 療法、600mg/m² 以上の busulfan、7.5g/m² 以上の cyclophosphamide がとくに高い危険因子として知られている。放射線療法では、わずか 1Gy でも精子形成障害が起こり、4Gy を超えると永続的な無精子症となることが多い。Leydig 細胞障害(すなわちテストステロン分泌障害)は、20Gy 以上が危険因子である。テストステロン分泌障害では、思春期の遅発や停止として現われるので、危険因子がある場合には二次性徴に注意してフォローする必要がある。卵巣の放射線感受性は、思春期開始前と後では異なっていて、思春期以降ではより感受性が高い。具体的には、思春期前では 10-15Gy を超えると危険因子となるが、思春期開始後では 5-10Gy 以上でも卵巣機能不全が起こりうる。アルキル化剤に対する感受性も同様で、思春期開始後の方が障害されやすい。

男女いずれの場合も、性腺機能不全では、中枢性にしても原発性にしても、ホルモン補充療法が適切に行われることが必要である。それは、性機能や QOL の向上のためだけではなく、骨密度の増加・維持のために不可欠と考えられるからである。小児期には、二次性徴の完成までを目指す段階的な治療が行われるが、思春期完成後は、成人と同様の補充療法が行われる。他の原因による性腺機能不全と同様に、CCS の場合にも長期にわたる補充療法が成人期を通じて行われるよう、成人内分泌科医の診療が不可欠である。挙児を目標とした治療も、中枢性の場合には成功する率が高くなっており、また、原発性でも補助生殖医療により可能性が増しつつある。

4. その他の内分泌合併症

下垂体機能では、40Gy(とくに 50Gy)を超えた頭部照射で、GH に加えて TSH、ACTH、時には、ADH の分泌不全を合併することが少なくない。

甲状腺自体も放射線の影響を受けやすい。10Gy を超えると、甲状腺機能低下症、時に亢進症を発症する。25Gy を超えると甲状腺結節を起こしやすい。甲状腺癌は 20-29Gy で最も起こりやすいと報告されている。

骨粗鬆症は、アルキル化剤(とくに、メソトレキセート)とコルチコステロイド(とくに、プレドニゾンとデキサメサゾン)が危険因子となって起こりやすい。とくに、これらの併用療法、GVHD などのコルチコステロイドの長期投与、GHD・性腺機能低下・甲状腺機能亢進症などの内分泌合併症、喫煙・アルコール・運動不足・カルシウム摂取不足などの生活習慣が高い危険因子となる。

5. CCS への最近の取り組み

北米では、1993 年に大規模な CCS 研究が始まっており、本稿にも紹介したように、多くの有用な情報が公表されてきた。Children's Oncology Group (COG) によるホームページ <http://www.childrensoncologygroup.org/> には、医療従事者と CCS (本人・家族) に向けて、リスクに基づいたフォローアップと適切な介入の重要性が強調されており、具体的な行動のためのガイドラインが示されている。その概要は、最近の総説によって容易に知ることができる⁷⁾。

日本では、日本小児白血病・リンパ腫治療研究グループ(JPLSG)の長期フォローアップ委員会(石田也寸志委員長)と、厚生労働省の研究班(石田班)によって、身体的・心理的晩期合併症や QOL の後方視的な調査が行われ、CCS のための健康手帳、フォローアップガイド、共通治療サマリーの制作などが進行している。内分泌合併症については、日本小児内分泌学会の中に、CCS の内分泌合併症に関する委員会(委員長: 横谷進)が 2006 年 9 月に発足し、長期フォローアップ委員会・研究班と歩調を合わせて活動し、現在は、内分泌合併症の早期診断と介入のためのガイドラインを作成中である。さらに、2007 年には、コンセンサス作成、小児がんフォローアップ拠点病院モデル事業・小児がん登録の基盤整備を 3 本柱とする、新たな研究班(主任研究者: 藤本純一郎)が発

