

201231051A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業

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 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小崎健次郎

平成 25 (2013) 年 3 月

目 次

I. 平成24年度構成員名簿	1
II. 総括研究報告書	
平成24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. 分担研究報告書	
1. VATER association における橈側列異常の特徴と治療について	9
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. VATER 症候群のマイクロアレイ CGH 解析	12
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・遺伝科)	
3. VATER 症候群の原因に関する研究	15
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. 大阪府立母子保健総合医療センターでのVATER症候群の臨床的検討	18
岡本 伸彦 (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)	
5. VATER 症候群と表現形が重複する BRESEK 症候群に関する研究	21
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に関する研究	24
工藤 純 (慶應義塾大学医学部・遺伝子医学研究室)	
7. VATER連合症候群の主要症状である 食道閉鎖・鎖肛と関連する遺伝子群の網羅的検討	26
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	29
赤松 和土 (慶應義塾大学医学部・生理学教室)	
9. アドリアマイシンによるVATER連合モデルの作製	32
谷口 善仁 (慶應義塾大学医学部・衛生学公衆衛生学教室)	
10. 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	34
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	37
V. 研究成果の刊行物・別冊	39

〔 I 〕

平成24年度構成員名簿

平成24年度 厚生労働省難治性疾患等克服研究事業

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	独立行政法人国立成育医療研究センター 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 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	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 衛生学公衆衛生学教室	講師
	加部泰明	慶應義塾大学医学部 医化学研究室	専任講師
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（難治性疾患等克服研究事業）
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

最も頻度が高い先天異常症候群の一つとされる VATER 症候群について全国調査を行い、120 症例の詳細な臨床情報を集積した。症状をデータベース化し、多変量解析によるデータマイニングに基づいて診断基準を策定した。集積した臨床情報に基づいて、健康管理指針を策定し公開した。発症頻度が既知の先天異常症候群との頻度の比較から、わが国における有病率は出生 2 万から 3 万人に 1 人と推測した。VATER 症候群の症状の統合データベースを完成し、臨床診断基準・フォローアップガイドラインを策定した。

患者由来ゲノム DNA を集積し、次世代シーケンサーを用いた候補遺伝子の解析を実施中である。独自のニワトリ胚疾患モデルの研究から、発症に関連するタンパク A・タンパク B（アドリアマイシン結合性）を同定した。タンパク A・タンパク B の塩基配列を決定し、変異解析を開始した。次世代シーケンサーを用いた全遺伝子のタンパク翻訳領域の解析を行っている。それぞれの患者について 100 程度の遺伝子について機能喪失性変異が同定されたが、6 名中 3 名以上に共通して認められる特異的な遺伝子変異は検出されていない。複数遺伝子が原因となり発症している可能性があり、さらなる症例を蓄積し、患者の層別化を行うことで、疾患原因遺伝子を特定出来ると考えている。医薬基盤研究所と連携し、寄託のための基盤は整備済みであるが、確実な原因遺伝子が同定できていない現段階では国内外の潜在的な competitor がアクセスする可能性があり、バンク化は出来ない状況である。原因遺伝子の同定を待って、医薬基盤研究所のバンクに寄託する。2 名が手術時の iPS 研究への参加に協力を表明したが研究期間中に手術を受ける機会が無く、皮膚生検への協力はうけられなかった。代替法として研究分担者の赤松が開発した、末梢血からの iPS 細胞の誘導＋組織への分化誘導法を用いて患者が研究に協力しやすい環境を整備する必要があった。今後は、より侵襲の低い採血で iPS 細胞が樹立できるという点を患者に周知し、協力を募っていく。

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 専任講師

A. 研究目的

VATER症候群は、椎体・肛門・気管食道・橈骨・腎奇形の5徴により命名され、難治性疾患克服事業「疾患区分(17):奇形症候群」に属する。多系統に障害が発症する機序は不明である。生命維持にかかわる臓器・運動器の障害を伴う、慢性的・持続的な疾患であり、生活面での長期にわたる支障を来す。研究班を組織した際には治療や合併症の管理に関する包括的な診療ガイドラインは存在していない。本研究では症状の統合データベースの作成と臨床診断基準を策定、わが国における有病率を算定、生物試料(ゲノムDNA等)の収集、候補遺伝子の変異解析を実施した。最も頻度の高い奇形症候群に対する初の全国調査であり各科専門医の連携強化による医療の質の向上を企図した。基礎研究者・疫学研究者を含めて、包括的・効率的に研究の遂行を目指した。

B. 研究方法

① VATER 症候群の症状の統合データベースの完成と臨床診断基準の策定

奇形症候群の遺伝専門医のコンソーシアムを形成(研究代表者・黒澤・岡本・水野・小崎里華)した上、小児整形外科医(高山)・小児外科医(星野)による研究班を組織した。全国の小児遺伝学会員・小児外科医に調査票を送付し、患者の概数を500と把握した。500名中の120名に調査票を用いた2次調査を実施し、120名のデータをデータベース化した。集積したデータに対して主座標分析等の多変量解析を適用し、診断基準を作成。鑑別すべき疾患についても調査した。

② わが国における有病率の算定・合併症のスペクトラムの把握・診療ガイドラインの策定

上記の全国調査の結果に従い、各診療科の連携を促すための診療ガイドラインを策定した。

③ 収集した試料を利用した候補遺伝子の変異解析

鑑別診断上、VATER 症候群の原因遺伝子であると考えられる遺伝子を網羅的に解析するためのパネルを設計、患者検体を解析。さらに次世代シーケンサーにより解析した。

研究代表者が開発したアドリアマイシンによるVATER 発症ニワトリモデルを用いて、胎児期におけるアドリアマイシン結合タンパク A・タンパク B を新規候補遺伝子として同定した。

