

201231051B

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 23 年度～平成 24 年度 総合研究報告書

研究代表者 小崎健次郎

平成 25 (2013) 年 3 月

目 次

I. 研究班構成員名簿	1
II. 総合研究報告書	
1. 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	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. VATER association における橈側列異常の特徴と治療について	16
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)	
3. VATER 症候群の疫学ならびに分子細胞遺伝学的検討	19
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)	
4. VATER 症候群における心奇形の実態	22
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. VATER 症候群の臨床的検討およびフォローアガイドラインの作成その応用	27
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. VATER 症候群と表現形が重複する先天異常症候群患児の臨床像と 家族支援に関する研究	35
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. 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	39
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. VATER 症候群における内蔵奇形の実態	41
星野 健 (慶應義塾大学医学部外科教室・小児外科)	
9. VATER 連合患者に関する iPS 細胞研究	43
赤松 和土 (慶應義塾大学医学部生理学教室)	
10. アドリアマイシンによる VATER 連合モデルの作製	46
谷口 善仁 (慶應義塾大学医学部)	
11. 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	49
加部 泰明 (慶應義塾大学医学部)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	51
IV. 研究成果の刊行物・別冊	55

〔 I 〕

研究班構成員名簿

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	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	講師
	加部泰明	慶應義塾大学医学部	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
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はできなかった。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、その一方でアドリアマイシンは、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ア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の同定を目指す。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。

さらに同定された疾患候補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。

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。

<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)

。

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。半回転式ミクロトーム（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。

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。アドリアマイシン結合タンパクとしてタンパクの cDNA を、N 末端に 6xHis タグが付くように pET15b ベクターにクローニングし、BL21(DE3) を形質転換した。IPTG でタンパク発現を誘導した後、0.5%NP40 などの可溶化バッファーで大腸菌を溶菌し、遠心分離により可溶性画分を得た。これを His60 Ni Superflow Resin 充填カラム、あるいは HisTALON Co カラム（Clontech 社）にアプライし、目的タンパク質をアフィニティ精製した。精製タンパク質は、7.5% SDS-PAGE により分離後、クマシーブリリアントブルー染色、または抗 DDX3 抗体（Sigma 社）を用いたウェスタンブロットにより解析した。

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。

先天性心疾患、食道閉鎖、側わんを主要症状とする 2 典型例について 2 症例についてアレイ CGH 解析を行ったが

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。

(倫理的配慮)

個人情報の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。

後方視的な観察調査については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、個人情報の保護の観点から患者氏名が特定されないように留意した。

神奈川県は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れた形で登録され、施設内倫理審査により承認を受けた事業である

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 III A : 2 肢、type III B : 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、女兒。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、女兒。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 III a、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。

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。

<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
Klinefelter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。

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 臨床像の詳細な検討

岡本らがフォロー中の15症例について臨床像を検討した。基本情報についての内訳は、男10人と女5人で男女比はほぼ2対1であった。年齢は、0歳から22歳まであり、年齢別には、1歳までが5人、1歳以上6歳までが5人、6歳以上が7人であった。出生時体重においては、出生体重が1000g未満の超低出生体重児が2人、2500g未満の低体重児が7人、2500g以上の児が8人であった。生後すぐからNICUにて集中治療をうける例が多かった。

主要徴候ごとにまとめた結果を述べる。

(V) 椎体異常は、15人全員に認められた。脊柱側彎は、女性80%、男性40%に、椎体癒合は、女性60%、男性10%と男女差が認められた。診断の契機は循環器や消化器系の問題があった場合に実施した新生児期の胸腹部のXPで早期に診断された例が多かった。一部の症例は経過観察上での精査目的での評価で診断した。椎体異常を認めた場合、整形外科を受診し、コルセット

装着などの治療を受ける例もあった。

(A) 鎖肛は、男女ともに80%以上でみられ、15人中13名で合併がみられた。女性は高位鎖肛と低位鎖肛が40%ずつであるが、男性では中間位50%、高位30%、低位10%の順となった。当センターは大阪府下の新生児外科症例が多数集積することから、鎖肛症例が多く紹介される傾向にある。手術および術後の管理は小児外科でうけた。人工肛門についてはストマ外来で専門的な管理をうけた。

(C) 心疾患は、15人中14名にみられた。VSD、ASD、ファロー4徴症など各種の心奇形がみられた。肺高血圧症もあった。当センターは大阪府下の新生児外科症例が多数集積することから、先天性心疾患症例が多く集積する傾向にある。心臓血管外科において手術治療をうけた。VACTER症候群に該当する例が多かった。

