

201128285A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

CHARGE 症候群の成人期の病像の解明と遺伝子診断の
臨床応用・iPS細胞の確立に関する研究

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

CHARGE 症候群の成人期の病像の解明と遺伝子診断の
臨床応用・iPS細胞の確立に関する研究

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. CHARGE 症候群に伴う内耳奇形例に対する人工内耳埋込術と EABR の重要性について	11
加我 君孝(東京医療センター・臨床研究(感覚器)センター)	
2. CHARGE症候群における内分泌異常とショック症状	13
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. DHPLC を用いた多発性奇形症候群包括的診断システムの構築に関する研究	16
小崎 里華(独立行政法人国立成育医療研究センター・内科系専門診療部・遺伝診療科)	
4. CHARGE 症候群の内分泌学的合併症	20
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. CHARGE 症候群類縁と考えられる男児同胞例の臨床像に関する研究	23
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. CHARGE症候群の次世代シーケンサーによる遺伝子解析	27
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. CHARGE 症候群の眼合併症と視覚障害に関する研究	31
仁科 幸子(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・眼科)	
8. CHARGE症候群患者由来のiPS細胞の樹立	34
赤松 和土(慶應義塾大学医学部生理学教室)	
9. メチマゾールによるCHARGE症候群モデルの作成	37
蔦池 勇太(東京女子医科大学 医学部 衛生学公衆衛生学(一)・環境毒性学・臨床疫学)	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	39
V. 研究成果の刊行物・別冊	

〔 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

CHARGE 症候群の成人期の病像の解明と遺伝子診断の臨床応用・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	加我君孝	独立行政法人国立病院機構東京医療センター 臨床研究(感覚器)センター	名誉臨床研究 センター長
	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 内科系専門診療部・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	科長
	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
	仁科幸子	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眼科	医員
	赤松和土 蔭池勇太	慶應義塾大学医学部生理学教室 東京女子医科大学 医学部 衛生学公衆衛生学(一)・ 環境毒性学・臨床疫学	講師 助教
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	技師
	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
	坂田英明	目白大学保健医療学部言語聴覚科	教授
	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

CHARGE症候群の成人期の病像の解明と遺伝子診断の臨床応用・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

本年度は CHARGE 症候群の注意すべき合併症として内分泌的合併症を検討した。下垂体由来ホルモンが低値である。性腺刺激ホルモン(ゴナドトロピン:LH と FSH)が低値であり、外性器の異常(小陰茎・停留精巣・陰唇低形成)、2 次性徴の遅れを認める。骨粗しょう症のリスクから、補充療法も考慮される。ストレスを誘因とする crisis に対しても注意を要する。遺伝子変異陽性例の眼科所見の検討では、CHD7 遺伝子変異の位置と眼異常の重症度に相関があることを示した。非典型例については確定診断のために CHD7 変異解析を行う必要性が示された。遺伝子診断法として次世代シーケンサーの活用が期待されるが、分析法やデータ処理の方法について最適化が必要であることが示された。新規治療法として人工内耳埋め込み手術の有効性が示された。平成 21 年に本研究班を開始して以来、3 例について実施し、全例に効果を得ている。今後、適応を明らかにして行く必要がある。臨床的研究に並行して、発症機転に関する基礎研究でも成果を挙げた。世界で初めて、CHARGE 症候群患者由来の iPS 細胞を作成し、さらに CHARGE 症候群の病変部位と推定されていた神経堤細胞を誘導することに成功した。この神経性細胞の特性を通じて神経堤細胞については上皮間葉転換の異常を有することを示唆した。ゼブラフィッシュをメチマゾールに曝露して、ヒトにおける後鼻孔閉鎖に相当する奇形である咽頭閉鎖の誘導に世界ではじめて成功した。いずれも、患者自身の細胞から正常細胞の作製して、細胞治療を目指す上で、不可欠な発見であった。

研究分担者

加我 君孝	独立行政法人国立病院機構東京医療センター 臨床研究(感覚器)センター 名誉センター長
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
仁科 幸子	独立行政法人国立成育医療研究センター 感覚器・形態外科部 眼科 医員
赤松 和土	慶應義塾大学医学部生理学教室 講師
蔣池勇太	東京女子医科大学医学部衛生学公衆衛生学(一) 助教

A. 研究目的

CHARGE症候群は多発奇形症候群であり、聴力障害・視覚障害という二重障害をともなうことがある。CHARGE症候群は1981年にその特徴所見の頭文字を取って命名された先天奇形症候群であり、従来その診断は複数の臨床的所見の評価による診断基準を元に行われていたが、2004年にその原因遺伝子としてCHD7が同定された以後は診断が確実になり、患者の臨床像や医学的および生活的な問題点がより明確にされた。本研究では、わが国におけるCHARGE症候群の患者の実態、特に遺伝子診断において確定診断されている症例の実態を多角的な視点から明らかにする事、より感度の高い遺伝子診断法を開発すること、動物モデルおよびIPS細胞の分析を通じてCHARGE症候群の発症機序を明らかにし、再生治療を含めた根治療法の端緒を得ることである。各分野の専門家により研究班を組織し、有機的に研究を展開した。また得られた研究成果や情報を患者や一般小児科医に公開した。治療的な観点からは、人工内耳埋め込み術の有効性を示すことができた。

B. 研究方法

1) CHARGE 症候群の患者の実態

CHARGE 症候群では性腺機能低下は重要な合併症とされるが実態は明らかにされていない。低ゴナドトロピン性性腺機能低下の状態である。性腺機能低下と無嗅覚を伴うため、Kallmann 症候群との関連が注目されている。最初の症状としては男児においては停留精巣、小陰茎で気づかれることが多い。女児では原発性無月経の例が多い。骨成熟が遅れるために思春期以降も身長増加が継続する例がある。甲状腺機能低下症の例もある。大阪府立母子保健総合医療センターでフォロー中の CHARGE 症候群患者の検査データ、診療録をまとめた。対象は 3 歳以上の 19 症例とした。甲状腺ホルモン、性腺刺激ホルモン、テストステロンの値を調べた。内分泌学的な中期的な管理の必要性とともに、ショック症状を呈する危険についても注意を喚起した。研究分担者は CHARGE 症候群 26 例中 2 例にショック症状を伴う急性 crisis を呈することを確認した。いずれも乳児期で、誘因としてストレスが考えられる。脳幹・下垂体系の機能異常が病態の一つに挙げられる CHARGE 症候群では頻度は低い、重篤な合併症であると考えられた。

