

201128285B

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22年度～平成23年度 総合研究報告書

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22年度～平成23年度 総合研究報告書

研究代表者 小崎健次郎

平成24（2012）年 3月

目 次

I. 総合研究報告書	
1. 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 ……	3
小崎 健次郎(慶應義塾大学・医学部・臨床遺伝学センター)	
2. 人工内耳埋込術を行った CHARGE 症候群の 2 例の新たな聴覚獲得について ……	13
加我 君孝(東京医療センター・臨床研究(感覚器)センター)	
3. CHARGE 症候群の発生頻度ならびに医療管理 ……	16
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)	
4. 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 ……	19
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)	
5. CHARGE 症候群の有病率、年齢別臨床像の検討と遺伝カウンセリング ……	25
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)	
6. CHARGE 症候群の健康管理および家族支援に関する研究 ……	34
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)	
7. CHARGE 症候群の次世代シーケンサーによる遺伝子解析 ……	38
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)	
8. CHARGE 症候群の眼合併症と視覚障害に関する研究 ……	43
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)	
9. CHARGE 症候群患者由来の iPS 細胞の樹立 ……	48
赤松 和土(慶應義塾大学医学部生理学教室)	
10. メチマゾールによる CHARGE 症候群モデルの作成 ……	51
蔣池 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)	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……	53
III. 研究成果の刊行物・別冊	

[I]

総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

総合研究報告書

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

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。本研究班では、遺伝子診断で確定診断された症例を中心に、CHARGE症候群患者の医療的あるいは療育の現状について多角的に調査するとともに、新たな治療法の確立を目指した。人工内耳により聴覚を獲得した2症例について記載した。医療管理記録に基づき、26例のCHARGE症候群の自然歴をまとめた。CHARGE症候群の患者・家族を対象として、自由記載として、アンケートを行い、60名の回答結果を集計した。健康手帳を作成した。次世代シーケンサーによる遺伝子解析法を最適化した。CHARGE症候群における眼科的合併症と視覚障害について4施設の総計21例42眼を調査した。また患者由来のiPS細胞を確立し、さらに神経堤系の細胞を誘導することに成功したことから、発達予後を改善しうる薬剤のライブラリー・スクリーニングが期待される。

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

蔭池勇太 東京女子医科大学医学部衛生学公衆衛生学(一) 助教

研究協力者

坂田 英明 目白大学保健医療学部言語聴覚科 教授

吉橋 博史 東京都都立小児総合医療センター 臨床遺伝科 医長

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

奥野 博庸 慶應義塾大学医学部小児科学教室 医師

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) 人工内耳埋込術による聴覚の獲得

CHARGE症候群では高度の先天性難聴を伴うことが多い。原則的に補聴器の装用をすすめ、早期の聴覚学習をろう学校で受けてきた。CHARGE症候群の難聴は内耳奇形が多く、蝸牛神経もどの程度残存しているかわからないことが多い。人工内耳は蝸牛神経を電気刺激することで音の神経信号を脳に伝えるからである。一方、CHARGE症候群はその名の通りいくつもの先天異常からなるもので、その中でRすなわちRetardationを合併していると人工内耳の聴覚言語学習が影響を受ける可能性がある。人工内耳手術が始まった時の基準に中枢神経系に問題のある症例は避けるようにガイドラインに記載があった。しかし、わが国は1994年に人工内耳手術が保険適用になってからすでに約20年が過ぎ、特にこの5年間ほどはそれまでのガイドラインに挑むような手術経験を経て新たな蓄積をしている。その代表的な例が①内耳奇形に対する手術で、良い成果があげられる例の増加、②知的発達にある程度の遅れがあっても補聴器よりも良い効果がある例が少なくないことがあげられている。このことはCHARGE症候群にも新たな聴覚学習への期待が持てるようになったことを示している。わが国では岡山大学の1例の報告がある。われわれは新たに2例に対して人工内耳手術を実施した。

2) 自然歴

医療管理記録に基づいたCHARGE症候群の自然歴と医療サービスの提供状況について、神奈川地域および大阪地域において現状把握を行った。[神奈川地域] 対象は神奈川県立こども医療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。

[大阪地域] 同様に、継続診療中の18例（年齢0歳から24歳・男10名、女8名・Verloes基準による典型例数14/18例、遺伝子解析実施15/18例）について臨床的検討をおこなった。

3) 患者家族会からの意見の集約

生活面から見た患者・家族のニーズは十分に明らかにされていない。本研究ではCHARGE症候群の患者・家族を対象として、自由記載として、アンケートを行い、60名の回答結果を集計した。テキストマイニングの手法を用いて、分析した。専門用語を単語もしくは複合語から生成する。複合語を構成する最小単位の名詞を特に「単名詞」と呼ぶ。まず、形態素解析ソフト「茶筌」により日本語文（自然言語）を単語単位に分割し品詞を付与した。次に形態素解析ソフトの出力をから専門用語（キーワード）を切り出した。複数の単語からなる専門用語を抽出し、その文章における重要度の計算をおこなった。専門用語を構成する単名詞が他の単名詞と接続して複合語をなすことが多いほど、重要な概念を示すと判定した。実際には、「専門用語自動抽出システム」は東京大学情報基盤センター図書館電子化部門中川裕志教授および横浜国立大学環境情報研究院森辰則助教授が共同で開発し、東京大学OPCAが運営するウェブサイト「言選Web」<http://gensen.dl.itc.u-tokyo.ac.jp/gensenweb.html>を使用した。アンケートのテキストデータの中に含まれる特徴的なシンボルをアルゴリズムを使って見出した。東京大学の大澤らが提唱した「チャンス発見の二重螺旋プロセス」をもとに設計されたデータマイニング・フレームワークPolarisを使用した。KeyGraphというマイニング・アルゴリズムによりキーワード抽出を行った。

4) 健康管理および家族支援に関する研究

CHARGE症候群はその合併症が多岐にわたるために診療が臓器別に偏りやすく成長発達を含めた包括的な情報が得られにくい。患者家族への最新情報の提供および患者家族間の交流を目的とする取り組みとして、愛知県コロニー中央病院に通うCHARGE症候群患者を対象にグループ外来を企画した。