足した。このように、国内ではようやく本格的な取り組みが始まったところである。

6. 成人内分泌科医の役割

本稿で強調してきたことは、CCS の頻度がかなり高くなっていること、その中には、内分泌合併症が極めて多いこと、危険因子に基づいたフォローアップにより、早期診断・介入が可能なことである。表 3 に、CCS における内分泌合併症の危険因子を単純化してまとめた。すなわち、頭部照射による線量ごとの下垂体機能障害、甲状腺・性腺への直接の放射線障害、アルキル化剤・コルチコステロイドなどの一部の化学療法による性腺機能不全・骨粗鬆症が最も重要な危険因子である。

国内における CCS の内分泌合併症への取り組みは、小児科に通院している年齢においては、小児腫瘍科医と小児内分泌科医の連携により確実なものになりつつある。そこで診断された内分泌合併症は、成人に持ち越されることがほとんどであることから、小児内分泌科医から成人内分泌科医への移行(トランジション)が盛んに行われるようになるはずである。成人内分泌科医は、内分泌合併症を中心として、CCS の健康管理に生涯にわたり関与することが求められている。

さらに、小児がんの治療担当医が、脳外科医や整形外科医やその他である場合には、現状では、小児期の連携が不十分なことが多く、小児期にすでに発症した内分泌合併症が適切に診療されずに成人に至っている場合もある。また、放射線療法後に徐々に完成する内分泌合併症などでは、成人で発症することもある。このような場合には、成人内分泌科医が、初めて内分泌疾患を診断する可能性がある。CCS の知識が広く普及し、多くの成人内分泌科医が CCS の内分泌合併症を日常的に積極的に診断するようになることを期待する。

Tab. 3 晩期内分泌合併症とその危険因子(主に文献⁷⁾を参考に作成)

内分泌合併症	放射線療法			化学療法
	頭部	全身	局所	
GH 分泌不全	+ >18Gy			
甲状腺機能低下	+ >40Gy	+	+ >10Gy	
甲状腺結節/癌	+	+	+ >25Gy/20-29Gy	
ACTH 分泌不全	+ >40Gy			
思春期早発症	+ >18Gy (F)			
性腺機能不全・不妊	+ >40Gy	+	+ >10Gy (F) >1Gy (M) >20Gy (Leydig)	+ アルキル化剤
骨粗鬆症				+ MTX、ステロイド、BMT
肥満	+ >18Gy			+ ステロイド
高プロラクチン血症	+ >40Gy			

ま と め

- ① CCS とは、小児がん経験者 Childhood Cancer Survivors のことである。
- ② 欧米のデータによると、若い成人の 900-1,500 人に 1 人は内分泌合併症を伴った CCS である。
- ③ 種々の内分泌合併症は、それぞれの危険因子により予測できる。
- ④ 小児内分泌科医からの紹介と、病歴の共有と専門的知識による新規診断とを 2 つの入口として、成人内分泌科医が CCS に積極的に関わることを期待される。

文 献

- 1) 石田也寸志、北米 Childhood Cancer Survivors Study による小児がん経験者の長期的な問題点—第 1 編、日本小児科学会雑誌、2006; 110: 1513-22
- 2) 石田也寸志、北米 Childhood Cancer Survivors Study による小児がん経験者の長期的な問題点—第 2 編、日本小児科学会雑誌、2006; 110: 1523-33
- 3) Stevens MC, Mahler H, Parkes S. The health status of adult survivors of cancer in childhood. *Eur J Cancer.* 1998; 34: 694-8
- 4) Gurney JG, Ness KK, Stovall M, Wolden S, Punyko JA, Neglia JP, Mertens AC, Packer RJ, Robison LL, Sklar CA. Final height and body mass index among adult survivors of childhood brain cancer: childhood cancer survivor study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 4731-9
- 5) 厚生労働省難治性疾患克服研究事業「間脳下垂体機能障害に関する調査研究」. 成長ホルモン分泌不全性低身長症の診断の手引き (平成 17 年改訂)
- 6) 横谷進, 依藤亨, 田中敏章, 西美和, 長谷川行洋, 藤枝憲二, 日本小児内分泌学会成長ホルモン委員会、成長ホルモン分泌不全性低身長症の小児期の成長ホルモン治療から成人期の成長ホルモン治療への移行ガイドライン、日本小児科学会雑誌、2006; 110(10): 1475-79
- 7) Nandagopal R, Laverdière C, Mulrooney D, Hudson MM, Meacham L. Endocrine late effects of childhood cancer therapy: a report from the Children's Oncology Group. *Horm Res.* 2008; 69: 65-74

