

研究成果の刊行一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト (参考)

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
関敦仁、十 字琢夫	母指変形再建の コツ	木村友厚	ウマチ診療の 要点と盲点	文光堂	東京	2010	190-195
関敦仁、十 字琢夫	リウマチ性手指 変形	井樋栄二	アトラス骨・ 関節画像診断 -関節上肢	中外医学 社	東京	2010	78-80

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
深見真紀	最近話題の遺伝子異 常による内分泌およ び類縁疾患	ホルモンと臨 床	印刷中		2011
池上博泰、関敦仁 ほか	K-NOW人工関節の特 徴と臨床成績	関節外科	29	281-289	2010
Dateki S, Fukam i M, Ogata T et al.	Mutation and gene co py number analyses of six pituitary transcript ion factor genes in 71 patients with combine d pituitary hormone de ficiency: identification of a single patient wit h LHX4 deletion.	J Clin Endocr inol Metab	95	4043-4047	2010
Fukami M, Ogat a T et al.	GATA3 abnormalities in six patients with H DR syndrome	Endocr. J	58	117-121	2011
Dateki S, Fukam i M, Ogata T et al.	Identification of chrom osome 15q26 terminal deletion with telomer e sequences and its be aring on genotype-phe notype analysis	Endocr. J	印刷中		2011

研究成果の刊行物・別刷り

## Mutation and Gene Copy Number Analyses of Six Pituitary Transcription Factor Genes in 71 Patients with Combined Pituitary Hormone Deficiency: Identification of a Single Patient with *LHX4* Deletion

Sumito Dateki, Maki Fukami, Ayumi Uematsu, Masayuki Kaji, Manami Iso, Makoto Ono, Michiyo Mizota, Susumu Yokoya, Katsuaki Motomura, Eiichi Kinoshita, Hiroyuki Moriuchi, and Tsutomu Ogata

Department of Endocrinology and Metabolism (S.D., M.F., M.I., T.O.), National Research Institute for Child Health and Development, Tokyo 157-8535, Japan; Department of Pediatrics (S.D., K.M., E.K., H.M.), Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki 852-8501, Japan; Division of Endocrinology and Metabolism (A.U., M.K), Shizuoka Children's Hospital, Shizuoka 232-8555, Japan; Department of Pediatrics and Developmental Biology (M.O.), Tokyo Medical and Dental University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo 113-8519, Japan; Department of Pediatrics (M.M.), Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima 890-8544, Japan; Department of Medical Subspecialties (S.Y.), National Children's Medical Center, Tokyo 157-8535, Japan

**Context:** Mutations of multiple transcription factor genes involved in pituitary development have been identified in a minor portion of patients with combined pituitary hormone deficiency (CPHD). However, copy number aberrations involving such genes have been poorly investigated in patients with CPHD.

**Objective:** We aimed to report the results of mutation and gene copy number analyses in patients with CPHD.

**Subjects and Methods:** Seventy-one Japanese patients with CPHD were examined for mutations and gene copy number aberrations affecting *POU1F1*, *PROP1*, *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, and *SOX3* by PCR-direct sequencing and multiplex ligation-dependent probe amplification. When a deletion was indicated, it was further studied by fluorescence *in situ* hybridization, oligoarray comparative genomic hybridization, and serial sequencing for long PCR products encompassing the deletion junction.

**Results:** We identified a *de novo* heterozygous 522,009-bp deletion involving *LHX4* in a patient with CPHD (GH, TSH, PRL, LH, and FSH deficiencies), anterior pituitary hypoplasia, ectopic posterior pituitary, and underdeveloped sella turcica. We also identified five novel heterozygous missense substitutions (p.V201I and p.H387P in *LHX4*, p.T63M and p.A322T in *LHX3*, and p.V53L in *SOX3*) that were assessed as rare variants by sequencing analyses for control subjects and available parents and by functional studies and *in silico* analyses.

**Conclusions:** The results imply the rarity of abnormalities affecting the six genes in patients with CPHD and the significance of the gene copy number analysis in such patients. (*J Clin Endocrinol Metab* 95: 4043–4047, 2010)

Pituitary development and function depends on spatially and temporally controlled expression of multiple transcription factor genes such as *POU1F1*, *PROP1*, *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, *SOX3*, and *OTX2* (1–3). Mutations of these genes are usually associated with combined pituitary hormone deficiency (CPHD), although they sometimes lead to isolated GH deficiency (1–3). However, mutations of these genes have been found only in a minor portion of patients with CPHD (2–6). Thus, although multiple genes would remain to be identified in CPHD, a certain fraction of mutations may have been overlooked in these known genes. In this regard, because previous studies have primarily been performed with PCR-direct sequencing for coding exons (4–6), gene copy number aberrations (deletions and duplications) affecting such genes, as well as pathological mutations in noncoding regions, may remain undetected in patients with CPHD. Indeed, microdeletions of *PROP1* and *LHX3* and microduplications of *SOX3* have been identified in a few patients with CPHD (7–9). Thus, we performed sequence and gene copy number analyses for six pituitary transcription factor genes in Japanese patients with CPHD.

## Patients and Methods

### Patients

We studied 71 Japanese patients with various types of CPHD (39 males and 32 females; age 1–43 yr). In all the patients, *OTX2* mutations and gene copy number aberrations have been excluded previously (3).

### Primers and probes

The primers and probes used are summarized in Supplemental Table 1 (published on The Endocrine Society's Journals Online web site at <http://jcem.endojournals.org>).

### Sequence analysis

This study was approved by the Institutional Review Board Committee at the National Center for Child Health and Development. After obtaining written informed consent, leukocyte genomic DNA samples of the 71 patients were amplified by PCR for the all coding exons and their flanking splice sites of *POU1F1*, *PROP1*, *HESX1*, *LHX3*, *LHX4*, and *SOX3*. Subsequently, the PCR products were subjected to direct sequencing on a CEQ 8000 autosequencer (Beckman Coulter, Fullerton, CA). To confirm a heterozygous substitution, the corresponding PCR products were subcloned with a TOPO TA cloning kit (Invitrogen, Carlsbad, CA), and normal and mutant alleles were sequenced separately. The GenBank sequence data at NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) were used as references. For controls, DNA samples of 100 Japanese healthy adults were used with permission.

### Functional studies

Functional studies were performed for an *LHX4* missense variant (for details, see Supplemental Methods). In brief, we con-

structed expression vectors containing wild-type and variant *LHX4* cDNAs and a luciferase reporter vector containing the *POU1F1* promoter sequence with an *LHX4*-binding site (10). Subsequently, transactivation analysis was performed with dual-luciferase reporter assay system (Promega, Madison, WI) using COS1 cells.

### In silico analyses

The conservation status of substituted wild-type amino acid residues was investigated using the UniGene data at NCBI. The possibility that identified substitutions could cause aberrant splicing was examined by ESE finder release 3.0 for the prediction of exonic splice enhancers (ESEs) ([http://rulai.cshl.edu/cgi-bin/tools/ESE3/ese\\_finder.cgi](http://rulai.cshl.edu/cgi-bin/tools/ESE3/ese_finder.cgi)) (11) and by the program at Berkeley *Drosophila* Genome Project for the prediction of splice donor and acceptor sites ([http://www.fruitfly.org/seq\\_tools/splice.html](http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice.html)) (12).

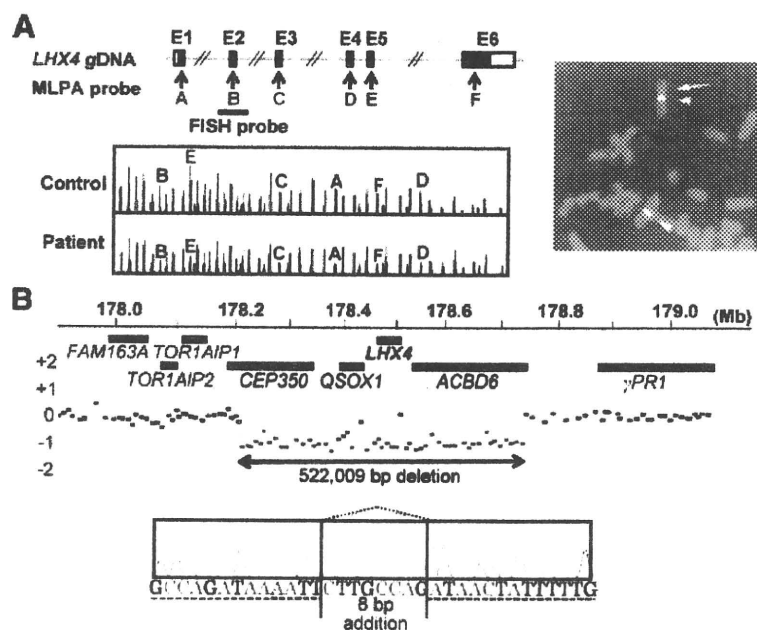
### Gene copy number analysis

Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) (13) was performed as a screening of a possible gene copy number alteration (deletion and duplication) in all 71 patients, using a commercially available MLPA probe mix (P236) (MRC-Holland, Amsterdam, The Netherlands) for all coding exons of *POU1F1*, *PROP1*, *HESX1*, *LHX3*, and *LHX4*, together with originally designed probes for *SOX3*. The procedure was as described in the manufacturer's instructions. To confirm a deletion, fluorescence *in situ* hybridization (FISH) was performed with a long PCR product. To indicate an extent of a deletion, oligoarray comparative genomic hybridization (CGH) was carried out with 1x244K Human Genome Array (catalog no. G4411B; Agilent Technologies, Santa Clara, CA), according to the manufacturer's protocol. Finally, to characterize a deletion, long PCR was performed with primer pairs flanking the deleted region, and the PCR product was subjected to direct sequencing using serial sequence primers. The deletion size and the junction structure were determined by comparing the obtained sequences with the reference sequences at NCBI Database (NC\_000014.7), and additional deleted genes were examined with Ensembl Database (<http://www.ensembl.org/>). The presence or absence of repeat sequences around the breakpoints was examined with Repeatmasker (<http://www.repeatmasker.org>).