5) 健康手帳作成とその活用

CHARGE症候群の健康管理に役立てるために健康手帳を作成した。年代別のガイドラインを作成し、実際の外来指導で使用した。

6) 次世代シーケンサーによる遺伝子解析
次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断法の最適化のため、ゲノム上の特定領域を選択的に濃縮した。患者由来ゲノムDNAを断片化するとともに、ゲノムの標的領域に相補的な配列を持つオリゴシーケンスを作成し、エキソン領域のDNAを選択的に回収した。回収後のゲノムDNAをアダプターにより連結し、PCR法増幅後、シーケンシングを行った。その後、研究協力者 清水らが開発した、自動化コンピュータプログラム群 (いわゆるパイプライン) を用いて、粗DNA配列データをヒトゲノム参照配列にマッピングし、塩基置換、欠失、挿入の同定を行った。マッピングによって得られた塩基置換リストとdbSNPsと1000人ゲノムプロジェクトのデータに含まれる既知の塩基置換のアノテーションを比較することで、新規変異の同定を試みた。

7) 眼合併症と視覚障害に関する研究
CHARGE症候群には種々の眼合併症を伴うが、障害の程度には個人差があり、その病態は明らかでない。我々はCHD7遺伝子変異による眼合併症について検討するため多施設研究を実施した。
【対象と方法】国立成育医療研究センター、大阪府立母子保健総合医療センター、神奈川県立こども医療センター、愛知県心身障害者コロニー中央病院に受診したCHARGE症候群のうち、慶應大学でCHD7遺伝子変異陽性と診断された19例38眼を対象とした。

8) 患者由来のiPS細胞の樹立
インフォームド・コンセントを得た後CHARGE症候群2症例(男児1例、女児1例)より線維芽細胞を樹立した。作成した線維芽細胞にレンチウイルスベクターを用いてマウスレトロウイルス受容体(Slc7a1)を発現させることで、レトロウイルスの感染効率を上げる。その後レトロウイルスベクターにより4遺伝子(Sox2, Oct3/4, Klf4, c-Myc)を導入した。遺伝子導入されたことを見るため4因子に加えてds-red遺伝子を同時に遺伝子導入した。

9) メチマゾールによるCHARGE症候群モデルの作成
甲状腺機能亢進症の治療薬であるメチマゾールに胎児期に曝露すると後鼻腔閉鎖、乳頭低形成が発症する。また研究代表者の小崎らはメチマゾール曝露後の虹彩・網膜欠損を見出した。このよう

に、メチマゾール曝露後の先天異常は、CHARGE症候群に極めて類似する。本研究ではゼブラフィッシュをモデル動物として用いて、メチマゾール曝露が初期発生に与える影響について検討し、CHARGE症候群の発症機序の解明を試みた。受精直後のゼブラフィッシュの卵を、様々な濃度のメチマゾールを含む飼育水中で飼育し曝露した。曝露した幼生の外表的な表現形観察に加えて、横断切片のHE染色による組織形態観察、さらにTUNEL法を用いたアポトーシスの検出を行った。

C. 研究結果

1) 人工内耳埋込術を行ったCHARGE症候群の2例の新たな聴覚獲得について
症例1は3歳4ヶ月で手術を受けた。補聴器装用下で約80dB(左右差なし)であり、言語発話の発達も思わしくなかった。コクレア社Nucleus24インプラントの電極は18個挿入できた。術後X-Pにて蝸牛3/4回転に電極が挿入されていることが確認された。音入れ後約2ヶ月時の人工内耳装着閾値は45dBであった。日常生活では多語文の発話も見られるなど、発話能も向上し、術後2年が過ぎ人工内耳装用により良好な聴覚活用が可能となった。

症例2は8歳で手術を施行した。難聴に対して両耳に補聴器装用下でろう学校で教育を受けてきた。しかし音に対する反応は乏しく、COR、ABR、AASR いずれも無反応。8歳時に右人工内耳埋込術を行った。音入れ後、聴覚反応が出現しつつある。患者の後側で楽器音を鳴らすと手を挙げるようになった。2症例とも内耳奇形があり、蝸牛の回転は基底回転のみと考えられるが、人工内耳手術をして初めて蝸牛神経は存在し、中枢聴覚伝導路に聴覚神経信号を伝えることが明らかになった。
以上の2症例からCHARGE症候群は重度の難聴がある場合であっても人工内耳手術が候補になることを示している。
なお、2例とも嗅覚機能が欠損しており、今後聴覚だけでなく嗅覚障害についても新たな研究法を必要とする。

さらに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。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。

2) 自然歴

[神奈川地域] 診断時年齢は幅広く、約3割が就学以降に診断されていた。濃厚な医療管理を必要とする症例が多く、喉頭軟化症、摂食嚥下障害、胃食道逆流の合併の有無や重症度が大きく影響していた。三半規管形態異常、嗅球・嗅溝形成異常の合併頻度は高く、画像検査は有用であった。

CHARGE 症候群は、視覚・聴覚障害により精神発達の評価は困難であるが、約8割の症例がなんらかの手段を使ったコミュニケーションが可能であり、早期に視覚や聴覚の評価を行い、個々の状況に合わせた医療・生活管理が、発達の可能性を引き出すためには重要と考えられた。運動発達に関しては、乳児期～小児期の粗大運動の遅れは筋緊張低下や視力障害、平衡感覚の異常などからCHSのほぼ全例に認めるとされている。今回の結果では、26例中21例が2～8歳までに独歩を獲得し、独歩獲得年齢の平均は4.4歳であり、運動発達の遅れは明かであった。股関節臼蓋形成不全や低酸素性虚血性脳症後遺症のため独歩が獲得できない症例以外に、整形学的、神経学的な理由がないにもかかわらず、学童期になっても独歩不可能の症例を2例認め、運動発達遅滞が重度の症例も存在していた。

精神発達については、視覚障害、聴覚障害の合併が多いため、十分な評価が困難であり判断には注意を要する。また知的障害はCHSに必ず認める所見ではないと考えられている。今回、知能検査が施行された12例のIQ/DQは<20～48と、重度～中等度の精神遅滞と判定されており、聴覚障害のため言語性IQ/DQが低い傾向にあった。しかし、動作性のみでIQ100と正常な症例、ワープロ3級取得した症例などもあり、能力に大きな差が存

