

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

難治性脳形成障害症患者由来生体試料の収集と そのバンク化に関する研究

研究分担者

金村米博

国立病院機構大阪医療センター 臨床研究センター 再生医療研究室 室長

研究要旨 難治性脳形成障害症の病態解明と神経機能の修復・再生法の開発を最終目標として、患者由来生体試料を収集・分離・作成し、そのバンク化を実施する。22年度末までに、15施設から合計123検体の試料の提供を受け、DNA試料54検体、培養細胞試料69検体を分離・樹立し、各々保管した。また研究班組織内で収集検体を相互利用する体制を確立した。これ難治性脳形成障害症患者由来の生体試料並びに培養細胞は、当該疾患の病態解明に大きく貢献できるものと考えられる。

A. 研究目的

現在でも根治的治療法が存在しない難治性脳形成障害症の病態解明と神経機能の修復・再生法の開発を最終目標として、以下の患者由来生体試料を収集・分離・作成し、そのバンク化を実施する。

- ① 研究開発用試料：核酸（DNAおよびRNA）、タンパク質、組織標本
- ② 浮遊系細胞：末梢血由来単核球細胞
- ③ 接着性細胞：線維芽細胞、上皮細胞、血管内皮細胞、等
- ④ 幹細胞：神経幹細胞、間葉系幹細胞、造血幹細胞
- ⑤ iPS細胞：上記②～④に遺伝し導入して作成

B. 研究方法

1. 患者由来生体試料の収集

21年度に策定した「生体試料提供マニュアル」に従って、患者由来生体試料（臍帯血、臍帯、神経組織、皮膚組織、末梢血、心臓血）を収集した。遺伝子解析用試料（DNA）は末梢血採血後、SRLにて回収を行い、DNA抽出の後、大阪医療センターへ搬送された。細

胞樹立を行うための試料採取で収集する各試料は、事前に大阪医療センターからヘパリン添加血液回収チューブ、組織保存液が入った組織回収容器を梱入輸送用コンテナに入れて提供医療機関へ発送し、試料採取後、冷蔵状態で大阪医療センターに回収した。

2. 培養細胞樹立

神経組織を細切後、酵素処理を行って単一細胞懸濁液を作成した。EGF/FGF2/LIF/B27supplementを含む無血清培地で浮遊培養を行い、神経幹細胞を樹立した。臍帯、皮膚組織も同様に細切後、酵素処理を行って単一細胞懸濁液を作成した。10%ウシ胎児血清（FBS）を含む培地にて培養を行い、接着細胞を樹立した。臍帯血細胞、心臓血細胞および末梢血細胞は、AXIS-SHIELD社 Lymphoprep™ で定法に従って分離した。

3. 遺伝子解析

4 遺伝子（L1CAM, FGFR1, FGFR2 および FGFR3）の遺伝子配列解析はPCR-ダイレクトシーケンス法にて実施した。ゲノムのコピー数解析はアフィメトリックス Genome-Wide Human SNP Array 6.0 を用いてプロトコールに従って実施した。

(倫理面への配慮)

研究計画「難治性脳形成障害症の病態解析と治療法開発」を大阪医療センター医学倫理委員会へ申請し、その承認を受けた(平成21年8月26日)。試料提供のインフォームド・コンセントは、倫理委員会承認を受けた説明文書、同意書を用いて実施された。

C. 研究成果

1. 試料収集数

2011年3月現在、15施設から合計123検体の試料提供があり、表1に記した各種生体試料を収集した。

2. 細胞樹立数

各組織から神経幹細胞、臍帯由来間葉系細胞、羊膜・

表1 収集した生体試料数一覧

試料名		収集数
DNA	患者由来	52
	家族由来	2
培養細胞	神経幹細胞	6
	臍帯細胞	10
	羊膜・絨毛膜細胞	7
	臍帯血細胞	22
	心臓血細胞	1
	皮膚由来線維芽細胞	8
	末梢血細胞	15
(合計)		123

表2 遺伝子配列解析実施数

遺伝子名	UniGene	患者由来試料	母親由来試料
LICAM	Hs.522818	13	2
FGFR1	Hs.264887	1	-
FGFR2	Hs.533683	2	-
FGFR3	Hs.1420	1	-
(合計)		17	2

表3 研究班に属する研究施設への試料分与数

分与先施設名	試料分与数
大阪府立母子保健総合医療センター・遺伝診療科	3
山形大学医学部附属病院・小児科	8
慶応義塾大学医学部・小児科学教室	3
(合計)	14

絨毛膜細胞, 皮膚線維芽細胞の樹立に各々成功した(表1)。また、心臓血, 臍帯血, 末梢血から各々単核球を分離して、保存した。

3. 遺伝子解析数

表1に記された試料中、合計19試料を対象に、4遺伝子(LICAM, FGFR1, FGFR2およびFGFR3)の配列解析を実施した(表2)。またゲノムコピー数解析を1症例に対して実施した。他遺伝子の解析のため、合計14試料を研究班組織内の他の3研究機関に分与した(表3)。

D. 考 察

本年度の研究成果として、多施設から難治性脳形成障害症患者由来生体試料の提供を受け、合計で123検体収集し、それらを用いた遺伝子解析および細胞樹立体制を構築することに成功した。また収集した患者由来試料を研究班組織内で相互利用する体制が構築された。今後、この体制をさらに充実させることで、本研究の目標を実現することが可能になると考えられる。

E. 結 論

難治性脳形成障害症患者に由来する生体試料を収集する体制を構築し、123検体の試料収集を行った。今後、さらに試料の収集の実績を重ね、各種生体試料および細胞を収集・分離・作成し、それらのバンク化を実施していきたいと考える。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kanemura Y: Development of cell-processing systems for human stem cells (neural stem cells, mesenchymal stem cells, and iPS cells) for regenerative medicine. Keio J Med 59 (2): 35-45, 2010
- 2) 金村米博, 森 英樹, 八尋寛司, 中澤浩二: 細胞凝集塊形成プロセス制御による幹細胞の培養・分化制御. 再生医療 9 (3): 47-52, 2010
- 3) 金村米博: 中枢神経疾患に対する細胞移植療法を用いた再生治療. 脳神経外科 39 (1): 5-23, 2011
- 4) 吉龍澄子, 金村米博: ヒト真皮線維芽細胞の分化能評価. 日本形成外科学会会誌, 2011, 印刷中

2. 学会発表

- 1) Shofuda T, Kanematsu D, Yamamoto A, Fukusumi H, Suemizu H, Nakamura M, Sugimoto Y, Furue-K M, Kohara A, Okano H, Yamasaki M, Kanemura Y: Generation of human induced pluripotent stem cells from decidua-derived mesenchymal cells. ISSCR 8th Annual Meeting. 2010.06.16-17; San Francisco, CA, USA
- 2) Kanemura Y: Stem cell research of congenital central nervous system malformations in pediatric neurosurgery. International Symposium on Fetal Neurology, 2010.10.24, Osaka, Japan
- 3) Shofuda T, Kanematsu D, Yamamoto A, Fukusumi H, Suemizu H, Nakamura M, Okano H, Yamasaki M, Kanemura Y: International Symposium on Fetal Neurology, 2010.10.22-24, Osaka, Japan
- 4) 金村米博, 正札智子, 岡田洋平, 岡野栄之, 山崎麻

美: ヒト神経幹細胞の細胞特性解析とその品質管理指標. 社団法人日本脳神経外科学会第69回学術集会, 2010.10.28; 福岡

- 5) 兼松大介, 正札智子, 山本篤世, 伴 千秋, 上田孝文, 山崎麻美, 金村米博: ヒト脱落膜組織からの間葉系細胞の分離とその特性解析. 第10回日本再生医療学会総会, 2010.03.01; 東京
- 6) 福角勇人, 正札智子, 兼松大介, 山本篤世, 水谷美香, 末水洋志, 中村雅登, 山崎麻美, 笹井芳樹, 金村米博: ヒトiPS細胞樹立におけるヒト型細胞外マトリクスの有用性. 第10回日本再生医療学会総会, 2010.03.01; 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