2) 遺伝子変異陽性例の臨床症状の検討

CHD7 遺伝子変異陽性例を対象として、眼異常の合併率と臨床像、重症度を詳細に検討した。眼異常の合併率のほか、コロボーマの合併と範囲、黄斑部欠損、他の眼合併所見、併発症の有無、屈折異常、視力などを詳細に検索し臨床像を検

討した。眼異常の重症度を解剖学的所見によって Grade 1: 正常、Grade 2: コロボーマ(黄斑形成)、Grade 3: コロボーマ+黄斑欠損、Grade 4: コロボーマ+黄斑欠損+小眼球(小角膜)に等級化し、CHD7 遺伝子変異の領域・位置と重症度について検討を加えた。

遺伝子診断の有用性を認識させる同胞例を報告した。研究分担者は愛知県の心身障害者総合施設である心身障害者コロニー中央病院に通院する CHARGE 症候群の患児と家族に対してグループ外来を開催し、家族への医学的情報の提供の他、家族同士の交流の場を提供している。グループ外来参加者の中に従来の CHARGE 症候群の診断基準を満たす同胞例の患者を認めたが、発達遅滞の程度や顔貌から明らかに CHD7 変異例とは異なる同胞例について検討し、CHD7 陽性例とのその臨床像の異同について検討した。

3) CHARGE 症候群の遺伝子診断法の改良

次世代シーケンサーを用いた迅速かつ安価な CHD7 遺伝子診断法の開発のため、CHD7 遺伝子の全コーディングエキソンの PCR による増幅と、ランニングコストが安価な非蛍光型パーソナル次世代シーケンサーを組み合わせた手法による遺伝子変異探索法の実用性を検討した。CHD7 遺伝子の全 38 個のエキソンのうち、ノンコーディングエキソンであるエキソン1を除く 37 エキソンを 26 本の約 2kb の PCR 断片として増幅し、断片化してからライブラリーを作製し、パーソナル次世代シーケンサーとして半導体シーケンサーイオントレント PGM(Personal Genome Machine)を用いて、シーケンシングを行った。

4) CHARGE 症候群の新規治療法の開発

われわれはこれまでの研究班活動により、補聴器で聴覚の獲得が困難な CHARGE 症候群症例に対して人工内耳埋込術が有効であることを示してきた。

本年は加我研究分担者が中心となり、CHARGE 症候群に伴う内耳奇形例に対する人工内耳埋込術と EABR の重要性について検討した。内耳奇形の分類は、人工内耳手術が普及しつつある現在 Sennaroglu 等の分類が優れている。蝸牛軸の存在が重要で、ラセン神経節があれば EABR が記録できるはずである。われわれは short cochlea の CHARGE 症候群の 1 例の人工内耳手術を行い、術中 EABR でモニターし、その結果を術後のマッピングのために用意することが出来た 1 例を報告する。5歳6ヶ月で口唇口蓋裂あり、新生児聴覚スクリーニングで refer、ABR で左右とも無反応、CT で両側内耳奇形を認めた。国立成育医療センターで CHARGE 症候群と診断されている症例に対して手術を行った。

5) 患者由来のiPS細胞の分析

研究分担者赤松と奥野はCHARGE症候群患者由来のiPS細胞の作成と神経堤幹細胞への誘導および解析を行った。2症例の線維芽細胞からiPS細胞を樹立した。今回iPS化に用いた線維芽細胞の症例はともにCHD7に変異を有する典型的な症例で、10歳男児と10歳女児である。iPS細胞の樹立は山中らの報告したレトロウイルスベクターを用いた方法によりKlf4、Oct4、Sox2、c-Mycを遺伝子導入して行った。さらに神経堤細胞へ誘導した。

6) 新たな動物モデルの開発

CHARGE症候群の重要な症状は後鼻孔閉鎖と眼コロボーマである。これまでの研究により、抗甲状腺薬であるメチマゾールを母体が妊娠中に摂取した際に、後鼻孔閉鎖と眼コロボーマを含むCHARGE症候群に極めて類似した症状を呈していることを示した。メチマゾールの胎児への影響の解析を通じてCHARGEの発症機構の解明をめざした。ゼブラフィッシュをモデル動物として、受精卵に対するメチマゾール曝露の発生への影響について検討した。正常な受精卵に対して各種濃度のメチマゾールを含む飼育水を直ちに追加曝露した。曝露した受精卵は生存数を随時計数しながら、正常胚が自然孵化し始める受精後48時間まで飼育し、実体顕微鏡による外表の観察、顕微鏡による組織学的な観察を行った。

(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) CHARGE症候群の患者の実態

研究分担者の岡本は、3歳以上の男女19例のCHARGE症候群患者の内分泌学的な検討を行った。全例でLH・FSHともに感度以下であった。男性ではテストステロンを測定した例では全例低値を示した。感度以下の例もあった。今回検査したCS全例が低ゴナドトロピン性性腺機能低下症を伴っていると考えられた。3例で甲状腺機能低下症を認め、補充療法をうけていた。研究分担者黒澤は26例のCHARGE症候群患者の内分泌学的合併症を検討を行い、2例が内分泌学的予備能の不足に起因すると考えられるショック症状の既往を有することを示した。1例は歳時に噴門形成術および胃ろう造設術施行。術後、電解質異常、低血糖、痙攣等のショック症状を示していた。もう1例は1歳時に下痢、

喘鳴、チアノーゼを主訴に来院。到着時血液ガス分析PH7.168、PCO266.6、PO256.6、HCO323.6、BE-5.9、Sat85.6、および著しい低血糖を認め、ショック症状として以後重症管理を行った。

2) 遺伝子変異陽性例の臨床症状の検討

本年度は、CHD7遺伝子変異陽性例の眼合併症・視力について検討した。

4施設の総計19例38眼の遺伝子変異陽性例の眼合併症を解析した。眼異常(コロボーマ)の合併率は18例(94.7%)と高率で、両眼性17例(89.4%)、片眼性1例(5.3%)であった。眼合併症の内訳として、CHARGE症候群の代表的な眼所見とされている眼底の網脈絡膜コロボーマは18例(94.7%)と高率にみられ、視神経乳頭コロボーマの合併も18例(94.7%)と同等に高率であった。広汎なコロボーマによって黄斑欠損・部分欠損をきたしたものは13例(68.4%)に上った。黄斑欠損を認めた13例のうち、両眼性が8例(42.1%)と多く、片眼性は5例(26.3%)であった。CHD7遺伝子変異陽性例の眼合併症の臨床像として、視神経・黄斑を含む広汎な網脈絡膜コロボーマが高率に起こることが示唆された。視神経及び黄斑欠損が、多くの例に重篤な視覚障害をきたす原因である。しかし、全く異常のない1例、眼底にコロボーマを合併していても黄斑欠損のない5例の存在に注目すると、CHD7遺伝子の変異の位置によっては黄斑が形成され良好な視力が得られる。