在した。正確な知能の評価は難しいものの、これらの症例の精神発達は境界領域～軽度であると考えられた。また10例が手話(+音声)を、9例は簡単なジェスチャー・サインを用いて、コミュニケーションが可能であり、身辺自立を達成できている症例もいた。

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。

[大阪地域] 眼コロボーマ15/18例、難聴・中耳外耳の奇形と特徴的な顔貌は全例に認められた。先天性心疾患は14/18例、後鼻孔閉鎖/狭窄は3/18例に認められた。CHD7 遺伝子解析実施の12/14例に変異を検出した。年齢層別に臨床像を検討したところ、乳・幼児期の成長障害(身長-2SD以下)は6/10例、哺乳・摂食障害6/10例、学童期の摂食障害も4/5例であった。思春期以降の3例では性腺機能不全で骨端線閉鎖が遅延し、身長増加が持続する傾向があった。知的発達においては、有意語ないしゼスチャーで意思疎通ができる幼児・学童8/12例であった。保育所・聾学校・特別支援校等へ10/12例が就学、思春期以降2/3例が作業所へ就業していた。

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。

遺伝カウンセリングは出生直後の臨床診断時や確定診断のための遺伝子検査前後に行われ、年齢や臨床像によって課題が異なった。年長例の状況は年少例の診療に重要な情報源となった。CSは多彩な合併症を伴うために正確な診断と専門各科の連携医療が重要であり、診断時の遺伝カウンセリングや的確な情報提供が重要である。

研究分担者の水野は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た。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。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) 患者家族会からの意見の集約

重要語の自動抽出を通じて、患者家族のニーズに関するキーワードが明らかになった。特にCHARGE症候群の重要な臨床的特徴である「重複障害」に関する訴えが多く聞かれた。KeyGraph分析では「親」・「子」など家族を中心とするキーワードのクラスター、「重複障害」・「負担」・「学校」・「支援」など生活に関するキーワードのクラスター、「子ども」・「成長」・「将来」・「不安」などの将来像に関するクラスターが認められた。これとは別に家族の会に関するクラスターが認められた。またこれらのクラスターの間には「医療」というキーワードの他に「教育」「社会」などのキーワードが認められ、支援の必要性が示された。「情報」「目標」「参加」と直接リンクのあるキーワードとして「(家族の)会」が示されていることから、難病支援における患者家族会の重要性が示唆された。

(図1)

4) 健康管理および家族支援に関する研究

CHARGE症候群グループ外来を実際に開催してその意義や問題点について検討した。グループ外来は医療機関主催の医療者と患者家族の集まりであり、参加者の事後質問紙では、患者家族が負担無く参加できる点、病態や治療、療育について専門職に質疑が可能な点、また稀少疾患の患者

同士の交流の契機となる点でその満足度が高かった。一方十数家族の数時間の集まりのために費やす準備期間、関わるスタッフの数は多大であり、採算を考慮した一般病院の診療では行い難い面もあり、稀少疾患のグループ外来が普及するためには制度的な支援も望まれると考えられた。

また同じく情報提供を目的として当研究班としてCHARGE症候群のウェブサイトを作成し公開し、疾患概要や患者家族向けの健康管理指針を掲示した。

5) 健康手帳作成とその活用

CHARGE症候群の長期予後に関する文献資料は乏しく、まだ不明な点も多い。今後の研究の進展や内外の文献資料、他の専門医師、他職種や患者家族の意見を取り入れて内容を適宜更新し、有用性を高める予定である。

6) 次世代シーケンサーによる遺伝子解析

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CHD7のエキソン領域近傍にマッピングされ高い特異性が確認された。CHD7タンパクと化学的に相互作用するPBAF複合体(polybromo- and BRG1-associated factor-containing complex)を構成する遺伝子群の遺伝子は、CHARGE症候群の候補遺伝子と考えられる。本研究でとりあげたゲノム上の特定領域の選択的濃縮技術はPBAFを含む多数の遺伝子の網羅的な解析の際に有用であると期待される。解析全プロセスの自動化を通じて、検査の省力化を実現した。本研究班終了後も全国の小児専門医療機関からの依頼に応じて、遺伝子診断を提供が可能と期待される。

なお次世代シーケンサーの機種によっては、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。

7) 眼合併症と視覚障害に関する研究

性別は男性10例(53%)、女性9例(47%)、年齢は1~21歳(平均7.9±5.0歳)である。コロボーマ、黄斑部欠損、他の眼合併所見、屈折異常、視力について眼科にて検索し臨床像を検討した。

【結果】眼異常(コロボーマ)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。眼所見として網脈絡膜コロボーマ、視神経乳頭コロボーマを33眼

(86.8%) と同等に高率に認め、黄斑欠損・部分欠損をきたしたものは21眼 (55.3%) に上った。一方虹彩コロボーマの合併は1例2眼 (5.3%) のみで、他の眼合併症として小眼球8眼 (21.1%)、小角膜7眼 (18.4%)、強度近視を5眼 (13.2%) に認めた。両眼開放下または優位眼の視力は0.05未満4例 (21.1%)、0.05以上0.3未満7例 (36.8%)、0.3以上1.0まで6例 (31.6%)、測定不能2例であった。眼異常の重症度をコロボーマ、黄斑欠損、小眼球の合併の有無によって等級化すると左右眼の重症度に一致がみられなかった。CHD7遺伝子変異によるアミノ酸の長さや重症度には相関がみられた。CHD7遺伝子変異によって視神経・黄斑を含む広汎な網脈絡膜コロボーマが高率に起こる。しかし変異の位置によっては黄斑が形成され、弱視治療によって良好な視力が発達する可能性がある(図2)。遺伝子診断の臨床的有用性が示唆された。

8) 患者由来のiPS細胞の樹立

患者由来皮膚線維芽細胞よりiPS細胞を2名の患者より樹立した。今後、薬物スクリーニング等の研究に有用と期待される。

iPS細胞において、iPS細胞樹立とともに導入した4遺伝子が発現低下し、内因性の転写因子が発現することがES細胞様の多分化能をもった細胞になるために必要である(Laurie. A et al. : Cell 2005)