神経軸索の再生技術開発に向けた基礎研究

研究分担者

上口裕之

理化学研究所 脳科学総合研究センター 神経成長機構研究チーム

研究要旨 中枢神経組織が損傷して神経回路が断裂すると、損傷部位に発現する各種再生阻害因子が軸索の伸長を妨げて神経回路の修復を阻害する。再生阻害因子が軸索を反発するメカニズムを解明し、その知見に基づき軸索の反発を回避する方法を発見した。最終的には損傷した神経回路の修復技術開発へと応用することを目指す。

A. 研究目的

中枢神経組織の損傷部位には、グリア細胞や線維芽細胞などに由来するさまざまな軸索再生阻害因子が高発現する。神経回路を構成する軸索突起が断裂すると、その切断端は新たな成長円錐となり伸長を再開しようとする。しかし再生阻害因子が成長円錐を反発するため、再生軸索は損傷部位を乗り越えて伸長することができない。このような軸索再生阻害が、脳神経系の疾病や外傷の機能予後を不良とする主要因である。本研究では、再生阻害因子が軸索を反発する細胞内メカニズムを解明し、その知見に基づき軸索の反発を回避する方法を探索することを目的とした。

B. 研究方法

代表的な軸索再生阻害因子である、Semaphorin 3A (Sema3A) と Myelin-associated glycoprotein (MAG) の作用機序を研究した。脊髄感覚神経細胞を培養し、その成長円錐近傍に再生阻害因子の微小濃度勾配を作製した。この再生阻害因子が成長円錐を反発することを確認した後、成長円錐での細胞内シグナル伝達および細胞膜の動態を可視化解析した。さらに再生阻害因子下流の駆動機構を阻害する薬剤を投与することにより、成長円錐の反発が回避できるか否かを検証した。

C. 研究結果および考察

Sema3A と MAG はいずれも軸索を反発した。すなわち、これら再生阻害因子の濃度勾配に遭遇した成長円錐は、低濃度の方向に旋回した。成長円錐が反発される過程で、高濃度の Sema3A と MAG に面した側でのみ成長円錐細胞質のカルシウムイオン濃度が上昇し、形質膜の取り込み（クラスリン依存性エンドサイトーシス）が亢進した。カルシウムイオンは、タンパク質脱リン酸化酵素カルシニューリンを介してクラスリン依存性エンドサイトーシスを促進した。Monodansylcadaverine を投与してクラスリン依存性エンドサイトーシスを抑制した成長円錐は、再生阻害因子に反発されず、逆に再生阻害因子に向かって伸長した。以上、成長円錐での非対称的エンドサイトーシスは軸索再生阻害の必要条件であることが明らかになった。本成果を、科学誌「Neuron」にて発表した。今後は、再生阻害因子の受容体からエンドサイトーシス制御にいたるシグナル伝達経路の詳細を解明し、軸索再生阻害活性をピンポイントでブロックする薬剤の開発へと発展させたい。

D. 結論

膜動態を操作する薬剤により、神経軸索の再生が可能となることが示唆された。

E. 健康危険情報

特になし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tamada A, Kawase T, Murakami F, Kamiguchi H (2010) Autonomous right-screw rotation of growth cone filopodia drives neurite turning. *Journal of Cell Biology* 188: 429-441
- 2) Tojima T, Itofusa R, Kamiguchi H (2010) Asymmetric clathrin-mediated endocytosis drives repulsive growth cone guidance. *Neuron* 66: 370-377
- 3) Akiyama H, Kamiguchi H (2010) Phosphatidylinositol 3-kinase facilitates microtubule-dependent membrane transport for neuronal growth cone guidance. *Journal of Biological Chemistry* 285: 41740-41748

2. 学会発表

- 1) 戸島拓郎, 糸総るり香, 上口裕之: 神経成長円錐ガイダンスにおけるクラスリン依存性エンドサイトーシスの役割. 第62回日本細胞生物学会大会, 大阪, 2010年5月19日
- 2) 戸島拓郎, 糸総るり香, 上口裕之: 非対称性クラスリン依存性エンドサイトーシスによる成長円錐ガイダンスの駆動機構. 第33回日本神経科学学会大会・第53回日本神経化学学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会, 神戸, 2010年9月2日

- 3) 中牟田信一, 船橋靖広, 難波隆志, 上口裕之, 貝淵弘三: 神経細胞の極性における CaMKK/CaMKI を介したカルシウムの機能. 第33回日本神経科学学会大会・第53回日本神経化学学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会, 神戸, 2010年9月3日
- 4) 久保山友晴, Jerry Silver, 上口裕之: パキシリンのリン酸化制御による軸索再生誘導. 第33回日本神経科学学会大会・第53回日本神経化学学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会, 神戸, 2010年9月3日
- 5) 秋山博紀, 上口裕之: PI3Kによる微小管ダイナミクスおよび膜輸送の調節は軸索誘引に重要である. 第33回日本神経科学学会大会・第53回日本神経化学学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会, 神戸, 2010年9月3日
- 6) Guy A, Nagatsuka Y, Greimel P, Nabetani T, Ito Y, Ohta K, Hirabayashi Y, Kamiguchi H: Lipid-mediated axon guidance in the developing spinal cord. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Axon Guidance, Synaptic Plasticity and Regeneration, New York, USA, Sep 21, 2010
- 7) Kamiguchi H: Lipid-mediated axon guidance in the developing spinal cord. The 6th International Academy of Perinatal Medicine, Osaka, Japan, Oct 23, 2010
- 8) 久保山友晴, Jerry Silver, 上口裕之: パキシリンのリン酸化による軸索再生制御. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学学会大会, 神戸, 2010年12月9日

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

Hirschsprung 病を合併する先天性水頭症

研究分担者

小崎健次郎

慶應義塾大学医学部小児科学教室 准教授

研究協力者

下郷幸子, 中澤美絵, 鳥居千春

慶應義塾大学医学部小児科学教室

研究要旨 L1CAM は先天性水頭症の原因遺伝子として重要である。L1CAM は接着因子として中枢神経系のみならず、末梢神経系にも発現しており、先天性水頭症以外の奇形を呈することが予測される。本研究班の岡本らは 1997 年に先天性水頭症にヒルシュスプルング病を合併する症例で L1CAM 変異を認めることを世界で初めて報告した。本分担研究では、先天性水頭症・ヒルシュスプルング病を合併した追加症例について記載するとともに、これまで文献に報告されている 8 症例を総括し、「Hirschsprung 病を合併する先天性水頭症」が疾患単位をなす可能性を示唆した。水頭症は小児神経領域を代表する疾患である一方、Hirschsprung 病は小児消化管外科領域を代表する疾患である。両者を合併する疾患が存在することを小児神経科医・小児消化管外科医に情報として提供し、その頻度を明らかにしていく必要がある。

A. 研究目的

L1CAM は先天性水頭症の原因遺伝子として重要である。L1CAM は接着因子として中枢神経系のみならず、末梢神経系にも発現しており、先天性水頭症以外の奇形を呈することが予測される。本研究班の岡本らは 1997 年に先天性水頭症にヒルシュスプルング病を合併する症例で L1CAM 変異を認めることを世界で初めて報告した。その後、2002 年に米国のグループにより同様の症例が報告され、両者の組み合わせが偶然でないことが明らかになった。さらに、岡本らは 2004 年に同様の症例を 3 例報告した。以後、各国から同様の症例が現在までに全部で 8 例報告されている。本分担研究では、先天性水頭症・ヒルシュスプルング病を合併した追加症例について記載するとともに、これまで文献に報告されている症例を要約する。

本研究では、ヒルシュスプルング病を合併した水頭症症例について検討し、L1CAM 遺伝子異常により発症する疾患のスペクトラムについて考察する。

B. 研究方法

(1) 患児両親の同意を得た後に先天性水頭症に Hirschsprung 病を合併した症例について臨床症状を分析した。

(2) 米国国立国会図書館 PubMed データベースを用いて、hydrocephalus AND Hirschsprung をキーワードとして文献検索を行った。得られた文献に引用されている文献があれば、当該文献についても調査した。得られた文献の臨床的特徴について比較検討した。

C. 研究結果

(1) 本研究分担班により同定された症例

妊婦健診で胎児水頭症が疑われ、28週3日 羊水染色体検査で46,XY. 在胎37週3日予定帝王切開で出生. 出生体重3088g Apgar 9/9 (1分/5分). 生下時に先天性水頭症と確定診断された. 日齢15 VPシャント術を受けた. 腹部膨満があり Hirschsprung 病が疑われ、日齢37に直腸筋層生検を施行、神経節を認めず確定診断された. 日齢43に内肛門括約筋切除・形成術を施行 10ヶ月時に根治術. VPシャント術後であるが、これまでシャント合併症はない. 頭部CT検査を定期的に行っているが脳室拡大なし.