## Results

### Identification of five missense variants

We identified five novel heterozygous missense substitutions, *i.e.* p.T63M (c.188C→T) and p.A322T (c.964G→A) in *LHX3* (GenBank accession number NM\_178138), p.V201I (c.601G→A) and p.H387P (c.1160A→C) in *LHX4* (NM\_033343), and p.V53L (c.157G→C) in *SOX3* (NM\_005634). These substitutions were found in different patients. No other mutations or novel substitutions were identified in the six genes examined. In the 100 control subjects, *LHX4*-p.H387P was detected in four subjects and *SOX3*-p.V53L in three subjects, whereas *LHX3*-p.T63M, *LHX3*-p.A322T, and *LHX4*-p.V201I were absent. Furthermore, sequencing of



**FIG. 1.** Gene copy number analysis. Panel A, MLPA and FISH analyses. The *black and white boxes* on genomic DNA (gDNA) denote the coding regions on exons 1–6 (E1–E6) and the untranslated regions, respectively. The sites examined by MLPA probes (A–F) are indicated by *arrows*, and the region identified by the 5305-bp FISH probe is shown by a *thick horizontal line*. In MLPA analysis, the peaks for the sites A–F are reduced in the patient. The *red peaks* indicate the internal size markers. In FISH analysis, the *red* signal is derived from the probe for *LHX4*, and the *green* signals are derived from chromosome 1 centromere control probe (Cytocell, Cambridge, UK) used as an internal control. The probe for *LHX4* is labeled with digoxigenin and detected by rhodamine antidigoxigenin, and the control probe is labeled with biotin and detected by avidin conjugated to fluorescein isothiocyanate. Panel B, Oligoarray CGH analysis and direct sequencing of the deletion junction. The deletion is 522,009 bp in physical size (*shaded in gray*) and is associated with an addition of an 8-bp segment of unknown origin (*highlighted in yellow*). The normal sequences flanking the microdeletion are indicated with *dashed underlines*.

parental samples revealed *LHX3*-p.T63M and *LHX3*-p.A322T in the phenotypically normal mother and father, respectively; parental analysis was refused for *LHX4*-p.V201I, *LHX4*-p.H387P, and *SOX3*-p.V53L. Thus, four missense variants except for *LHX4*-p.V201I were found in healthy controls or parents. For *LHX4*-p.V201I, functional studies showed a normal transactivation function for the *POU1F1* promoter, with no dominant-negative effect (Supplemental Fig. 1). *In silico* analyses indicated that the V201 and the H387 residues in *LHX4* and the A322 residue in *LHX3* were well conserved, whereas the T63 in *LHX3* and the V53 in *SOX3* were poorly conserved (Supplemental Table 2). Furthermore, it was predicted that *LHX4*-V201I and *LHX4*-H387P were unlikely to influence ESEs, whereas *LHX3*-T63M and *LHX3*-A322T might affect ESEs (Supplemental Table 3). None of the missense variants were predicted to influence splice sites (Supplemental Table 4).

#### Identification of a microdeletion involving *LHX4*

A heterozygous deletion involving *LHX4* was indicated by MLPA and confirmed by FISH (Fig. 1A). Oli-

goarray CGH and sequencing of the fusion point showed that the deletion was 522,009 bp in physical size and was associated with an addition of an 8-bp segment of unknown origin (Fig. 1B). There were no repeat sequences around the deletion breakpoints. The deletion also affected *CEP350*, *QSOX1*, and *ACBD6*. This microdeletion was absent from the parents.

#### Patient with the microdeletion

This Japanese female patient was born at 40 wk gestation after an uncomplicated pregnancy and delivery. At birth, her length was 48.0 cm (−0.2 SD), her weight 2.59 kg (−1.0 SD), and her head circumference 33 cm (−0.1 SD). She had transient respiratory distress and hypoglycemia in the early neonatal period. Furthermore, biochemical studies for prolonged jaundice indicated central hypothyroidism at 1 month of age (Table 1). Thus, she was placed on thyroid hormone replacement therapy.

At 1 yr 6 months of age, she was referred to us because of severe short stature. Her height was 64.5 cm (−5.1 SD), and her weight was 6.2 kg (−2.8 SD). Endocrine studies at that time revealed severe GH and prolactin deficiencies (Table 1). Her karyotype was 46,XX in all 50 lymphocytes examined. Recombinant human GH therapy (0.175 mg/kg-wk) was started at 1 yr 8 months of age, showing a remarkable effect. Brain magnetic resonance imaging at 5 yr of age delineated anterior pituitary hypoplasia with a small cystic lesion, ectopic posterior pituitary, and underdeveloped sella turcica (Supplemental Fig. 2). At 11 yr of age, a GnRH test was performed due to lack of pubertal signs, revealing gonadotropin deficiencies (Table 1). Thus, sex steroid replacement therapy was started at 13 yr of age. She had no episode of adrenal insufficiency, with normal blood ACTH and cortisol values at yearly examinations. A CRH stimulation test at 17 yr of age also showed an apparently normal hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) function (Table 1). On the last examination at 17 yr old, she measured 148.7 cm (−1.8 SD), weighed 45.6 kg (−0.9 SD), and manifested full pubertal development. She had no developmental retardation.

The nonconsanguineous parents and the three brothers were clinically normal. The father was 164 cm (−1.2 SD) tall, and the mother was 155 cm (−0.6 SD) tall.

**TABLE 1.** Blood hormone values of the patient with *LHX4* deletion

	Stimulus (dosage)	1 month, basal	1.5 yr		11 yr		17 yr	
			Basal	Peak	Basal	Peak	Basal	Peak
GH (ng/ml)	GHRH (1 mg/kg)		0.2	<b>1.2</b>				
	Arginine (0.5 g/kg)		0.1	<b>0.2</b>				
	L-Dopa (10 mg/kg)		0.1	<b>0.1</b>				
LH (mIU/ml)	GnRH (100 mg/m <sup>2</sup> )		<0.5		0.3	<b>0.8</b>		
FSH (mIU/ml)	GnRH (100 mg/m <sup>2</sup> )		0.5		1.3	<b>1.6</b>		
TSH (mIU/ml)	TRH (10 mg/kg)	3.5	2.3 <sup>a</sup>	<b>3.9<sup>a</sup></b>				
Prolactin (ng/ml)	TRH (10 mg/kg)		<b>&lt;1.0</b>	<b>&lt;1.0</b>				
ACTH (pg/ml) <sup>b</sup>	CRH (2 mg/kg)		24.6		26.4		26.1	118.7
Cortisol (μg/dl) <sup>b</sup>	CRH (2 mg/kg)		17.5		10.6		15.7	37.82
IGF-I (ng/ml)			<b>9</b>					
Free T <sub>4</sub> (ng/dl)		<b>0.6</b>	<b>1.1<sup>a</sup></b>					
Estradiol (pg/ml)					<b>&lt;15</b>			

The conversion factors to the SI unit are as follows: GH 1.0 (μg/liter), LH 1.0 (IU/liter), FSH 1.0 (IU/liter), TSH 1.0 (mIU/liter), prolactin 1.0 (μg/liter), ACTH 0.22 (pmol/liter), cortisol 27.59 (nmol/liter), IGF-I 0.131 (nmol/liter), free T<sub>4</sub> 12.87 (pmol/liter), and estradiol 3.671 (pmol/liter). Hormone values have been evaluated by the age- and sex-matched Japanese reference data; low hormone data are in *bold*. Blood sampling during the provocation tests were done at 0, 30, 60, 90, and 120 min.

<sup>a</sup> Examined under T<sub>4</sub> supplementation therapy.

<sup>b</sup> Obtained at 0800 h.

## Discussion

We performed sequence and gene copy number analyses for all coding exons of six previously known genes in 71 patients with CPHD, although noncoding regions were not examined. Consequently, we could identify only a single patient with a heterozygous microdeletion involving *LHX4*. This indicates the rarity of abnormalities affecting the six genes in patients with CPHD and, at the same time, the significance of the gene copy number analysis in such patients. In this regard, because gene copy number aberrations have been found for multiple genes including microdeletions of *PROP1* and *LHX3* and microduplications of *SOX3* (7–9, 14, 15), this implies that gene copy number aberrations should be screened in genetic diagnosis.

Several matters are noteworthy for the clinical and molecular findings of the patient with the microdeletion involving *LHX4*. First, the HPA function was preserved normally at 17 yr of age. However, ACTH deficiency has often been identified in the previously reported patients with heterozygous intragenic loss-of-function mutations of *LHX4* (Supplemental Table 5), and the HPA function often deteriorates with age in patients with CPHD (2). Thus, careful follow-up is necessary for the HPA function of this patient. Second, the microdeletion has affected three additional genes. In this context, the pituitary phenotype of this patient remains within the clinical spectrum of patients with *LHX4* mutations (Supplemental Table 5), and there was no discernible extrapituitary phenotype. Thus, hemizygosity for the three genes would not have a major clinical effect, if any. Third, the deletion breakpoints resided on nonrepeat sequences, and the fusion point was associated with an addition of an 8-bp segment

of unknown origin. This indicates that the deletion has been produced by nonhomologous end joining, *i.e.* an aberrant breakage and re-union between nonhomologous sequences (16).