レトロウイルス感染6日後の導入遺伝子が高発現している線維芽細胞と樹立したiPS細胞で導入遺伝子の発現を定量PCRにより比較し、発現が抑えられているものを患者ごとに5lineずつ選定した。慶應義塾大学医学部先端研大多茂樹講師の開発したNeural Crest細胞の誘導方法を用いて、正常群、CHARGE症候群患者群由来のiPS細胞を各々神経堤細胞に誘導した。Lorenz Studerらの方法をもとに、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。

9) メチマゾールによるCHARGE症候群モデルの作成

外表的観察から、高濃度メチマゾール曝露により、メラニン色素の減少、前脳の細胞死と後脳の低形

成、脊索末端の形態異常、体節形成異常を伴う体幹の変形が確認され、その出現頻度は濃度依存的であった。HE染色を施した横断切片の組織形態学的観察により、脳の低形成、脊索の形態異常とその結果と考えられる体節形成異常が顕現した。また、前脳で見られる細胞死はアポトーシスであることが、TUNEL法によって明らかになった。以上のことから、メチマゾール曝露により特異的に影響を受ける発生イベントが複数存在することが示唆された。さらに、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

患者家族会からの意見の集約では、CHARGE症候群の重要な臨床的特徴である「重複障害」に関する訴えが多く聞かれた。自然歴の研究から、CHARGE症候群は、視覚・聴覚障害により精神発達の評価は困難であるが、約8割の症例がなんから的手段を使ったコミュニケーションが可能であることが示された。眼科的観点からも、黄斑が形成され良好な視力が得られる症例が少ないことが示され、また、予後の予測には光干渉断層計が有用である可能性が示唆された。重複障害児のコミュニケーションを含めた発達の評価のためには、CHARGE症候群患者における平均的な発達を知り、また、年齢ごとに必要な医療管理についての情報提供が必要になる。岡本らにより作成された健康手帳が有用と考えられた。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。

患者のコミュニケーション能力を伸ばすという観点から、今後、適応について、積極的に検討すべきと考えられた。

先天性の嗅覚障害および性腺機能低下の存在があきらかになった。ま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。

再生医療を目指すという点では、遺伝子的要因を明らかにし、治療法を開発してゆく必要がある。

次世代シーケンサーによる網羅的解析が可能となった。CHD7以外の原因遺伝子の同定が待たれる。

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。発達予後を改善しうる薬剤のライブラリー・スクリーニングが期待される。

また、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。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。

E. 結論

本研究班では、遺伝子診断で確定診断された症例を中心に、CHARGE症候群患者の医療的あるいは療育の現状について多角的に調査するとともに、新たな治療法の確立を目指し、以下の成果を得た。人工内耳により聴覚を獲得した3症例について記載した。医療管理記録に基づき、26例のCHARGE症候群の自然歴をまとめた。

CHARGE症候群の患者・家族を対象として、自由記載として、アンケートを行い、60名の回答結果を集計した。重要語の自動抽出を通じて、患者家族のニーズに関するキーワードが明らかになった。特にCHARGE症候群の重要な臨床的特徴である「重複障害」に関する訴えが多く聞かれた。また、KeyGraph分析では医療以外のキーワードとして「教育」「社会」などのキーワードが認められ、支援の必要性が示された。CHARGE症候群における眼科的合併症と視覚障害について4施設の総計21例42眼を調査した。黄斑が形成され良好な視力が得られる症例が少なくないことが示された。健康手帳を作成し、患者・家族への情報提供を進めている。基礎研究の観点からは、次世代シーケンサーによる遺伝子解析の省力化を実現した。今後、遺伝子診断が可能になると期待

される。また患者由来のiPS細胞を確立し、さらに神経系細胞・神経堤細胞へ誘導することに成功したことから、発達予後を改善しうる薬剤のライブラリー・スクリーニングが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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 0.8M base interval. *Am J Med Genet A.* 2011 ;155A(9):2212-4.

Kamo M, Kosaki K. Ichthyosis follicularis, alopecia, and photophobia (IFAP) syndrome: a case report and a pathological insight into pilosebaceous anomaly. *American Journal of Dermatopathology*, 2011;33(4):403-6.

Kosaki K. Role of rare cases in deciphering the mechanisms of congenital anomalies: CHARGE syndrome research. *Congenital Anomalies* 2011; 51:12-15.

Watanabe K, Kosaki K. Surgical treatment for scoliosis in patients with Shprintzen-Goldberg Syndrome. *Journal of Pediatric Orthopedics*, 2011 31:186-193.

Honda H, Kosaki K. Hemp, an mbt domain-containing protein, plays essential roles in hematopoietic stem cell function and skeletal formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011; 108: 2468-2473
Hans J Ten Dounkellar, Kaga K. Chapter 7. The auditory system. *Clinical Neuroanatomy*. Hans J. Ten Dounkellar Eds. Springer, 2011 pp305-29

Suzukawa K, Kondo K, Kanaya K, Sakamoto T, Watanabe K, Ushio M, Kaga K. Yamasoba T: Are-related changes of the regeneration mode in the mouse peripheral olfactory system following olfactotoxic drug methimazole-induced damage. *J Comp Neurol*, 2011;519:2154-2174