他の眼合併症として、小眼球5例(26.3%)、小角膜4例(21.1%)の頻度が比較的高い。

よってCHD7遺伝子変異は全眼球に及ぶ先天異常をきたし得ることが示唆された。しかし、後眼部・眼底に比較して前眼部に及ぶ合併所見は少ない(表1)。虹彩-網脈絡膜コロボーマは胎齢6週頃の胎生裂閉鎖不全が主因とされているが、視神経乳頭や黄斑の欠損に加えて小角膜・小眼球を合併する広汎なコロボーマを形成した例では、CHD7遺伝子変異によって胎齢5~6週の初期に高度の発生異常をきたしたと推定される。

併発症は白内障1眼のみで、緑内障や網膜剥離など重篤な併発症は認めなかった。これは、低年齢の患者が多数を占めるためと考えられる。学童期~成人になるとコロボーマには裂孔原性網膜剥離を合併しやすく、小角膜・小眼球例には解剖学的に閉塞隅角緑内障を生じるリスクが高い。保有視機能を生涯にわたり維持するためには、継続した眼科受診、眼球打撲の防御など併発症に対する管理を徹底することが非常に重要である。

稀少先天異常疾患のグループ外来に参加した非典型例のCHARGE症候群同胞例についても詳細な検討を行った。同胞例は同一疾患

であると考えられるが、耳介形態の評価で第一子兄は診断基準を満たし第二子は従来の診断基準を満たさない。今後の解析が本症の理解に有用であろう。

3) CHARGE症候群の遺伝子診断法の改良
得られた配列データをCHD7参照配列にマッピングしたところ多くの配列がPCRで増幅した領域にマッピングされ高い特異性が確認された。次世代シーケンサーを使用することにより、CHARGE症候群の遺伝子診断を臨床応用できる可能性が示唆された。2つのプラットフォームを用いて解析を行った。迅速・安価に解析を実施しうることが示された。機種によっては、成城配列が同一塩基が繰り返す領域では繰り返し数の誤判定が多く、疑陽性となる場合がある可能性が示され、ソフトウェア処理などのrefinementが必要である。

4) CHARGE症候群の新規治療法の開発
人工内耳埋め込み術の対象の候補となった患者は純音聴力検査では左右とも平均聴力100dB、左右の閾値はほぼ同じであった。CTでshort cochleaで基底回転があった。MRIで蝸牛神経は右耳の方が正常に近く、右に比し左はやや細いため、手術は右耳を選した・低侵襲型の電極であるFlex Soft 24を選択した。術中のテレメトリーは電極でインピーダンス正常、ABRも電極正常で蝸牛神経が刺激されていることがわかった。最後にEABRを行った。奇数番の電極(1、3、5、7、9)を刺激して記録したところ、いずれもIII波、V波が出現した。

5) 患者由来のiPS細胞の分析
2例のCHARGE症候群患者からiPS細胞を樹立した。さらに1例について神経堤細胞を誘導することに成功した。Lorenz Studerらの方法のもとに、iPS細胞より神経堤細胞(CD57/CD271(+/+))を得た。これらの神経堤細胞について、コントロール-iPS細胞由来、CHARGE-iPS細胞由来のものが同等にSOX10を発現すること、多分化能をもつことを確認した。神経堤細胞については上皮間葉転換の異常を有することが示唆された。現在、これらを用いて遊走能についてin vitro, in vivo解析を行っている

6) 新たな動物モデルの開発
曝露胚が孵化まで生育し、かつ表現型が顕著に観察されるのは2 mMから10 mMの範囲であった。上記条件下で、①体表面および網膜のメラニン色素の減少、②前脳の細胞死と後脳の低形成、③脊索末端部の形態異常、④体節形成異常を伴う体幹の変形を同定した。光学顕微鏡による観察では、神経管背側の消失と神

経管不閉鎖を伴う極端な脳の低形成、脊索の形態異常、体節形成異常・咽頭閉塞を同定した。各奇形の出現には再現性があり、発生頻度は濃度に依存した。

D. 考察

1) CHARGE症候群の患者の実態
内分泌学的合併症について焦点をあてて検討した。CHARGE症候群では脳下垂体から分泌される性腺刺激ホルモン(ゴナドトロピン:LHとFSH)が低値である。このため、男児では小陰茎、停留精巣となる。女児では陰唇低形成で子宮や膣の内腔が未発達である。CHARGE症候群では思春期になってから二次性徴の遅れや、欠如がみられる。原発性無月経となる。CHARGE症候群では下垂体ホルモンを含む内分泌学的検査が重要である。特に甲状腺刺激ホルモン(TSH)の分泌不全があれば治療を早急に開始する必要がある。必要に応じて成長ホルモン(GH)、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)の分泌を検査する。低身長でGH分泌不全があれば、GH補充療法を行う。CHARGE症候群のほとんどの例では二次性徴は遅延する。女児13歳、男児14歳で思春期発来の特徴がなければ、中枢性の性腺機能低下症の可能性を考慮して、骨年齢や視床下部-下垂体-性腺機能を調べる。性ホルモンの不足は骨粗鬆症と関連することから、性腺機能低下症が明確であれば、治療(男児はテストステロン療法、女児も女性ホルモン療法)を行う。思春期を誘発させて維持することが目標である。
CHARGE症候群患者においてストレスを誘因とするcrisis(急性副腎不全等によるショック)が起こりやすいとの記載は成書に書かれていない。しかし、医学中央雑誌に記録される報告として本症候群の手術・麻酔における問題が非常に多くみられる。CHARGE症候群患者では脳幹および下垂体系に潜在的な機能不全を有しているとにかく考えると、重要な合併症と考えられる。CHARGE症候群患者は口唇口蓋裂や胃ろう造設など、多くの手術を要する事から、担当医師が念頭におくべき合併症と考えられた。