④ 生物試料(ゲノム DNA 等)の収集とバンク化

10名の典型的患者からゲノム DNA を採取。DNA の難病バンクへ委託を計画(原因遺伝子同定後)。

⑤ 典型的な患者由来の人工多能性幹細胞株(iPS細胞株)に向けた取り組み

現行のiPS細胞技術では、皮膚生検が必要で、当初より手術の機会に得ることにより侵襲の低減を計画した。

さらなる侵襲の低減のため、末梢血や芽球化リンパ球からの誘導法を開発した。

<倫理面への配慮>

ヒト検体を採取する際には、試料等提供者の個人情報の保護、検体提供の任意性、提供を受けた検体の取り扱い方、得られる研究成果の医学的貢献

度等について、試料等提供者ないしはその保護者に十分に説明したうえで、文書により同意を得た。個人情報の外部への持ち出し禁止、試料等の匿名化など個人情報の保護に努め、個人情報の保護に関する法律、行政機関の保有する個人情報の保護に関する法律(平成15年法律第58号)、独立行政法人等の保有する個人情報の保護に関する法律(平成15年法律第59号)及び地方公共団体等において個人情報の保護に関する法律第11条の趣旨を踏まえて制定される条例等を遵守した。

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針の遵守:「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の適用範囲内であり当該ガイドラインを遵守して実施した。必要に応じて慶應大学小児科遺伝外来・各小児専門医療施設の遺伝外来において遺伝カウンセリングを提供した。慶應義塾大学医学部倫理委員会で承認された「VATER 症候群の原因遺伝子の同定」(平成23年年11月17日承認)のプロトコルにしたがって遺伝子解析研究を実施した。

疫学研究指針の遵守: VATER 症候群の有病率に関する研究は「過去のデータなどに基づきretrospective(後ろ向き)に特定の間人集団の中で出現する健康に関する様々な事業の頻度及び分布並びにそれらに影響を与える要因を明らかにする研究」に属すると考えられ、臨床研究指針の適用範囲外と考えられる(臨床研究指針の指針関連 Q&A <http://www.imcj.go.jp/rinri/index.html>)。当該研究は「疫学研究」に該当すると考えられ、「疫学研究指針」の適用範囲内と考えられた。VATER 症候群の臨床症状のスペクトラムの把握と有病率に関する調査(平成22年9月27日)。

iPS細胞株の樹立: 慶應義塾大学医学部倫理委員会により「神経疾患患者からのiPS細胞株の樹立とそれを用いた疾患解析に関する研究」が既に承認(平成20年6月18日)されている。本研究ではヒト幹細胞を疾病の治療のための研究を目的として人の体内に移植又は投与する計画は無く、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」の適用範囲とならない。

C. 研究結果

・研究班全体としての研究成果

最も頻度が高い先天異常症候群の一つとされるVATER症候群について全国規模の調査を行った。頻度は2~3万人に1人で、難病行政を実施する上で重要な疾患であることが確認された。診断基準を作成した。診断上、重要な症状は食道閉鎖・鎖肛・腎奇形である。並行して、研究分担者の所属施設・あるいは臓器別の臨床症状や合併症の発症状況を勘案して、診療のためのガイドラインを作成し、公表した。外科系・内科系を含めて多系統にわたる障害を来す本疾患について、各診療科の医師が合併症を予見しようとする際のメルクマールとなる。

疫学的研究に並行して、アドリアマイシンを用いた新たなVATER症候群の動物モデルの作成に成功し、候補遺伝子としてアドリアマイシンに結合する新規遺伝子を2個同定した。これらの遺伝子

は多型性が高いことが確認されたが、特異的な変異は同定されず、全ゲノム解析を行っている。1名あたり100個程度の機能喪失性変異が同定されたが、6名中3名以上の患者に共通に認められる変異は同定されておらず、原因遺伝子としては未確定である。

<診断基準>

下記の6徴のうち少なくとも2徴を満たすこと。

- ① Vertebral defects 椎体奇形
- ② VSD 心室中隔欠損等の心奇形
- ③ Anal defects 鎖肛ないし肛門狭窄
- ④ Tracheo-Esophageal defects 食道気管瘻・食道閉鎖または十二指腸閉鎖
- ⑤ Radial defects 橈側奇形
- ⑥ Renal defects 腎奇形

ただし、VATER症候群の診断においては下記の疾患でないことを除外すること。

トリソミー18、母体糖尿病、ファンコニ貧血、水頭症合併例

各分担研究項目の成果

<疫学的検討>

疫学的検討では、全国の患者実態を明らかにした上で、下記の新知見を得た。

i) 橈側列形成不全について患肢の数と内臓合併症の有無に関連を認めた。手の外科専門医に内臓合併症への注意を喚起する重要な情報である。ii) 従来、重視されていなかった十二指腸閉鎖が本症候群の重要な消化管合併症であることが明確となった。

小児医療専門施設における後顧的解析によって、VATER症候群の徴候について、鑑別診断上、問題となる疾患名を明確にした。VATER症候群の一部にFanconi症候群が含まれる。6歳前後から再生不良性貧血を発症するため鑑別が重要である。Fanconi貧血を除外するための特殊な染色体検査は保険適応となっていないが、VATER症候群の頻度を考えると、保険への採用が求められる。