We also identified five novel heterozygous missense substitutions. In this regard, the data obtained from sequencing analysis in control subjects and available parents, functional studies, and *in silico* analyses argue against the five missense substitutions being a disease-causing pathological mutation, although the possibility that they might function as a susceptibility factor for the development of CPHD remains tenable. In particular, *LHX4*-p.V201I, which was absent from 100 control subjects and affected the well-conserved V201 residue, may have been erroneously regarded as a pathological mutation, unless additional studies were performed. Indeed, *LHX4*-p.V201I exerted no predictable effect on the splicing pattern and had a normal transactivation activity in the used system, although transactivation function may be variable depending on the used promoters and cells (17). Such rare variants with an apparently normal function have also been reported previously (3, 18). Thus, whereas *in vitro* experimental data and *in silico* prediction data may not precisely reflect *in vivo* functions, it is recommended to perform such studies for novel substitutions, especially missense substitutions.

In summary, the results imply the rarity of pathological abnormalities in the previously known genes in patients with CPHD and the significance of the gene copy number analysis in such patients. Thus, the causes of CPHD remain elusive in most patients, and additional studies are required to clarify the underlying factors for the development of CPHD.

## Acknowledgments

We thank the patients and the parents for participating in this study. We also thank Dr. Takizawa and Dr. Morita for participating in medical care of the reported patients.

Address all correspondence and requests for reprints to: Dr. T. Ogata, Department of Endocrinology and Metabolism, National Research Institute for Child Health and Development, 2-10-1 Ohkura, Setagaya, Tokyo 157-8535, Japan. E-mail: tomogata@nch.go.jp.

This work was supported by Grants for Child Health and Development (20C-2) and Research on Children and Families (H21-005) from the Ministry of Health, Labor, and Welfare and by Grants-in-Aid for Young Scientists (B) (21791025) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, Japan.

Disclosure Summary: All authors report no conflicts of interest.

## References

- Cohen LE, Radovick S 2002 Molecular basis of combined pituitary hormone deficiencies. *Endocr Rev* 23:431–442
- Kelberman D, Rizzotti K, Lovell-Badge R, Robinson IC, Dattani MT 2009 Genetic regulation of pituitary gland development in human and mouse. *Endocr Rev* 30:790–829
- Dateki S, Kosaka K, Hasegawa K, Tanaka H, Azuma N, Yokoya S, Muroya K, Adachi M, Tajima T, Motomura K, Kinoshita E, Moriuchi H, Sato N, Fukami M, Ogata T 2010 Heterozygous orthodenticle homeobox 2 mutations are associated with variable pituitary phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 95:756–764
- Coya R, Vela A, Pérez de Nanclares G, Rica I, Castaño L, Busturia MA, Martul P; GEDPIT group 2007 Panhypopituitarism: genetic versus acquired etiological factors. *J Pediatr Endocrinol Metab* 20:27–36
- Mehta A, Hindmarsh PC, Mehta H, Turton JP, Russell-Eggitt I, Taylor D, Chong WK, Dattani MT 2009 Congenital hypopituitarism: clinical, molecular and neuroradiological correlates. *Clin Endocrinol (Oxf)* 71:376–382
- Reynaud R, Gueydan M, Saveanu A, Vallette-Kasic S, Enjalbert A, Brue T, Barlier A 2006 Genetic screening of combined pituitary hormone deficiency: experience in 195 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 91:3329–3336
- Abrão MG, Leite MV, Carvalho LR, Billerbeck AE, Nishi MY, Barbosa AS, Martin RM, Arnhold IJ, Mendonca BB 2006 Combined pituitary hormone deficiency (CPHD) due to a complete PROP1 deletion. *Clin Endocrinol (Oxf)* 65:294–300
- Pfaeffle RW, Savage JJ, Hunter CS, Palme C, Ahlmann M, Kumar P, Bellone J, Schoenau E, Korsch E, Brämswig JH, Stobbe HM, Blum WF, Rhodes SJ 2007 Four novel mutations of the *LHX3* gene cause combined pituitary hormone deficiencies with or without limited neck rotation. *J Clin Endocrinol Metab* 92:1909–1919
- Woods KS, Cundall M, Turton J, Rizotti K, Mehta A, Palmer R, Wong J, Chong WK, Al-Zyoud M, El-Ali M, Otonkoski T, Martinez-Barbera JP, Thomas PQ, Robinson IC, Lovell-Badge R, Woodward KJ, Dattani MT 2005 Over- and underdosage of *SOX3* is associated with infundibular hypoplasia and hypopituitarism. *Am J Hum Genet* 76:833–849
- Machinis K, Amselem S 2005 Functional relationship between *LHX4* and *POU1F1* in light of the *LHX4* mutation identified in patients with pituitary defects. *J Clin Endocrinol Metab* 90:5456–5462
- Cartegni L, Chew SL, Krainer AR 2002 Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing. *Nat Rev Genet* 3:285–298
- Strachan T, Read AP 2004 Instability of the human genome: mutation and DNA repair. In: *Human molecular genetics*. 3rd ed. London and New York: Garland Science; 334–337
- Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G 2002 Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res* 30:e57
- Desviat LR, Pérez B, Ugarte M 2006 Identification of exonic deletions in the *PAH* gene causing phenylketonuria by MLPA analysis. *Clin Chim Acta* 373:164–167
- Fukami M, Dateki S, Kato F, Hasegawa Y, Mochizuki H, Horikawa R, Ogata T 2008 Identification and characterization of cryptic *SHOX* intragenic deletions in three Japanese patients with Léri-Weill dyschondrosteosis. *J Hum Genet* 53:454–459
- Shaw CJ, Lupski JR 2004 Implications of human genome architecture for rearrangement-based disorders: the genomic basis of disease. *Hum Mol Genet* 13:R57–R64
- Ito M, Achermann JC, Jameson JL 2000 A naturally occurring steroidogenic factor-1 mutation exhibits differential binding and activation of target genes. *J Biol Chem* 275:31708–31714
- Castinetti F, Saveanu A, Reynaud R, Quentien MH, Buffin A, Brauner R, Kaffel N, Albarel F, Guedj AM, El Kholy M, Amin M, Enjalbert A, Barlier A, Brue T 2008 A novel dysfunctional *LHX4* mutation with high phenotypical variability in patients with hypopituitarism. *J Clin Endocrinol Metab* 93:2790–2799



## [VI. リウマチ上肢・脊椎の再建手術]

# 8 母指変形再建のコツ

国立成育医療研究センター整形外科医長 関 敦仁・国立病院機構相模原病院整形外科医長 十字塚夫

はじめに

リウマチ診療では母指の変形や不安定性をみる機会が多い。手の機能障害につながる母指変形に対して装具のみで対応できない場合は、再建手術が必要となる。本稿ではリウマチ特有の母指変形について分類し、個別に再建法の要点を示す。ただし、実際の治療戦略を検討する際には母指の各関節の病態をよく把握し、他の手指の状態も考慮して安定したつまみを再建するべくデザインすることが必要である。

### 1. リウマチ性母指変形の分類

Nalebuff らの分類を表 1 に示す<sup>1)</sup>。よくみられる I・Ⅲ型については stage 分類を含めて記載した。

I 型 (ボタンホール変形) は中手指節間 (MP) 関節炎に始まり、短母指伸筋 (EPB) 停止部の脆弱化、MP 伸展障害が発生する (図 1)。指節間 (IP) 関節が過伸展位となり、長母指伸筋 (EPL) 腱は尺側へ移動する。つまみ動作の際

に IP 関節屈曲ができなくなると把持力が低下する。軽度から中等度にかけては、力を入れてつまもうとするとボタンホール変形が助長され、さらに目立つようになる。この時点では医師が患者の MP 関節を可及的伸展位に把持すると、患者は IP 関節を自動屈曲することができて把持力の改善を実感できる。他動的にも MP 関節の完全伸展が困難になる中等度の症例では MP 関節固定術が良い適応である。重度になり IP・MP 関節ともに拘縮を呈する場合は、IP 関節に対して関節固定、MP 関節に対してはインプラント関節形成術を同時に行う (図 2)。また、両方の関節面の変形が重度である場合や吸収を伴う場合は IP と MP の関節固定を同時に行う場合がある。

Ⅱ型は CM 関節の病変により橈側亜脱臼と内転拘縮、MP 関節軽度屈曲、IP 関節過伸展となるまれな変形である (図 3)。

Ⅲ型 (スワンネック変形) は手根中手 (CM) 関節の橈側脱臼・内転拘縮に始まり、MP 関節

[表 1] リウマチ母指変形の分類と stage

<ボタンホール変形>	関与せず	屈曲	過伸展
軽度		他動的矯正可能	他動的矯正可能
中等度		屈曲拘縮	他動的矯正可能
重度		屈曲拘縮	過伸展拘縮
<スワンネック変形>	屈曲・内転	屈曲	過伸展
軽度	亜脱臼・屈曲・内転	過伸展	屈曲
中等度	軽微な変化のみ	他動的矯正可能	
重度	亜脱臼	他動的矯正可能	
軽度	脱臼	過伸展拘縮	
<ゲームキーパー母指>	屈曲・内転	橈屈変形	関与せず
		過伸展	
<ムチランス変形>	骨吸収あり	骨吸収あり	骨吸収あり