2) 遺伝子変異陽性例の臨床症状の検討
CHD7遺伝子変異陽性例の眼合併症・視覚障害の臨床像が明らかにし、CHD7遺伝子変異の位置と眼異常の重症度に相関を示した。この成果は国際的にによって価値のあるものと認められ、国際誌(American Journal of Medical Genetics, 2012)に報告することができた。今後、遺伝子診断およびOCT、ERGを利用した保有視機能の早期評価法を確立することによって、効果的な弱視治療・ロービジョンケア法を開発することが可能と考えられる。
グループ外来にに参加しているCHARGE類縁

疾患同胞例を経験した。同胞例は同一疾患と考えられ、いずれも発達遅滞の程度、成長障害の程度が他のCHD7変異例のCHARGE症候群患児に比べて重度である。兄は、本研究班の診断基準を満たすが、Blakeの診断基準では境界域であり、耳介形態をCHARGE耳と認めれば基準に合致する。弟は難聴はあるが耳介奇形を認めないためにいずれの診断基準も満たさないことになる。症例兄は耳小骨奇形がある一方、耳介の特徴は、耳輪の折れ曲がりがないことや対耳輪の形成の弱さにおいてCHD7陽性のCHARGE症候群との差異がある。Blakeの基準においてCHARGE耳を大項目にするのであればCHARGE耳の定義が必要であろう。本症例は第一子出産後に主治医からCHARGE症候群は常染色体優性遺伝形式の疾患で通常孤発例であるため次子再罹患の可能性はほとんどないと説明されて妊娠に臨んだ経緯がある。今後の遺伝子解析の結果が本ケースの臨床像の理解に有用であると考えられる。

3) CHARGE症候群の遺伝子診断法の改良
CHARGE症候群遺伝子診断の大部分は現在、国内では研究代表者の施設で行われている。過去の検査依頼数の多い施設からの検体については陽性率が高いが、依頼数の少ない施設からの検体の変異陽性率は低い。すなわち、過去の診断例の少ない施設における正診率は高くない可能性がある。このような状況下では、遺伝子診断による確定診断を提供できる意味は大きい。現在のサンガー法を用いた遺伝子診断法では、全国からの診断の要望に応えることは困難であるが、次世代シーケンシングを活用することにより状況の改善が期待できる。次世代シーケンサーにはいくつかの原理に基づくプラットフォームがあるため、コストと偽陽性率とのバランスを勘案する必要がある。

4) CHARGE症候群の新規治療法の開発
CHARGE症候群に伴う重度難聴に対する人工内耳埋め込み手術の報告は今のところ少なく、国内では岡山大学の1例とわれわれの3例のみである。岡山大学の1例の成果は十分ではないという報告であるが、われわれの2例は期待以上の成果である。今回の1例は3例目である。EABRを行ったこれまでの40例の幼小児の人工内耳手術では、EABR反応が出現した症例の聴覚獲得は良好であり、本症例は手術を経て間もないが、EABRのデータを人工内耳マッピングの参考にして取り組む予定である。良い成果を上げられるものと見込まれる。

5) 患者由来のiPS細胞の分析
世界で初めて、CHARGE症候群患者由来のiPS細胞を作成し、さらにCHARGE症候群の病

変部位と推定されていた神経堤細胞を誘導することに成功した。この神経性細胞の特性を通じて神経堤細胞については上皮間葉転換の異常を有することを示唆した。患者本人由来のiPS細胞を用いて臓器再生を試みる場合、上皮間葉転換を修正する過程を加える必要が示された。今後、患者自身の細胞から正常細胞の作製を目指す。CHARGE症候群では感覚器(視覚、聴覚、嗅覚)の異常を多くみとめるが、細胞移植による治療を検討することで患者および家族のQOLの向上が期待できる。

6) 新たな動物モデルの開発

ゼブラフィッシュをメチマゾールに曝露したところ咽頭閉鎖が同定された。咽頭閉鎖はヒトにおける後鼻孔閉鎖に相当する奇形である。メチマゾール曝露胚の研究により、CHARGE症候群の発症機転を明らかに出来ると期待される。メチマゾール曝露後にCHARGE症候群の原因遺伝子CHD7およびCHD7と協働して機能する遺伝子群の遺伝子発現の異常について系統的に分析することで、CHARGE症候群の発症機序を明らかにすることでできると期待される。さらに、患者由来iPS細胞から感覚器細胞を作成する細胞治療を行う際の、候補薬物の選定に役立つと期待される。

E. 結論

本年度はCHARGE症候群の注意すべき合併症として内分泌的合併症を検討した。下垂体由来ホルモンが低値である。性腺刺激ホルモン(ゴナドトロピン:LHとFSH)が低値であり、外性器の異常(小陰茎・停留精巣・陰唇低形成)、2次性徴の遅れを認める。骨粗しょう症のリスクから、補充療法も考慮される。ストレスを誘因とするcrisisに対しても注意を要する。

遺伝子変異陽性例の眼科所見の検討では、CHD7遺伝子変異の位置と眼異常の重症度に相関があることを示した。非典型例については確定診断のためにCHD7変異解析を行う必要性が示された。

遺伝子診断法として次世代シーケンサーの活用が期待されるが、分析法やデータ処理の方法について最適化が必要であることが示された。

新規治療法として人工内耳埋め込み手術の有効性が示された。平成21年に本研究班を開始して以来、3例について実施し、全例に効果を得ている。今後、適応を明らかにして行く必要がある。

臨床的研究と並行して、発症機転に関する基礎研究でも成果を挙げた。世界で初めて、CHARGE症候群患者由来のiPS細胞を作成し、さらにCHARGE症候群の病変部位と推定されていた神経堤細胞を誘導することに成功した。

この神経性細胞の特性を通じて神経堤細胞については上皮間葉転換の異常を有することを示唆した。ゼブラフィッシュをメチマゾールに曝露して、ヒトにおける後鼻孔閉鎖に相当する奇形である咽頭閉鎖の誘導に世界ではじめて成功した。いずれも、患者自身の細胞から正常細胞の作製して、細胞治療を目指す上で、不可欠な発見であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K. Ophthalmic features of CHARGE syndrome with CHD7 mutations. *Am J Med Genet A*. 158;514-518:2012

Masuda T, Takegoshi H, Kaga K: Development of the vestibular function of the bilateral inner ear malformation children. 28th Politzer Society Meeting 2011.9.28-10.1 Athens

Kurosawa K, Enomoto K, Tominaga M, Furuya N, Sameshima K, Iai M, Take H, Shinkai M, Ishikawa H, Yamanaka M, Matsui M, Masuno M. Spastic quadriplegia in Down syndrome with congenital duodenal stenosis/atresia. *Cong Anom* 2012 (in press)

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.

