

201128227A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

VATER 症候群の臨床診断基準の確立と新基準にもとづく
有病率調査および DNA バンク・iPS 細胞の確立

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小崎健次郎

平成24(2012)年3月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

VATER 症候群の臨床診断基準の確立と新基準にもとづく
有病率調査および DNA バンク・iPS 細胞の確立

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小崎健次郎

平成24(2012)年3月

目 次

I. 平成23年度構成員名簿	1
II. 総括研究報告	
平成23年度総括研究報告	3
小崎 健次郎(慶應義塾大学・医学部・臨床遺伝学センター)	
III. 分担研究報告	
1. VATER association における機側列異常の特徴について	13
高山 真一郎(独立行政法人国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態系外科部)	
2. 疫学調査に基づいた VATER 症候群発症メカニズムの検討	20
黒澤 健司	
(独立地方行政法人神奈川県立病院機構 神奈川県立こども医療センター・遺伝診療科)	
3. VATER 症候群における心奇形の実態	23
小崎 里華	
(独立行政法人国立成育医療研究センター・器官病態系内科部遺伝診療科)	
4. VATER連合症候群のフォローアップガイドラインの作成	26
岡本 伸彦(大阪府立母子保健総合医療センター・遺伝診療科)	
5. VATER 症候群と表現形が重複する先天奇形症候群に関する研究	31
水野 誠司(愛知県心身障害者コロニー中央病院・臨床第一部)	
6. VATER 症候群の次世代シーケンサーによる遺伝子解析	34
工藤 純(慶應義塾大学医学部共同利用研究室・遺伝子医学研究室)	
7. VATER症候群における内蔵奇形の実態	36
星野 健(慶應義塾大学医学部外科教室・小児外科)	
8. VATER連合患者に関するiPS細胞研究	39
赤松 和土(慶應義塾大学医学部生理学教室)	
9. VATER症候群様の副作用を示すアドリアマイシンの新規標的候補タンパク質 スクリーニングに関する研究	41
加部 泰明(慶應義塾大学医学部医化学研究室)	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	43

〔 I 〕

平成23年度構成員名簿

平成23年度 厚生労働省難治性疾患克服研究事業

VATER 症候群の臨床診断基準の確立と新基準にもとづく有病率調査および DNA バンク
・iPS 細胞の確立研究班

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	小崎健次郎	慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター	教授
研究分担者	高山真一郎	独立行政法人国立病院機構東京医療センター 臓器・運動器病態系外科部	部長
	黒澤健司	地方独立行政法人神奈川県立病院機構 神奈川県立こども医療センター遺伝科	部長
	小崎里華	独立行政法人国立成育医療研究センター 器官病態系内科部遺伝診療科	医長
	岡本伸彦	地方独立行政法人大阪府立病院機構 大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科	主任部長
	水野誠司	愛知県心身障害者コロニー中央病院 臨床第一部	部長
	工藤 純	慶應義塾大学医学部共同利用研究室・遺伝子医学 研究室	教授
	星野 健	慶應義塾大学医学部外科教室小児外科	講師
	赤松和土 加部泰明	慶應義塾大学医学部生理学教室 慶應義塾大学医学部医化学研究室	講師 講師
研究協力者	鳥居千春	慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター	研究員
	吉橋博史	東京都立小児総合医療センター臨床遺伝科	医長
	清水厚志	慶應義塾大学医学部分子生物学教室	助教
	奥野博庸	慶應義塾大学医学部小児科学教室	医師
	山口有	慶應義塾大学医学部小児科学教室	医師

〔Ⅱ〕

総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
総括研究報告書
VATER症候群の臨床診断基準の確立と新基準にもとづく
有病率調査およびDNAバンク・iPS細胞の確立
研究代表者 小崎 健次郎
慶應義塾大学 医学部 臨床遺伝学センター 教授

研究要旨

VATER 症候群は、V:Vertebral defects 椎体異常、A:Anal atresia 肛門奇形(鎖肛など)、TE: Tracheoesophageal fistula with Esophageal atresia 気管食道瘻、R:Renal or Radial defects 腎奇形あるいは橈骨奇形という5徴候の頭文字の組み合わせに由来する。原因は不明である上に多彩な合併症を呈する難治性疾患である。四肢奇形の疫学的検討では、母指形成不全を82%に認め、全例に橈骨形成不全を伴っていた。また、軸前性多指症は18%に認められた。消化管奇形の疫学的検討では、食道奇形は一般的な頻度と同様であったが、鎖肛に関しては高位鎖肛の頻度が比較的高いことが明らかとなった。

食道閉鎖(TE)を手掛かりとして、観察期間に99例の食道閉鎖症例を把握、18トリソミーが15例(15%)含まれていた。99例の中で鎖肛(A)を伴う例が17例で、2例の18トリソミー、1例の汚溝外反シーケンス、外性器異常と鼻腔閉鎖を伴うCHARGE症候群を強く疑う1例、などが含まれた。鑑別診断として重要と考えられた。別の施設の検討でもOpitz症候群(V+TE+R)、BRESEK症候群(V+R)、Cat Eye症候群(V+A)を認め、重要な鑑別診断と考えられた。これらの疫学的検討結果を勘案し、フォローアップのためのガイドライン案を作成した。さらにVATER症候群の動物モデルとして、アドリアマイシン曝露胚を用いた検討と次世代シーケンサーを用いた検討により、発症メカニズムに関する多角的な検討も行った。RNA結合タンパクが疾患原因候補遺伝子であることが示された。

研究分担者

高山 真一郎 独立行政法人国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態外科部 部長
黒澤 健司 独立地方行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター遺伝診療科 部長
小崎 里華 独立行政法人国立成育医療研究センター 器官病態系内科部・遺伝診療科 医長
岡本 伸彦 地方独立行政法人大阪府立病院機構 大阪府立母子保健総合医療センター
遺伝診療科 主任部長
水野 誠司 愛知県心身障害者コロニー中央病院 臨床第一部 部長
工藤 純 慶應義塾大学医学部共同利用研究室・遺伝子医学研究室 教授
星野 健 慶應義塾大学医学部小児外科教室 講師
赤松 和土 慶應義塾大学医学部生理学教室 講師
谷口 善仁 慶應義塾大学医学部公衆衛生学教室 講師
加部 泰明 慶應義塾大学医学部医化学教室 講師

A. 研究目的

VATER症候群は、V: Vertebral defects 椎体異常、A: Anal atresia 肛門奇形(鎖肛など)、a TE: Tracheoesophageal fistula with Esophageal atresia 気管食道瘻、R: Renal or Radial defects 腎奇形あるいは橈骨奇形という5徴候の頭文字の組み合わせに由来する。C: Cardiac defects 先天性心疾患を加えてVACTER連合とよぶ場合もあれば、L: limb defect 四肢異常を加えてVACTERL連合とよぶ。さらにH: Hydrocephalus 水頭症を合併する場合はVACTERL-H連合となる。本項では「VATER症候群」と記載する。