小児がん経験者（CCS）における性腺機能障害

国立成育医療センター第一専門診療部

横谷 進

はじめに

小児の悪性疾患には、白血病、悪性リンパ腫、脳腫瘍、小児固形腫瘍などが含まれ、「小児がん」と総称されている。小児がんに対する治療法の進歩はめざましく、この40年ほどの間に生命予後は急速に改善して、80%近い小児がん患者が長期生存できるようになった。しかし、小児がん自体やそれに対する強力な治療が、長期にわたる機能障害をしばしば引き起こすことから、こうした晩期合併症（late effects）への適切な対応が求められるようになった[1, 2]。小児がんからの長期生存者は、CCS（Childhood Cancer Survivors）と呼ばれ、日本では「小児がん経験者」と呼ばれている。CCSの晩期合併症のなかでは、内分泌機能障害がもっとも高い頻度で起こることがわかっている。そのなかでもっとも多いのは、成長ホルモン分泌不全、甲状腺機能障害（中枢性と原発性をともに含めて）、ついで性腺機能障害の順であるといわれている。北米では、若年成人の350～600人に1人がCCSであると報告されており、一般にいわれるようにこの40%が内分泌合併症をもつとすると、若年者の約900～1,500人に1人が内分泌合併症を有するCCSであることになる。

内分泌合併症は、基本的に生涯にわたることから、小児内分泌科医だけでなく、成人診療科医によってもCCSの内分泌合併症に関する知識が共有されることが必須である[3]。CCSの知識は決して新しい性質のものではないが、臨床的には、新たに注目されてきた重要な対象である。ここでは、性腺機能異常に焦点をあてて、紹介したい。

1. CCSのフォローアップの原則

CCSでは、原疾患とそれに対する治療内容がわかれば、どのような晩期合併症がどの時期にどれくらいの頻度で起こるかが、予測できるようになってきている。CCSのフォローアップにあたっては、起こりうる合併症とその頻度を念頭に置いて、タイムリーに検診を行い、合併症を早期診断して対処することが求められる。そうした方針に基づいて、ターゲットを絞ったフォローアップを

行うことが期待される。北米のChildren's Oncology Group (COG) が公開しているガイドラインは、そのための資料としてきわめて有用である[4]。本稿も、そうした「リスクに基づいたフォローアップ」を推進する臨床的な立場から記述する。

2. 中枢性性腺機能異常

中枢性性腺機能異常、すなわち、ゴナドトロピン(Gn)分泌の異常は、化学療法単独ではほとんど起こらない。脳腫瘍自体、あるいは、それに対する手術侵襲が視床下部に及んだ場合に起こるが、それより頻度が高いのは、頭蓋放射線照射による場合である。Gn分泌は、成長ホルモン(GH)分泌について放射線感受性が高い。一般に、放射線による視床下部下垂体障害は、照射線量に依存した頻度で起こり、また、線量が多いほど早く発症し、線量が少ないと10年にも及ぶ期間を経過した後に発症することがある。

思春期前の正常小児では、GnRHの脈動的分泌は振幅と頻度が低く抑えられている。18Gyを超える頭部照射を受けると、女子においてGnRH分泌の抑制が解除されて、早い年齢でGn-性腺系が賦活化され、しばしば思春期早発症を来す。機序は明らかでないが、GABAニューロンの放射線障害がより起こりやすいためではないかと推測されている。30Gyを超えると男子でもその可能性がある[5]。思春期早発症は、低年齢で性発達が起こること自体の心理的・社会的な問題以外に、早期の骨成熟により最終的に成人低身長を来すことも臨床的な問題であり、適切な時期の治療導入（通常はGnRHアゴニストによる治療）が考慮されなければならない。