変形の別名を<>内に示す。

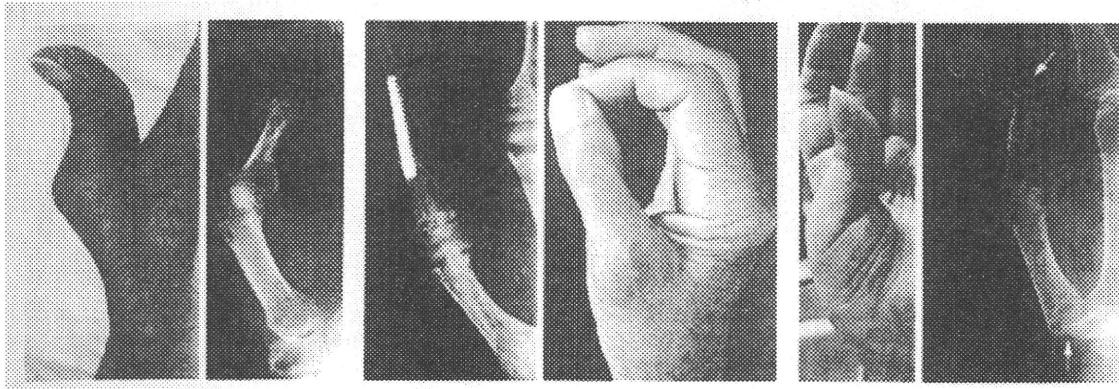


図1 I型 (ボタンホール変形)  
MP 関節炎から EPB 停止部の脆弱化を引き起こし、MP 伸展障害と IP 関節の過伸展が発生する。

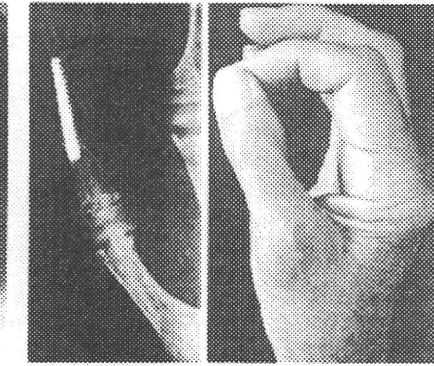


図2 IP 関節固定、MP インプラント関節形成術の同時施行例  
伸筋腱 (EPL, EPB) は基節骨基部に縫着する。

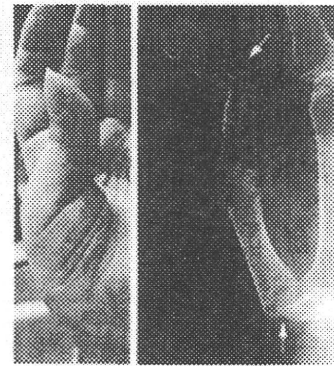
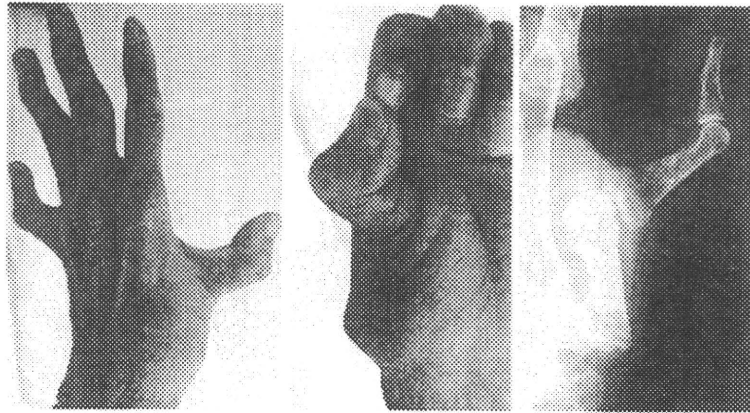


図3 II型  
CM 関節亜脱臼を認めるが MP は屈曲し、IP は過伸展している。

図4 III型 (スワンネック変形)  
CM 関節の橈側脱臼・内転拘縮、MP 関節過伸展、IP 関節屈曲位を呈する。



過伸展、IP 関節屈曲位となる変形である (図4)。変形した外観に比較して、機能的なつまみは保たれていることが多い。中等度までであれば ADL 上の支障は少ない。CM 関節の内転・屈曲拘縮・MP 関節の伸展拘縮が重度になると握りやつまみに支障が出てくる。運動時痛や把持力低下による機能障害に対して手術を適用する。母指 CM 関節はぶん回しの可能な鞍関節であり<sup>2)</sup>、母指の機能を確保するうえで可動域を考慮した再建が望ましい。そのため大菱形骨切除と中手骨間靭帯の再建により関節を形成する。MP 関節については、つまみが容易となるように指位を調整して関節固定を行う。

IV 型 (ゲームキーパー母指) は橈側方向に MP 関節の動揺性があり、第 1 指間が狭小化している (図5)。これは MP 関節の尺側靭帯の機能不全に起因しており、日常のつまみ動作を

行ううちに MP 関節はますます橈屈し CM 関節は内転拘縮となる。手術では第 1 背側骨間筋膜や母指内転筋膜の切開・剝離を行い、CM 関節の外転を改善する。十分に外転が得られれば単純な MP 関節固定でよい。しかし不十分と判断したときは、CM 関節内転時に三点つまみが可能になるよう、MP 関節を軽度橈屈・回内して MP 関節固定を行う。

V 型は MP 関節が変形し、背屈位をとる (図6)。痛みが強いときは関節固定を行う。

VI 型 (ムチランス変形) は関節周囲が骨吸収像を呈する (図7)。母指先を引っ張ると皮膚の弛みの分だけ伸びる様を確認できる (telescoping)。腸骨移植を併用した関節固定を行う。これによりつまみの支持性が向上し、細かいものの把持が可能になる。

IP 関節の橈屈変形や動揺は、臨床の現場で

は多くみられる(図8)。これについては装具による支持性獲得をまず試みるが、重度になると関節固定の適応となる。

長母指伸筋腱断裂による伸展障害については、固有示指伸筋(EIP)腱移行を行う。手術を待機する間に関節の拘縮を作らないよう指導する。腱縫合時の緊張は手関節の屈伸が可能であれば動的腱固定効果を利用して、手関節屈曲0°以上で母指IP関節が伸展する程度の緊張がよい。手関節が屈曲できないときは母指先が小指基節に触れる肢位で、EIPを最大伸張して腱縫合することになるが、さらに少し強めの緊張がよい。

長母指屈筋によるIP関節屈曲障害は、手の変形が少ない症例で断裂後2ヵ月までに手術可能であれば長掌筋腱移植術を行うが、経過が長い場合はIP関節固定術を適用する。

## 2. 手術手技の要点と盲点

母指変形に対する治療手段としては関節固定を行うことが多い。IP・MP関節変形・動揺関節に対して固定術を行う。鋼線締結、埋め込みスクリュー、鋼線刺入などの手技を用いる。母指の実用長を確保し、骨癒合を促進するため腸骨移植を追加する場合がある。

### (1) IP 橈屈動揺・変形に対する埋め込みスクリュー(Acutrak<sup>®</sup> Mini)を用いた固定

固定角度が大きいとかえって使いにくいので、IP屈曲角度は15~20°を目指す<sup>1)</sup>。母指IP関節をまたいで背側T切開で進入する。伸筋腱を基節骨ほぼ中央でZ型に切離して反転し、靭帯を切離してIP関節を展開する。基節骨頭軟骨をよく削除する。末節骨軟骨は径1.2mm鋼線で浅く、多数ドリリングして小型リウエル、小鋭匙で新鮮化する。次に基節骨背側ほぼ中央の骨皮質をエアトームで長さ6~8mm、幅数mm開窓する。IP関節を軽度屈曲位に把持し、開窓部からできるだけ斜めにガイドワイヤーを刺入すると15~20°のIP屈曲位で仮固定ができる。末節骨に対しては、正側2方向で骨内を通るように刺入する。後は手技書に従い慎重にドリリングを進めるが、リウマチの場合は若干少なめのドリリングでスクリューをねじ込む方が

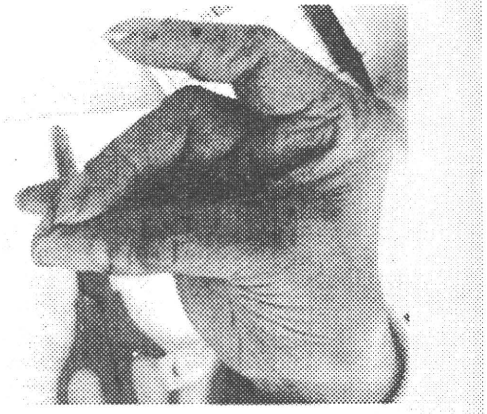


図5 IV型(ゲームキーパー母指)  
MP関節尺側側副靭帯の弛緩により橈屈し、第1指間が狭小化している。



図6 V型  
MP関節が変形し、背屈位をとるが、CM関節は比較的保たれている。

安定する。スクリューサイズは24mm以上になるよう大きいものを選ぶ<sup>3)</sup>。また、背側骨皮質にスクリュー後部のスレッドがかかるところで留める(図9)。反転した腱は無理な緊張なく縫合し、関節固定部とスクリュー端を被覆する。外固定は必要ないとの意見もあるが<sup>4)</sup>、筆者は抜糸までの数週間アルフェンス<sup>®</sup>シーネで安静を保っている。