1)疫学的検討

<四肢奇形の疫学的研究>

VATER associationに合併する橈側列異常の特徴を検討するため、症例を調査した。

<消化管奇形の疫学的研究>

全国調査を行い、VATER症候群と診断される症例を対象として、小児外科的な奇形の実態について調査した。

<VATER症候群と表現形が重複する先天奇形症候群に関する研究>

VATER症候群を構成する要素としての先天奇形は、他の先天奇形症候群にも多く合併するものである。今回、VATER症候群を構成する先天奇形を複数もつ患児の有無について検討するため、当院通院中の患児を対象に抽出し検討した。

<疫学調査に基づいたVATER症候群発症メカニズムの検討>

神奈川県先天異常モニタリング調査(KAMP: Kanagawa Birth Defects Monitoring Program)から、VATER症候群の合併奇形のスペクトラムを検討した。鎖肛(A)および、食道閉鎖あるいは気管食道瘻(TE)の2つの奇形を必須項目として17例を抽出し、腎(R)奇形を認めるものを3例、心奇形を認めるものを4例認め、VATER症候群(連合)を疑う例は計7例認めた。他に

2例の18トリソミーと1例の汚溝外反シーケンス、CHARGE症候群疑い例などを認めた。VATER症候群鑑別疾患の責任遺伝子の機能を手掛かりに、関連遺伝子を検討したが共通因子を上げることができなかった。あらためてVATER症候群(連合)の分子レベルでの病因を検討する場合には、複数の責任遺伝子の相互作用を視野に入れる必要があるかもしれない。

VATER症候群(VATER連合)は、椎骨異常(V)、鎖肛(A)、食道閉鎖あるいは気管食道瘻(TE)、橈骨あるいは腎欠損(R)の5つの奇形を特徴とする先天奇形である。しかし、その症状スペクトラムは広く、必ずしも上記5主要症状が必須項目ではなく、それぞれの症状に重きを置いて定義されることもある。昨年、黒澤研究分担者は神奈川県先天異常モニタリング調査(KAMP: Kanagawa Birth Defects Monitoring Program)のデータを用いて、VATER症候群の合併奇形のスペクトラムを検討した。解析の手掛かりとしてマーカー奇形である鎖肛(A)および、食道閉鎖あるいは気管食道瘻(TE)の2つの奇形を必須項目として抽出し、17例を把握し、さらに腎(R)奇形を認めるものを3例、心奇形を認めるものを4例抽出し、VATER症候群(連合)を

疑う例を計7例認めた。他に2例の18トリソミーと1例の汚溝外反シーケンス、CHARGE症候群疑い例などを認めた。

先天異常モニタリングは、先天異常の発生増加や新しい先天異常の発生を指標として、主に環境要因によって起こる先天異常を予防するシステムである。同時に、生活習慣や社会的要因(生殖補助医療の普及など)の影響を評価する上でも重要である。しかし、こうしたモニタリング調査で報告されるものは確認された個々の奇形が対象となっており、奇形の組み合わせから得られる診断ではない。これは、先天異常モニタリング調査の限界でもある。奇形症候群の多くは発生頻度が極めて低く、その医療管理は合併症の種類と程度に影響を受け、専門的な医療を必要とする希少難病である。原因不明の希少難病に対して疫学的解析を加え、発症メカニズムを検討することは疫学調査の副産物かもしれないが、今後ますます重要性が増すことが予想される。今回我々は、昨年の疫学調査による結果を踏まえ、VATER症候群(連合)の病因について検討を加えた。

2)VATER症候群患者 フォローアップのためのガイドライン

VATER連合症候群は、新生児期より、呼吸・循環、消化器、腎泌尿器、運動器など多系統の症状・所見を呈する。多くの例で数回以上にわたって外科手術を必要とし、栄養管理、感染対策、リハビリテーションなどの慢性的かつ持続的な医学管理を要する。排便機能障害や上肢機能障害など生活面での長期にわたる課題が生じる。長期間にわたり、多くの診療科の関与が必要な疾患である。VATER連合症候群は新生児期、乳児期、幼児期、学童期、成人期と問題点も変遷する。長期的な面ではまだ不明な点も少なくない。VATER連合症候群の患児を育てる親にとって、日常生活での注意点、合併症の予後予測、将来児はどのように育っていくか、というようなことは非常に気になる点である。

そこでフォローアップのためのガイドライン(案)を作成した。

3)発症機構の解明

動物モデルを使った疾患発症機構の解明

研究代表者はニワトリ胚にアドリアマイシンを局所投与することにより上部消化管の異常(食道閉鎖等)が発生することを示した。また、妊娠ラットにアドリアマイシンを投与し、食道閉鎖などのVATER症候群様の症状を惹起させるものがある。これらの動物モデルは発生が比較的遅く、また、遺伝子操作が難しいために解析が難しいという問題点がある。研究分担者の谷口はこの問題を解決し、VATER症候群の発症機序を知るため、ゼブラフィッシュを利用した。ゼブラフィッシュの利点は①ゼブラフィッシュは臓器形成の速度が極めて速く、二日で発生が完了する上に、胚が透明で体外発生するために臓器観察が容易である。②一ペアから一度に数百個の卵を取ることができる上に、モルフォリノやmRNAのインジェクションにより遺伝子発現を増減させることが容易である。

アドリアマイシンは、放線菌株から得られたアントラ

サイクリン系抗生物質の1種で、2本鎖DNAの intercalatorとして働いてガン細胞種の増殖阻害効果を示し、臨床において現在でも、悪性リンパ腫などに対する化学療法に用いられている。しかし、その一方でアドリマイシンは、心肥大などの心機能異常や催奇形成誘導などの重篤な副作用を示すことが知られるが、その副作用発現の分子メカニズムについては全く不明である。我々は、ナノスケールの担体を用いた独自のアフィニティ精製技術の開発を行い、薬剤やホルモンなどの低分子化合物に選択的に結合するタンパク質の精製システムを確立してきた ([Chemical Biology/Chemical Genetics] CMC press, 2009)。このアフィニティスクリーニング技術を駆使してアドリマイシンの未知の結合タンパク質を同定し、その副作用発現の分子機構の解明に繋げることを目的としている。

4) 次世代シーケンサーを用いた疾患原因遺伝子の同定

次世代シーケンサーを用いて、VATER症候群の原因遺伝子を同定を目指す。VATER症候群の発症機転は不明である。感染症が否定されることから、遺伝子変異によって発症している可能性が示唆される。現存する様々な遺伝子解析法によっても原因遺伝子が同定されていないことから、VATER症候群は遺伝的異質性が高く、患者毎に原因となっている遺伝子が異なる可能性もある。一つのアプローチは、孤発例について、患者本人と家族のゲノムDNAを比較する方法について検討した。

B. 研究方法

1) 疫学的検討

<四肢奇形の疫学的研究>

VATER association の6大奇形の頻度については、いくつかの報告があり、Radial dysplasia は25-45%と報告されている。このRadial dysplasiaの重症度は症例によって様々である。今回VATER association に合併するRadial dysplasiaの特徴を明らかとする目的で、成育医療研究センター整形外科受診中のRadial dysplasiaを伴うVATER associationについて調査を行った。