加我君孝、竹腰英樹、新正由紀子、内山勉: 新生児聴覚スクリーニング. *小児科臨床*. 2011. 64(1):52-55

- 黄麗輝、加我君孝: 喃語の音響学的特徴. *JOHNS*. 2011. 27(8):1179-1184
- 加我君孝、新正由紀子、内山勉、竹腰英樹: 新生児・乳児の難聴はいつまでに診断すべきですか。補聴器はいつから必要ですか。また人工内耳はいつから必要ですか。小児内科. 2011 43:924-296
- 赤松裕介、尾形エリカ、廣田栄子、加我君孝、山岨達也: 人工内耳装用成人における人工内耳 QOL 評価と関連する要因の検討. *Audiology Japan*, 2011;54:86-94.
- 加我君孝: 二つの耳の不思議. 日学新書 2 感覚器 [視覚と聴覚]と社会とのつながり—見るよろこび、聞くよろこび—. 日本学術協力財団編集・発行 東京 2011, pp136-155
- 加我君孝: Auditory Nerve Disease あるいは Auditory Neuropathy—1996 年、DPOAE、蝸電図、ABR の組み合わせた検査で発見された聴覚障害—. 日本耳鼻咽喉科学会会報 2011;114:520-523
- 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;14:104-111.
- 加我君孝: 第 2 章 新生児聴覚スクリーニングと難聴児の早期発見. 母子保健ハンドブック 2011. 母子保健事業団 2011, pp68-72
- 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* 2011 Jul 16. [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)
- Kurosawa K, Masuno M, Kuroki Y. Trends in occurrence of twin births in Japan. *Am J Med Genet Part A* 2011 Nov 21. [Epub ahead of print]
- Tsutsumi Y, Kosaki R, Itoh, Tsukamoto K. Vein of galen aneurysmal malformation associated with an endoglin gene mutation. 2011;128(5):e1307-10
- 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*. 2011 ;155A(4):903-5.
- 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;21:208-11.
- 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.
- Tsurusaki Y, Okamoto N, Suzuki Y, Doi H, Saitu H, Miyake N, Matsumoto N. Exome sequencing of two patients in a family with atypical X-linked leukodystrophy. *Clin Genet*. 2011 Aug;80(2):161-6
- 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.
- 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
- 小崎健次郎、工藤 純、次世代シーケンサーを用いた疾患原因遺伝子の探索—倫理的な配慮も含めて—、細胞工学、30(8):806-807 (2011).
- 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*. in press
- Nishina S, Suzuki Y, Yokoi T, Kobayashi Y, Noda E, Azuma N. Clinical features of congenital retinal folds. *Am J Ophthalmol*, Aug 25[Epub ahead of print].
- 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*, 2011, 155A(10): 2521-2528.
- 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*, 2011, 55(3): 264-267.

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

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, 155A(2): 409-414.

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發育異常の画像評価。眼科臨床紀要 印刷中。

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転短縮術の治療成績：多施設共同研究。日本眼科学会雑誌 115: 440-446, 2011.

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

RNA-binding protein HuD controls insulin translation.

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.

Molecular Cell in press.

Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells.

Yagi T, Ito D, Okada Y, Akamatsu W, Nihei Y, Yoshizaki T, Yamanaka S, Okano H, Suzuki N. *Hum Mol Genet*. 2011 Dec 1;20(23):4530-9.

Generation of human melanocytes from induced pluripotent stem cells.

Ohta S, Imaizumi Y, Okada Y, Akamatsu W, Kuwahara R, Ohyama M, Amagai M, Matsuzaki Y, Yamanaka S, Okano H, Kawakami Y. *PLoS One*. 2011 Jan 13;6(1):e16182.

Suppression of Oct4 by germ cell nuclear factor restricts pluripotency and promotes neural stem cell

development in the early neural lineage. Akamatsu W, DeVeale B, Okano H, Cooney AJ, van der Kooy D. *J Neurosci*. 2009 Feb 18;29(7):2113-24

Komoike Y, Inamura, H., Matsuoka, M. Effects of salubrinal on cadmium-induced apoptosis in HK-2 human renal proximal tubular cells. *Arch. Toxicol.* (In Press)

2. 学会発表

蔭池勇太、小崎健次郎 メチマゾール曝露によるゼブラフィッシュの発生異常 第51回日本先天異常学会学術集会 2011年 東京

仁科幸子、小崎里華、柳橋達彦、東範行、岡本伸彦、初川嘉一、黒澤健司、山根敬浩、水野誠司、都築欣一、小崎健次郎 CHD7 遺伝子変異による CHARGE 症候群の眼合併症 第56回日本人類遺伝学会 2011年11月、千葉。

三島祐子、秋丸憲子、池川敦子、松田圭子、山本悠斗、岡本伸彦 大阪府立母子保健総合医療センターでの CHARGE 症候群の臨床的検討。第35回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 2011年、京都。

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

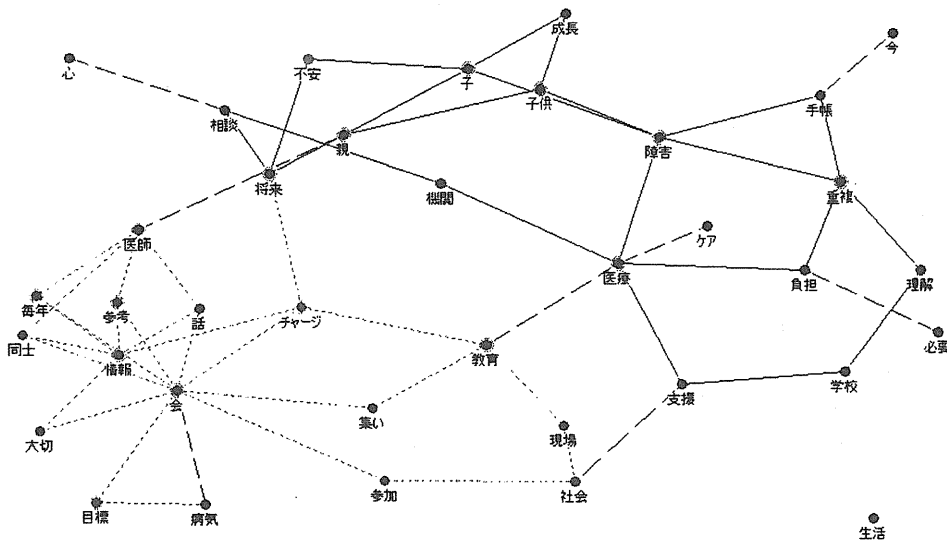
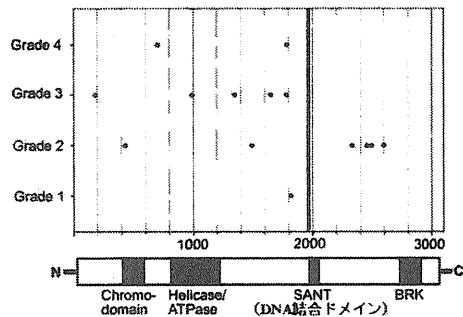