1歳5ヶ月時の身体所見：

体重 6390g, 身長 67.3cm, 頭囲 46.3cm, 前頭部突出, 左右に発達した下顎, 眼間解離, 短鼻, 巨舌. 四肢動き制限なし, 両拇指の内転屈曲あり. 1歳7ヶ月の段階で未定顎, 寝返りや独座は不能であった.

(2) 過去の報告例の要約

L1CAM 変異陽性で、先天性水頭症と Hirschsprung 病を合併した症例は過去に8例が報告されている.

以下に、症例の要約を示す (表1).

全てが男児例で、表現型が類似していることから、単一の疾患概念と考えることができる. 水頭症に便秘を合併する症例、Hirschsprung を有する患者のう

ち、巨頭症を伴う症例では、本疾患を鑑別におくべきであることが明確となった.

D. 考 察

水頭症と Hirschsprung 病の合併例が報告例として8例あり、研究班活動を通じて極めて類似した症例を同定した. 1つの疾患概念であることが確立した. 引き続き、本症例の L1CAM 変異解析を進める計画である.

L1CAM 変異が水頭症の原因となることは、これまでの研究により明らかであったが、L1CAM 変異がどのように Hirschsprung 病を発症させる機序については不明であった. 本年になり、基礎研究が2報発表されている. 腸管を支配する自律神経系は後脳後縁の神経冠細胞由来の遊走細胞により形成され、遊走過程に障害があると、Hirschsprung 病を発症する. Wallaceらはヒト Hirschsprung 病の原因遺伝子である SOX10のマウス遺伝子 Sox10 のヘテロ接合体マウスが L1cam の変異を有すると高率に Hirschsprung 病を発症することを示した.

水頭症は小児神経領域を代表する疾患である一方、Hirschsprung 病は小児消化管外科領域を代表する疾患である. 両者を合併する疾患が存在することを小児神経科医・小児消化管外科医に情報として提供し、そ

表 1

	Sex	Age	Segments	Associated anomalies	Development	Mutation		
1	Okamoto N et al	1997	M	3 years	Rectosigmoid	cleft palate	No head control	2-bp deletion in exon 18
2	Parisi MA	2002	M	2 years	Short segment		No head control	V752M in exon 18
3	Okamoto N et al	2004	M	3 months	?	?	?	IVS15+5G>A
4			M	6 months	?	?	?	IVS15+5G>A
5			M	14 years	?	?	?	Q992X in exon 22
6	Nakakimura S et al	2008		3 years	throughout colon	Postaxial polydactyly	?	V31A in exon3
7	Jackson SR et al	2009	M	12 months	Rectal	?	?	R558X in exon 13
8	Griseri P et al	2009	M	10 years	Rectosigmoid	Severe VUR	A few meaning words	p.Pro756Leufs95X
1	Okamoto N et al	1997	Hydrocephalus and Hirschsprung's disease in a patient with a mutation of L1CAM. J Med Genet 34: 670-671					
2	Vits L et al	1998	Evidence for somatic and germline mosaicism in CRASH syndrome. Human Mutat Suppl 1:S284-S287.					
3	Del Maestro RF	2000	X-linked hydrocephalus and Hirschsprung's disease. Can J Neurol Sci 27 (Suppl 2): S40-S41.					
4	Parisi MA	2002	Hydrocephalus and Intestinal aganglionosis: Is L1CAM a modifier gene in Hirschsprung disease?					
5	Okamoto N et al	2004	Hydrocephalus and Hirschsprung's disease with a mutation of L1CAM. J Med Genet 49: 334-337					
6	Nakakimura S et al	2008	Hirschsprung's disease, acrocallosal syndrome, and congenital hydrocephalus: report of 2 patients and literature review.					
7	Jackson SR et al	2009	L1CAM mutation in association with X-linked hydrocephalus and Hirschsprung's disease					
8	Griseri P et al	2009	Compleat pathogenesis of Hirschsprung's disease in patient with hydrocephalus, vesico-ureteral reflux and a balanced translocation t (3; 17) (p12; q11)					

の頻度を明らかにしていく必要がある。重篤な中枢神経奇形を有する患者では、便意を比較的高頻度に認めるため、Hirschsprung病が見落とされている可能性も想定される。

E. 結 論

水頭症に便秘を合併する症例、Hirschsprungを有する患者のうち、巨頭症を伴う症例では、本疾患を鑑別におくべきであることが明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1) 特許取得

なし

2) 実用新案登録

なし

3) その他

なし

X連鎖精神遅滞における SLC9A6 遺伝子変異の役割

研究分担者

齋藤伸治

北海道大学病院小児科 講師

研究要旨 脳形成障害は脳形成過程における発生の異常である。マクロに明らかな重度の形成異常からシナプス形成障害まで連続した障害としてとらえることができる。今回私たちはシナプス形成障害が主要な病態と考えられている SLC9A6 遺伝子変異に基づく X連鎖精神遅滞の解析を行い、本邦における SLC9A6 遺伝子変異の役割について検討した。その結果、X連鎖精神遅滞 104 例のなかには変異が同定されなかったが、アンジェルマン症候群が疑われた男性患者 22 例中 1 例において SLC9A6 変異を同定した。

A. 研究目的

脳形成において重要な役割を果たしているシナプス形成の分子機構の理解が進んでいる。しかし具体的な遺伝子変異による疾患発症の検討は端緒についたばかりである。精神遅滞の原因としてのシナプス形成障害に注目して、関連遺伝子のひとつである SLC9A6 遺伝子の変異解析を X連鎖精神遅滞患者を対象として検討した。

B. 研究方法

X連鎖精神遅滞患者 104 例、および臨床的にアンジェルマン症候群を疑われたが遺伝学的に否定された男性患者 22 例を対象とした。末梢白血球由来ゲノム DNA を用いて、SLC9A6 遺伝子変異解析は翻訳領域全域を PCR 法にて増幅し、直接シーケンス法にて解析した。

（倫理面への配慮）

本研究は北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会の承認を受け、解析にあたっては、ご家族から書面による同意を得た。

C. 研究結果

X連鎖精神遅滞が疑われた患者 104 例においては、病因と判定された SLC9A6 遺伝子変異は同定されなかった。遺伝子内の一塩基置換として、3 種類の塩基置換を同定した。その内 2 つ (rs2291639, rs2307131) はデータベース上に存在し、多型と考えられた。1 つはデータベースに存在しない新規の一塩基置換 (c.1692 +10A > G) であり、これに関してはイントロン 12 に存在し病的意義は低いと考えたが、両親の検体は手に入らず検証できなかった。

アンジェルマン症候群が疑われた 22 例のなかには 1 例において、エクソン 2 に一塩基欠失によるフレームシフト変異 (c.441delG) を同定した。母親はこの変異をヘテロ接合性に有しており、保因者であった。この変異は既存のデータベースには存在せず、また、正常コントロール女性 50 名において検出されなかった。

D. 考察

SLC9A6 遺伝子は X 染色体長腕 26.3 上に存在し、Na⁺/H⁺ 交換輸送体 NHE6 をコードしている。NHE6 は細胞内の pH や Na 濃度を調整する機能を有している。脳細胞においても高度に発現しており、樹上突起

でのシナプス形成に関与していることが報告されている。

これまでの SLC9A6 変異の報告は、最初はアンジェルマン症候群に似た表現型を呈した男性患者においてなされた。その後、X連鎖精神遅滞のひとつである、Christianson 症候群でも報告された。これらの症候群は重度精神遅滞、小脳失調、てんかんなどを示す互によく似た症候群である。表現型はしかし、必ずしも特異的ではなく、したがって、X連鎖精神遅滞の患者にまぎれている可能性が考えられる。そこで、私たちは、日本人 X連鎖精神遅滞が疑われた患者 104 例を対象として SLC9A6 遺伝子の変異解析を行った。その結果では、一塩基多型は同定されたが、病因となりうる変異は同定されなかった。したがって、本遺伝子は X連鎖精神遅滞の主要な原因遺伝子とは考え難い。しかし、X連鎖精神遅滞の原因遺伝子は全体の 1%程度しか占めないものが多く知られており、より対象の数を増やした研究が必要と考えられる。

一方、アンジェルマン症候群が疑われた 22 例の男性患者のなかに、1 例本遺伝子変異が同定された。このことは、SLC9A6 遺伝子変異の表現型はこれまでの報告のようにアンジェルマン症候群に似ていることを確認した結果と考えられる。最近アンジェルマン症候群の原因遺伝子 UBE3A は経験依存的シナプス可塑性に関連することが示された。SLC9A6 もシナプス形成との関連が報告されており、双方の遺伝子変異においてよく似た表現型が示されることを考えると、UBE3A と SLC9A6 とが発達脳に置けるシナプス形成において共通した経路で働いている可能性が示唆される。

E. 結 論

SLC9A6 は日本人 X連鎖精神遅滞の主要な原因遺伝子ではない。SLC9A6 遺伝子変異は日本人にいてもアンジェルマン症候群とよく似た表現型を示す。したがって、UBE3A と SLC9A6 とが発達脳のシナプス形成において関連している可能性が示唆される。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Sueda K, et al. MEG time-frequency analyses for pre

and post surgical evaluation of patients with epileptic rhythmic fast activity. *Epilepsy Res* 88: 100-107, 2010.

- 2) Asahina N, et al. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis in a non-immunocompromised infant. *Pediatr Int* 52: 838-841, 2010.
- 3) Nakamura M, et al. MERRF/MELAS overlap syndrome: A double pathogenic mutation in mitochondrial tRNA genes. *J Med Genet* 47: 659-664, 2010.
- 4) Yagyu K, et al. The applications of time-frequency analyses to ictal magnetoencephalography in neocortical epilepsy. *Epilepsy Res* 90: 199-206, 2010.
- 5) Saitsu H, et al. Dominant-negative mutations in alpha-II spectrin cause West syndrome with severe cerebral hypomyelination, spastic quadriplegia, and developmental delay. *Am J Hum Genet* 86: 881-891, 2010.
- 6) Yamazawa K, et al. Parthenogenetic chimaerism/mosaicism with a Silver-Russell syndrome-like phenotype. *J Med Genet* 47: 782-785, 2010.

2. 学会発表

- 1) 白石秀明, 植田佑樹, 伊藤智城, 高橋有美, 香坂 忍, 斉藤伸治: 磁図計測を用いた皮質形成異常の早期診断, 第 113 回日本小児科学会総会, 平成 22 年 4 月 23-25 日 (盛岡)
- 2) 斉藤伸治, 高橋有美, 植田佑樹, 伊藤智城, 白石秀明: 微細染色体異常はプラダー・ウィリー症候群の重要な鑑別診断である, 第 52 回日本小児神経学会総会, 平成 22 年 5 月 20-22 日 (福岡)
- 3) 杉山未奈子, 藤原伸一, 仲西正憲, 永島哲郎, 高橋有美, 斉藤伸治, 今井富裕: γ -グロブリン大量およびステロイドパルス療法にて寛解した抗 MuSK 抗体陽性重症筋無力症の一女児例, 第 52 回日本小児神経学会総会, 平成 22 年 5 月 20-22 日 (福岡)
- 4) 細木華奈, 太田 亨, 新川詔夫, 斉藤伸治: PWS 様表現型を示す微細染色体異常, 第 55 回日本人類遺伝学会, 平成 22 年 10 月 28-30 日 (さいたま)
- 5) 細木華奈, 太田 亨, 新川詔夫, 斉藤伸治: ゲノム刷り込み関連疾患 Prader-Willi 症候群の表現型を規定する遺伝学的因子の検討, 第 33 回日本分子生物学会年会, 平成 22 年 12 月 7-10 日 (神戸)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

難治性脳形成障害症の病態解析のための臨床情報の蓄積 に関する研究：頭蓋骨縫合早期癒合症を対象に

研究分担者

坂本博昭

大阪市立総合医療センター 小児医療センター 小児脳神経外科

研究協力者

松阪康弘

大阪市立総合医療センター 小児医療センター 小児脳神経外科

研究要旨 種々の脳形成障害によって発生する疾患の多くは、正確な診断が難しく難治性で予後予測が十分にできないものが多い。このような疾患の中で、頭蓋縫合の早期癒合を来す頭蓋骨縫合早期癒合症は、病変が頭蓋骨に局限している非症候群性と、ほとんどの例で遺伝子変異を伴い頭蓋骨以外に上顎骨や四肢の骨に形成不全を伴う症候群性へと分類される。この疾患で発生する頭蓋骨の変形や頭蓋内容の狭小化に対しては、脳神経外科的には頭蓋の形成術が有効な治療法とされる。しかし、非症候群性においては脳の形成異常を伴わないにもかかわらず、脳の高次機能の障害を呈する例が健常児でみられる割合よりも多いとされる。本年度はこのような疾患についての画像を含めて臨床データとともに遺伝子情報を検索する方針を述べる。

A. 目的

脳形成障害による中枢神経疾患の診断や病態の把握は、通常出生後の臨床所見や画像検査など補助診断検査の所見より行っている。この多岐にわたるこのような先天性疾患の中で、頭蓋骨縫合早期癒合症は正常よりも早期に頭蓋縫合が癒合する疾患で、早期癒合のため頭蓋の変形を来し、程度が強ければ頭蓋内容量の狭小化を来す。この疾患は症候群性と非症候群性に分けられる。前者はCrouzon症候群などに代表され、複数縫合の早期癒合を来しやすいため頭蓋骨の高度な変形を伴い、さらに上顎骨や指（趾）の低形成など頭蓋以外の先天性の骨形成不全を伴い、その原因はFGFR遺伝子などの遺伝子の変異が原因とされる。後者では

病変が頭蓋に局限し単一縫合の早期癒合が多く、症候群性にみられるような遺伝子の変異を認める例はまれであり、その発生原因は不明である¹⁾。症候群性の例では脳の高次機能の障害を呈する例が多いが、その原因が必ずしも症候群性の例に合併しやすい脳梁の低形成や水頭症によるものとは言えず、結論をみない。一方、非症候群性の例では脳の形成異常や水頭症を伴う例はまれであるが、健常児にみられる率よりも脳の高次機能の障害を呈する例で有意に高いとされる²⁾。その原因は頭蓋の形態異常や頭蓋容積の狭小化によるものか、また他に原因があるかどうかは明確にされていない。このように、頭蓋の形態異常が脳の機能障害を解明するために、MRIによる脳の形態異常の有無、

遺伝子変異の検索を行い、脳の高次機能障害との関連を検討する。

B. 研究方法

親権者からのインフォームド・コンセントを得て、臨床データとして、家族歴、既往歴、神経学的所見、発達状況を評価し、画像検査としてはMRIを用いて脳の形成異常や形態異常を検索し、その後の臨床経過を観察して記録する。同意が得られた例では*FGFR*遺伝子を中心に遺伝子変異の有無を検索する。

得られた臨床情報は難治性脳形成異常症臨床登録票に従って記載し、画像情報とともに情報集積サーバーに登録する。登録番号に従って整理された臨床情報は、個人情報厳重に管理されたインターネット上に作成されたFetal Brain Malformationのサイトで、本研究班の班員など限られた研究者が個々の症例の臨床情報から診断、検査方法などを検討していく。同意が得られた場合、必要とした検査や外科治療などに際して標本として採取された一部を生体試料として用いる。

この研究に際してはインフォームド・コンセントを書面により行う。臨床情報や生体試料からの遺伝情報についての取扱は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成16年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）、疫学研究に関する倫理指針（平成19年文部科学省・厚生労働省告示第1号）、遺

伝子治療臨床研究に関する指針（平成16年文部科学省・厚生労働省告示第2号）、臨床研究に関する倫理指針（平成20年厚生労働省告示第415号）、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針（平成18年厚生労働省告示第425号）、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針（平成18年6月1日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知）および申請者が所属する研究機関で定めた倫理規定等を遵守する。

C. 研究結果

症例を提示する。生後4か月の男児で、出生直後より頭蓋の変形（短頭蓋）を指摘されたが、顔面骨および手指や足趾の形成異常は認められなかった。第一子で胎児期、家族歴に特記すべきことはなかった。出生後の頭部単純X線像では両側冠状縫合の部分で骨硬化の所見を認め（図1）、両側冠状縫合の早期癒合と診断した。上顎骨の低形成は認めず、非症候群性と判定した。MRIでは頭蓋の変形に伴い前後に短縮した脳の変形を認め、脳室がわずかな拡大を認めたが、髄症形成に異常を認めなかった（図2）。生後6か月に頭蓋容積の拡大および頭蓋の変形を矯正するために、骨延長法によるfronto-orbital advancementを行って頭蓋容積を拡大し、同時に頭蓋変形を矯正した。術後の単純X線像では、前頭部が前方に拡大し、頭蓋容積

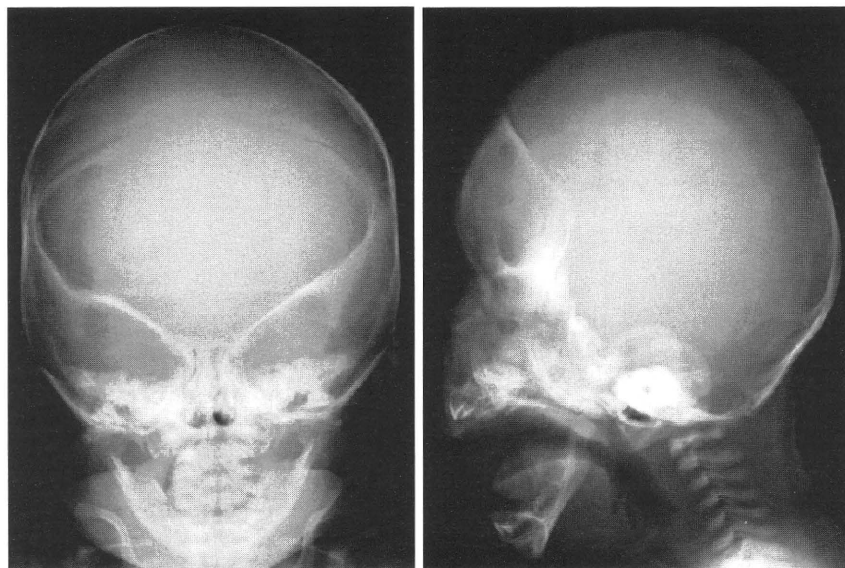


図1 頭部単純X線像（生後3週）
左：正面像で両側冠状縫合部の骨硬化像を認める。右：側面像で冠状縫合の骨硬化像と短頭蓋を示すが、上顎骨の低形成は認めない。



図2 MRIT1 強調画像 (生後4か月時)
左: 矢状断像, 右: 水平断像

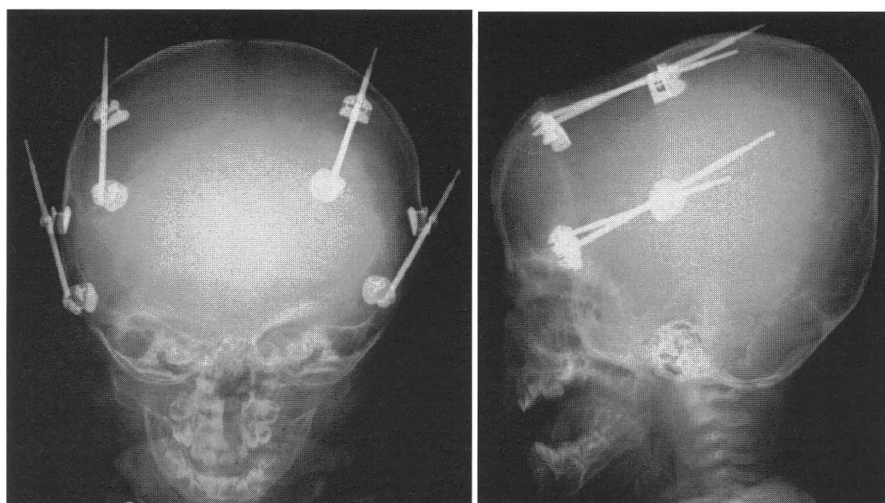


図3 頭部単純X線像 (頭蓋形成後, 生後6か月時)
左: 正面像, 右: 側面像, 骨延長器が冠状縫合の部分拡大し, 頭蓋容積を増加させ, 短頭蓋が改善した。

が増加し短頭蓋は改善した (図3)。今後, 骨延長に設置した延長器を抜去し, 経過観察を行う。現状での運動発達の遅れは認めない。この例について *FGFR* 遺伝子を中心に遺伝子解析を行う。

このような頭蓋骨縫合早期癒合症の症例の臨床情報や遺伝子情報を集積できる準備が整えることができた。

D. 考 察

従来, 頭蓋骨縫合早期癒合症の例における脳の高次機能障害は慢性の頭蓋内圧亢進を来した結果発生すると考えられていた。しかし, 頭蓋内圧亢進を来しにく

い単一縫合早期癒合症の手術施行例でも平均5歳時に39～61%の例で言語, 心理学的な異常を認めたとする報告がある²⁾。また, 100例以上の単一縫合早期癒合の治療例と対象例を比較し, 単一縫合早期癒合の例の乳児では術前, 術後とも知能や運動発達の遅滞が見られたとする報告もある³⁾。単一縫合早期癒合症の学童児の例で, 全般的な知能は正常範囲内であるが, 高次脳機能障害を35～50%の例に認め, これはこの疾患以外の頻度よりも3～5倍にあたり, この割合は頭蓋内圧亢進を来す割合よりも多いとされる⁴⁻⁶⁾。このように, 慢性の頭蓋内圧亢進と脳の高次機能障害の発生との因果関係は認められなかったとする報告があ

る⁷⁻⁹⁾。また、頭蓋の形成手術の有無に関わらず、神経認知機能の障害を合併しやすいとされる報告もある^{10,11)}。さらに、早期の外科治療が神経認知機能を改善するという証拠はなく、早期手術でも知能面での改善は期待できないとする報告¹²⁾や、治療年齢と発達指数には逆の相関がみられたとする報告^{13,14)}もあり、結論として早期手術によって知能発達の改善は見込めないとする考えがある。

このように、非症候群性で脳の高次機能の障害が発生する機序としては不明であり、本研究でこの症例を集めて遺伝子変異の有無を検索することによって、遺伝子変異の関与について検討できると思われる。

E. 文 献

- 1) 坂本博昭: 第5章先天性疾患, 頭蓋骨縫合早期癒合症, 小児脳神経外科学, 横田 晃監修, 山崎麻美, 坂本博昭編集, pp405-431, 2009
- 2) Becker DB, Petersen JD, Kane AA, Craddock MM, Pilgram TK, Marsh JL: Speech, cognitive, and behavioral outcomes in nonsyndromic craniosynostosis. *Plast Reconstr Surg* 116: 400-407, 2005
- 3) Starr JR, Kapp-Simon KA, Cloonan YK, Collett BR, Craddock MM, Buono L: Presurgical and postsurgical assessment of the neurodevelopment of infants with single-suture craniosynostosis: comparison with controls. *J Neurosurg* 107 (2 Suppl): 103-110, 2007
- 4) Da Costa AC, Walters I, Savarirayan R, Anderson VA, Wrennall JA, Meara JG: Intellectual outcomes in children and adolescents with syndromic and nonsyndromic craniosynostosis. *Plast Reconstr Surg* 118: 175-183, 2006
- 5) Kapp-Simon KA: Mental development and learning disorders in children with single suture craniosynostosis. *Cleft Palate Craniofac J* 35: 197-203, 1998
- 6) Magge SN, Westerveld M, Pruzinsky T, Persing JA: Longterm neuropsychological effects of sagittal craniosynostosis on child development. *J Craniofac Surg* 13: 99-104, 2002
- 7) Gewalli F, Guimarães-Ferreira JP, Sahlin P, Emanuelsson I, Horneman G, Stephensen H, et al: Mental development after modified pi procedure: dynamic cranioplasty for sagittal synostosis. *Ann Plast Surg* 46: 415-420, 2001
- 8) Arnaud E, Renier D, Marchac D: Prognosis for mental function in scaphocephaly. *J Neurosurg* 83: 476-479, 1995
- 9) Mathijssen I, Arnaud E, Lajeunie E, Marchac D, Renier D: Postoperative cognitive outcome for synostotic frontal plagiocephaly. *J Neurosurg* 105 (1 Suppl): 16-20, 2006
- 10) Speltz ML, Kapp-Simon KA, Cunningham M, Marsh J, Dawson G: Single-suture craniosynostosis: a review of neurobehavioral research and theory. *J Pediatr Psychol* 29: 651-668, 2004
- 11) Kapp-Simon KA, Speltz ML, Cunningham ML, Patel PK, Tomita T: Neurodevelopment of children with single suture craniosynostosis: a review. *Childs Nerv Syst* 23: 269-281, 2007
- 12) Kapp-Simon KA: Mental development in infants with nonsyndromic craniosynostosis with and without cranial release and reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 94: 408-410, 1994
- 13) Bottero L, Lajeunie E, Arnaud E, Marchac D, Renier D: Functional outcome after surgery for trigonocephaly. *Plast Reconstr Surg* 102: 952-960, 1998
- 14) Virtanen R, Korhonen T, Fagerholm J, Viljanto J: Neurocognitive sequelae of scaphocephaly. *Pediatrics* 103: 791-795, 1999

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 坂本博昭: 第4章小児・先天奇形 5. 脊髄空洞症, 延髄空洞症. 改訂第3版 EBMに基づく脳神経疾患の基本治療指針. メジカルビュー社, 東京, 田村 晃, 松谷雅生, 清水輝夫編, pp241-243, 2010
- 2) 坂本博昭: 第4章小児・先天奇形 6. 頭蓋底陥入症. 改訂第3版 EBMに基づく脳神経疾患の基本治療指針. メジカルビュー社, 東京, 田村 晃, 松谷雅生, 清水輝夫編, pp244-245, 2010
- 3) 坂本博昭, 松阪康弘: 難治性脳形成障害症の病態解析と治療法の開発に向けての臨床情報の蓄積に関する研究. 胎児診断における難治性脳形成障害症の診断基準の作成 (厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業) 平成21年度総括・分担研究報告書: 55-58, 2010
- 4) 坂本博昭, 松阪康弘: V. 小児の問題 34. 小児の診察・画像の特徴. 改訂第4版脳神経外科臨床マニュアル II 巻. シュプリンガー・ジャパン, 東京, 端 和夫編, pp563-578, 2010
- 5) 坂本博昭, 松阪康弘: V. 小児の問題 36. Battered child (被虐待児). 改訂第4版脳神経外科臨床マニュアル II 巻. シュプリンガー・ジャパン, 東京, 端 和夫編, pp587-593, 2010
- 6) 坂本博昭: III 二分脊椎 A 二分脊椎の病型と対応 5 二分脊椎に合併する水頭症のケア. 水頭症・二分脊椎ハンドブック. 財団法人日本二分脊椎・水頭症研究振興財団, 神戸, 松本 悟, 山内康雄編, pp156-162, 2010

- 7) 坂本博昭, 松阪康弘: I手術の基本「術中管理」, NS NOW No.11 小児脳神経外科手術. メジカルビュー社, 東京, 寺本 明, 新井 一, 塩川芳昭, 大畑建治編, pp9-15, 2010
- 8) 坂本博昭, 松阪康弘: V. 小児 7. 頭蓋骨縫合早期癒合症の手術: 骨延長法による頭蓋骨形成の適応と限界は? EBM脳神経外科疾患の治療. 中外医学社, 東京, 宮本 享, 新井 一, 鈴木倫保, 洪井壮一郎, 中瀬裕之編, pp375-382, 2010

2. 学会発表

- 1) 坂本博昭, 松阪康弘, 寺田愛子: 小児扁桃下垂 (キアリ I 型奇形) に伴う脊髄空洞症の臨床像. 第 52 回日本小児神経学会総会 2010/5/22 福岡
- 2) 坂本博昭, 松阪康弘, 寺田愛子: 小児脳神経外科領域のセカンドオピニオンの意義. 第 38 回日本小児神経外科学会 2010/6/4 富山
- 3) 坂本博昭, 松阪康弘, 寺田愛子, 吉村政樹, 小宮山雅樹, 石黒友也: 小児期に発症し直接血行再建を行ったもやもや病症例の治療予後. 第 38 回日本小児神経外科学会 2010/6/4 富山
- 4) 坂本博昭, 松阪康弘, 寺田愛子, 吉村政樹, 今井啓介, 藤本卓也: 症候群性頭蓋骨縫合早期癒合症の初期治療. 第 38 回日本小児神経外科学会 2010/6/5 富山
- 5) 坂本博昭: 市民公開講座「小児脳腫瘍の外科治療」第 15 回日本脳腫瘍の外科学会 2010/10/3 大阪
- 6) 坂本博昭: 「軟骨無形成症に伴う神経障害のチェックポイント: 早期診断と治療の実際」 第 44 回日本小児内分泌学会学術集会 2010/10/9 大阪
- 7) 坂本博昭: 講演「脊髄の先天性疾患と治療」 国際胎児神経学シンポジウム 2010/10/22 大阪
- 8) 坂本博昭: 松阪康弘, 師岡誉也, 山中一浩, 岩井謙育, 吉村政樹, 井上 健, 原 純一, 田中正博: 小児期発症の atypical teratoid/rhabdoid tumor に対する集学的治療の現状と展望. 社団法人日本脳神経外科学会 第 69 回学術総会 2010/10/27 福岡
- 9) Sakamoto, Y Matsusaka, T Morooka, A Terada, M Yoshimura: Long-term follow-up results of pediatric moyamoya disease after direct bypass combined with indirect bypass. 38th Annual Meeting of the International Society for Pediatric Neurosurgery 2010/11/1 Jeju, Korea
- 10) 坂本博昭, 松阪康弘, 師岡誉也, 吉村政樹, 原 純一, 井上 健, 福島裕子, 久保勇記, 小林庸次: 小児脊髄腫瘍の診断と治療. 第 26 回日本小児がん学会学術集会 2010/12/17 大阪
- 11) 坂本博昭, 松阪康弘, 師岡誉也, 寺田愛子, 吉村政樹: 小児脳神経外科領域におけるセカンドオピニオンの意義. 第 26 回日本小児がん学会学術集会 2010/12/18 大阪

G. 知的所有権の取得状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

難治性脳形成異常症児の分娩に関する研究

研究分担者

白根 礼造

宮城県立こども病院 副院長

研究要旨 難治性脳形成異常症児の至適分娩時期，分娩方法に関する検討を行った。産科的側面，新生児科の判断，脳神経外科的機能予後を考慮して方針決定されるべきであるが，今回の検討では一部の特殊な症例を除いては37週以降に計画的に帝王切開を行い引き続き児の治療を行うのが理想的と考えられた。

A. 緒 言

宮城県立こども病院には宮城県内における妊婦検診で中枢神経系異常を疑われたほぼ全ての妊婦が紹介される仕組みとなっており，この6年間で85例が中枢神経系異常を指摘され当院を受診し更に増加傾向にある。宮城県における分娩数が年間2万件弱であるため大凡1,000件に1件の割合で中枢神経系の異常を指摘された事になる。難治性脳形成異常を有する新生児の診療は多種の専門家の手が必要とされ，緊急対応が可能とは言えない現状がある。このような社会的背景においては出生前診断の担う役割は円滑な医療遂行のためにも小さくない。しかし難治性脳形成異常を有する児の分娩方法や至適分娩時期に関する検討は未だ十分になされていない。今回は我々の経験した85例について分析したので報告する。

B. 方 法

胎児難治性脳形成異常が疑われた場合は受診当日に胎児エコー，胎児MRIを行った。胎児MRIによって中枢神経異常の程度が軽微か，出生後の外科的処置が必要でないと判断された場合は経過観察と出産は紹介医で行われた。出生後早期に何らかの外科的処置が必要と考えられる場合や重症と考えられる場合は，37週以降に帝王切開とその後の児に対する治療指針を決

めて，週に一度の外来経過観察を行った。帝王切開は脳室拡大が高度な例と脊髄髄膜瘤で脳室拡大が認められる例で，承諾が得られた場合に選択した。

C. 結 果

中枢神経系異常の内訳は脊髄髄膜瘤26例，奇形性水頭症6例，出血後脳室拡大5例，一側性脳室拡大4例，脳梁欠損8例，Dandy-Walker症候群3例，小脳低形成12例，頭蓋内嚢胞3例，脳腫瘍2例，脳奇形2例であった。30例で帝王切開が選択された。脊髄髄膜瘤が22例，その他は水頭症やDandy-Walker症候群等で脳室拡大が高度な場合である。

経過観察中に脳室拡大が進行したのは高位脊髄髄膜瘤，水頭症，脳梁欠損を伴う水頭症の3例で，予定日を繰り上げて帝王切開を行ったのは前2例であった。脊髄髄膜瘤では出生翌日に整復術を行い脳室拡大例に対しては経過観察の後にシャントあるいはオンマヤリザーバーの留置等を行った。分娩時期や帝王切開に関連して児の予後に影響する合併症を認めた例はなかった。

D. 結 論

難治性脳形成異常症児の至適分娩時期，分娩方法に関する検討を行った。産科的側面，新生児科の判断，

脳神経外科的機能予後を考慮して方針決定されるべきであるが、今回の検討では一部の特殊な症例を除いては37週以降に計画的に帝王切開を行い引き続いて児の治療を行うのが理想的と考えられた。

E. 論文発表

- 1) 白根礼造, 他: 胎児診断された先天性中枢神経疾患の至適分娩時期及び分娩方法に関する検討. 日本周産期・新生児医学会雑誌 46: 1052-1055, 2010
- 2) Shirane R. [Congenital anomalies in the central nervous system (1) diagnosis of fetal CNS anomalies]. No Shinkei Geka. 2010 Dec; 38 (12): 1133-43.
- 3) Hayashi T, Shirane R, Yokosawa M, Kimiwada T, Tominaga T. Efficacy of intraoperative irrigation with saline for preventing shunt infection. J Neurosurg Pediatr. 2010 Sep; 6 (3): 273-276.
- 4) Mugikura S, Higano S, Shirane R, Fujimura M, Shimanuki Y, Takahashi S. Posterior circulation and high prevalence of ischemic stroke among young pediatric patients with Moyamoya disease: evidence of angiography-based differences by age at diagnosis. AJNR Am J Neuroradiol. 2011 Jan; 32 (1): 192-198.
- 5) Hayashi T, Shirane R, Fujimura M, Tominaga T. Postoperative neurological deterioration in pediatric moyamoya disease: watershed shift and hyperperfusion. J Neurosurg Pediatr. 2010 Jul; 6 (1): 73-81.

難治性脳形成障害症の外科治療における 胎児 MRI の有用性に関する研究

研究分担者

西山 健一

新潟大学脳研究所 脳神経外科学分野 助教

研究協力者

原田 敦子

新潟医療センター 脳神経外科

A. 研究目的

中枢神経系疾患に対する胎児診断において、本邦では二次検査として詳細な3D/4D超音波検査とともに胎児MRIの安全性、有用性が確立されている。超音波検査は、機器の安全性、安価、比較的簡単に検査が受けられる点で優れているが、検者の技量に依存した検査結果に限定される面がある。一方、胎児MRIは、任意の断面で高分解能画像を得ることができるため、詳細な解剖学的構造をしかも比較的再現性をもって描出できる。この点で、脳神経外科医にとっては馴染み易い検査である。

一部諸外国のように人工妊娠中絶の判断材料や胎児手術を目的としない本邦において、胎児MRIの脳神経外科治療に果たす今日的役割を明らかにすることを本研究の目的とした。

B. 研究方法

2001年1月から2009年12月の9年間に新潟大学医歯学総合病院でMRIを撮像した妊婦313例のうち、中枢神経系異常の精査目的で胎児MRIを行った67例(21%)を研究対象とした。研究対象67例を除いた246例の内訳は、中枢神経系異常以外の胎児異常が135例(43%)、母体異常が111例(36%)であった。67例中、出生後追跡評価が出来たのは47例(70%)で、他は死亡例が16例(24%)、転帰不明が4例(6%)であった(Fig. 1)。死亡16例中3例は人工妊娠中絶である。追跡評価対象の47例は、男児27例、女児

17例、不明3例であった。

全314例は、一次検査として施行された超音波検査

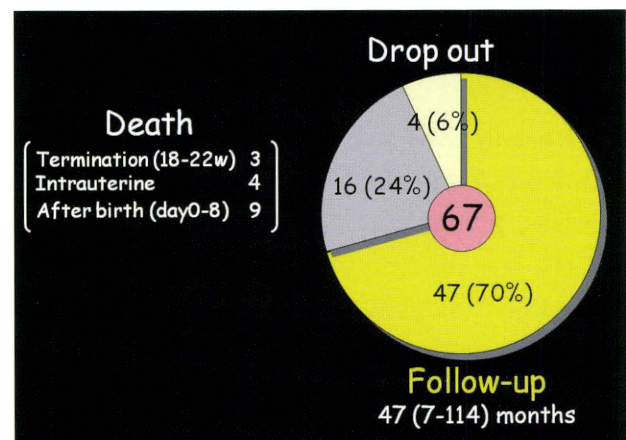


Fig. 1 CNS anomalies 67 cases

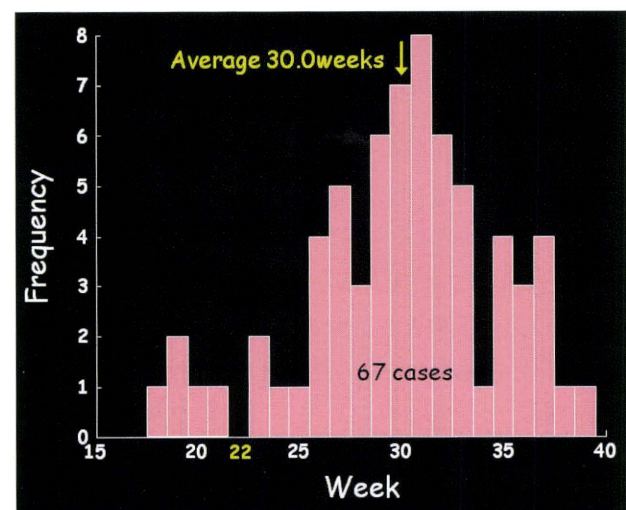


Fig. 2 Gestational week at first MRI

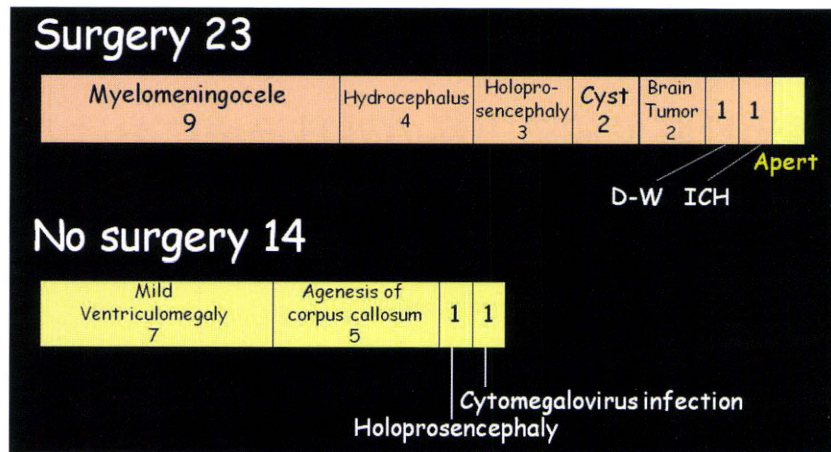


Fig. 3 Diagnosis

で異常が指摘され、二次検査として胎児 MRI を撮像している。撮像時の在胎週数は平均 30.0 (18-39) 週 (Fig. 2) で、撮像に際して妊婦や胎児の鎮静は行わず息止め法で施行した。Single shot で 3 方向撮像を行ったところ、シークエンスあたりの撮像時間は約 15-24 秒であった。撮像には GE 社製: Signa EXCITE HDx, Philips 社製: Intera Achieva, Siemens 社製: Magnetom Vision の 3 種臨床用 1.5T MRI 装置を用い、T1WI, T2WI, heavily T2WI を得た。

撮像された胎児 MRI 所見から、1) 胎児 MRI 診断の正診率、2) 手術症例の疾患別内訳、3) 手術予測、4) 出生後の発達予後について後方視的に分析した。なお、発達予後については大島分類を参考に重度、軽度に分類した。

C. 研究結果

1) 胎児 MRI 診断の正診率

出生後追跡評価の対象 47 例中 10 例が胎児 MRI で正常と診断された。「中枢神経系疾患あり」と診断された他 37 例について出生前後で診断名を比較したところ、2 例で診断の相違を確認した。1 例は胎児 MRI 所見から「出血を伴った脈絡叢乳頭腫」と診断されたが、出生後の病変縮小を確認し「脳出血」と診断された。本症例は生後 55 日目に V-P シヤントを施行した。他の 1 例は超音波検査と胎児 MRI 所見から「軽度脳室拡大疑い」と指摘されたが、出生後 MRI 所見から「部分脳梁欠損」と診断された。本例は観察のみで経過している。よって、胎児 MRI 診断の正診率は 96% であった。

2) 手術症例の疾患別内訳

Fig. 3 に「中枢神経系疾患あり」と診断された 37

例の疾患別内訳を、手術症例および非手術症例に分けて示す。胎児 MRI 診断で「中枢神経系疾患あり」と判断された 37 例中 23 例 (58%) で、出生後に脳神経外科手術が施行された。手術症例の内訳は、キアリ奇形 + 脊髄髄膜瘤 9 例、水頭症 4 例、全前脳胞症 3 例、嚢胞性疾患 2 例と、水頭症手術関連疾患が大部分であった。

3) 手術予測

手術は生後 0-333 日目に行われ、平均値 32.1 日、中間値 2 日であった。胎児 MRI 診断時に出生後手術の要否を予測した結果では、出生後追跡評価の対象 47 例中 21 例で要手術と予測し全例で手術が施行されていた (Fig. 4, Fig. 5)。一方、手術不要と予測した 16 例では、2 例で出生後手術を要している。1 例は胎児 MRI 診断で「軽度脳室拡大、三角頭蓋の疑い」とされ、出生後に「Apert 症候群」と診断された女児例 (Fig. 6) で、生後 5 ヶ月時に頭蓋形成術を施行した。他の 1 例は、在胎 23 週時の胎児 MRI 診断で「脳梁欠損」とされ、在胎 35 週時に脳梁欠損に大脳半球間裂嚢胞を伴う可能性があるとして診断された男児例 (Fig. 7) で、出生後に「大脳半球間裂嚢胞」の診断で内視鏡的嚢胞開窓術を 10 カ月時に施行した。2 症例は胎児 MRI 診断での手術予測が不確定であったものの、ともに新生児期手術は不要であった。

4) 出生後の発達予後 (Fig. 8)

追跡評価対象 47 例の平均追跡期間は、44 ヶ月 (8-114 ヶ月)。このうち胎児 MRI で正常と診断された 10 例は、追跡期間内で全て発達異常を認めなかった。胎児 MRI で「中枢神経系疾患あり」と診断された 37 例のうち手術施行 21 例の発達予後は、死亡 2 例、重度障害 9 例、軽度 8 例、正常 2 例であった。死亡 2 例は、

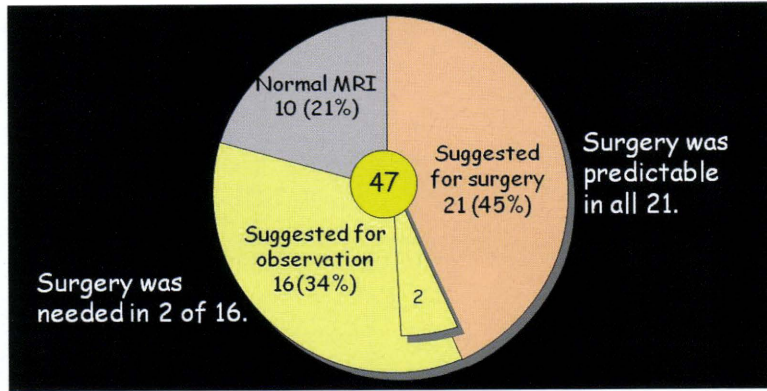


Fig. 4 Necessitation for surgical interventions

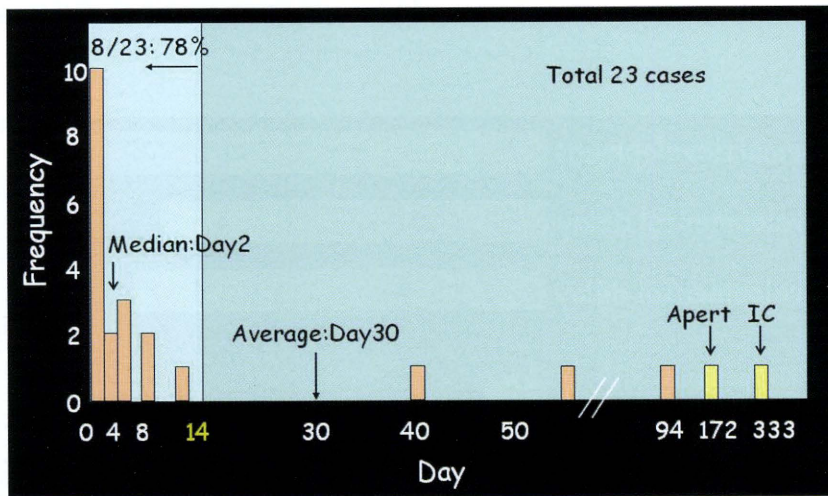


Fig. 5 Age at first surgery

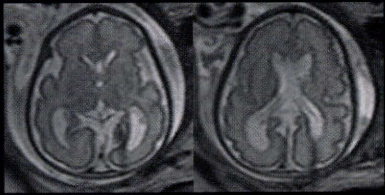
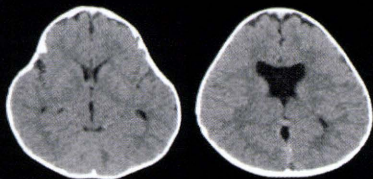
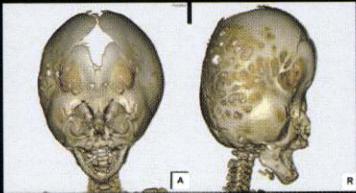
- **Fetal MRI**
28 weeks
Single shot TSE

Mild ventriculomegaly,
Trigonocephaly s/o
- **Postnatal CT**

Apert syndrome
- **5 months**
Operation : Craniofacial remodeling


Fig. 6 Case 1: Apert syndrome