対象および方法

2003年～2011年に、VATER association に合併するRadial dysplasiaにて当科を受診した11例(男児7例、女児4例)を対象とした。両側例は6例、片側例は5例であった。調査時平均年齢は4歳6カ月(1歳5カ月～13歳8カ月)であった。これらの症例に認められたRadial dysplasiaは、軸前性多指症と橈側列形成不全であった。これらのRadial dysplasiaについて、単純X線像の特徴を調査した。橈側列形成不全については、橈骨形成不全はModified Bayne分類5)、母指形成不全はBlauth分類6)を用いて重症度分類を行った。また、橈側列形成不全患者について、6大奇形の合併数を調査した。橈骨形成不全のModified Bayne分類と、母指形成不全のBlauth分類による重症度については、Spearman順位相関係数およびKendall順位相関係数を用いて相関関係を検定し、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

<消化管奇形の疫学的研究>

一次調査にてVATER症候群(VATER連合)の治療経験ありとの回答を得た111施設に二次調査を実施し、回答の得られた120例を対象として小児外科的な合併奇形を総括した。

<VATER症候群と表現形が重複する先天奇形症候群に関する研究>

愛知県心身障害者コロニー中央病院小児内科を受診中の患児を対象として、過去の病歴録や診療録の解析、あるいは患児の親への聞き取り調査によりえた情報を元に、後方視的にVATER症候群を構成する要素である先天奇形を有する患児情報を抽出し、その疾患名と数について検討した。対象：愛知県心身障害者コロニー中央病院小児内科を受診中もしくは過去10年以内に受診したことのある年齢20歳未満の患者1758名。

(倫理面への配慮)

今回の調査は、後方視的な観察調査であり患児の個人名が特定されることはない。患者らは未成年であるため、情報の収集に際しては代理人である両親に対して説明を行い同意を得た上で、個人情報保護の観点から患者氏名が特定されることのないように留意した。

<疫学調査に基づいたVATER症候群発症メカニズムの検討>

神奈川県先天異常モニタリング調査(KAMP: Kanagawa Birth Defects Monitoring Program)のうち、1981年から2008年のKAMP終了までの間の26年6ヶ月は、4期に分類されて登録されている。このうち以下の2期に報告された症例について検討を加えた。

1989-2000 : 479,982 (個表 18,953)

2001-2008 : 198,877 (個票 9,748)

(倫理面への配慮)

なお、神奈川県の先天異常モニタリング事業はすべての個人情報を切り離した形で登録され、施設内倫理審査により承認を受けた事業である。責任遺伝子に関する考察として、VATER症候群との鑑別疾患責任遺伝子およびその機能的関連性を検討するためにウェブ上のGenome Network (genomenetwork.nig.ac.jp)を利用した。

2) VATER症候群患者フォローアップのためのガイドライン

本研究班で集積したデータ、および内外の文献からVATER連合症候群の年代別、臓器系統別の症状や必要な検査、その他の問題点を整理し、フォローアップガイドラインを作成した。

3) 発症機構の解明

動物モデルを使った疾患発症機構の解明

野生型ゼブラフィッシュの受精卵を24穴プレートの各ウェルに10個ずつ入れ、Doxorubicin-HClを1～2 hpf (hours post-fertilization) で5～100ppmの範囲で薬剤の投与を行い、48～72 hpfで薬剤のゼブラフィッシュに対する影響を実体

顕微鏡（オリンパス SZX16）下で観察した。臓器の組織学的な観察は、48～72 hpf の稚魚を Davidson 溶液（95%エタノール 33ml、ホルマリン原液 22ml、氷酢酸 11.5 ml、H₂O 33.5 ml、用時調整）で固定し、パラフィン包埋した。半回転式マイクロトーム（Leica RM2245）により、22 μm 厚の冠状断と矢状断の連続切片を作成した。切片はヘマトキシリン・エオジン（H&E）染色して、明視野顕微鏡（オリンパス BX51）下で観察した。

薬剤をナノアフィニティビーズに固定化するために、薬剤の官能基を利用してビーズ表面上に共有結合によりカップリングを行う必要がある。そこで、カルボン酸修飾型ビーズと、アドリアマイシン中に存在するアミノ基をアミドカップリングにより反応を行い、共有結合させた薬剤固定化ビーズを作製した。アドリアマイシンは、実験レベルにおいてニワトリの胚発生時に添加すると奇形誘導することから、ニワトリ受精卵の初期胚状態のものを集め、タンパク質成分を抽出してアフィニティスクリーニングに用いた。

4) 次世代シーケンサーを用いた疾患原因遺伝子の同定

VATER 症候群の孤発例について、患者本人と家族のゲノム DNA を比較する方法について検討した。次世代シーケンサーからの出力には大量の遺伝子変異（ナンセンス変異・フレームシフト変異・ミスセンス変異等）が含まれており、患者のデータのみによって疾患の原因となっている遺伝子変異を特定することはできない。そこで、疾患の原因を、1) 常染色体優性遺伝性疾患の孤発例、2) 常染色体劣性遺伝病の複合ヘテロ接合体の 2 つのモデルとして検討する。

（倫理的配慮）

個人情報保護に関する法律を踏まえて研究を実施した。変異陽性例の表現型の詳細な解析に際しては文部科学省・厚生労働省・経済産業省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を、有病率に関する調査に際しては、文部科学省・厚生労働省「疫学研究指針」を遵守し、倫理委員会の承認下に研究を実施した。

C. 研究結果

1) 疫学的検討

<四肢奇形の疫学的研究>

軸前性多指症は2例2肢に認め、いずれも片側のみの罹患であった。2例とも、尺側母指が低形成を呈する稀なタイプの軸前性多指症であった。橈側列形成不全は9例15肢に認められた。橈骨形成不全の Modified Bayne 分類では、type0：2肢、type1：4肢、type2：2肢、type3：1肢、type4：6肢であった。これらの症例の母指形成不全については、Blauth type IIIA：2肢、type IIIB：3肢、type IV：6肢、type V：4肢であった。橈側列形成不全における6大奇形の合併数については、3奇形合併が4例、4奇形合併が4例、5奇形の合併が1例であった。橈骨形成不全の Modified Bayne 分類と母

指形成不全の Blauth 分類で示す重症度については、Spearman 順位相関係数は0.81(p<0.001)、Kendall 順位相関係数は0.73(p<0.005)であり、橈骨形成不全と母指形成不全の重症度には相関関係が認められた。

<症例1>

4歳10か月、女児。鎖肛、食道閉鎖、左腎低形成、軸前性多指症、心奇形（ファロー四徴症）を合併している。軸前性多指症は基節骨型であるが、尺側母指がより低形成を呈している。

<症例2>

2歳9か月、女児。椎体奇形、鎖肛、食道閉鎖、橈側列形成不全を合併している。両側罹患の橈側列形成不全であり、右側は母指形成不全が Blauth type IIIa、橈骨形成不全は Bayne type 1 である。左側はより重症型であり、母指形成不全が Blauth type IV、橈骨形成不全は Bayne type 3 である。

<症例3>

2歳10か月、男児。心奇形、左腎低形成、橈側列形成不全を合併している。橈側列形成不全は両側罹患であり、最も重症型である。両側とも、母指形成不全については母指欠損の Blauth type V であり、橈骨形成不全についても橈骨完全欠損の Bayne type 4 で、内反手を呈している。