図1 患者家族会あてのアンケート自由記載欄のKeygraph 解析

CHARGE症候群の重要な臨床的特徴である「重複障害」に関する訴えが多く聞かれた。KeyGraph分析では「親」・「子」など家族を中心とするキーワードのクラスター、「重複障害」・「負担」・「学校」・「支援」など生活に関するキーワードのクラスター、「子ども」・「成長」・「将来」・「不安」などの将来像に関するクラスターが認められた。これとは別に家族の会に関するクラスターが認められた。またこれらのクラスターの間には「医療」というキーワードの他に「教育」「社会」などのキーワードが認められ、支援の必要性が示された。「情報」「目標」「参加」と直接リンクのあるキーワードとして「(家族の)会」が示されていることから、難病支援における患者家族会の重要性が示唆された。

CHD7変異の位置と眼異常の重症度

N=14例：ストップ変異例（重症眼）



変異の位置と眼異常の重症度に相関あり

($p=0.02$, chi-square test)

2,000 aaより長い Grade 1, 2 : 黄斑形成
 2,000 aaより短い Grade 3, 4 : 黄斑欠損

図2 CHARGE症候群患者におけるCHD7変異と眼異常の重症度の関係

Truncating mutationを来した14症例を解析した。眼異常の重症度をコロボーマ、黄斑欠損、小眼球的の合併の有無によって等級化すると左右眼の重症度に一致がみられなかった。CHD7遺伝子変異によるアミノ酸の長さや重症度には相関がみられた。Truncationの位置が2000アミノ酸残基よりカルボキシ端側である場合は、眼病変はGrade 2以下となる。すなわち黄斑は形成される。

Nishina et al., Ophthalmic Features of CHARGE Syndrome with CHD7 Mutations
 American Journal of Medical Genetics, in press.

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

総合研究報告書

人工内耳埋込術を行った CHARGE 症候群の 3 例の新たな聴覚獲得について

分担研究者 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

研究要旨

CHARGE 症候群では高度の先天性難聴を伴うことが多い。原則的に補聴器の装用をすすめ、早期の聴覚学習をろう学校で教育を受けてきた。CHARGE 症候群の難聴は内耳奇形が多いため蝸牛神経がどの程度残存しているかわからない。人工内耳は蝸牛神経を電気刺激することで音の神経信号を伝えるからである。一方、CHARGE 症候群はその名の通りいくつもの先天異常からなるもので、その中で R すなわち Retardation を合併していると人工内耳の聴覚言語学習が不十分である可能性がある。人工内耳手術が始まった時の基準に中枢神経系に問題のある症例は避けるようなガイドラインがあった。しかし、わが国は 1994 年に人工内耳手術が保険適用になってからすでに約 20 年が過ぎ、特にこの 5 年間ほどはそれまでのガイドラインに挑むような手術経験を経て新たな蓄積をしている。その代表的な例が①内耳奇形に対する手術で、良い成果があげられる例の増加、②知的発達にある程度の遅れがあっても補聴器よりも良い効果がある例が少なくないことがあげられている。このことは CHARGE 症候群にも新たな聴覚学習への期待が持てるようになったことを示している。わが国では岡山大学の 1 例の報告がある。われわれが人工内耳手術を実施した 3 例の報告を行う。

A. 研究目的

CHARGE 症候群の E は Ear である。本症例群は内耳奇形の頻度が著しく高いため、難聴に対する療育方法、すなわち補聴器・人工内耳・手話・指文字による言語発達への影響を明らかにする。

B. 研究方法と結果

【症例 1】

手術時年齢 3 歳 4 ヶ月。女兒。平成 16 年 5 月某病院にて 41 週、体重 2592g で出生。同病院小児科において視力低下、動脈管開存、心房中隔欠損症を指摘された。CHARGE 症候群の疑いで AABR を施行したところ、両側で refer との結果であった。平成 16 年 8 月施行の ABR で両側無反応のため、平成 16 年 8 月末紹介となった。定頸 15 ヶ月、独歩は 27 ヶ月である。家族には同病および難聴者はいない。

初診時所見：両側に滲出性中耳炎を認めた。BOA ではタイコなど強大音への反応も見られなかった。平成 17 年 2 月(生後 9 ヶ月)、都内の難聴幼児通園施設において補聴器装用を開始したが、COR では裸耳で scale out、補聴器装用下で約 80dB(左右差なし)であり、言語発話の発達も思わしくなかった。人工内耳の適応について、再び紹介された。術前の MAIS は 4 点、MUSS は 0 点であった。側頭骨 HRCT において両側蝸牛ともに 2 回転が確認されたが内部隔壁は形成不全(蝸牛不全

分離)であった。両側前庭は正常であったが半器官は低形成であり、内耳道底の狭窄も認められた。乳突洞の発育はなく、後頭蓋窩が上鼓室のすぐ後方に位置しており、中耳内には軟部組織陰影が充満していた。頭部 MRI では左蝸牛神経は不明、右蝸牛神経は確認されたが基底回転との連続性は明らかではなかった。平衡機能検査所見では温度刺激検査は両側無反応、VEMP は頸部の筋緊張が不十分であり明らかではなかった。内耳道狭窄所見のより軽度な右側に手術を施行する方針とした。

手術所見：平成 19 年 9 月に手術を施行した。中耳炎が蔓延して鼓膜の内陥と中耳の炎症が著しかったため、上鼓室まで開放して炎症組織の郭清後、鼓膜を浅在化させ軟骨で支持するように工夫した。コクレア社 Nucleus24 インプラントの電極は 18 個挿入できた。上鼓室を経由させ、骨片・骨粉により固定した。術後 X-P にて蝸牛 3/4 回転に電極が挿入されていることが確認された。術中 NRT は無反応であった。

術後経過：術後 3 週目に音入れを施行した。マップ作成時初期設定では明らかな聴性行動は観察されず、種々のパラメーターの変更が必要であった。音入れ後 2 週間目頃より、マップ面での提示音に対する聴性行動が観察された。1 ヶ月を経過した頃には、日常生活における音反応が観察されるようになった。それに伴い条件付け応答も安定しはじめ、Ling 音への応答も可能になった。音入れ後約 2 ヶ月