Larsen 分類 grade 5 (X線評価で元の関節面



図7 V型（ムチランス変形）

関節周囲が骨吸収像を呈する。母指先を引っ張ると皮膚の弛みの分だけ伸びる様を確認できる（telescoping）。

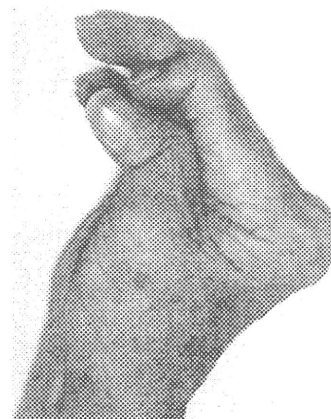
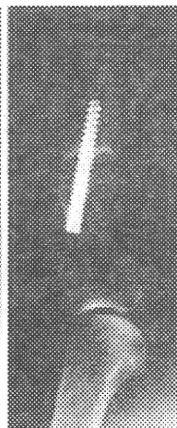
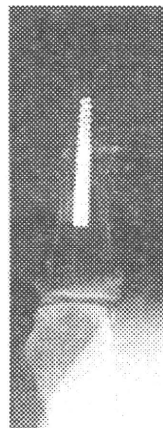
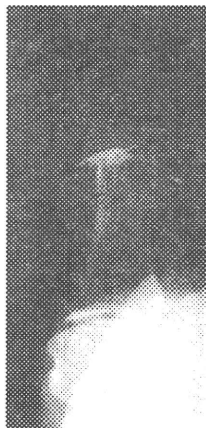


図8 IP関節の槓屈変形

つまみ動作により助長される。

図9 IP関節固定術

長さ24mmのAcutrak screw mini<sup>®</sup>を基節骨から設置した。



を完全に失っている例）では基節骨頭が比較的保たれている症例でも骨質が脆弱になっており、埋め込みスクリューでは弛みの生じる可能性がある。この例では後述の（3）に準じる固定が望ましい。

## （2）ボタンホール変形に対するMP関節鋼線締結固定

中期の変形に大変有効である。MP関節を伸展位に把持することでIP関節は自動屈曲しやすくなる。したがって、IP関節に若干の拘縮があってもMP伸展位固定で指先つまみが可能であることを確認できれば重度にも適用できる。

EPBとEPLの間を切開してMP関節を展開する。EPB停止部はこのとき切離する。滑膜切除した後、リウエルで中手骨頭軟骨を十分に

切除する。基節骨基部軟骨は径1.2mm鋼線で多数ドリリングした後に小鋭匙で新鮮化する。エアームで注意深く削除するのもよい。MP関節は10～15°程度の屈曲位かつ回内位で固定する。母指中指つまみが無理なくできる程度となっていることを確認する。固定は十字交差 criss cross となるよう鋼線を刺入して軟鋼線で締結する。はじめに基節骨基部に0.4～0.6mm軟鋼線を通しておく。1.2mm鋼線の中手骨頭から逆行性に中手骨中枢に向けて刺入しておき、目標とする固定肢位に把持してから末梢に向けて刺入する。先端が骨皮質から出過ぎないように正側2方向のX線写真で確認する。軟鋼線を締めて鋼線とも先端を曲げて短くカットする。関節包を縫合し、EPB腱端とEPLを関節背側で縫合する（図10）。

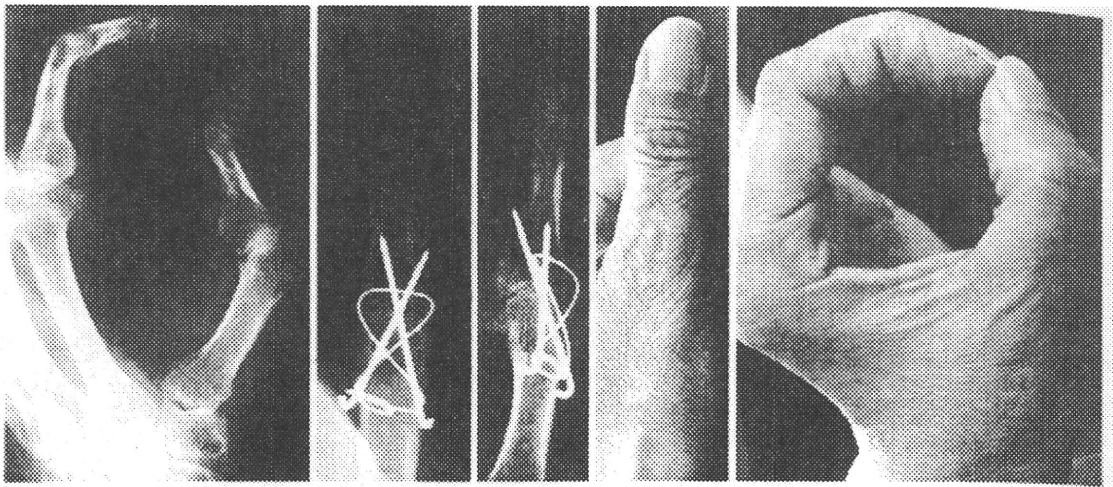


図 10 ボタンホール変形に対する MP 関節鋼線締結固定  
MP 関節固定後もつまみは無理なくできている。

術直後でも外固定は必要なく、強いつまみを禁止するが自動運動は許可する。

I 型に対しては Acutrak<sup>®</sup> を用いる固定法も有効であるが、IV 型などでつまみ・開きの形を重視して MP 関節固定時に軽度の橈屈・回内位とするときには鋼線締結法が扱いやすい。

### (3) ムチランス変形に対する腸骨移植・鋼線刺入関節固定

関節周囲に骨吸収像を認める重度の動揺関節や telescoping を呈するようになった母指では、支持性の獲得を目的として関節固定を行う。実用的な母指長を保つためや骨癒合を促進するために（腸）骨移植を行う。ムチランスを呈する患者の腸骨は脆弱ではあるが骨癒合には問題ない。他の指の関節形成術を同時に行うときは、切除した骨頭を利用することもある。手術に際しては、吸収骨面の新鮮化と周囲の剝離のみを行った段階で挿入できるだけの大きさの骨片を設置する。皮膚が強く緊張するほどの大きな骨片の挿入は必要ないが、骨片のサイズについては鋼線刺入固定後に周囲軟部組織から軽く圧迫力が働く程度がよい。径 1.0 か 1.2mm の鋼線を 2 本以上、指先部や末節骨、基節骨から刺入して固定する。移植骨を挟み込んでいる指骨に軟鋼線を通し、単純に移植骨を圧着するのも良い方法である<sup>2)</sup>。逆行性刺入法が有効で、最低

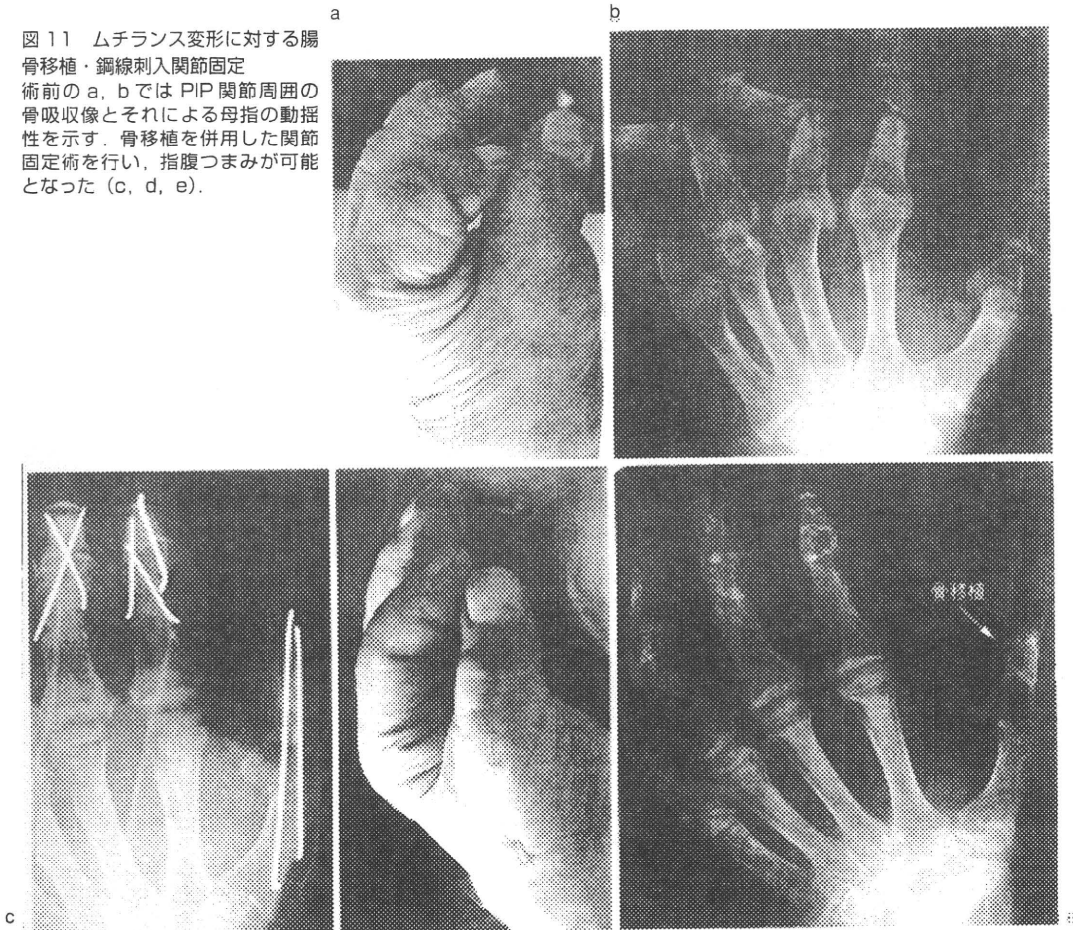
1 本は移植骨とその両端の骨を貫くように固定すると安定する（図 11）。このときは 4～6 週の外固定を行う。