(TE) 気管食道瘻など消化管奇形においては食道閉鎖を男性の50%に、女性の20%で認めた。一部に十二指腸閉鎖や腸回転異常の例もみられた。鎖肛と同様、小児外科で新生児期早期に手術をうけ、術後のフォローもうける例が多かった。

(R) 橈骨奇形は、男女ともに60%を占めていた。上肢奇形に左右差はなかった。四肢異常では、爪の形成異常や左右脚長差がみられた例があった。整形外科において専門的な外科治療を受け、術後のリハビリテーションをうけた。腎臓に関して、膀胱尿管逆流が60%の男性にみられた。男性10人中3人で尿道下裂が認められた。その他の合併症：先天性、出血性のケースも含め、水頭症を認めたのは女性2例であった。先天性水頭症の症例はVACTERL-H症候群に近いと考えられた。

#2 上記を踏まえて下記のガイドライン診療の手引きを作成した。

①総合的事項

VACTER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。

VACTER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、VACTER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。VACTER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

VACTER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。

VACTER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

VACTER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場合が多い。VACTER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(尿管管残存、水腎症、尿管管症など)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。脊髄空洞症、二分脊椎や脊髄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。齲齒予防も行う。

#3 身体発育と心理発達面

男子例の身長SD値の平均は-1.8SD(-4.3~-0.5)、同体重-1.8SD(-3.9~-0.2)、同頭囲-1.2SD(-2~-0.4)で、女子例の身長SD値の平均は-1.6SD(-3.3~-0.2)、同体重-1.5SD(-2.3~-0.6)、同頭囲0.1SD(-1.3~-1.7)であった。身長体重の増加不良に比べて、頭囲は保たれる傾向があった。

心理発達テスト実施例9例中、DQ70以下の精神発達遅滞が9名中2名認められた。1例は自閉症と重度の知的障害を合併した。

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
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。

文献上、タンパクAとタンパクBは互いに結合し、複合体を形成する。そこで、どちらのタンパク質がアドリアマイシンに結合するかを確認するために、両タンパク質をコードするcDNAをpET15bベクターに挿入し、スモールスケールのタンパク発現を行った。このリコンビナントタンパク質をアドリアマイシンカプリングビーズと個別に反応させたところ、タンパクA、タンパクBの両者ともアドリアマイシンに結合する能力があることが示された。

これまでに、アドリアマイシンの分子標的としては、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複製阻害によるガン細胞増殖抑制効果が知られていたが、このような作用は細胞・組織特異性が無いため、アドリアマイシンによる心機能障害や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

と考えられている。本研究の解析で同定されたアドリマジ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可能性がある。

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マイシン結合タンパク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。

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。そこで、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マイシン結合タンパク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。

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。椎体異常は比較的高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。疾患について患者家族がインターネットで検索をすることが日常的な現在、診断名が与えられないことで、患者は自身での情報検索や家族間交流の機会も少なくなる。診断名による患者サポートグループやウェブサイトが相次いで公開される一方で、診断名の未確定な先天多発異常患児の親が感じる不安は大きい。そうしたデメリットを解消するためにも、診断未定の多発奇形であっても、例えば脊椎奇形と鎖肛と伴う知的障害の無い小児、多指症と鎖肛と難聴を伴う小児など、多発奇形の部位の組み合わせで医療情報は患者間交流が可能な医学情報提供サイトも今後ニーズがあると思われる。

<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。

<アドリアマイシンに対する受容体スクリーニング>

本研究では低分子化合物に対する受容体をスクリーニング出来る独自のアフィニティ精製システムを駆使して、アドリアマイシンに特異的に結合するタンパク質の同定に成功した。アドリアマイシンの分子標的としては、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複製阻害によるガン細胞増殖抑制効果が知られていたが、このような作用は細胞・組織特異性が無いため、アドリアマイシンによる心機能障害や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る。

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可能性がある。

<疾患原因遺伝子の同定>

次世代シーケンサーを用いた解析結果を症例間で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。少数例で報告されている、候補遺伝子群の情報や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。そこで、タンパク質間相互作用、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。

<iPS研究>

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、十分に疾患解析に用いることが出来るのではないかと考えられる。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。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

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

- 1) 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
- 2) Kurosawa K, Masuno M, Kuroki Y. Trends in occurrence of twin births in Japan. *Am J Med Genet Part A* 2012;158A:75-77.
- 3) 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.
- 4) 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
- 5) 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
- 6) 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
- 7) 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
- 8) 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
- 9) 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
- 10) 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
- 11) 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
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) 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
- 15) 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
- 16) 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.
- 17) 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.

- 18) 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

(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

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
総合研究報告書

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（図2）、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

Type	Radius: Modified Bayne分類					計
	0	1	2	3	4	
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	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(図4)。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。