時の人工内耳装着閾値は 45dB であった。音入れ後 1 年土岐出の聴取評価 (CI2004:3 語文事物選択) では聴取のみで 44%、読話併用で 69% の値を得ることができた。日常生活では多語文の発話も見られるなど、発話能も向上しつつあり、人工内耳装用により良好な聴覚活用が可能となった。

術後 4 年目、現在 7 歳で都立ろう学校 1 年生。よく聴きよく話すようになっている。七五三の記念写真を図 1 に示した。

図 1: 7 歳の時の七五三の記念写真

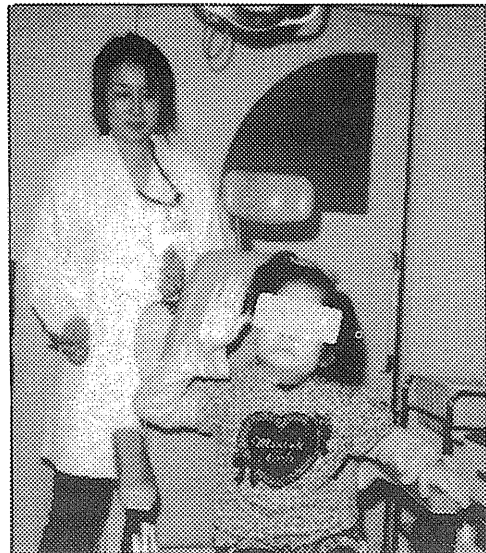


【症例 2】

8 歳女児。現在の体重 17kg。喉頭狭窄のため生後 4 ヶ月で気管切開、胃ろうにより経管栄養、左乳頭コロポーマ、低身長、成長ホルモンの分泌低下、両側高度感音難聴を伴う。頸定 7 ヶ月、歩行開始 7 ヶ月。難聴に対して両耳に補聴器装用下にろう学校で教育を受けてきた。しかし音に対する反応は乏しく、COR、ABR、AASR いずれも無反応。側頭骨 CT および MRI では左右とも三半規管は欠損、蝸牛の回転は右が 1.5 回転、蝸牛神経は認める。左は 1 回転を認めるが蝸牛神経とのつながりを認めない。両親の強い希望で平成 23 年 2 月右人工内耳埋込術を行った。コクレア社製フリーダム電極をすべて移植挿入できた。現在術後 2 ヶ月であるが、人工内耳装用下に後方からタイコの音を鳴らすとそれに一致して聴こえたことを右手をあげて表すことができるようになった (図 2)。補聴器装用下ではこのような反応は認められないため、人工内耳手術の成果と見なすことができる。

術後 1 年が過ぎ、聴覚反応は確実となったが、気管切開のため発声・発語はまだない。

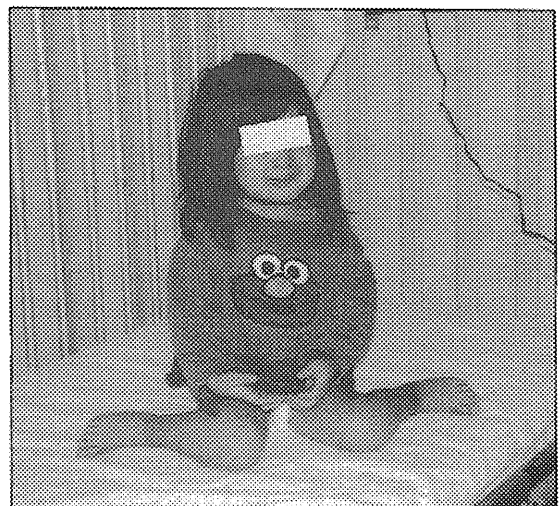
図 2: ST のたたくタイコに合わせて手を挙げる



【症例 3】

5 歳女児。口唇口蓋裂あり形成術を受けた。新生児聴覚スクリーニングで refer、ABR 検査で無反応。CHARGE 症候群の診断を国立成育医療センターで受ける。滲出性中耳炎のため鼓膜チューブ留置術を受けた。東京医療センターを経て 4 歳で心身障害児総合療育医療センターで補聴器のフィッティングと教育を受ける。側頭骨 CT で両側 short cochlea であるが、基底回転あり、人工内耳の適応ありと診断。平成 24 年 3 月左耳に人工内耳埋込術を行った。MED-EL 社の電極、Flex Soft 24 を挿入し、全電極可能であった。術中にテレメトリーで全電極のインピーダンス正常、ATR 正常、EABR も電極正常反応を示し、刺激は脳に届いていることも明らかになった。本例は外来受診時、医療関係者に物を投げつけるなど感情的な激しい行動が多く手を焼いたが、入院中は人がいなければ静かに過ごしていることが観察でき、今後の対応の参考になった (図 3)。

図 3: 症例 3 の入院中一人で遊ぶ姿



(倫理面への配慮)

症例研究にあたって、両親より Informed Consent をとった。

C. 考察

症例1は 5 歳で手術し、東京の唯一の難聴児通園施設で聴能教育を受けた。術後より発声・発語が増え、会話が可能となっている。本年 4 月より都立のろう学校へ就学する。症例 2 は 8 歳で手術を施行し、現在術後 3 ヶ月にすぎない。しかし、音入れ後、聴覚反応が出現しつつある。患者の後側で楽器音を鳴らすと手を挙げるようになった。2 症例とも内耳奇形があり、蝸牛の回転は基底回転のみと考えられるが、人工内耳手術をして初めて蝸牛神経は存在し、中枢聴覚伝導路に聴覚神経信号を伝えることが明らかになった。

われわれの 2 症例は CHARGE 症候群は重度の難聴がある場合であっても人工内耳手術が候補になることを示している。

D. 結論

CHARGE 症候群の先天性の高度難聴は補聴器の効果がほとんどなくとも、たとえ内耳奇形で蝸牛神経の 1 回転が残存していれば聴覚言語の獲得がかのうである例が少なくない。

E. 研究発表

1)国内

口頭発表	10 件
原著論文による発表	2 件
それ以外(レビュー等)の発表	5 件

2)海外

口頭発表	2 件
原著論文による発表	8 件
それ以外(レビュー等)の発表	4 件

論文発表 (主なもの)