<消化管奇形の疫学的研究>

食道閉鎖症の病型である Gross 分類では、回答のあった84例中、A型が7例、B型が1例、C型が74例、D型が2例で、食道閉鎖症全般でいわれている頻度と同様で、C型が圧倒的多数を占めた。十二指腸閉鎖を示した症例を10例に認め、注意すべき合併症と考えられた。鎖肛症例のうち、低位鎖肛は29.5%と最も多く、次いで高位鎖肛が25%、残り中間位鎖肛が17.5%であった。中間位症例は主に直腸尿道瘻であった。

<VATER 症候群と表現形が重複する先天奇形症候群に関する研究>

V=椎体異常	
3MC 症候群	1例
BRESEK 症候群	1例
Waardenburg 症候群	1例
Kabuki 症候群	1例
Cat Eye 症候群	1例
22q11.2欠失症候群	1例
原因未特定のMCA/MR	1例

A=肛門奇形	
Down 症候群	10例
Cat Eye 症候群	2例
Opitz 症候群	1例
原因未特定のMCA/MR	2例

TE=気管食道奇形（食道閉鎖含む）	
Opitz 症候群	1名
Down 症候群	2例
CHARGE 症候群	2例
原因未特定のMCA/MR	1例

R=橈骨奇形

Williams症候群	2例
Down症候群	1例
Cornelia de Lange症候群	1例
Kleinfelter症候群	1例
Oculo-Facio-Cardio-Dental 症候群	1例
Opitz症候群	1例
R=腎奇形	
Sotos症候群	4例
Kabuki症候群	2例
Wolf-Hirschhorn症候群	2例
Williams症候群	1例
Simpson-Golabi-Behmel症候群	1例
XYY症候群	1例
Emanuel症候群	1例
22q11.2欠失症候群	1例
22q13.3欠失症候群	1例
Turner症候群	1例
Rubinstein Taybi症候群	1例
BRESEK 症候群	1例
BOR症候群	1例
その他の染色体異常症	3例
原因未特定のMCA/MR	3例

上記を複数有する患者

Opitz症候群	1例(V+TE+R)
BRESEK症候群	1例(V+R)
Cat Eye症候群	1例(V+A)

<疫学調査に基づいたVATER症候群発症メカニズムの検討>

食道閉鎖(TE)を手掛かりとして、観察期間に99例の食道閉鎖症例を把握、18トリソミーが15例(15%)含まれていた。99例の中で鎖肛(A)を伴う例が17例で、2例の18トリソミー、1例の汚溝外反シーケンス、外性器異常と鼻腔閉鎖を伴うCHARGE症候群を強く疑う1例、などが含まれた。この明らかに既知の他疾患とされる4例を除いた14例のTE+A症例のうち、腎奇形(R)を伴うものは3例、心奇形を合併する例が4例だった。ほかに横隔膜ヘルニアを1例認めた。18トリソミーがこうした関連検索で複数検出されたことは極めて興味深い。確かに、食道気管瘻(TE)、腎奇形・橈骨欠損(R)は18トリソミーで比較的高率に認められ、時に鎖肛(A)も認める。18トリソミーとの類似性は論文上ほとんど記載がない。そこで、VATER症候群(連合)の鑑別疾患として挙げられているCHARGE症候群(CHD7)、Alagille症候群(JAG1)、Baller-Gerold症候群(RECQL4)、Currarino症候群(HLXB9、MNX1)、Holt-Oram症候群(TBX5)、Townsend-Brocks症候群(SALL1)などの各責任遺伝子について、Genome Networkで関連検索を行ったが、各遺伝子に共通して、かつ18番染色体にマップされる関連遺伝子は確認できなかった。VATER症候群(連合)の分子レベルでの病因検討では、複数の責任遺伝子関与を視野に入れる必要があるかもしれない。今後の課題である。

2)VATER症候群患者フォローアップのためのガイドライン

①総合的事項

VATER連合症候群は先天性気管食道瘻、鎖肛、心奇形、上肢奇形などから生後まもなく診断される機会が多い。一部の症状は胎児期に超音波検査で診断を疑われることもある。生後も治療をすすめるながら可能性のある合併症の検索が必要である。

妊娠中の母体糖尿病罹患、薬物服用について問診が必要である。染色体異常症を鑑別するためにG-band検査を実施する必要がある。水頭症を認めた場合、Fanconi貧血が背景に存在する可能性がある。経過をみて上で染色体断裂を調べる必要がある。

VATER連合症候群では低出生体重例が多い。生後も体重増加不良例が多い。先天性心疾患に伴う心不全、腎機能障害、消化管異常があると成長障害が顕著にでやすい。

体重増加不良の場合、栄養摂取状況など原因検索をすすめる。カロリー不足の場合は経鼻チューブ栄養、補助栄養剤などで改善をはかる。場合によっては胃瘻も考慮する。低身長が目立つ場合、成長ホルモン分泌不全も念頭に置く必要がある。

②発達、神経系

通常、VATER連合症候群では大きな発達の遅れは認めない。水頭症など合併症の状況によっては遅滞を伴う例もある。VATER連合症候群では新生児期から長期の入院治療を要し、外科手術の回数も多いことが初期の発達に影響する。運動発達遅滞に対しては理学療法を考慮する。定期的な発達評価が望ましい。

水頭症を伴うと進行性の頭囲拡大、大泉門膨隆がみられる。頭部CT検査を行う。扁平頭蓋の場合がある。

児の成長とともに四肢奇形、排便機能障害、外性器奇形、多数の手術痕など、自己の身体イメージに問題が生じる可能性がある。そのような場合、精神的なケアも必要である。

③先天性心疾患

VATER連合症候群では50%以上の例で先天性心疾患を合併する。VSD、ASD、PDA、ファロー四徴症、大動脈縮窄など各種のタイプがみられる。VATER連合症候群を疑えば、XPやエコーを含めた循環器系の精査が必要である。心疾患の種類や重症度は様々である。心疾患の影響で成長障害を生じる場合があり、心疾患の術後に成長障害の改善が期待される。手術方法などは一般と変わらない。ただし、食道閉鎖・気管食道瘻や鎖肛のような消化器系の疾患を合併するので、手術の順序や全身管理について小児外科、心臓外科、麻酔科など関連各科による慎重な検討が必要である。先天性心疾患があればRSウイルス感染予防を実施する。心内膜炎予防も重要である。

④消化器系

VATER連合症候群では、食道閉鎖および気管食道瘻と鎖肛は消化器系で重要な合併症である。食道閉鎖・気管食道瘻には様々なタイプがある。食道閉鎖だけで気管食道瘻を伴わないこともある。胎児期には嚥下障害による羊水過多の例が多い。

新生児期呼吸障害、哺乳障害を認める。瘻を通じて肺にミルクや分泌物が入ると肺炎を生じる。食道閉鎖・気管食道瘻に対しては早急に外科手術を行う必要がある。術後も胃食道逆流症、気管支喘息様の症状が出現することがある。