Tachibana Y, Aida N, Enomoto K, Iai M, Kurosawa K. A case of Sjögren-Larsson syndrome with minimal MR imaging findings facilitated by proton spectroscopy. *Pediatr Radiol* 2011 Jun 29. [Epub ahead of print]

Kurosawa K, Tanoshima-Takei M, Yamamoto T, Ishikawa H, Masuno M, Tanaka Y, Yamanaka M. Sirenomelia with a de novo balanced translocation 46,X,t(X;16)(p11.2;p12.3). *Cong Anom* (in press)

黒澤健司 確定診断とその進め方 遺伝子医学MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」 福嶋義光編 メディカルドゥ p58-9, 2011.7 大阪

黒澤健司 先天奇形、先天奇形症候群、

Dysmorphology 遺伝子医学MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」 福嶋義光編 メディカルドゥ p76-9, 2011.7 大阪

黒澤健司 予想外の結果が得られた場合: 次世代シーケンス 遺伝子医学MOOK別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」 福嶋義光編 メディカルドゥ p345-7, 2011.7 大阪

小崎里華 CHARGE症候群 大関武彦他 今日の小児の治療指針 医学書院 東京 2011 190

Natsuga K, Nishie W, Shinkuma S, Nakamura H, Arita K, Yoneda K, Kusaka T, Yanagihara T, Kosaki R, Sago H, Akiyama M, Shimizu H A founder effect of c.1938delC in ITGB4 underlies junctional epidermolysis bullosa and its application for prenatal testing. *Exp Dermatol* 20(1) 74-6 2011

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

Kondoh T, Kanno A, Itoh H, Nakashima M, Honda R, Kojima M, Noguchi M, Nakane H, Nozaki H, Sasaki H, Nagai T, Kosaki R, Kakee N, Okuyama T, Fukuda M, Ikeda M, Shibata Y, Moriuchi H. Donepezil significantly improves abilities in daily lives of female Down syndrome patients with severe cognitive impairment: a 24-week randomized, double-blind, placebo-controlled trial *Int J Psychiatry Med* 41(1) 71-89 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

Waga C, Okamoto N, Ondo Y, Fukumura-Kato R, Goto YI, Kohsaka S, Uchino S. Novel variants of the SHANK3 gene in Japanese autistic patients with severe delayed speech development. *Psychiatr Genet.* 2011 2011;21:208-11.

Sasaki K, Okamoto N, Kosaki K, Yorifuji T, Shimokawa O, Mishima H, Yoshiura KI, Harada N. Maternal uniparental isodisomy and heterodisomy on chromosome 6 encompassing a CUL7 gene mutation causing 3M syndrome. *Clin Genet.* 2010 Nov 20. On line

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.

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.

Hayashi S, Okamoto N, Chinen Y, Takanashi JI, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J. Novel intragenic duplications and mutations of CASK in patients with mental retardation and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia (MICPCH). *Hum Genet.* 2011 Jul 7. [Epub ahead of print]

Tsurusaki Y, Okamoto N, Suzuki Y, Doi H, Saito H, Miyake N, Matsumoto N. Exome sequencing of two patients in a family with atypical X-linked leukodystrophy. *Clin Genet.* 2011;80:161-6

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

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.

Naiki M, Mizuno S, Yamada K, Yamada Y, Kimura R, Oshiro M, Okamoto N, Makita Y, Seishima M, Wakamatsu N. MBTPS2 mutation causes BRESEK/BRESHECK syndrome *Am J Med Genet A.* 2011 Nov 21. [Epub ahead of print]

2) Niihori T, Aoki Y, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Kawame H, Inazawa J, Ohura T, Arai H, Nabatame S, Kikuchi K, Kuroki Y, Miura M, Tanaka T, Ohtake A, Omori I, Ihara K, Mabe H, Watanabe K, Niijima S, Okano E, Numabe H, Matsubara Y.

HRAS mutants identified in Costello syndrome patients can induce cellular senescence: possible implications for the pathogenesis of Costello syndrome *J Hum Genet.* 2011 Oct;56(10):707-15

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.

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

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.* 2011 Feb;56(2):110-24.

Nishina S, Kurosaka D, Nishida Y, Kondo H, Kobayashi Y, Azuma N. Survey of microphthalmia in Japan. *Jpn J Ophthalmol*, 2012, Feb 23.[Epub ahead of print].

Hosono K, Ishigami C, Takahashi M, Park DH, Hirami Y, Nakanishi H, Ueno S, Yokoi T, Hikoya A, Fujita T, Zhao Y, Nishina S, Shin JP, Kim IT, Yamamoto S, Azuma N, Terasaki H, Sato M, Kondo M, Minoshim S, Hotta Y. Two novel mutations in the *EYS* Gene are possible major causes of autosomal recessive retinitis pigmentosa in the Japanese population. *PLoS ONE*, 7(2). e31036, 2012

Shigeyasu C, Yamada M, Mizuno Y, Yokoi T, Nishina S, Azuma N. Clinical features of anterior segment dysgenesis associated with congenital corneal opacities. *Cornea*, 31 (3): 293-8, 2012

Nishina S, Suzuki Y, Yokoi T, Kobayashi Y, Noda E, Azuma N. Clinical features of congenital retinal folds. *Am J Ophthalmol*, 153 (1): 81-87, 2012

Nishina S, Tanaka M, Yokoi T, Kobayashi Y, Azuma N. Stereopsis after early surgery for bilateral congenital cataracts. *Transaction book of XIth ISA meeting*, in press

Yamasaki T, Kawasaki H, Arakawa S, Shimizu K, Shimizu S, Reiner O, Okano H, Nishina S, Azuma N, Penninger JM, Katada T, Nishina H. Stress-activated protein kinase MKK7 regulates axon elongation in the developing cerebral cortex. *J. Neurosci*, 31(46): 16872-16883, 2011

Suzuki S, Kim O-H, Makita Y, Saito T, Lim G-Y, Cho T-J, Al-Swaid A, Alrashees S, Sadoon E, Miyazaki O, Nishina S, Superti-Furga A, Unger S, Fujieda K, Ikegawa S, Nishimura G. Axial Spondylometaphyseal Dysplasia: Additional Reports. *Am J Med Genet A*, 155A(10): 2521-2528, 2011