Kaga K, Fukushima K, Kanda Y, et al: Nationwide survey of pediatric implant in Japan. 7th Asia Pacific Symposium on Cochlear Implants and Related Sciences, Proceedings, 69-72, 2010

加我君孝、内山勉、新正由紀子. 小児の中等度難聴ハンドブック. 2009. 金原出版 東京
加我君孝: 聴覚障害. チャイルドヘルス 13(5):25-28, 2010

加我君孝: 重度難聴に対する人工内耳手術と聴覚脳幹インプラント. 学術の動向 15(7):60-64, 2010

加我君孝、新正由紀子他: 聞く・話す力の発達. チャイルドヘルス 13(12):9-24, 2010

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 (主なもの)

鈴木光也、樫尾明憲、加我君孝他. 中・内耳奇形・内耳道狭窄を伴う CHARGE

association の高度感音難聴症例に対する人工内耳埋め込み術の経験. 第 54 回日本聴覚医学会総会. 2009.10.22. 横浜

安達のどか、坂田英明、加我君孝他: 先天性医嗅覚障害と高度難聴を伴う CHARGE 症候群の成人女性の 1 例

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

F. 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）

総合研究報告書

CHARGE 症候群の発生頻度ならびに医療管理

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

小児病院で医療管理中の26例のCHARGE症候群症例を手掛かりとして、その発生頻度を検討し、自然歴や医療管理の実態を明らかにした。また、現在まで明らかにされていない急性副腎不全等によるショックの可能性についてもまとめた。CHARGE症候群は従来稀な奇形症候群と考えられてきたが、15000-30000出生に1例の比較的発生頻度が高い疾患であり、多くの専門的医療管理が必要となるために、医療サイド、患者家族の疾患に関する理解が不可欠となる。病態の全貌が把握されていない以上、今後も継続的な研究が必要と考えられる。

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。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、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。

今回我々は、3年間の研究により、CHARGE症候群の発生頻度を検討し、医療管理の実態を明らかにした。また、現在まで明らかにされていない急性副腎不全等によるショックの可能性についてもまとめた。

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CHARGE症候群26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、すべての個人情報に潜在化され、解析は一般診療の範囲内でなされた。

C. D. 研究結果と考察

1) 発生頻度

神奈川県における小児病院遺伝外来の先天異常・奇形症候群症例の受診状況から、CHARGE症候群の発生頻度を推定した。小児病院（神奈川県立こども医療センター）は県内唯一の小児専門医療機関であり、発生頻度は低いものの極めて高度で専門的な医療を必要とする先天性多発奇形症例が集中する。観察期間1990-2002年の13年間に出生した20例のCHARGE症候群を経験し、この間に685例のDown症候群新患症例の受診があった。神奈川県におけるこの期間のDown症候群発生頻度はほぼ一定で推移していて、遺伝外来Down症候群受診群は神奈川県一般集団を反映していた。CHARGE症例20例の出生は13年間で偏りは少なく、年間1-2例の出生で平均1.5/年であった。Down症受診例とCHARGE症例の発生頻度の比が一定と仮定すると、その比は1:34となり、この期間の神奈川県における推定のDown症候群発生頻度（10-12/10,000出生）を考慮すると、確定診断例の発生頻度は最小限の推定値は28,000-34,000出生に1例で、診断の難易度による診断未確定例がその倍潜在している可能性を考慮すると15,000出生に1例と推測される。

2) 医療管理

医療管理記録に基づいた CHARGE 症候群の自然歴をまとめた。診断時年齢は幅広く、約 3 割が就学以降に診断されていた。濃厚な医療管理を必要とする症例が多く、喉頭軟化症、摂食嚥下障害、胃食道逆流の合併の有無や重症度が大きく影響していた。三半規管形態異常、嗅球・嗅溝形成異常の合併頻度は高く、画像検査は有用であった。CHARGE 症候群は、視覚・聴覚障害により精神発達の評価は困難であるが、約 8 割の症例がなんからの手段を使ったコミュニケーションが可能であり、早期に視覚や聴覚の評価を行い、個々の状況に合わせた医療・生活管理が、発達の可能性を引き出すためには重要と考えられた。

3) 稀な合併症としてのショック症状

CHARGE 症候群 26 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 CHARGE 症候群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。

E. 結論

CHARGE 症候群は従来稀な奇形症候群と考えられてきたが、15000-30000 出生に 1 例の比較的発生頻度が高い疾患であり、多くの専門的医療管理が必要となるために、医療サイド、患者家族の疾患に関する理解が不可欠となる。病態の全貌が把握されていない以上、今後も継続的な研究が必要と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Tsuyusaki Y, Yoshihashi H, Furuya N, Adachi N, Osaka H, Yamamoto K, Kurosawa K. 1p36 deletion syndrome associated with Prader-Willi-like phenotype. *Pediatr Int* 52:547-550, 2010.

黒澤健司 神経線維腫症 1 型における分子細胞遺伝学的スクリーニング 日レ病会誌 2010;1:35-37.

黒澤健司 細胞遺伝学的診断のアルゴリズム 日本臨牀 68(Suppl 8):170-176, 2010.

黒澤健司 外表奇形 小児内科 42:1123-1125, 2010.

黒澤健司 (訳) 形態異常の記載法—写真と用語の解説 鼻と人中 小児内 2010;42:1298-1315.

黒澤健司 染色体異常の理解 臨床遺伝学講義ノート pp37-49, 千代豪昭監修 オーム社 2010.10.

黒澤健司 診断へのアプローチ 臨床症状 小児内科 2010;42:1123-1125.

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 メディカルドウ 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 メディカルドウ 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 メディカルドウ p345-7, 2011.7 大阪

学会発表

榎本啓典、石川亜貴、古谷憲孝、黒澤健司 全サブテロメア FISH による診断未定症例のスクリーニング 第 113 回日本小児科学会 2010.23-25. 盛岡

石川亜貴、黒澤健司、山下純正 MECP2、L1CAM を含む Xq28 領域の重複を認めた重度精神遅滞の男児例 第 52 回日本小児神経学会 2010.5.20-22. 福岡

Kurosawa K, Enomoto K, Furuya N, Masuno M, Kuroki K. Trends of the incidence of twin births in Japan. 60th American Society of Human Genetics 2010.11.2-6. Washington DC. USA.

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