### (4) 母指 CM 関節の再建

Ⅲ型に対して靭帯再建と大菱形骨切除を原則として行う<sup>4,5)</sup>。はじめに、大菱形骨を咬除する。このとき橈側手根屈筋（FCR）腱が大菱形骨の掌側に密着して通過しており、剝離・保護して損傷しないよう注意する。次に、第 1 背側骨間筋膜を解離し、そのあとも再建後の CM 関節の外転が不足すると判断したときは第 1 中手骨基部を数 mm 程度切除・短縮すると改善する。通常 2～4 本ある長母指外転筋（APL）腱を筋腱移行部から 1 本採取する（図 12）。APL 腱が癒着して脆弱化している場合や中手骨基部を切除した場合は、FCR 腱から半裁腱を採取して、靭帯再建に備える<sup>5,6)</sup>。次に、第 1 中手骨基部に背側から底部に向かう骨孔を作製する。第 2 中手骨基部にも橈側から背尺側に向けて骨孔を作製する。採取腱を通して背側に引き出し、短橈側手根伸筋（ECRB）腱停止部に編み込み縫合する。APL 腱を牽引しても筋としての滑動が期待できない例では、第 1 中手骨背側骨孔部で EPB 腱を採取腱に縫着して橈側外転の力源とする。

- ◎母指の変形メカニズムを理解して病態を正しく把握する.
- ◎母指の再建では安定したつまみの獲得が目標である.
- ◎IP, MP 関節は単独であれば固定, CM 関節では関節形成が有効.

図 11 ムチランス変形に対する腸骨移植・鋼線刺入関節固定  
術前の a, b では PIP 関節周囲の骨吸収像とそれによる母指の動揺性を示す. 骨移植を併用した関節固定術を行い, 指腹つまみが可能となった (c, d, e).



## 文献

- 1) Feldon P et al : Rheumatoid arthritis and other connective tissue diseases. Green's Operative hand Surgery 4th ed, Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, 2049-2136, 2005
- 2) 石川 肇 : RA 母指の手術. 関節外科 27 : 46-57, 2008
- 3) 政田和洋ほか : Acutrak bone screw を用いたリウマチ母指の関節固定術. 日手会誌 20 : 92-94, 2003
- 4) Thompson JS : Suspensionplasty. J Orthop Surg Teck 4 : 1-13, 1989
- 5) Burton RI et al : Surgical management of basal joint arthritis of the thumb. J Hand Surg 11A : 324-332, 1986
- 6) 津下健哉 : CM 関節腱形成術 (Martini 法変法). 私の手の外科学—手術アトラス改訂第 2 版, 南江堂, 東京, 600, 1988

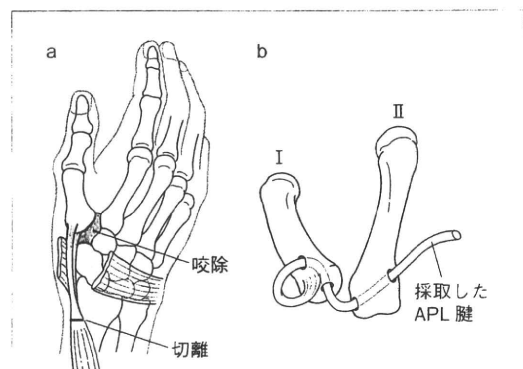


図 12 母指 CM 関節の再建 (suspensionplasty)  
大菱形骨を咬除し, APL 腱を 1 本採取する (a). 採取腱を骨孔に通す (b).

特集

上肢の人工関節—臨床成績と問題点—

## I. 肘関節

# K-NOW人工肘関節 の特徴と臨床成績

K-NOW total elbow system for the rheumatoid patients

池上博泰 丹治 敦 堀内行雄  
高山真一郎 関 敦仁 中村俊康  
桃原茂樹 戸山芳昭

H. Ikegami, A. Tanji, T. Nakamura, Y. Toyama: 慶應義塾大学医学部整形外科

Y. Horiuchi: 川崎市立川崎病院整形外科

S. Takayama, A. Seki: 国立成育医療センター整形外科

S. Momohara: 東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター

### Key words

- 肘(elbow)
- K-NOW人工肘関節(K-NOW total elbow)
- モジュラーシステム(modular system)



本稿では関節リウマチ(RA)肘に対するK-NOWによる人工肘関節全置換術(TEA)について、述べる。



新しい人工肘関節の開発プロジェクトは、2002年から始まった<sup>1)~9)</sup>。そのコンセプトは、

- ①日本人の肘関節にあった解剖学的デザインの採用(とくにその髓腔形状)
- ②さまざまな大きさの肘関節に対応可能な modular system(この modular system の採用によって再置換術の際にはその侵襲を最小限にすることが可能となった)
- ③術中に linked type か un-linked type が選択可能となるシステム
- ④術中にセメント固定かセメントレス固定が選択可能

などである。

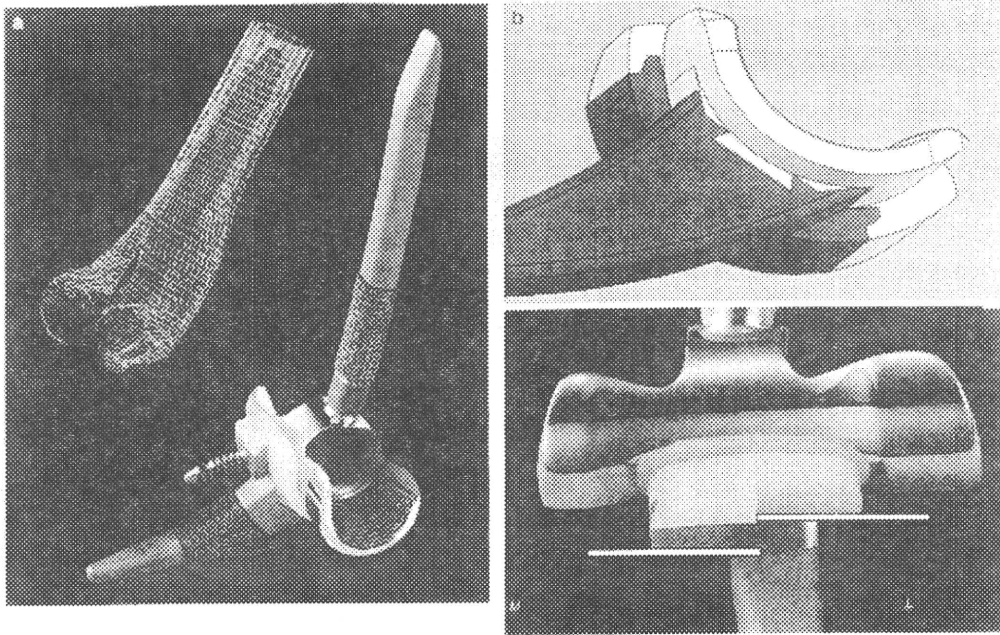
具体的には、上腕骨のステムは軽度後方凸に弯曲したことで高い髓腔占拠率を達成し、尺骨コンポーネントを段付き形状の骨接合面とすることで最小限の骨切除量と尺骨関節面の方向の視認容易性を獲得した(段差なしのコンポーネントもある)(**図1**)。

各コンポーネントを上腕骨ステム、上腕側関節面、尺骨関節面のポリエチレン、尺骨ステムの4つに分けて種々のサイズを組み合わせる modular system によって種々の大きさの肘関節に対応可能となった(**図2**)。

原則として骨切除量の少ない un-linked type を用いているが、不安定性が著明な肘関節や解剖学的な位置関係が著しく破綻している肘関節には、スナップインで linked type となる関節面を用いている(**図3**)。

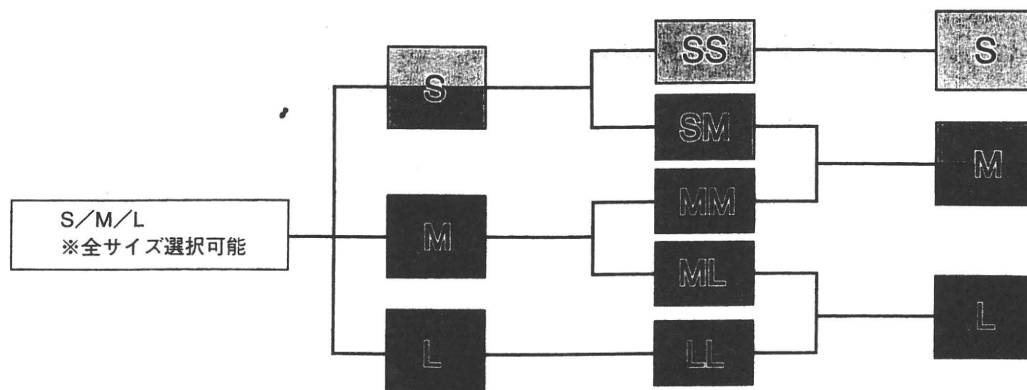
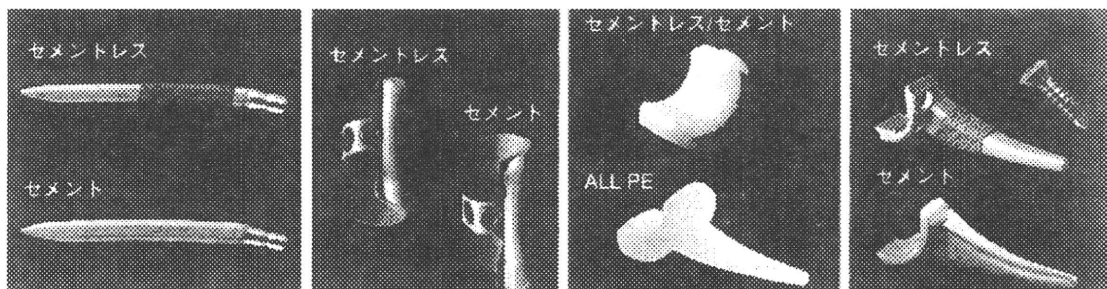
**図1 K-NOW人工肘関節のデザイン**

a: 上腕骨のステムは軽度後方凸に弯曲したことで高い髄腔占拠率を達成した。  
 b: 尺骨コンポーネントを段付き形状の骨接合面とすることで、最小限の骨切除量と尺骨関節面の方向の視認容易性を獲得した。