鎖肛は新生児体温計測で肛門が同定できないことで気づかれることが多い。VATER連合症候群に伴う鎖肛は高位鎖肛のことが多い。膀胱、尿道、膣に瘻を形成している場合があり、尿への大便混入に注意する。鎖肛では人工肛門を設置し、一定期間後にpull-through手術を行うことになる。術後に便秘や失禁を伴うことがある。

⑤気道、呼吸器系

喉頭狭窄、気管閉鎖を伴う例がある。気管閉鎖は生後すぐに呼吸困難が生じる。喉頭狭窄は慢性的な呼吸障害の原因となる。多呼吸、陥没呼吸が見られる場合、喉頭鏡などによる検索を行う必要がある。

⑥耳鼻咽喉科、眼科

耳鼻咽喉科的合併症について、副耳や耳珠の変形などの耳介奇形があれば必要に応じて形成外科治療を行う。中耳炎など慢性炎症の例がある。聴力の評価も重要である。後鼻孔閉鎖を合併すると生後まもなくから呼吸障害が生じる。小眼球、斜視、近視などの眼科的合併症の報告がある。眼科精査を行い、異常のあった例では治療、定期的なフォローを行う。

⑦腎、泌尿器系

VATER連合症候群では腎無形成ないし低形成、腎嚢胞、馬蹄腎などの腎奇形を伴う例が多い。重症例では両側性の腎低形成を認める。尿路奇形(尿膜管残存、水腎症、水尿管症など)もみられる。膀胱尿管逆流症、閉塞性尿路障害、尿路感染に注意が必要である。

VATER連合症候群を疑えば、早急に腎エコーによる腎形態の評価を行う。造影剤を用いた検査を行う場合もある。定期的な検尿、腎機能検査(BUN、Crなど)を行う。熱発時は尿路感染を見落とさないようにする。

男児では停留精巣、尿道下裂、小陰茎がみられる。女児では陰唇低形成、膣閉鎖などがみられる。VATER連合症候群では、鎖肛を認める場合に泌尿生殖器系の奇形を合併する率が高くなる。

⑧脊椎異常

VATER連合症候群では脊椎異常は3分の2以上の症例で合併する。下部胸椎から腰椎の領域の異常が多い。半椎が最もよくみられる所見である。分節異常、椎体癒合、肋骨形態異常もみられる。椎体が欠損したり過剰であったりすることもある。脊柱のX線撮影を行う。

気管食道瘻や鎖肛があると脊椎異常の存在する可能性が高い。側彎にも注意が必要である。先天性側彎が最初に気づかれる異常所見の場合もある。側彎は進行性の場合があり、定期的な整形外科診察が望ましい。脊髓空洞症、二分脊椎や脊髓係留症候群の例がある。腰仙部の異常所見に注

意する。

Klippel-Feil 奇形、頸椎異常があれば、斜頸を伴うことがある。

⑨四肢奇形

上肢奇形は約2分の1の症例にみられる。橈骨形成不全、母指低形成、軸前性多指など、橈骨側の異常が多い。病変は多くの場合両側性である。橈骨が低形成の場合、前腕から手にかけて橈骨側に彎曲する。軽症例では母指低形成、母指球低形成程度である。

下肢の異常としては、内反足や股関節脱臼がみられることがある。

四肢の異常については早期に整形外科の評価を行う。骨延長術などの手術を専門とする整形外科での治療が必要である。術後の機能訓練も重要である。

⑩歯科、口腔

口唇口蓋裂を稀に合併する。齲歯予防も行う。

3)発症機構の解明

動物モデルを使った疾患発症機構の解明
ゼブラフィッシュ受精卵をアドリアマイシン曝露し、72時間後の孵化率で見たEC50は約40 ppmであった。曝露胚ではコントロールに比べて、眼球変形、脊柱湾曲、卵黄嚢の拡張、心嚢液の貯留、循環不全が用量依存的に見られた。特に心臓の異常は低用量でも高率に認められ、アドリアマイシン毒性の重要な所見であると思われた。亜致死量のアドリアマイシンに曝露し、72時間後に固定、パラフィン包埋して連続切片をヘマトキシリン&エオジン染色すると、VATER症候群で重要な所見である上部消化管の内腔閉鎖が出現していることがわかった。下部消化管では管腔形成は見られたものの、消化管上皮は菲薄化し不整であった。これは複数回の実験で再現された。

ニワトリ胚由来のタンパク抽出液を用いて、アドリアマイシン固定化ビーズと混合してこれに結合するタンパク質のスクリーニングを行った。

このスクリーニングの結果、図に示したように、薬剤を固定化したものにおいていくつかの結合してくるバンドが見られた。この中で特に矢印で示した75kDa付近の位置に、カルバマゼピンでは結合せず、アドリアマイシン特異的に結合するバンドが見られた。

このSDSポリアクリルアミドゲル上のバンドを切り出して、trypsinによるin gel digestion法でペプチド分解し、MSスペクトル (Hitachi Nano-Frontier) でペプチド同定を行った結果、これが選択的な塩基配列を認識するRNA結合性のタンパク質の一つである事が分かった。

4)次世代シーケンサーを用いた疾患原因遺伝子の同定

孤発例と思われる症例について、解析法を検討した。候補遺伝子の蓋然性を全てコンピュータによって判断することは困難と思われた。そこで、コンピュータによる判定を目視で確認しつつ候補遺伝子を絞り込んで行くことが必要と考えられた。S社の

ソフトウェアを使用することにより目視での比較を高速に行うことが可能となった。

D. 考察

1)疫学的検討

<四肢奇形の疫学的研究>

VATER associationでは、6大奇形のうちVertebral defectsとRadial dysplasiaの2つが整形外科的な評価・治療を必要とするものであり、我々はその病態についての理解を深める必要がある。しかしながら、これら病態における詳細な特徴や重症度についての報告は少ない。Lawhonらは、VATER association 28例を調査し、13例にRadial dysplasiaを認めたと報告している。これらの症例において、母指形成不全が最も多く54%を占め、次いで軸前性多指症が38%、その他、橈骨欠損、内反手、上腕骨低形成、肘関節癒合を認めている3)。本研究では、母指形成不全は82%であり、この中の87%に橈骨形成不全を伴っていた。また、軸前性多指症は18%に認められた。

軸前性多指症については、Oginoらは、母指多指症113例中、橈側母指低形成は107例、尺側母指低形成は2例、橈側・尺側とも同じ大きさは4例であったと報告している7)。典型的な軸前性多指症は橈側母指が低形成であるが、本症例におけるVATER associationの2例では、尺側母指低形成の非典型的な軸前性多指症を呈していた。

母指形成不全について、Jamesらはすべての母指形成不全を対象とし、Blauth分類を用いてその重症度を評価し報告している8)。一般的に、母指再建術の適応となるBlauth type I、II、IIIaと、再建が困難なBlauth type IIIb、IV、Vの2群に分けると、Jamesらの報告では、前者が66.3%、後者が33.7%であった。また、当院での基礎疾患のない母指形成不全の手術症例については、前者が64.5%、後者が35.5%と、Jamesらの報告と同様の結果であった。一方、本研究でのVATER associationの患者群では、前者が13.4%、後者が86.6%であり、より重症の症例が多くを占めていた。