Tanaka M, Nishina S, Ogonuki S, Akaike S, Azuma N. Nishida's procedure combined with medial rectus recession for large-angle esotropia in Duane syndrome. *Jpn J Ophthalmol*, 55(3): 264-267, 2011

Kobayashi Y, Yokoi T, Yokoi T, Hiraoka H, Nishina S, Azuma N. Fluorescein staining of the vitreous during vitrectomy for retinopathy of prematurity. *Retina*, 31(8): 1717-1719, 2011

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*, 155: 409-414, 2011

仁科幸子、中山百合、横井匡、東範行、近藤寛之、西田保裕. 小眼球症に伴う眼窩発育異常の画像評価. *眼科臨床紀要* 印刷中

仁科幸子、東 範行. 小児の緑内障治療. *あたらしい眼科* 29: 7-12, 2012

伊藤牧子、仁科幸子. 視力障害、斜視、弱視. *小児科診療* 75: 189-194, 2012

仁科幸子. 乳児の眼鏡. *あたらしい眼科* 28: 38-40, 2011

仁科幸子. 視力障害のフォローアップ. *周産期医学* 41: 1396-1398, 2011

初川嘉一、仁科幸子、菅澤淳、木村亜紀子、矢ヶ崎悌司、不二門尚、平野慎也. 小児の間欠性外斜視に対する後軀短縮術の治療成績:多施設共同研究. *日本眼科学会雑誌* 115: 440-446, 2011

Matsui T, Takano M, Yoshida K, Soichiro Ono, Fujisaki C, Matsuzaki Y, Toyama Y, Nakamura M, Okano H, Akamatsu W.: Neural stem cells directly differentiated from partially reprogrammed fibroblasts rapidly acquire gliogenic competency. *Stem Cells*. 2012 In press

Lee EK, Kim W, Tominaga K, Martindale JL, Yang XI, Subaran SS, Carlson, OD, Mercken EM, Kulkarni RN, Akamatsu W, Okano H, Perrone-Bizzozero NI, de Cabo R, Egan JM, Gorospe M. RNA-binding protein HuD controls insulin translation. *Molecular Cell*. 2012 Feb 29. [Epub ahead of print]

Yagi T, Ito D, Okada Y, Akamatsu W, Nihei Y, Yoshizaki T, Yamanaka S, Okano H, Suzuki N. Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. *Hum Mol Genet.* 2011 Dec 1;20(23):4530-9.

Effects of salubrinal on cadmium-induced apoptosis in HK-2 human renal proximal tubular cells. Komoike Y., Inamura, H., Matsuoka, M. *Arch. Toxicol.* 2012, 86: 37-44

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

CHARGE 症候群の難聴は内耳奇形を伴うことが多い。補聴器で聴覚の獲得が困難な症例では、人工内耳埋込術が適応となる。内耳奇形の分類は、人工内耳手術が普及しつつある現在 Sennaroglu 等の分類が優れている。蝸牛軸の存在が重要で、ラセン神経節があれば EABR が記録できるはずである。われわれは short cochlea の CHARGE 症候群の 1 例の人工内耳手術を行い、術中 EABR でモニターし、その結果を術後のマッピングのために用意することが出来た 1 例を報告する。

A. 研究目的

CHARGE 症候群に伴う難聴が内耳奇形のため重度のことが多い。補聴器の効果が乏しく、人工内耳手術が選択の一つである。①はたして人工内耳が効果があり得るか否かの判断が重要である、②術後の人工内耳のマッピング(電極ごとの電流の割り当ての調整)が可能か否かの判断も重要である。この 2 つの判断の参考のために、われわれは術中の EABR (Electric Auditory Brainstem Response) が重要と考えている。既に 40 例の EABR を経験してきた。その経験を重度難聴で short cochlea を呈する 5 歳 6 ヶ月の CHARGE 症候群の 1 例に応用する。

B. 対象と方法

対象: 5 歳 6 ヶ月。口唇口蓋裂あり。新生児聴覚スクリーニングで refer、ABR で左右とも無反応。心奇形なし。CT で両側内耳奇形の診断。国立成育医療センターで CHARGE 症候群と診断される。

方法: 術前の純音聴力検査、側頭骨の CT、MRI、補聴器装用。人工内耳は MED-EI

社の Pulsar。電極は Flex Soft 24。術前の人工内耳の他覚的評価はテレメトリー、ATR、EABR を行う。

(倫理面への配慮)

症例研究にあたって、母親より Informed Consent をとった。

C. 結果

純音聴力検査では左右とも平均聴力 100dB、左右の閾値はほぼ同じ。CT で short cochlea で基底回転あり。MRI で蝸牛神経は右耳の方が正常に近く、右に比し左はやや細いため、手術は右耳を直前に選択。Flex Soft 24 を選んだ。低侵襲型の電極である。手術は平成 24 年 3 月に東京医療センターで行った。術中のテレメトリーは電極でインピーダンス正常、ABR も電極正常で蝸牛神経が刺激されていることがわかった。最後に EABR を行っ

た。奇数番の電極(1、3、5、7、9)を刺激して記録したところ、いずれも III 波、V 波が出現した。

D. 考察

CHARGE 症候群に伴う重度難聴に対する人工内耳手術の報告は今のところ少なく、国内では岡山大学の 1 例とわれわれの 3 例のみである。岡山大学の 1 例の成果は十分ではないという報告であるが、われわれの 2 例は期待以上の成果である。今回の 1 例は 3 例目である。EABR を行ったこれまでの 40 例の幼小児の人工内耳手術では、EABR 反応が出現した症例の聴覚獲得は良好であり、本症例は手術を経て間もないが、EABR のデータを人工内耳マッピングの参考にして取り組む予定である。良い成果を上げられるものと見込まれる。

E. 結論

術中の EABR は、内耳奇形があるが CHARGE 症候群である本症例で正常反応を示した。今後の聴覚の獲得の参考になる。EABR のルーチン化をすすめたい。

F. 研究発表

1)国内

レビュー等の発表 1 件

2)海外

口頭発表

1 件

論文発表

加我君孝、竹腰英樹、新正由紀子、内山勉：聞こえと言葉の発達：総論。外来小児科

2011.7.20;14(2):104-11

学会発表

Masuda T, Takegoshi H, KagaK : Development of the vestibular function of the bilateral inner ear malformation children. 28th Politzer Society Meeting 2011.9.28-10.1 Athens