**図2 modular system**

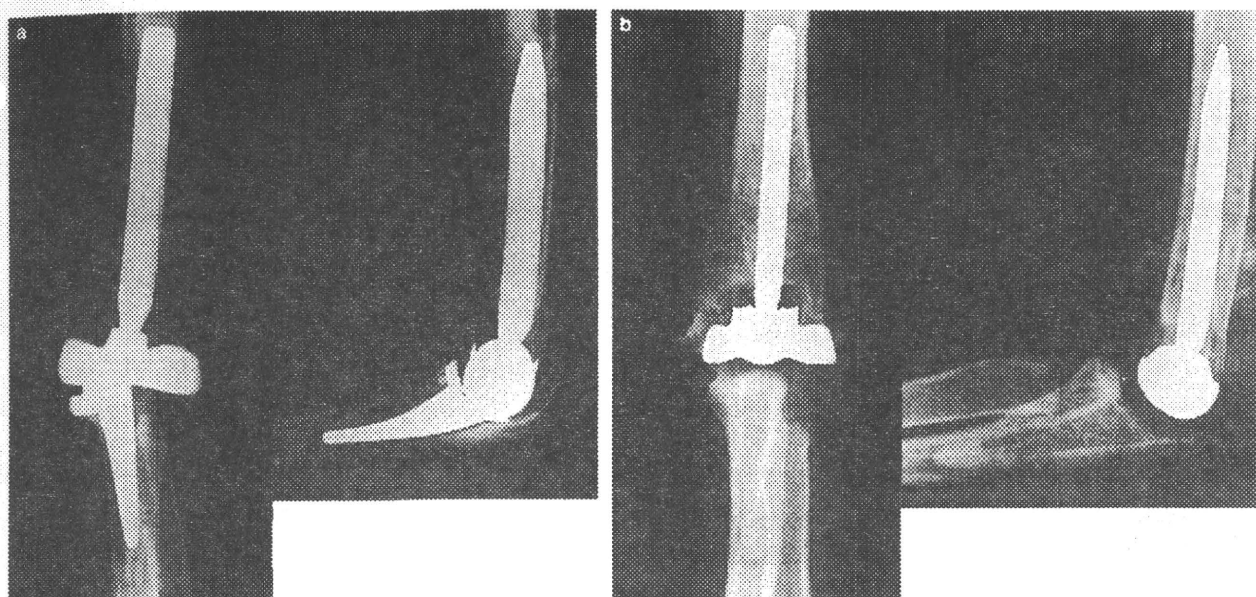
各コンポーネントを上腕骨ステム、上腕側関節面、尺骨関節面のポリエチレン、尺骨ステムの4つに分けて種々のサイズを組み合わせるmodular systemによって種々の大きさの肘関節に対応可能となった。





**図3 un-linked type (a)とlinked type (b)**

a : 骨切除量の少ないun-linked type。  
b : スナップインで上腕骨と尺骨とが繋がるlinked type。



セメント固定かセメントレス固定かは、個々の症例によって使い分けているが、原則として65歳以下ではセメントレス固定を用いている(図4)。これは再置換術を行う際に、時としてセメントの抜去に難渋するからである。とくに尺骨コンポーネントがセメント固定されている例ではセメント除去後の尺骨骨皮質が薄くなってしまい骨折を生じる危険がある。

### RA肘に対するTEAの適応

RA肘に対するTEAの適応については、肘関節X線像をLarsen分類を用いて評価して行うことも報告されているが、著者らはRA患者の実際の症状を最も重要視している。すなわち、

- ①肘関節破壊を伴う著明な肘関節痛
- ②顔に手が届かないような肘関節可動域制限
- ③肘関節破壊の著しい尺骨神経麻痺
- ④RA患者の肘関節外傷(外傷前からすでに腕尺関節面の破壊のある例での上腕骨遠位端

骨折や尺骨肘頭骨折など)  
などがTEAの適応と考えている。

### 臨床成績

#### ■対象と方法

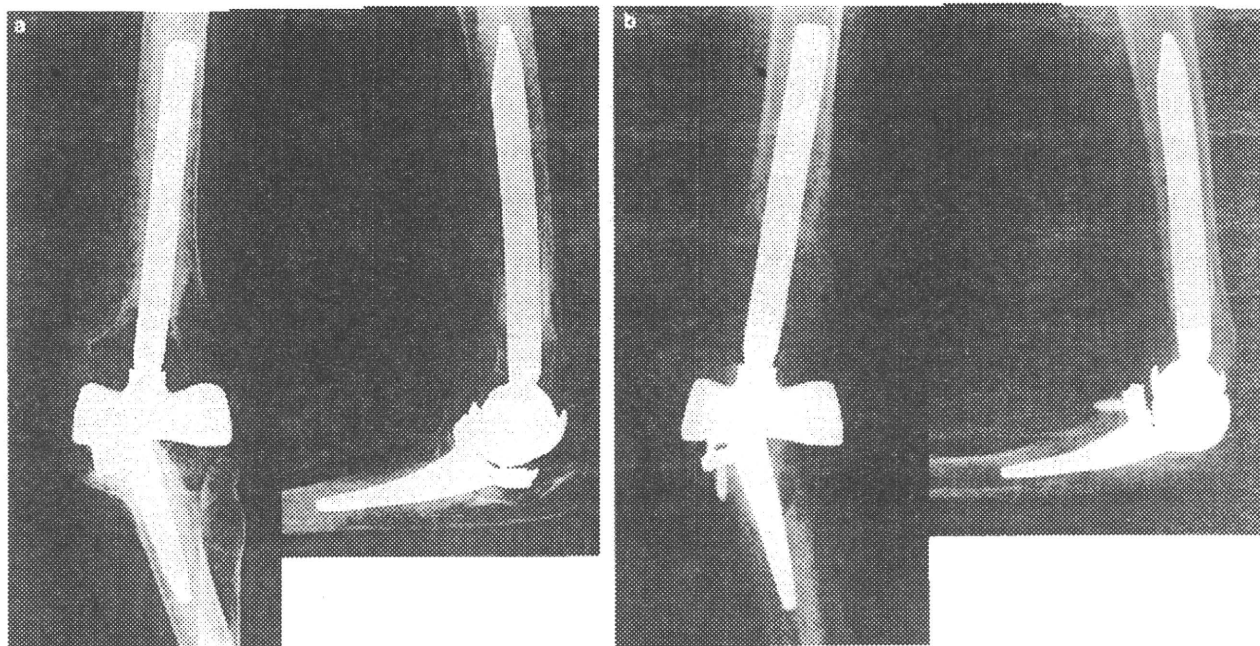
臨床応用の始まった2005年4月から2009年3月までに使用されたK-NOW人工肘関節178例のうち、患者の病態などの詳細がわかっているのは120例で、そのうちRA肘に対して用いた108肘、106例(女性:86例,男性:20例)を対象とした。手術時年齢は、33~86歳(平均66歳)で、手術は48施設で行われ、2肘以上の手術をしている医師は26名であった。これらについて合併症や問題点について検討した。

さらに、著者が手術を行い直接経過観察している42肘、40例(手術時年齢39~82歳<平均68歳>)については、合併症や問題点のほかに治療成績についても検討した。

■ 図4 セメント固定(a)とセメントレス固定(b)

a : セメント固定タイプ。

b : セメントレス固定タイプ。



## ■ 結果

108肘の合併症と問題点には、術後感染、術後腕尺関節の脱臼(un-linked type)、ポリエチレンとバックメタルとの嵌合不全があった。術後感染は1肘で持続灌流が行われた。術後に腕尺関節の脱臼した例が6肘あり、そのうち2肘は徒手整復後外固定で治療し、4肘には再手術が行われていた。また、同一施設で尺骨コンポーネントのポリエチレンの不具合が2肘あり、原因は、ポリエチレンの装着が不十分であったため、術後にバックメタルからはずれてしまった例であった。

自験例42肘の術後経過観察期間は平均24カ月(8~54カ月)で、術前の肘関節可動域(伸展：-35°，屈曲：105°，回外/回内：50/30°)は、術後肘関節可動域(伸展：-25°，屈曲：128°，回