頭部照射線量が40Gyを超えると、GnRH分泌が障害されて、しばしば中枢性性腺機能低下症を起こす。発症までに時間がかかるために、思春期早発症の経過中に、しだいに中枢性性腺機能低下症が完成してゆくことも珍しくない。また、40Gy以上では、高プロラクチン血症を併発して、これも性腺機能を抑制する可能性もある[5]。

性腺機能低下症の症状は、原発性・中枢性によらず、性発達の到達段階に依存している。思春期前の発症であれば思春期の遅発（待っていても二次性徴が現れない）

として現れるが、思春期が始まっていけば思春期の進行の停止、月経周期まで確立していれば早発閉経 (premature menopause) または早発卵巣機能不全 (premature ovarian failure, 以下, POF) として現れる。当然のことながら、こうした現れ方をよく知ったうえでフォローアップしてゆく必要がある。

3. 精巣の障害

小児では精巣の腫瘍はきわめて珍しく、他の悪性腫瘍に対する化学療法や放射線療法によって障害されることが問題になる。

化学療法剤のなかで重要なのはアルキル化剤で、一般的にはその DNA 合成阻害作用によって細胞分裂が活発な細胞 (精細管の胚細胞など) を障害すると考えられる。予想されるように、アルキル化剤治療では Leydig 細胞障害 (すなわちテストステロン分泌障害) は、軽度 (ただ LH が上昇する症例は珍しくない) で一過性であることが多く、二次性徴は正常の過程で進行する [6]。一方、精子形成障害は、薬剤によっても重度かつ永続的に起こりうる。Cyclophosphamide では、 $7.5\text{g}/\text{m}^2$ 未満の投与量で精子形成は保たれるが、 $25\text{g}/\text{m}^2$ を超えると精子形成障害の危険が非常に高くなる。思春期前の小児では、配偶子形成が不活発であるために精子形成障害が起こる率は低いといわれるが、必ずしも守られるわけではない。Ifosfamide では cyclophosphamide と似た影響が予想されるが、その $1.1\text{mg}/\text{m}^2$ が cyclophosphamide の $3.8\text{mg}/\text{m}^2$ に相当するという報告がある。Cisplatin では、 $600\text{mg}/\text{m}^2$ を超えると乏精子症・無精子症が起こるが、可逆的であるといわれる [6]。COG によるガイドラインでは、3 サイクル以上の MOPP 療法、 $600\text{mg}/\text{m}^2$ 以上の busulfan、 $7.5\text{g}/\text{m}^2$ 以上の cyclophosphamide がとくに高い危険因子として挙げられている [4]。

放射線による障害では、思春期前では 20Gy 、思春期後では 30Gy を超える線量が Leydig 細胞障害の危険因子であるといわれる。一方、精子形成障害は、きわめて低い線量で起こることが知られており、 1Gy 以下でも精子形成障害が起こり (閾値は知られていない)、 3Gy を超えると永続的な無精子症となることが多く、 6Gy を超えるとほぼ無精子症は回復しない [4]。

成人では、がん治療前の精子凍結保存が、学会や委員会からの見解や報告に基づいて広く行われつつある。小児についても、思春期が進んだ年齢では考慮されてきて

いるが、思春期前の男子については、技術的のみならず倫理的な問題が解決されなければならない [7]。

4. 卵巣の障害

アルキル化剤の卵巣に対する作用では、精巣の場合と異なり、配偶子形成と性ホルモン産生の感受性の差は大きくない。思春期前の卵巣は、アルキル化剤の細胞毒性に抵抗性を示すことがよく知られている。それは、より多くの原始卵胞を保有しているためと説明されている [6]。18歳を超えた北米の CCS 3,390例のフォローアップでは、215例 (6.3%) に POF が認められ、単回帰分析では、cyclophosphamide (OR 3.4)、busulfan (OR 9.9)、procarbazine (OR 3.4) など7種のアルキル化剤すべてが有意であった。重回帰分析で有意であった危険因子は、procarbazine (年齢を問わず) と cyclophosphamide (13~20歳) であった [8]。高い障害発生率で一般によく知られているのは、procarbazine と mechlorethamine である。Cyclophosphamide は単独では、他のアルキル化剤に比べて毒性が低く、思春期前では $25\text{mg}/\text{m}^2$ にも耐えられると報告されているが、busulfan との併用や放射線療法との併用では、卵巣機能不全の危険が大きくなる。