<フォローアップのためのガイドライン>

岡本分担研究報告書に記載したごとく、フォローアップのためのガイドラインを作成した。ウェブサイトの充実を通じて、広く社会に発信した。VATER症候群の患者は、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ていくか、というようなことは非常に気になる点である。本研究班で作成したガイドラインはVATER

症候群患者の年代別の適切なフォローアップに有用と思われる。

<動物モデルを使った候補遺伝子の同定>

ゼブラフィッシュ受精卵をアドリアマイシンに曝露し、VATER症候群で重要な所見である上部消化管の内腔閉鎖を同定した。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ところ選択的な塩基配列を認識するRNA結合性のタンパク質2種を世界で初めて同定した。これらの遺伝子は多型性が高いことが確認された。

<次世代シーケンサーを用いた疾患原因遺伝子の同定>

アドリアマイシンに結合する新規タンパクを2種同定した。当該タンパクの遺伝子も含めて全ゲノム解析を行っている。1名あたり100個程度の機能喪失性変異が同定されたが、6名中3名以上の患者に共通に認められる変異は同定されておらず、原因遺伝子としては未確定である。

D. 考察

VATER症候群の診療指針を作成することができた。2013年1月に公開した（研究班のウェブサイト）。わが国におけるVATER症候群の知名度が向上し、より多くの患者が正確に診断されると期待される。研究を通じて、十二指腸がVATER症候群の部分症状となりうることが示された。従来の診断基準には食道閉鎖・食道気管瘻のみが含まれており、これまで気づかれなかったものと思われる。既知の疾患スペクトラムにとらわれると、診断基準を厳しくしすぎる懸念があることが示された。生命予後の観点からはVATER症候群の最も重要な合併症は食道奇形である。大阪および神奈川において食道奇形の手術が集中している小児医療センターにおける新規患者数と、発症頻度が既知の先天異常症候群との頻度の比較から、わが国における有病率は出生2万から3万人に1人と推測した。この方法では食道奇形を有さない患者は算定されず、VATER症候群の実際の発症頻度はもう少し高い可能性がある。

患者由来ゲノムDNAを集積し、次世代シーケンサーを用いた候補遺伝子の解析を実施した。寄託のための基盤は整備できたが、研究期間中に確実な原因遺伝子が同定できず、国内外の潜在的なcompetitorがアクセスする可能性から、バンク化を完了することができなかった。原因遺伝子の同定を待って、医薬基盤研究所のバンクに寄託する。独自のニワトリ胚疾患モデルの研究から、発症に関連するタンパクA・タンパクB（アドリアマイシン結合性）を同定した。タンパクA・タンパクBの塩基配列を決定し、変異解析を開始した。次世代シーケンサーを用いた全遺伝子のタンパク翻訳領域の解析を行っている。それぞれの患者について100程度の遺伝子について機能喪失性変異が同定されたが、6名中3名以上に共通して認められる特異的な遺伝子変異は検出されていない。複数遺伝子が原因となり発症している可能性があり、

さらなる症例を蓄積し、患者の層別化を行うことで、疾患原因遺伝子を特定出来ると考えている。2名が手術時のiPS研究への参加に協力を表明したが研究期間中に手術を受ける機会が無く、皮膚生検への協力はうけられなかった。代替法として研究分担者の赤松が開発した、末梢血からのiPS細胞の誘導+組織への分化誘導法を用いて患者が研究に協力しやすい環境を整備する必要があった。赤松らは末梢血から作製したiPS細胞は、T細胞由来だけでなく、不死化リンパ芽球由来線維芽細胞由来のiPS細胞も、従来の線維芽細胞由来iPS細胞とほぼ同様の分化誘導能力を示した。今後は、より侵襲の低い採血でiPS細胞が樹立できるという点を患者に周知し、協力を募っていく計画である。受診のタイミングが合わない場合、樹立施設との連携が困難な受診施設では、不死化リンパ芽球化(SRL等の検査会社で実施可能)を行い、ストックしておくことを検討すべきであろう。

E. 結論

最も頻度が高い先天異常症候群の一つとされるVATER症候群について全国調査を行い、120症例の詳細な臨床情報を集積し、健康管理指針を策定し公開した。VATER症候群の症状の統合データベースを完成し、臨床診断基準・フォローアップガイドラインを策定した。わが国における有病率は出生2万から3万人に1人と推測した。独自のニワトリ胚疾患モデルの研究から、発症に関連するタンパクA・タンパクB(アドリアマイシン結合性)を同定した。タンパクA・タンパクBの塩基配列を決定し、変異解析を開始した。次世代シーケンサーを用いた全遺伝子のタンパク翻訳領域の解析を行ったが6名中3名以上に共通して認められる特異的な遺伝子変異は検出されていない。複数遺伝子が原因となり発症している可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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* 2012;52:106-110.
- 2) 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.
- 3) Matsui T, Takano M, Yoshida K, Ono S, 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 Jun;30(6):1109-19. (W.A. is Corresponding author)
- 4) Yagi T, Kosakai A, Ito D, Okada Y, Akamatsu W,

Nihei Y, Nabetani A, Ishikawa F, Arai Y, Hirose N, Okano H, Suzuki N. Establishment of induced pluripotent stem cells from centenarians for neurodegenerative disease research. *PLoS One*. 2012;7(7):e41572.

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

(別添) フォローアップのためのガイドライン

表1 新生児・乳児 健康管理チェック項目・ガイドライン

	新生児期	乳児期
総合的	NICU 入院治療 総合診察・遺伝学的検査 遺伝カウンセリング実施 家族支援	総合診察・身体計測 遺伝学的検査 家族支援 在宅医療管理 予防接種
発達・神経系	仙骨部陥凹 脊椎エコー 先天性側彎 レントゲン 筋緊張の評価	頭囲計測 水頭症鑑別 精神運動発達評価 理学療法実施
心臓・循環器系	心エコー・心電図・胸部 XP 先天性心疾患精査・治療	先天性心疾患手術 術後経過観察 RS ウィルス予防
消化器系	哺乳力評価・XP、エコー 嚥下障害の評価管理 食道閉鎖・気管食道瘻治療 鎖肛 胎便排泄、肛門確認	食道閉鎖術後管理 鎖肛術後管理 ストマケア 経口・経管栄養評価 鼠径ヘルニア
気道・呼吸器系	後鼻孔閉鎖・狭窄確認 気道検査・呼吸状態管理	喉頭・気管軟化症
耳鼻咽喉科	聴力検査 (ABR など) 顔面神経麻痺 耳介の形態 (左右比較) 内耳・中耳検査 (CT)	聴力検査・補聴器 顔面神経麻痺 耳介の形態 (左右比較) 内耳・中耳検査 (CT)
眼科	虹彩・眼底検査 小眼球など精査	虹彩・眼底検査 眼位
泌尿器系 内分泌	外性器所見 (精巣 陰茎) 腎エコー	外性器所見 (精巣 陰茎) 腎エコー
整形外科	筋骨格系評価 橈骨 指趾奇形評価 脊椎奇形 脊椎癒合不全	脊椎変形 橈骨 指趾奇形評価 斜頸 股関節脱臼評価
歯科・口腔	口唇・口蓋検査 哺乳力評価	口唇裂修復術 生歯状態確認

表2 幼児・学童期 健康管理チェック項目・ガイドライン

	幼児期	学童期以降
総合的	総合診察 身体発育評価 家族支援 療育機関と連携 予防接種実施	総合診察 身体発育評価 家族支援 学校と連携
発達・神経系	療育実施 就学準備 心理発達テスト 水頭症術後フォロー 脊髄係留に注意	就学相談・支援教育 心理発達テスト
心臓・循環器系	先天性心疾患フォロー 血圧測定	循環器定期健診 血圧測定
消化器系	胃食道逆流症管理 便秘管理 経口・経管栄養管理 摂食嚥下訓練	便秘管理 経口・経管栄養管理
気道・呼吸器系	喉頭・気管軟化症 呼吸器感染対策	
耳鼻咽喉科	定期的聴力検査 中耳炎治療 言語聴覚訓練	定期的聴力検査 中耳炎治療 言語聴覚訓練
眼科	視力検査・視能訓練 斜視 屈折異常 定期的眼科検診	視力検査・視能訓練 斜視 屈折異常 定期的眼科検診
泌尿器系 内分泌系	定期健診／検尿 神経因性膀胱鑑別	定期健診／検尿 神経因性膀胱鑑別
整形外科	筋骨格系検査 側彎評価 理学療法 作業療法	筋骨格系検査 側彎治療 理学療法 作業療法
歯科・口腔	定期的歯科検診 う歯予防	定期的歯科検診 う歯予防 必要に応じ矯正歯科

〔Ⅲ〕

分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
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
分担研究報告書

VATER association における橈側列異常の特徴と治療について

研究分担者 高山真一郎

国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態外科部 部長

研究要旨

VATER association に合併する橈側列異常の特徴とその治療について検討した。母指多指症は2例2肢に認め、いずれも尺側母指低形成の非典型例であった。橈側列形成不全は11例17肢に認め、母指形成不全のみが2肢、母指形成不全と橈骨形成不全を合併するものが15肢であった。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0.76 ($p < 0.0005$)、Kendall 順位相関係数は0.68 ($p < 0.005$) で、橈骨形成不全と母指形成不全の重症度に相関関係が認められた。手術治療は9例に行っており、その中の3例では、全身合併症により手術時期が遅れていた。特に気管軟化症や気管支喘息を合併する症例では、周術期の呼吸器系の管理が必要であった。

A. 研究目的

VATER association は、Vertebral defects, Anal atresia, Tracheo-esophageal fistula with esophageal fistula, Renal dysplasia, Radial dysplasia が同一個体に合併する傾向があることから、それぞれの頭文字をとって、1972年にQuanとSmithによって命名された奇形の連合である¹⁾。その後、Cardiac malformation, limb anomalies を加えて、VACTERL associationとも言われている。一般的には、limb anomalies を除いた6大奇形のうち、3つ以上をもってVATER association と診断する。6大奇形の頻度については、いくつかの報告があり、Vertebral defects 55-100%、Anal atresia 57-75%、Tracheo-esophageal fistula with esophageal fistula 57-80%、Renal dysplasia 38-86%、Radial dysplasia 25-45%、Cardiac malformation 21-78%と報告されている²⁾³⁾⁴⁾。この中で、整形外科的治療を要するのは椎体異常と橈側列異常であるが、その重症度は症例によって様々である。そこで、今回はVATER associationに合併する橈側列異常の特徴を明らかにし、その治療について検討した。

B. 研究方法

2003年～2011年に、VATER association に合併する橈側列異常にて当科を受診した13例（男児9例、女児4例）を対象とした。両側例は6例、片側例は7例であった。調査時平均年齢は5歳0か月（1歳7か月～13歳10か月）であった。これらの症例に認められた橈側列異常は、軸前性多指症と橈側列形成不全で、これらについて、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。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。また、本症例の中で、これまでに手術的治療を行った症例について、その治療方法、手術時期について検討した。

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、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。症例1は、基節骨型の多指症で、尺側母指がより低形成で、橈側母指にはIP関節の屈曲拘縮を認めていた。全身合併症のため整形外科的治療は遅れ、4歳10か月で尺側母指の切除を行った。この際、橈側母指IP関節の強い屈曲拘縮改善のため、切除した尺側母指掌側部分の有茎皮弁として利用した。しかしながら橈側母指のが残存したため、7歳5か月でIP関節の関節固定術を行った。術後の母指対立運動は良好となっている。症例2は、橈側母指は対立位を取れるものの指尖及び爪の低形成が強く、浮遊型の尺側母指の方が爪の形状が良好であったため、乗り換え手術をおこなったが、移行した指尖部の一部が壊死に陥り、良好な爪の再建は得られなかった。橈側列形成不全は11例17肢に認められた。橈骨形成不全のModified Bayne 分類では、type0:2肢、type1:5肢、type2:2肢、type3:1肢、type4:7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:8肢、typeV:4肢であった（表1）。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0.76 ($p < 0.0005$)、Kendall 順位相関係数は0.68 ($p < 0.005$) で、橈骨形成不全と母指形成不全の重症度に相関関係が認められた。

表1 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
Thumb: Blauth 分類	I	0	0	0	0	0	0
	II	0	0	0	0	0	0
	III A	1	1	0	0	0	2
	III B	1	1	1	0	0	3
	IV	0	3	1	1	3	8
	V	0	0	0	0	4	4
計		2	5	2	1	7	17

橈側列異常の母指形成不全に対する手術治療は、17 肢中8 例に行った(表2)。小指外転筋移行術を、Blauth type III B の2 例に施行した。第1 中手骨基部への第4 中足骨移植および小指外転筋移行術は、Blauth type III B の2 例とBlauth type VI の1 例に施行した。母指化術は、Blauth type V の2 例に施行した。この中で、2 例3 肢に対しては、全身合併症のため手術治療時期が学童期となった。代表症例を提示する。症例3 の左側は正常であるが、右側は母指形成不全がBlauth type III B, 橈骨形成不全はBayne type 1 であった。3 歳5 か月で第1 中手骨基部への第4 中足骨移植、3 歳11 か月で小指外転筋移行術を施行した。術後、母指対立位は良好で、把持力も保たれている。症例4 は、両側の橈側列形成不全であり、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、橈骨形成不全についても橈骨完全欠損のBayne type 4 である。示指、中指の合指も存在し、内反手を呈している。

表2 母指形成不全症に対する手術治療

	Blauth 分類	Modified Bayne分類	手術時 年齢
小指外転筋移行術	III A	1	2歳9か月
	III A	0	8歳0か月
中足骨移植 +小指外転筋移行術	III B	2	2歳8か月
	III B	1	3歳5か月
	III B	0	7歳0か月
	IV	4	3歳0か月
母指化術	V	4	2歳10か月
	V	3	9歳8か月

D. 考察

VATER association は3 つ以上の奇形を合併するものの、生命予後は良好であり、整形外科的な合併症の治療も積極的に行うことがADL の向上に有用と考えられる。橈側列異常は上肢機能に大きな影響を与えるが、これらの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85%であり、この中の88%に橈骨形成不全を伴っていた。また、軸前性多指症は15%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、一般的に母指再建術の適応となるBlauth type I, II, III A と、母指再建術の困難なBlauth type III B, VI, V の2 群に分けると、本研究でのVATER association の患者群では、前者が13.4%、後者が86.6%であった。一方、すべての母指形成不全を対象として調査したJames らの報告では、前者が66.3%、後者が33.7%であった。また、母指形成不全と橈骨形成不全の合併については、本症例の中で母指形成不全に橈骨形成不全を合併するものは88%であった。一方、James らの報告では、すべての母指形成不全患者の中で、橈骨形成不全を伴うものは50.3%であった⁸⁾。以上より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。当院では、軸前性多指症は1 歳ごろに手術を行なっている。また、母指形成不全に対しては、Blauth type III A には小指外転筋移行術、Blauth type III B, IVには、第1 中手骨基部への第4 中足骨移植と小指外転筋移行術、Blauth type IV, V には、母指化術を選択し、その手術時期は2-3 歳頃としている⁹⁾。本症例では、手術治療を行った9 例中3 例で、手術時期が遅れていた。これは全身合併症の治療が優先されるためであり、特に気管軟化症や気管支喘息を合併する症例では、周術期の呼吸器系の管理が必要となっていた。

E. 結論

- 1) VATER associationの橈側列異常において軸前性多指症を2 例(15%)、橈側列形成不全を11 例(85%)に認めた。
- 2) 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) 橈側列形成不全では、母指形成不全と橈骨形成不全を合併する重症型が多いことが明らかとなった。
- 4) 手術治療を13 例中9 例に行っており、その中の3 例では、全身合併症により手術時期が遅れていた。特に気管軟化症や気管支喘息を合併する症例では、周術期の呼吸器系の管理が必要であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 中村千恵子、高山真一郎、関 敦仁他:VATER association における橈側列異常の特徴と治療について。日手会誌29-5,1-5, 2013

- 2) 中村千恵子、高山真一郎、関 敦仁他：VATER association における橈側列異常の特徴について. 日小整会誌21-2,345-349, 2012

2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
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
分担研究報告書

VATER 症候群のマイクロアレイ CGH 解析

研究分担者 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

原因が現在でも不明な VATER 症候群の病因解析として、アレイ CGH によるゲノム解析を典型 2 症例（VATER のうち、V、T、E、R が揃った標準的的典型症例）に対して行った。いずれも、臨床的意義あるゲノムコピー数変化（CNV）は認めなかった。解析プラットフォームの影響を考慮すると、精度以下の微細な CNV の可能性も否定できない。一方で、こうした原因不明の先天奇形症候群の病因解析としてエクソーム解析が注目されている。今後の課題と考えられた。

A. 研究目的

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。

奇形症候群の多くは孤発例であるために連鎖解析や家系分析は不可能であり、そのほとんどが病因不明であった。しかし近年の分子細胞遺伝学的解析の進歩により多くの奇形症候群の病因が明らかにされつつある。特にマイクロアレイ CGH の普及は奇形症候群責任遺伝子同定に大きく貢献している。具体的には、長く病因不明であった CHARGE 症候群はマイクロアレイ CGH 解析により微細なゲノム構造異常が検出されたことが手掛かりとなって責任遺伝子 CHD7 が明らかにされている（Vissers et al., 2004）。VATER 症候群は、これまで類縁疾患である VACTERL 症候群で HOXD13 の変異が 1 例のみ報告されている（Garcia-Barcelo et al., Am J Med Genet 146A:3181-5, 2008）が、それを支持するデータは以後見当たらない。今回我々は、マイクロアレイ CGH を用いて 2 例の解析を行い、病因解析について検討した。

B. 研究方法

対象は、神奈川県立こども医療センター遺伝科研究室で解析を行った 2 例の VATER 症候群症例である。診断は臨床症状の組み合わせから臨床遺伝専門医でもある Dysmorphology の専門家あるいは小児科専門医によってなされた。2 例とも染色体検査など遺伝学的検査がなされて染色体異常症を含めた既知の奇形症候群は臨床的に否定されている。末梢血液リンパ球を用いた通常の染色体分析は、標準的方法によった。マ

イクロアレイ CGH は、Agilent 社製マイクロアレイシステムを用い、アレイは SurePrint G3 Human CGH Microarray kit 8x60K を用いた。解析手順は、Agilent 社による標準プロトコールに準じて進めた。得られたデータの解析は Agilent Genomic Workbench ソフトウェアを用いた。データは DLR spread 値 < 0.30 を採用した。比較対照 DNA は、Promega 社製 Female genomic DNA を用いた。解析したゲノム DNA は、QIAamp DNA Blood Mini kit を用いて自動抽出機で末梢血液から抽出した。アレイ CGH で検出されたゲノムコピー数異常は、ISCN2009 に準じて記載した。参照ゲノムマップとして UCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (hg19) Assembly を用いた。

（倫理面への配慮）

マイクロアレイ CGH による解析は、こども医療センター倫理審査において、研究課題「原因不明多発奇形精神遅滞症候群のゲノムワイドな病因解析」として平成 22 年 7 月 22 日に承認を得たものである。検査前に十分な説明を行い、文書により同意のもとで解析を行った。解析にあたっては、全ての個人情報情報を潜在化した。

C. D. 研究結果と考察

【症例 1. 1 歳女児】在胎 36 週、出生体重 2130 g で出生。心房中隔欠損症（ASD）、食道閉鎖（C 型）、水腎症、側わんを（cobb 角 25 度）認めた。新生児期に ASD 根治術施行。また、食道吻合術、胃ろう造設を行い、定期通院中。発達は比較的良好。

【症例 2. 1 歳女児】在胎 33 週、出生体重 1400 g、仮死なく出生。出生後、ファロー四徴症（TOF）、食道閉鎖（C 型）、肋骨異常、側わんに気付かれ、症状の組み合わせから VATER 症候群と診断。染色体正常。脳 MRI も正常。

症例 1、2、いずれも Segmental duplication、

あるいは DGV (Database of Genomic Variants) の Structural variation として登録されている CNV が検出されたのみで、病因とみなされる CNV を検出することはできなかった。今回のプラットフォーム (60K の oligo アレイ) では、現在まで 700 例以上の解析を行い、14% の変異陽性例を検出している。この検出率は、海外から報告 (Cooper et al., 2011) された検出率とほぼ一致している。したがって、精度的には標準的なものと考えられる。しかし、それでもなお、このプラットフォームで検出可能な CNV は 150kb 以上であり、詳細な検討を行うためにはさらに高密度なアレイを用いることも検討しなければならない。また、こうした孤発例の奇形症候群の病因解析として全エクソーム解析の有用性が注目されている。特に孤発例におけるトリオ (父、母、罹患者) エクソーム解析も現実性が高まっている。アレイ CGH 解析と合わせて今後の課題と言える。

E. 結論

マイクロアレイ CGH を用いて、2 例の VATER 症候群症例の解析を行ったが、臨床的意義のあるゲノムコピー数変化は検出されなかった。全エクソーム解析を視野に入れつつ、症例蓄積が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 石川亜貴、榎本啓典、古谷憲孝、室谷浩二、朝倉由美、安達昌功、黒澤健司 CHARGE 症候群 26 例の臨床的検討 日児誌 2012;116:1357-1364.
- 2) 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.* 2012;42:380-382.
- 3) Enomoto K, Kishitani Y, Tominaga M, Ishikawa A, Furuya N, Aida N, Masun M, Yamada K, Kurosawa K. Expression Analysis of a 17p Terminal Deletion, including YWHAE, but not PAFAH1B1, associated with normal brain structure on MRI in a young girl. *Am J Med Genet Part A* 2012;158A:2347-2352.
- 4) Asakura Y, Muroya K, Sato T, Kurosawa K, Nishimura G, Adachi M. First case of a Japanese girl with Myre syndrome due to a heterozygous SMAD4 mutation. *Am J Med Genet A.* 2012;158:1982-6.

2. 学会発表

- 1) 黒澤健司、富永牧子、榎本啓典、石川亜貴、齋藤敏幸、永井淳一、和田敬仁、小坂仁、古谷憲孝、升野光雄 マイクロアレイ染色体検査の需要の推定 第 35 回日本小児遺伝学会 2012.4.19. 久留米
- 2) 富永牧子、榎本啓典、石川亜貴、古谷憲孝、

安達昌功、小坂仁、升野光雄、黒澤健司 小児病院におけるマイクロアレイ CGH の臨床導入 第 115 回日本小児科学会 2012.4.20-22. 福岡

- 3) 黒澤健司、富永牧子、和田敬仁、鮫島希代子、石川亜貴、高野亨子、井合瑞江、小坂仁、山下純正 小児病院におけるマイクロアレイ CGH 染色体検査の問題点 第 54 回日本小児神経学会 2012.5.17-19. 札幌
- 4) 榎本啓典、近藤達郎、水野誠司、安達昌功、室谷浩二、眞鍋理一郎、SengstagThierry、富永牧子、石川亜貴、黒田友紀子、古谷憲孝、西川智子、山内泰子、井田一美、成戸卓也、升野光雄、黒澤健司 Trio+1 エクソーム解析による Young-Simpson 症候群の責任遺伝子同定 第 57 回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27. 東京
- 5) 黒田友紀子、榎本啓典、富永牧子、古谷憲孝、齋藤敏幸、永井淳一、升野光雄、黒澤健司 知的障害、肥満を認めた 17p13.1-p13.2 重複の女兒例 第 57 回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27. 東京
- 6) 大城亜希子、富永牧子、古谷憲孝、黒田友紀子、井合瑞江、升野光雄、黒澤健司 Down 症候群責任領域を含む 2.6Mb の 21q22 部分欠失の一男児例 第 57 回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27. 東京
- 7) 成戸卓也、井田一美、黒田友紀子、富永牧子、榎本啓典、古谷憲孝、黒澤健司 デスクトップ型次世代シーケンサーを用いた歌舞伎症候群の MLL2 遺伝子変異解析 第 57 回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27. 東京
- 8) 井田一美、成戸卓也、富永牧子、黒田友紀子、古谷憲孝、中川栄二、後藤雄一、升野光雄、黒澤健司 MID1 遺伝子の一部を含む Xp22.2 に 310kb の微細欠失を認めた Opitz/BBB 症候群の 1 家系 第 57 回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27. 東京
- 9) 榎本啓典、菅原祐之、保立麻美子、元吉八重子、畠井芳穂、水谷修紀、黒澤健司 まれな合併症を伴う TSC2-PKD1 隣接遺伝子症候群の一例 第 57 回日本人類遺伝学会 2012.10.24-27. 東京
- 10) Yamanouchi Y, Nishikawa T, Enomoto K, Furuya N, Mizuno S, Kondo T, Adachi M, Muroya K, Masuno M, Kurosawa K. Support for patients with Young-Simpson syndrome, their families and other peoples concerned: Study of patients and family group meetings. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.
- 11) Kurosawa K, Enomoto K, Kondoh T, Mizuno S, Adachi M, Muroya K, Yamanouchi Y, Nishikawa T, Furuya N, Tominaga M, Kuroda Y, Naruto T, Ida K, Sengstag T, Manabe R, Masuno M. Trio-exome sequencing identifies mutations of the gene encoding the histone acetyltransferase KAT6B/MYST4 in

individuals with the Young-Simpson syndrome.
62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.

- 12) Kuroda Y, Saito T, Nagai J, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K. Microdeletion of 19p13.3 in a girl with Peutz-Jeghers syndrome, intellectual disability, hypotonia, and dysmorphic features. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.
- 13) Enomoto K, Sugawara Y, Hotate H, Motoyoshi Y, Hatai Y, Mizutani S, Kurosawa K. TSC2-PKD1 contiguous deletion syndrome with aortic stenosis and severe myopia. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
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
分担研究報告書

VATER 症候群の原因に関する研究

研究分担者 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

研究要旨

VATER症候群の原因は不明である。SALL1変異によって発症するTownes-Brocks症候群、ZIC3遺伝子変異の症状、アドリアマイシンを胎児に投与するとVATER症候群様の表現型を示すことが知られている。タンパク間相互作用、遺伝子間相互作用、パスウェイ、共発現、共局在、タンパクドメインの共通性を基にSALL1、ZIC3、われわれが同定したアドリアマイシン結合タンパクA・タンパクBと生物学的関連を有する遺伝子を探索した。2遺伝子群が関連するパスウェイとしてEIF(Eukaryotic initiation factors)とCUL4が示された。孤発例における遺伝子変異の意義を検討する際、EIFタンパクとCULタンパク、特にCUL4に注目すべきと考えられた。

A. 研究目的

VATER症候群の原因は不明である。SALL1変異によって発症するTownes-Brocks症候群の表現型は腎低形成・無形性、橈側列奇形、心奇形についてVATER症候群と共通している。

また、ZIC3遺伝子変異の症状も同様である。アドリアマイシンを胎児に投与するとVATER症候群様の表現型を示すことが知られている。われわれは本研究でアドリアマイシンが2つのタンパクに特異的に結合することを同定し、これらの2タンパクがVATER症候群の発症と関連していると考えている。

これらの遺伝子と生物学的に関連を有する遺伝子群について解析しVATER症候群の発症に関与する分子群や分子経路を明かにすることを目的とした。

B. 研究方法

特定の遺伝子と生物学的関連を有する遺伝子群を同定するためにトロント大学が開発したプログラムGeneMANIAを適用した。

生物学的に関連は、タンパク間相互作用、遺伝子間相互作用、パスウェイ、共発現、共局在、タンパクドメインの共通性を基に示唆された。

GeneMANIAの初期設定条件下で、スコアの高い20遺伝子を対象として検討した。

C. 研究結果

以下の遺伝子がSALL1と関連する遺伝子群と考えられた。

BCMO1
KCNV2
c6orf162
PROCR
SUMO1
STAB2
UBE21

PTGS1
NANOG
ALOX15
TERF1
CSPG5
FLJ45513
FOXD2
CTNNB1
PLAU
TLE2
SLC11A2
FOXA2
TBC116

以下の遺伝子群がアドリアマイシン結合タンパクと関連する遺伝子群と考えられた。

結合タンパク A

CAPRIN1
GTF2I
G3BP2
USP9X
MAPRE1
NFKB2
BRAS
EIF2S3
CLDND1
EIF1AX
KDM6A
GABPA
BCLAF1
TBK1
NUP62
CUL4B
ZFX
CD46

TXLNG
XPO1

結合タンパク B

PAIP1
EIF4G2
HNRNPA1
EIF4E
PABPC3
EIF4B
PABPC1
EIF3E
EIF3H
RPS7
RPL7
RPL17
RPL30
RPS3
RPS27
RPL13A
RPS3A
RPS13
RPL3
RPLP0
RPS2

以下の遺伝子群が ZIC3 と関連する遺伝子群と
考えられた。

PAIP1
NRFFR1
CUL4A
RBX1
DDB1
TMPRSS15
ZIC1
NR2F1
ACTA2
GLI3
TOX3
ESRRG
PPFIBP1
COL11A1
AQP2
RGS20
ETV1
MBOAT2
GREB1L
TCHH

D. 考察

候補遺伝子のリストが作成された。
4 遺伝子群に共通する遺伝子は存在しなかった。
4 遺伝子群が関連するパスウェイとして
EIF(Eukaryotic initiation factors)とCUL4が示され
た。
Eukaryotic initiation factors (eIF) は翻訳の初期段
階に関与するタンパクである。一方、CUL4はD

NA複製と転写を調節するユビキチンE3リガ
ーゼのコアとなるタンパクである。
工藤らの分担研究報告にあるように、次世代シ
ーケンサーを用いた研究で、全患者に共通の遺
伝子変異を同定していないが、孤発例における
遺伝子変異の意義を検討する際、EIFタンパ
クとCULタンパク、特にCUL4に注目すべ
きと考えられた。

E. 結論

VATER症候群の原因遺伝子の関連遺伝子を4
つの異なるアプローチによって推定した。
2つの異なるアプローチによって同時に関連が
示された遺伝子として翻訳の初期段階に関与す
るeIFDNA複製と転写を調節するユビキチンE3
リガゼのコアとなるCUL4が示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, Kosaki K. Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis. *Eur J Med Genet.* 56(1):50-3.2013
- 2) Takenouchi T, Yagihashi T, Tsuchiya H, Torii C, Hayashi K, Kosaki R, Saitoh S, Takahashi T, Kosaki K. Tissue-limited ring chromosome 18 mosaicism as a cause of Pitt-Hopkins syndrome. *Am J Med Genet A.* 158(A)(10):2621-3.2012
- 3) Takenouchi T, Okuno H, Kosaki R, Ariyasu D, Torii C, Momoshima S, Harada N, Yoshihashi H, Takahashi T, Awazu M, Kosaki K. Microduplication of Xq24 and Hartsfield syndrome with holoprosencephaly, ectrodactyly, and clefting. *Am J Med Genet A.* 158(A)(10):2537-41.2012
- 4) Kosaki R, Nagao K, Kameyama K, Suzuki M, Fujii K, Miyashita T. Heterozygous tandem duplication within the PTCH1 gene results in nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Am J Med Genet A.* 158(7):1724-28.2012
- 5) Yagihashi T, Kosaki K, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Takahashi T, Sato Y, Kosaki R. Age-dependent change in behavioral feature in Rubinstein-Taybi syndrome. *Congenit Anom (Kyoto).* 52(2):82-6.2012
- 6) Miyazaki O, Nishimura G, Sago H, Horiuchi T, Hayashi S, Kosaki R. Prenatal diagnosis of fetal skeletal dysplasia with 3D CT. *Pediatr Radiol.* 42(7):842-52.2012
- 7) Kosaki R, Kaneko T, Torii C, Kosaki K. EEC syndrome-like phenotype in a patient with an IRF6 mutation. *Am J Med Genet A.* 158A(5):1219-20.2012
- 8) 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