外/回内：70/60°)に改善した。また、術前のJOAスコアの平均51点(30~63点)が術後平均92点(82~98点)と改善した。

術後の合併症としては、感染例はなかったが、術後に腕尺関節が脱臼した例が1肘あった。これは幼少期に上腕骨顆上骨折を受傷して内反肘となったRA患者の例である(図5)。TEAを行って内反肘を外反肘に矯正したことで外側筋群の弛みが生じて脱臼したと考えられた(図6)。そのため、術後4週で再手術を行って、外側筋群の起始部をより中枢へ引き上げ、さらに尺骨関節面のポリエチレンを鉤状突起部がより長いものに変更した。再手術後はとくに再脱臼も生じず、日常生活動作でも支障はない(図7)。また、術後に一過性の尺骨神経麻痺を生じた例が3肘あったが、いずれも経過とともに回復している。

図5 幼少期に上腕骨顆上骨折を受傷して内反肘となったRA患者の例

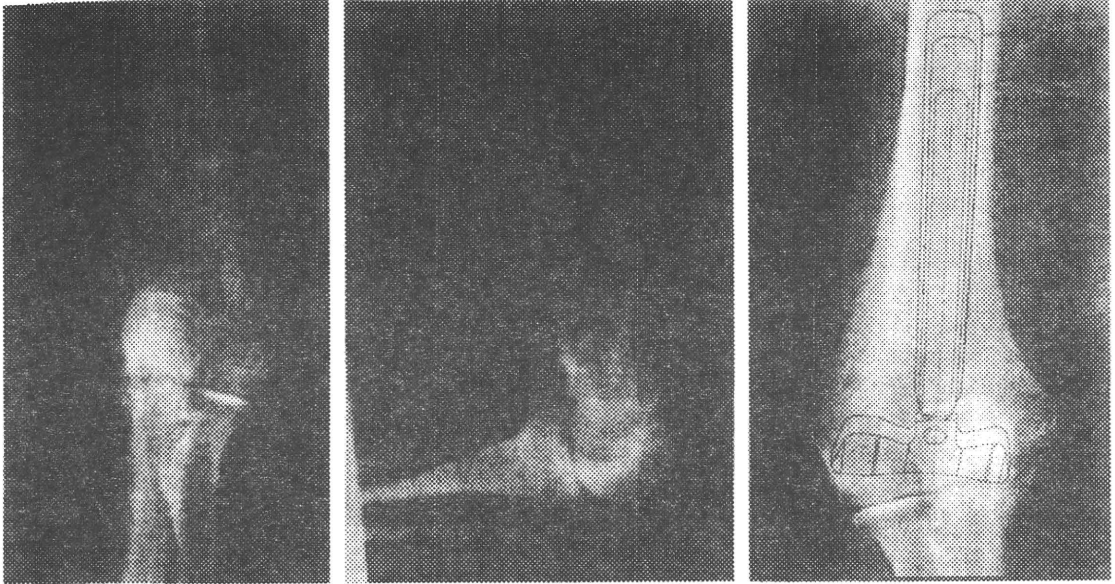
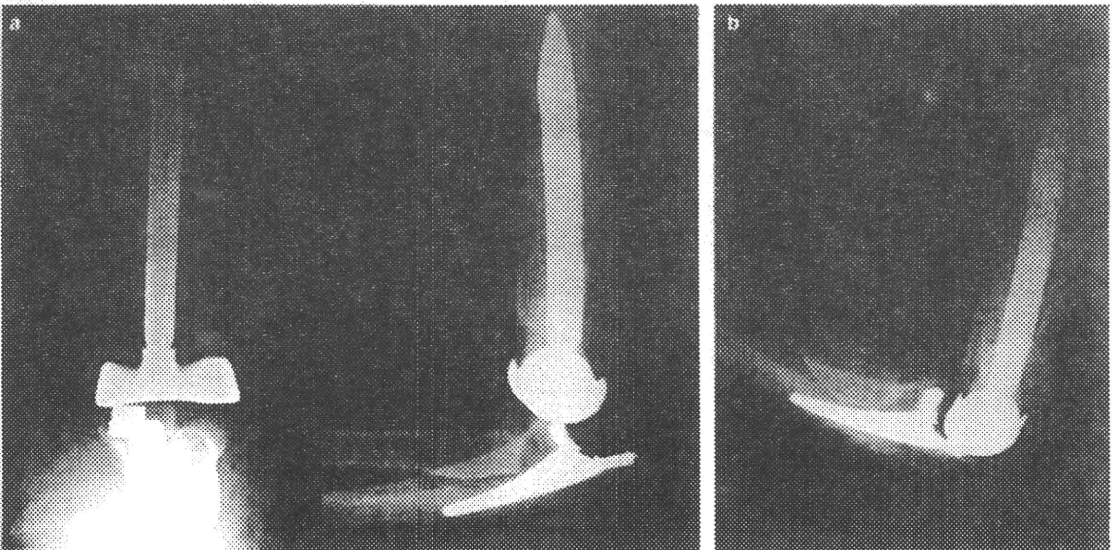


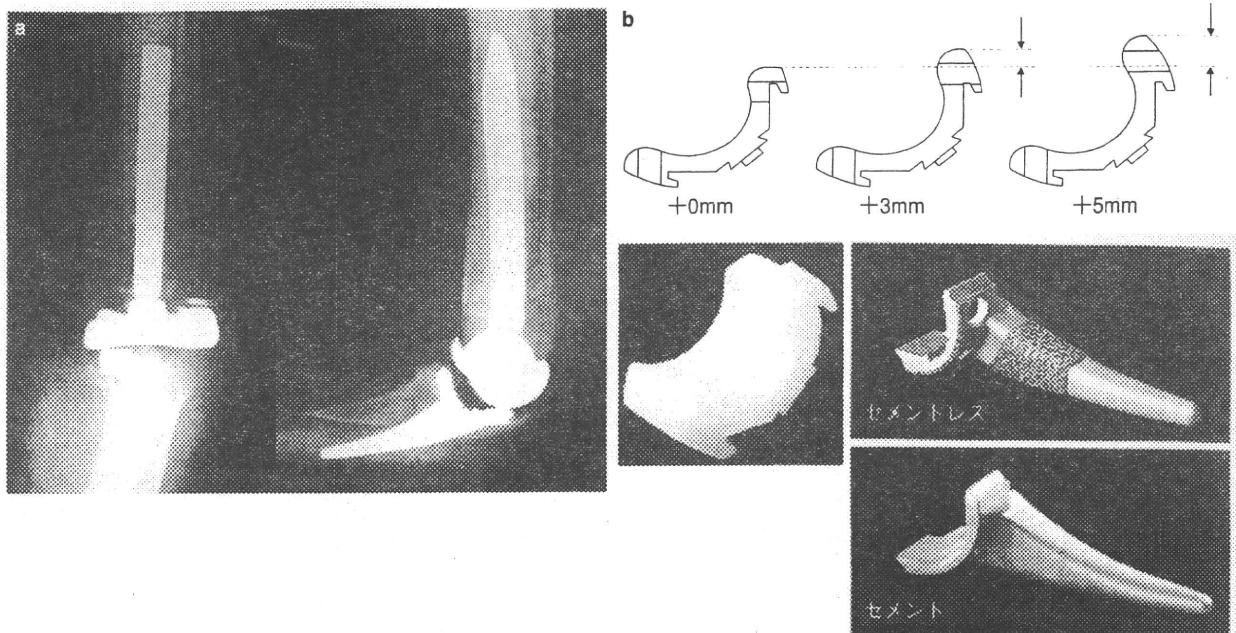
図6 術後1週のX線像

TEAを行って内反肘を外反肘に矯正したことで外側筋群の弛みが生じて術後脱臼したと考えられた (a)。屈曲を強くすると整復される (b)。



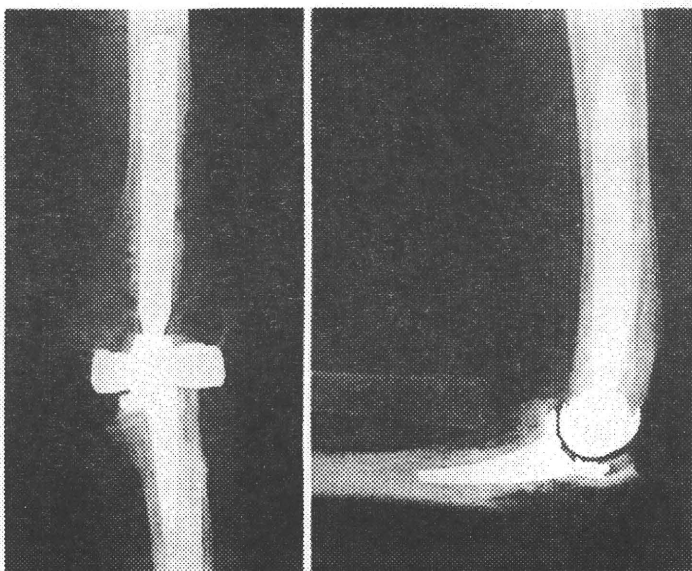
**図7 再手術後のX線像と尺骨関節面のポリエチレンサイズのバリエーション**

術後4週で再手術を行って、外側筋群の起始部をより中枢へ引き上げ(a)、さらに尺骨関節面のポリエチレンを鉤状突起部がより長いものに変更した(b)。



**図8 代表症例**

88歳，男性。20年前よりRAに罹患している。3年前に左肘関節痛に対して、K-NOWによるTEAを行っている。



**代表症例**

症例は88歳，男性である。20年前よりRAに罹患しており，3年前に左肘関節痛に対して，

K-NOW人工肘関節を用いたTEAを行っている(図8)。20カ月前に転倒して右肘上腕骨通頸骨折となり，前医で観血的整復固定術を行った(図9)。骨癒合は得られているが，右肘関節痛が続き可動域制限も著明なため(伸展：-40°，