放射線照射の卵巣への影響では、両側卵巣が照射野に入ることが、卵巣機能不全を引き起こす主要な因子であることが知られている。したがって、照射野の慎重な決定が重要であり、該当する場合には卵巣固定術も考慮に値する。薬剤感受性と同様に、放射線感受性も思春期前後で異なっており、思春期以降では、より感受性が高い。COG のガイドラインでも、思春期開始前には 10Gy を超えると危険因子となるが、思春期開始後では 5Gy 以上で卵巣機能不全が起こりうるとされている [4]。腫瘍治療後に月経の認められた719例の CCS のフォローアップ研究では、手術療法単独に比べて化学療法・放射線療法併用では、POF の危険率が2.58倍高かった。また、初回妊娠率は、手術単独に比べて腹部骨盤部放射線では23%低下しており、この低下は、思春期後に診断された群に限られていた [9]。

CCS では、妊娠経過はほとんど通常と異ならない。しかし、4,029回の妊娠についての報告では、流産が17%でやや多く、放射線照射例でその危険率が高かった (有意差なし)。出生体重は、 $2,500\text{g}$ 未満である相対危険率が1.84と高かった ($P=0.03$) [10]。子宮への放射線照射が子宮の線維症や発育不全を引き起こす可能性も指摘

されている(思春期前では20Gy, 思春期後では40~50Gyを超えることが危険因子となる)。現在のところ, 出生する子どもの奇形, 染色体異常, がんの発症に関して, それらが増加するとは考えられていない。

おわりに

男女いずれの場合も, 性腺機能不全では, 中枢性にしても原発性にしても, ホルモン補充療法が思春期から成人期を通じて適切に行われることが望まれる。拳児を目標とした治療も, 中枢性の場合には成功する率が高くなっており, また, 原発性でも補助生殖医療により可能性が増しつつある。

他の原因による性腺機能不全と同様に, CCSの場合にも適時かつ適切に診断され, 長期にわたる補充療法と必要な生殖医療が成人期を通じて行われるような体制作りが強く望まれる。

文 献

1. 石田也寸志 (2006) 北米 Childhood Cancer Survivors Study による小児がん経験者の長期的な問題点 - 第1編. 日本小児科学会雑誌110, 1513-1522.
2. 石田也寸志 (2006) 北米 Childhood Cancer Survivors Study による小児がん経験者の長期的な問題点 - 第2編. 日本小児科学会雑誌110, 1523-1533.
3. 横谷 進 (2008) 臨床医に必要な CCS の知識. 日本内分泌学会雑誌84 Suppl, 7-10.
4. Children's Oncology Group (2006) Long-term follow-up guidelines for survivors of childhood, adolescent, and young adult cancers. Ver2.0. <http://www.survivorshipguidelines.org/pdf/LTFUGuidelines.pdf>
5. Nandagopal R, Laverdiere C, Mulrooney D, Hudson MM, Meacham L (2008) Endocrine late effects of childhood cancer therapy: a report from the Children's Oncology Group. *Horm Res* 69, 65-74.
6. Cohen LE (2005) Endocrine late effects of cancer treatment. *Endocrinol Metab Clin N Am* 34, 769-789.
7. The Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine (2005) Fertility preservation and reproduction in cancer patients. *Fertil Steril* 83, 1622-1628.
8. Chemaitilly W, Mertens AC, Mitby P, Whitton J, Stovall M, Yasui Y, Robison LL, Sklar CA (2006) Acute ovarian failure in the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Endocrinol Metab* 91, 1723-1728.
9. Chiarelli AM, Marret LD, Darlington G (1999) Early menopause and infertility in females after treatment for childhood cancer diagnosed in 1964-1988 in Ontario, Canada. *Am J Epidemiol* 150, 245-254.
10. Green DM, Whitton JA, Stovall M, Mertens AC, Donaldson SS, Ruymann FB, Pendergrass W, Robison LL (2002) Pregnancy outcome of female survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Am J Obstet Gynecol* 187, 1070-1080.