G. 知的所有権の出願・取得状況

(予定も含む)

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

CHARGE 症候群における内分泌異常とショック症状

分担研究者 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

研究要旨

CHARGE症候群の生命予後は合併症の重症度によるが、適切な管理がされれば良好である。しかし、合併症が多岐に渡り、治療・管理に専門的知識が必要となる。近年の医療の経験の蓄積から、脳神経麻痺、内耳異常、視床下部一下垂体異常による内分泌学的異常、行動異常などが児の医療・健康管理上重要な症状として明らかになっている。こうした先天奇形症候群では、稀な合併症が合併症と気付かれず、基礎疾患と症状が独立した病態と認識されることがしばしばある。今回、我々は当センターでフォローしているCHARGE症候群26例中2例にショック症状を伴う急性crisisを既往として確認した。いずれも乳児期で、誘因としてストレスが考えられる。脳幹・下垂体系の機能異常が病態の一つに挙げられるCHARGE症候群では極めて稀ではあるものの、重篤な合併症としてみなすべきかもしれない。実態の把握と対策が課題である。

研究協力者

石川亜貴

(北海道立子ども総合医療・療育センター)

朝倉由美 (神奈川県立こども医療センター)

A. 研究目的

CHARGE症候群(以下CHS)はコロボーマ(C)、先天性心疾患(H)、後鼻孔閉鎖(A)、成長障害・知的障害(R)、外陰部の異常(G)、耳の奇形、難聴、内耳奇形(Eを特徴とする先天奇形症候群である。Pagonらにより疾患概念が確立後、2004年にCHD7が責任遺伝子として同定された。ほとんどの症例が孤発例で、常染色体優性遺伝形式をとる。CHSの生命予後は合併症の重症度によるが、適切な管理がされれば良好である。しかし、合併症が多岐に渡り、多くの診療科にまたがる治療・管理が必要となる。特に新生児期～乳児期は心疾患の管理、および外科的修復、後鼻孔閉鎖や気道の異常による呼吸障害、哺乳摂取障害の管理(経腸栄養、胃瘻造設)が必要であり、児および家族の不安や負担は大きい。また、Pagonらによって提唱された古典的症状に加えて、近年の医療の経験の蓄積から、脳神経麻痺、内耳異常、視床下部一下垂体異常による内分泌学的異常、行動異常などが児の医療・健康管理上重要な症状として明らかになってきている。こうした先天奇形症候群では、稀な合併症が合併症と気付かれず、基礎疾患と症状が独立した病態と認識されることがしばしばある。しかも奇形症候群を経験する医療従事者は小児病院を除くと極めて少ないのが実際である。今回、我々は当センターでフォローしているCHS26例について臨床病歴をまとめ、既往歴としてショック症状を有す2例を検出した。同様症状をきたした例は文献上1例のみであるが、疑い例が数例

存在する可能性がある。内分泌学的評価と関連して検討を加えた。

B. 研究方法

対象は2009年12月現在、当センター受診歴のあるCHS26例(男性10例、女性16例)とした。診断は臨床症状の組み合わせからVerloes(2005)、Blakeら(1998)の診断基準を参考とし、総合的にDysmorphologyを専門とする遺伝科医師によってなされている。また26例中13例はCHD7遺伝子解析を行い、うち10例が変異陽性であった。診療録により後方視的に臨床病歴をまとめた。

(倫理面への配慮)

症例をまとめるにあたって、すべての個人情報潜在化され、解析は一般診療の範囲内でなされた。

C. 研究結果

26例の出生状況、診断年齢、合併症および医療管理状況などは、既に昨年度報告書にまとめたとおりで(黒澤健司 平成22年度難治性疾患克服研究事業「CHARGE症候群の成人期の病像の解明と遺伝子診断の臨床応用・iPS細胞の確立研究」分担報告書)、現在投稿中である(石川亜貴ほか、日児誌)。最終受診時年齢は7～28歳(中央値:12歳)であった。Verloesの診断基準に従うと典型例が23例、非典型例が3例であった。また26例中13例(典型例11例、非典型例2例)についてCHD7遺伝子解析を行っており、13例中10例

にヘテロ接合性変異を認めている。

内分泌科の受診歴のある症例は17例であった。低ゴナドトロピン性性腺機能低下（外陰部低形成、思春期遅延を含む）は、評価可能であった19例中15例（男性7例、女性8例）（79%）に認めた。15例中、ホルモン治療を行っているのは男性2例、女性4例の6例であった。また中枢性成長ホルモン分泌不全に対しGH補充を行っている症例が3例、中枢性甲状腺機能低下症にて甲状腺ホルモンの補充を行っている症例は4例であった。

症例提示

症例1： 在胎39週、出生体重3300g、身長50.5cm。出生時に口唇口蓋裂、停留精巣あり。7ヶ月時に口唇裂形成術施行。10ヶ月時に胃食道逆流に対してEDチューブ留置。2歳時に噴門形成術および胃ろう造設術施行。術後、電解質異常、低血糖、痙攣等のショック症状あり。5歳時に内分泌科受診し、中枢性の甲状腺機能低下を指摘され、甲状腺ホルモン補充治療開始。12歳時点で、身長136.5cm、体重32.2kg。頭部MRIでは両側三半規管の無形成に近い低形成と斜台下部を構成するbasiocciputは低形成を確認。

症例2： 出生後の精査により両視神経網脈絡膜部分欠損、両大血管右室起始（DORV）+Ebstein奇形を認め、他に停留精巣、小陰茎、高度難聴、喉頭軟化症、口唇口蓋裂、甲状腺機能低下を認めた。1歳時に下痢、喘鳴、チアノーゼを主訴に来院。到着時血液ガス分析 PH7.168, PCO₂66.6, PO₂56.6, HCO₃23.6, BE-5.9, Sat85.6、および著しい低血糖を認め、ショック症状として以後重症管理を行った。

D. 考察

現在定期医療管理中の26例のCHS症例のうち、2例にショック症状を伴う著しい急性症状の既往を確認した。症例1は噴門形成術後で、症例2は下痢あるいは気道感染がストレスとして誘因となっていることが推測される。いずれも1-2歳の幼児期である。奇形症候群の医療管理を網羅したManagement of Genetic Syndromes (Cassidy SB, Allanson JE, 2010)の本症候群の章にも、こうしたストレスによるショック・急性症状の記載はない。