また、Jamesらは、橈骨形成不全と母指形成不全の関連性について調査している。Jamesらの報告では、母指形成不全患者の中で、橈骨形成不全を伴わないものが49.7%、橈骨形成不全が伴うものは50.3%であった8)(表5)。さらに、橈骨形成不全と母指形成不全の重症度には相関を認めたと報告している。本症例でも、橈骨形成不全と母指形成不全の重症度に相関が認められたが、母指形成不全に橈骨形成不全を合併するものは87%と高率であった。このことから、VATER associationでは、重症型の橈側列形成不全が多いことが明らかとなった。

<消化管奇形の疫学的研究>

食道奇形は一般的な頻度と同様であったが、鎖肛に関しては高位鎖肛の頻度が比較的高いことが明らかとなった。

病因論的には、VATER症候群における食道奇形と高位鎖肛は、VATER症候群の一部ではない食道奇形と高位鎖肛と同じに扱って良いと考えられた。

<VATER症候群と表現形が重複する先天奇形症

候群に関する研究>

今回愛知県心身障害者コロニー中央病院小児内科に受診通院中の患児約1700名を対象にして、VATER症候群を構成する各徴候について、それらの奇形を有する患児について抽出しその疾患名を列挙した。椎体異常は比較的頻度の少ない先天奇形であり、染色体異常症を伴うことが少ないと言われる。今回の検討でも染色体異常症は22q11.2欠失症候群の1例だけであり、他は比較的まれな遺伝子異常症である。最近IFAP症候群とアレリックであることが報告されたBRESEK症候群は脊椎奇形を高率に有する。鎖肛を含む肛門奇形は、ダウン症候群以外には比較的まれな合併症である。これもダウン症以外には染色体異常症に伴うことは多くない。症候群の一つの症状としての気管食道奇形はOpitz症候群とCHARGE症候群にみられた他、原因不明の多発奇形精神遅滞患児に2名みられた。橈骨奇形は比較的頻度の高い症候群のまれな合併症として認められた。VATER症候群を構成する先天奇形を複数もつ患児の有無について検討するため、当院通院中の患児を対象に抽出し、Opitz症候群、BRESEK症候群、Cat Eye症候群において複数要素の合併を認めた。VATER症候群を見逃すことなく診断するためには、比較的他の症候群での合併の少ない椎体異常や気管食道奇形を有する患児の治療に当たる小児外科や整形外科において、それらの奇形を有する患児の奇形学的な診療を遺伝科医に依頼するルートをあらかじめ作っておくことも必要であろう。

<疫学調査に基づいたVATER症候群発症メカニズムの検討>

人口ベース疫学調査データを用いてVATER症候群(連合)の奇形スペクトラムを検討した。既知症候群や染色体異常症との共通性も指摘でき、本症の複数要因による分子レベルでの発生学的検討が必要と考えられた。

2)発症機構の解明

動物モデルを使った疾患発症機構の解明

アドリアマイシンはげっ歯類(ラット)及び、鳥類(ニワトリ)で、尾側における退行変性と前腸の閉鎖を引き起こすことが分かっている。今回の我々の実験では、アドリアマイシンによる前腸の閉鎖を引き起こすモデルとして、魚類(ゼブラフィッシュ)を用いることが可能であることを示した。20~40ppmの範囲でゼブラフィッシュ受精卵をアドリアマイシンに暴露すると、前腸の閉鎖が見られることが組織学的な観察から分かった。一方、尾側の後退はゼブラフィッシュでは明らかではなかった。VATER症候群のモデルとしてゼブラフィッシュを用いる可能性が示されたと言える。今後は管腔形成のどのステップが障害されているかを、抗体染色などを用いて詳細に調べていく予定である。

VATER症候群の発症機序を明らかにする上で、アドリアマイシンの奇形発症機序を解明することは有意義と期待されていた。しかし、これまでに知られていたアドリアマイシンの作用機序、すなわち、2本鎖DNAにintercalateしたアドリアマイシンがDNA topoisomerase IIなどの酵素を阻害して、染色体DNA複製阻害による細胞増殖抑制は細胞・組織

特異性が無い場合、アドリアマイシンによる催奇形成誘導などの局所特異的な副作用発現の作用メカニズムとは異なると考えられていた。本研究の解析で同定されたアドリアマイシン特異的に結合する因子は、特定の塩基配列を認識するRNA結合性のタンパク質であり、特異的遺伝子のRNAのプロセッシングやタンパク質翻訳修飾に関わっていると考えられている。今後、薬剤によるこの標的候補タンパク質の機能制御について解析するとともに、心臓や奇形形成部位での遺伝子発現の影響などについて解析することにより、これまで未知であったVATER症候群様の作用メカニズムの解明に繋がる。

4) 次世代シーケンサーを用いた疾患原因遺伝子の同定

孤発例を比較することにより、候補遺伝子を絞り込むことが可能となった。しかし数多く存在するアミノ酸置換のうち、どのアミノ酸置換が実際に疾患の原因となっているかを決定することは困難である。
① 複数症例において共通する変異を絞り込む、
② 動物モデルを根拠に、候補遺伝子の範囲を限定する、などの方法が必要と考えられた。

E. 結論

VATER症候群は、V: Vertebral defects 椎体異常、A: Anal atresia 肛門奇形(鎖肛など)、TE: Tracheoesophageal fistula with Esophageal atresia 気管食道瘻、R: Renal or Radial defects 腎奇形あるいは橈骨奇形という5徴候の頭文字の組み合わせに由来する。原因は不明である上に多彩な合併症を呈する難治性疾患である。今年度に本研究班は、四肢奇形・消化管奇形の疫学を明らかにして、鑑別すべき疾患の系統的な検討を行った上、フォローアップのためのガイドラインの案を作成した。さらにVATER症候群の動物モデルとして、アドリアマイシン曝露胚を用いた検討と次世代シーケンサーを用いた検討により、発症メカニズムに関する多角的な検討も行った。RNA結合タンパクが疾患原因候補遺伝子であることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yoshihashi H, Ohki H, Torii C, Ishiko A, Kosaki K. Survival of a male mosaic for *PORCN* mutation with mild focal dermal hypoplasia phenotype. *Pediatric Dermatology*. *Pediatric Dermatology*. 28; 550-554:2011

Kurosawa K, Masuno M, Kuroki Y. Trends in occurrence of twin births in Japan. *Am J Med Genet Part A* 2012;158A:75-77.

Soneda A, Teruya H, Furuya N, Yoshihashi H, Enomoto K, Ishikawa A, Matsui K, Kurosawa K. Proportion of malformations and genetic disorders among cases encountered at a high-care unit in a children's hospital. *Eur J*

Pediatr 2012;171:301-305.

Shimizu H, Migita O, Kosaki R, Kasahara M, Fukuda A, Sakamoto S, Shigeta T, Uemoto S, Nakazawa A, Kakiuchi T, Arai K Living-related liver transplantation for siblings with progressive familial intrahepatic cholestasis 2, with novel genetic findings. *Am J Transplant*. 11(2) 394-8 2011

Kosaki R, Fujita H, Ueoka K, Torii C, Kosaki K. Overgrowth of prenatal onset associated with submicroscopic 9q22.3 deletion. *Am J Med Genet A*. 155(4) 903-5 2011

Kosaki K, Saito H, Kosaki R, Torii C, Kishi K, Takahashi T Branchial arch defects and 19p13.12 microdeletion: defining the critical region into a 0.8 M base interval. *Am J Med Genet A* 155A(9) 2212-4 2011

Numabe H, Sawai H, Yamagata Z, Muto K, Kosaki R, Yuki K, Kosaki K. Reproductive success in patients with Hallermann-Streiff syndrome *Am J Med Genet A* 155A(9) 2311-3 2011

Tsutsumi Y, Kosaki R, Itoh Y, Tsukamoto K, Matsuoka R, Shintani M, Nosaka S, Masaki H, Iizuka Y Vein of Galen Aneurysmal Malformation Associated With an Endoglin Gene Mutation. *Pediatrics* 128(5) 1307-10 2011

Tonoki H, Harada N, Shimokawa O, Yosozumi A, Monzaki K, Satoh K, Kosaki R, Sato A, Matsumoto N, Iizuka S Axenfeld-Rieger anomaly and Axenfeld-Rieger syndrome: Clinical, molecular-cytogenetic, and DNA array analyses of three patients with chromosomal defects at 6p25. *Am J Med Genet A* 155A(12) 2925-32 2011

Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Honda S, Araki S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Kosho T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, Chinen Y, Kosaki R, Okuyama T, Ohki H, Yoshihashi H, Ono M, Takada F, Ono H, Yagi M, Matsumoto H, Makita Y, Hata A, Inazawa J. Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies. *J Hum Genet*. 56(2) 110-24 2011

Tsutsumi Y, Kosaki R, Itoh Y, Tsukamoto K, Matsuoka R, Shintani M, Nosaka S, Masaki H, Iizuka Y Vein of Galen Aneurysmal Malformation Associated With an Endoglin Gene Mutation. *Pediatrics* 128(5) 1307-10 2011

3) Hiraki Y, Nishimura A, Hayashidani M, Terada Y, Nishimura G, Okamoto N, Nishina S, Tsurusaki Y, Doi H, Saito H, Miyake N, Matsumoto N. A de novo deletion of 20q11.2-q12 in a boy presenting with abnormal hands and feet, retinal dysplasia, and intractable feeding difficulty. *Am J Med Genet A*. 2011;155:409-14.

4) Okamoto N, Hatsukawa Y, Shimojima K, Yamamoto T. Submicroscopic deletion in 7q31

encompassing CADPS2 and TSPAN12 in a child with autism spectrum disorder and PHPV. Am J Med Genet A. 2011;155:1568-73.

5) Shimizu K, Okamoto N, Miyake N, Taira K, Sato Y, Matsuda K, Akimaru N, Ohashi H, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, Kosho T. Delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 deficient Ehlers-Danlos syndrome: Observation of two additional patients and comprehensive review of 20 reported patients. Am J Med Genet A. 2011;155A:1949-58

9) Misako Naiki, Seiji Mizuno, Kenichiro Yamada, Yasukazu Yamada, Reiko Kimura, Makoto Oshiro, Nobuhiko Okamoto, Yoshio Makita, Mariko Seishima, and Nobuaki Wakamatsu MBTPS2 mutation causes BRESEK/BRESHECK syndrome Am J Med Genet 2011 on line

10) Okamoto N, Tamura D, Nishimura G, Shimojima K, Yamamoto T. Submicroscopic deletion of 12q13 including HOXC gene cluster with skeletal anomalies and global developmental delay. Am J Med Genet A. 2011;155:2997-3001.

3) Seiji Mizuno, Daisuke Fukushi, Reiko Kimura, Kenichiro Yamada, Yasukazu Yamada, Toshiyuki Kumagai, Nobuaki Wakamatsu

Clinical and genomic characterization of siblings with a distal duplication of chromosome 9q (9q34.1-qter)

Am J Med Genet A, 2011 September; 155 (9):224-2280.

4) Liang JS, Shimojima K, Takayama R, Natsume J, Shichiji M, Hirasawa K, Imai K, Okanishi T, Mizuno S, Okumura A, Sugawara M, Ito T, Ikeda H, Takahashi Y, Oguni H, Imai K, Osawa M, Yamamoto T. CDKL5 alterations lead to early epileptic encephalopathy in both genders. Epilepsia. 2011 Oct;52(10):1835-42

2. 学会発表

なし

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

〔Ⅲ〕

分担研究報告書

研究要旨

VATER associationに合併する橈側列異常の特徴を明らかにするため、2003-2011年に、橈側列異常にて当科を受診した11例を対象として検討を行った。母指多指症は2例2肢に認め、母指尺側に余剰指型の母指が存在していた。橈側列形成不全は9例15肢に認められ、Modified Bayne分類で、type0：2肢、type1：4肢、type2：2肢、type3：1肢、type4：6肢であった。これらの症例の母指形成不全については、Blauth typeⅢA：2肢、typeⅢB：3肢、typeⅣ：6肢、typeⅤ：4肢で、重症型が多かった。Bayne分類とBlauth分類の重症度には相関が認められた母指多指症は、尺側母指低形成の非典型例であった。また、母指形成不全の87%に橈骨形成不全が合併しており、重症型の橈側列形成不全が多いことが示された。

A. 研究目的

VATER associationに合併する橈側列異常の特徴を検討するため、当院での症例を調査した。

B. 研究方法

VATER associationの6大奇形の頻度については、いくつかの報告があり、Radial dysplasiaは25-45%と報告されている。このRadial dysplasiaの重症度は症例によって様々である。今回 VATER associationに合併するRadial dysplasiaの特徴を明らかとする目的で、成育医療研究センター整形外科受診中のRadial dysplasiaを伴うVATER associationについて調査を行った。

対象および方法

2003年～2011年に、VATER associationに合併するRadial dysplasiaにて当科を受診した11例（男児7例、女児4例）を対象とした。両側例は6例、片側例は5例であった。調査時平均年齢は4歳6カ月（1歳5カ月～13歳8カ月）であった。これらの症例に認められたRadial dysplasiaは、軸前性多指症と橈側列形成不全であった。これらのRadial dysplasiaについて、単純X線像の特徴を調査した。橈側列形成不全については、橈骨形成不全はModified Bayne分類⁵⁾、母指形成不全はBlauth分類⁶⁾を用いて重症度分類を行った。また、橈側列形成不全患者について、6大奇形の合併数を調査した。橈骨形成不全のModified Bayne分類と、母指形成不全のBlauth分類による重症度については、Spearman 順位相関係数およびKendall順位相関係数を用いて相関関係を検定し、 $p<0.05$ を有意差ありとした。

C. 研究結果

軸前性多指症は2例2肢に認め、いずれも片側のみの罹患であった。2例とも、尺側母指が低形成を呈する稀なタイプの軸前性多指症であった。橈側列形成不全は9例15肢に認められた。橈骨形成不全のModified Bayne分類では、type0：2肢、type1：4肢、type2：2肢、type3：1肢、type4：

6肢であった。これらの症例の母指形成不全については、Blauth typeⅢA：2肢、typeⅢB：3肢、typeⅣ：6肢、typeⅤ：4肢であった（表2）。橈側列形成不全における6大奇形の合併数については、3奇形合併が4例、4奇形合併が4例、5奇形の合併が1例であった（表3）。橈骨形成不全のModified Bayne分類と母指形成不全のBlauth分類で示す重症度については、Spearman 順位相関係数は0.81($p<0.001$)、Kendall 順位相関係数は0.73($p<0.005$)であり、橈骨形成不全と母指形成不全の重症度には相関関係が認められた。

症例1

4歳10か月、女児。鎖肛、食道閉鎖、左腎低形成、軸前性多指症、心奇形（ファロー四徴症）を合併している。軸前性多指症は基節骨型であるが、尺側母指がより低形成を呈している（図1）。

症例2

2歳9か月、女児。椎体奇形、鎖肛、食道閉鎖、橈側列形成不全を合併している。両側罹患の橈側列形成不全であり、右側は母指形成不全がBlauth typeⅢa、橈骨形成不全はBayne type1である。左側はより重症型であり、母指形成不全がBlauth typeⅣ、橈骨形成不全はBayne type3である（図2）。

症例3

2歳10か月、男児。心奇形、左腎低形成、橈側列形成不全を合併している。橈側列形成不全は両側罹患であり、最も重症型である。両側とも、母指形成不全については母指欠損のBlauth typeⅤであり、橈骨形成不全についても橈骨完全欠損のBayne type4で、内反手を呈している（図3）。

D. 考察

VATER associationでは、6大奇形のうちVertebral defectsとRadial dysplasiaの2つが整形外科的な評価・治療を必要とするものであり、我々はその病態についての理解を深める必要がある。しかしながら、これら病態における詳細な特徴や重症度についての報告は少ない。Lawhonらは、VATER association28例を調査し、

13例にRadial dysplasiaを認めたと報告している。これらの症例において、母指形成不全が最も多く54%を占め、次いで軸前性多指症が38%、その他、橈骨欠損、内反手、上腕骨低形成、肘関節癒合を認めている³⁾。本研究では、母指形成不全は82%であり、この中の87%に橈骨形成不全を伴っていた。また、軸前性多指症は18%に認められた。

軸前性多指症については、Oginoらは、母指多指症113例中、橈側母指低形成は107例、尺側母指低形成は2例、橈側・尺側とも同じ大きさは4例であったと報告している⁷⁾。典型的な軸前性多指症は橈側母指が低形成であるが、本症例におけるVATER associationの2例では、尺側母指低形成の非典型的な軸前性多指症を呈していた。母指形成不全について、Jamesらはすべての母指形成不全を対象とし、Blauth分類を用いてその重症度を評価し報告している⁸⁾。一般的に、母指再建術の適応となるBlauth type I、II、IIIaと、再建が困難なBlauth type IIIb、IV、Vの2群に分けると、Jamesらの報告では、前者が66.3%、後者が33.7%であった。また、当院での基礎疾患のない母指形成不全の手術症例については、前者が64.5%、後者が35.5%と、Jamesらの報告と同様の結果であった。一方、本研究でのVATER associationの患者群では、前者が13.4%、後者が86.6%であり、より重症の症例が多くを占めていた(表4)。

また、Jamesらは、橈骨形成不全と母指形成不全の関連性について調査している。Jamesらの報告では、母指形成不全患者の中で、橈骨形成不全を伴わないものが49.7%、橈骨形成不全が伴うものは50.3%であった⁸⁾(表5)。さらに、橈骨形成不全と母指形成不全の重症度には相関を認めたと報告している。本症例でも、橈骨形成不全と母指形成不全の重症度に相関が認められたが、母指形成不全に橈骨形成不全を合併するものは87%と高率であった。このことから、VATER associationでは、重症型の橈側列形成不全が多いことが明らかとなった。

E. 結論

1) VATER associationのRadial dysplasiaにおいて、母指形成不全を82%に認め、全例に橈骨形成不全を伴っていた。また、軸前性多指症は18%に認められた。

2) 本症例における軸前性多指症の2例では、尺側母指低形成の非典型的な軸前性多指症を呈していた。

3) VATER associationでは、重症型の橈側列形成不全が多いことが明らかとなった。

文献

1) Quan L, Smith DW: The VATER association, Vertebral defects, Anal atresia, T-E fistula with esophageal atresia, Radial and Renal dysplasia: A spectrum of associated defects. J Pediatr 85: 104-107, 1973

2) Wever DD, Mapstone CL, Yu PL: The VATER association. Analysis of 46 patients. Am J Dis Child 140: 225-229, 1986

3) Lawhon SM, MacEwen GD, Bunnell WP: Orthopaedic aspects of the VATER association. J Bone Joint Surg 68-A: 424-429, 1986

4) James MA, McCarroll HR Jr, Manske PR et al: The spectrum of radial longitudinal deficiency: a modified classification. J Hand Surg 24-A: 1145-1155, 1996.

5) Blauth分類の文献

6) Ogino T, Ishii S, Takahara S et al: Long-term results of surgical treatment of thumb polydactyly. J Hand Surg 21-A: 478-486, 1996.

8) James MA, Green HD, McCarroll HR Jr et al: The association of radial deficiency with thumb hypoplasia. J Bone Joint Surg 86-A: 2196-2205, 2004

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(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1. 6大奇形の合併頻度

	Weaver ¹⁾	Lawhon ²⁾	小崎 ³⁾
Vertebral defects	58.7%	100%	54.5%
Anal atresia	56.5%	75.0%	71.5%
Tracheoesophageal fistula with esophageal atresia	67.4%	57.1%	79.5%
Radial dysplasia	28.3%	46.4%	26.8%
Renal dysplasia	60.9%	85.7%	38.4%
Cardiac malformations	78.3%	21.4%	68.7%
Number of patients	4	2	112

表 2. 橈側列形成不全の重症度分類

Radius: Modified Bayne分類

Type	0	1	2	3	4	計
I	0	0	0	0	0	0
II	0	0	0	0	0	0
Thumb: Blauth 分類						
III A	1	1	0	0	0	2
III B	1	1	1	0	0	3
IV	0	2	1	1	2	6
V	0	0	0	0	4	4
計	2	4	2	1	6	15

表 3. 橈側列形成不全における6大奇形の合併数

合併奇形	3			4				5
	C	TE	TE	A	A	A	C	Re
	Re	Re	V	V	TE	TE	TE	C
	Ra	Ra	Ra	Ra	V	V	V	TE
	Ra	V						
								Ra

V:Vertebral defects、A:Anal atresia、TE:Tracheo-esophageal fistula with esophageal fistula、Re:Renal dysplasia、Ra:Radial dysplasia、C:Cardiac malformation

表 4. 母指形成不全のBlauth分類による発症頻度

	対象	Blauth分類						計
		I	II	III A	III B	IV	V	
James ⁸⁾	全ての症例	6	57		7	15	10	95
			66.3%			33.7%		
当院での手術症例(1982-2009)	基礎疾患なし	0	23	46	18	13	7	107
			64.5%			35.5%		
今回の調査結果	VATER Associationのみ	0	0	2	3	6	4	15
			13.4%			86.6%		