Jamesらは、低ゴナドトロピン性性腺機能低下症とACTH分泌不全を伴い、結果として副腎機能不全による低血糖と電解質異常を出生後間もなくきたした1男児例を報告している (James et al., Am J Med Genet 2003;117A:177-180)。一方で、Jamesらの症例に認められるような明確な副腎機能不全によるcrisisではないものの、急激な全身症状の変化をきたした例の報告は本邦でも散見される (西田勝ほか、大阪府立母子保健総合医療センター雑誌、1999;14:92-98；鈴木俊輔ほか、脳と発達 2008;41:69.)。

CHSの内分科学的常は中枢性の機能異常に由来し、かつ脳幹部および下垂体系の形態的異常を

伴うことは既に我々の研究グループでも明らかにしてきたことである (Asakura et al., 2008; Fujita et al., 2009)。この脳幹・下垂体系の症状はCHSの医療管理において極めて重要である。しかし、今回明らかになったストレスを誘因とするcrisis（急性副腎不全等によるショック）の記載は成書にも記載がないが、ストレスに脆弱であり脳幹および下垂体系の機能不全をきたしやすいCHSではその合併は合理的説明が可能であるかもしれない。つまりショックcrisisとCHSは独立した2つの病態というより脳幹・下垂体系機能不全の1症状とみなすべきかもしれない。現時点では、症例が極めて限られるため今後の症例蓄積が必要である。

CHSは、口唇口蓋裂や胃ろう造設など、多くの手術が必要であり、他疾患での医療管理以上にストレスが加わる。医学中央雑誌に記録される報告として本症候群の手術・麻酔における問題が非常に多くみられる。発生頻度が極めてまれなものの注意すべき問題であり、今後実態の把握と対策が課題にあげられる。

E. 結論

CHS26例中2例にショック症状を伴う急性症状が既往として確認された。いずれも乳児期で、誘因としてストレスが考えられる。脳幹・下垂体系の機能異常が病態の一つに挙げられるCHSでは極めて稀な頻度ではあるものの、重篤な合併症としてみなすべきかもしれない。実態の把握と対策が課題である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kurosawa K, Enomoto K, Tominaga M, Furuya N, Sameshima K, Iai M, Take H, Shinkai M, Ishikawa H, Yamanaka M, Matsui M, Masuno M. Spastic quadriplegia in Down syndrome with congenital duodenal stenosis/atresia. Cong Anom 2012 (in press)
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.
Tachibana Y, Aida N, Enomoto K, Iai M, Kurosawa K. A case of Sjögren-Larsson syndrome with minimal MR imaging findings facilitated by proton spectroscopy. Pediatr Radiol 2011 Jun 29. [Epub ahead of print]

Kurosawa K, Tanoshima-Takei M, Yamamoto T, Ishikawa H, Masuno M, Tanaka Y, Yamanaka M. Sirenomelia with a de novo balanced translocation 46,X,t(X;16)(p11.2;p12.3). Cong Anom (in press)
黒澤健司 確定診断とその進め方 遺伝子医学 MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」 福嶋義光編 メディカルドゥ p58-9, 2011.7 大阪
黒澤健司 先天奇形、先天奇形症候群、Dysmorphology 遺伝子医学 MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」 福嶋義光編 メディカルドゥ p76-9, 2011.7 大阪
黒澤健司 予想外の結果が得られた場合：次世代シーケンス 遺伝子医学 MOOK 別冊「遺伝カウンセリングハンドブック」 福嶋義光編 メディカルドゥ p345-7, 2011.7 大阪

学会発表

黒澤健司、石川亜貴、和田敬仁、小坂仁 Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)の臨床応用 第53回日本小児神経学会 2011.5.26-27. 横浜

Kurosawa K, Enomoto K, Furuya N, Ishikawa A, Tominaga M, Wada T, Masuno M, Kuroki Y. Estimation of prevalence of malformation syndrome by population-based birth defects monitoring system in Japan. European Human Genetics Conference 2011. 2011.5.28-31. Amsterdam RAI, The Netherlands.

富永牧子、榎本啓典、石川亜貴、古谷憲孝、吉橋博史、黒澤健司 全サブテロメア MLPA 法による多発奇形/精神遅滞 (MCA/MR) の変異スクリーニング 第114回日本小児科学会 2011.8.12-14. 東京

黒澤健司、榎本啓典、古谷憲孝、石川亜貴、富永牧子、和田敬仁、升野光雄、黒木良和 先天異常モニタリング調査および遺伝外来受診例による先天奇形症候群発生頻度の推定 第114回日本小児科学会 2011.8.12-14. 東京

島貴史、榎本啓典、古谷憲孝、黒澤健司、竹内麻希、関藍 先天代謝異常症を明らかにした、横紋筋融解症を繰り返した染色体複雑構造異常の1例 第114回日本小児科学会 2011.8.12-14. 東京

石川亜貴、富永牧子、榎本啓典、古谷憲孝、上田

秀明、康井制洋、黒澤健司 高分解融解曲線分析法 (HRM) による Marfan 症候群原因遺伝子 FBN1 変異スクリーニング

黒澤健司、塩味正栄、浜之上聡、永井淳一、齋藤敏幸、榎本啓典、富永牧子、古谷憲孝、升野光雄、気賀沢寿人 del(1)(p22.3p22.1)により Diamond-Blackfan 症候群と好中球減少を呈した1女性例. 第56回日本人類遺伝学会 2011.11.9-12. 千葉

石川亜貴、田中藤樹、重富浩子、続晶子、黒澤健司 頭蓋骨早期癒合を呈した7番染色体短腕中間部欠失の女兒例. 第56回日本人類遺伝学会 2011.11.9-12. 千葉

榎本啓典、菅原祐之、富永牧子、古谷憲孝、安達昌功、水野誠司、山内泰子、升野光雄、近藤達郎、土井庄三郎、水谷修紀、黒澤健司 3q22.3を含む染色体部分欠失に起因するBPESの臨床像. 第56回日本人類遺伝学会 2011.11.9-12. 千葉

黒澤健司、富永牧子、古谷憲孝、和田敬仁、小坂仁、室谷浩二 新しい染色体微細構造異常—15q24欠失症候群の1男児例. 第313回日本小児科学会神奈川県地方会 2011.11.19. 横浜

黒澤健司 希少難病と小児病院遺伝科 公開シンポジウム・成果発表会「難治性疾患の克服に向けて」 2011.7.10. 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし