

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462735

研究課題名(和文) 頭蓋縫合早期癒合症における癒合部の病態解明

研究課題名(英文) Resolution of fused suture in craniosynostosis

研究代表者

小室 裕造 (Komuro, Yuzo)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号：90306928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はまれな疾患である頭蓋縫合早期癒合症の原因解明に少しでも近づくために行われた。頭蓋縫合早期癒合症の患者8名において手術を行ない癒合している縫合部の骨標本を採取した。手術により頭蓋形態が改善しているか、脳の除圧が有効に行われているかを単純X線撮影、3次元CT、MRIにて観察した。その結果われわれが開発した後頭蓋骨の骨延長術を行うことでこれらの改善が有効に行われていることを確認した。採取した骨検体はホルマリン固定したのちEDTAにて脱灰し免疫組織学的検索を行った。その結果、TGF- $\beta$ が癒合に関与していることが示唆された。また縫合部の骨組織でのFGFR2などの遺伝子の発現を検討中である。

研究成果の概要(英文)：This research was performed to elucidate cause of craniosynostosis which is a rare condition. We performed an operation in 8 patients of craniosynostosis and extracted a bone specimen from the fused suture. It was observed in X-ray radiography, three-dimensional CT and MRI whether intracranial pressure was reduced and the skull shape was improved by an operation. It was confirmed that these improvements are obtained by performing posterior calvarial vault distraction method which is an innovative surgical procedure we developed. The osteoblasts in the patent and fused sutures were almost all positive for TGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, and - $\beta$ 3. There was no distinct difference between activated osteoblasts and inactivated osteoblasts. The periosteum in patent and fused sutures tended to be positive for TGF- $\beta$ 2 and negative for TGF- $\beta$ 1 and - $\beta$ 3. Genetic expression of FGFR2 at the fused suture is being examined.

研究分野：形成外科学

キーワード：頭蓋縫合早期癒合症 先天異常 骨延長術 頭蓋形成術

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 頭蓋骨は四肢骨とは異なり multipotent mesenchymal cell から骨芽細胞に分化する膜性骨化という骨化形態を示す。頭蓋骨の組織由来はそれぞれ異なっており、前頭骨は神経堤細胞由来、頭頂骨と後頭骨は中胚葉由来である。これらの骨は線維性の結合織により連結され、増殖と分化のバランスにより縫合部の正常な成長が保たれている。またアポトーシスは頭蓋骨の縫合部の開存に関連していると考えられている。頭蓋骨縫合早期癒合症は病名が示す如く本来開存しているべき頭蓋縫合が早期に癒合し頭蓋の変形、頭蓋内圧亢進を引き起こす先天性疾患である。

頭蓋骨縫合早期癒合症は発生率が 10000 人に 3 から 5 人という稀な疾患であり、病変が頭蓋に限局するか非症候群性のものと顔面の異常を伴う症候群性のものに大別される。非症候群性のものは早期癒合した縫合線により舟状頭、短頭、斜頭、三角頭、尖頭などの形態を呈する。症候群性のものには顔面の低形成を伴うクルーゾン病や手足の異常を伴うアペール症候群などが代表的である。

(2) 近年遺伝子地図の研究が進み、家族性の症候群性頭蓋骨縫合早期癒合症と FGFR1,2,3、TWIST1、MSX2 などとの連鎖が示されるようになった。また各縫合部により変異に相違があることが示唆されており FGFR2 変異は冠状縫合、前頭縫合、矢状縫合、ラムダ縫合に影響を与え FGFR3 変異は冠状やラムダ縫合に影響を与えらるている。一方で FGFR1、TWIST1、EFNB1 変異は冠状縫合のみに影響を与え、FNB1 と TGFBR1 変異は矢状縫合やラムダ縫合に影響を与えらるている。一方、非症候群性の頭蓋縫合早期癒合症に関してはその原因はいまだ不明である。症候群性のもので明らかになった遺伝子異常についても解明されていない。今日まで病態解明のため免疫組織化学的に transforming growth factor-beta(TGF- )や urokinase、FGFR、androgen receptor などの研究がなされてきたが、いずれも動物での評価である。また遺伝子解析では TGF- 受容体遺伝子(ALK1)の変異が細胞増殖抑制作用を阻害し、特に血管関連細胞に影響することが知られているが頭蓋骨縫合早期癒合症での検索は行われていない。

(3) 頭蓋縫合早期癒合症の障害として頭蓋内圧亢進による脳の発達障害(学習障害や言語獲得能力)の影響が報告されており、手術介入によりこうした障害の改善が得られるとの報告もみられている。また頭蓋骨の変形による外貌の異常による心理的な影響も無視できず患児の社会生活への適応を考えると手術の果たす裨割は大きい。われわれの施設ではこうした疾患の外科的手術に以前より積極的に取り組んできた。

## 2. 研究の目的

(1) 頭蓋縫合早期癒合症においてクルーゾン病に代表される症候群性のものに関しては原因として遺伝子異常が明らかになってきたが、非症候群性のものは遺伝傾向もなくその原因はいまだ明らかでない。したがって患児およびその家族の不安は非常に大きいものがある。非症候群性の頭蓋骨縫合早期癒合症の原因を解明することにより、リスクを持つ家系へ適切なアドバイスを行えるだけでなく、将来的には本症が脳の発達に与える影響を明らかにし、手術以外の新しい治療法の開発につながる可能性がある。われわれは極めてまれな本疾患の生体材料を入手できる環境にあり、その検体の免疫染色による組織化学的検索を中心に行っているが、さらにその解析をすすめ、遺伝子解析を併せることにより病態の解明に一步でも近づきたいと考えている。

(2) 頭蓋縫合早期癒合症の唯一の治療法は現状では手術であり、適切な手術を適切な時期に行うことは患児にとって非常に大切である。今回頭蓋縫合早期癒合症の診断と治療について我々が行っている治療についても検討を加え、よりよい治療法の開発につなげる。

## 3. 研究の方法

### (1) 症例の解析

頭蓋縫合早期癒合症の患者に対し、3DCT 画像を行い診断を確定した。また単純 CT、MRI 画像から水頭症の有無、キアリ奇形等の頭蓋内の異常につき検索を行った。頭蓋内圧亢進が疑われる症例では手術時に頭蓋内圧の測定を行った。

### (2) 術式

頭蓋縫合早期癒合症のタイプにより手術術式を検討した。非症候群性の頭蓋縫合早期癒合症では一期的な頭蓋形成術を行い吸収性プレートで骨固定を行った。年長の矢状縫合早期癒合症に関しては、骨延長器と骨短縮器を併用した頭蓋形成術を行った。症候群性の頭蓋縫合早期癒合症や非症候群性の中でも後頭部の狭窄が強く前後径が短縮している症例では我々の開発した後頭蓋骨延長術を行った。

### (3) 手術の結果分析

頭蓋縫合早期癒合症の手術後の頭蓋形態を 3次元 CT で評価した。またキアリ奇形、扁桃ヘルニアのある症例については MRI にて小脳扁桃の位置の移動を確認した。さらに後頭蓋骨延長を行った症例で頭蓋容積の拡大を定量的に評価した。

### (4) 採取した縫合部分の組織学的解析

手術の手術に際し家族の同意が得られた症例において早期癒合した縫合部分と正常な

縫合部分を採取して、免疫組織化学的に解析を行った。  
骨片をホルマリン固定し、中性域の溶液である EDTA にて脱灰を行った。パラフィン包埋したのち薄切し標本を作製し、HE 染色にて骨梁、骨芽細胞、骨膜などの所見を得た。  
免疫染色にて左右の比較、他症例間で比較し影響を与える因子を検索する。使用抗体は Transforming Growth Factor Beta 1,2,3 で陽性細胞の局在を明らかにし冠状縫合と矢状縫合を比較した(図1)。



図1 冠状縫合早期癒合症では冠状縫合にまたがる部分の骨片を採取し患側と健常側を比較した。

#### 4. 研究成果

(1)調査期間中に 22 例の頭蓋縫合早期癒合症に手術を行った。そのうち 16 例は非症候群性頭蓋縫合早期癒合症で 6 例は症候群性頭蓋縫合早期癒合症であった。年齢は 5 カ月から 3 歳で平均 11 例で我々の開発した後頭蓋骨延長術を施行した。

術前術後の単純 X 線撮影および 3 次元 CT 撮影により頭蓋の形態の変化を、また MRI 撮影により脳実質の形態の変化を観察し、手術により頭蓋形態が改善しているか、脳の除圧が有効に行われているかを観察した。その結果われわれの開発した後頭蓋骨の骨延長術を行うことでこれらの改善が有効に行われていることを確認した(図2)。特にキアリ奇形や小脳扁桃ヘルニアを合併している例では後頭蓋の骨延長によりこれらが改善されているのが確認された(図3)。また早期癒合している縫合にかかわらず後頭蓋骨延長術を行うことにより良好な頭蓋形態が得られることが分かり本術式の有用性が明らかになった。

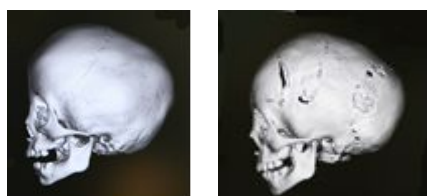


図2 後頭蓋骨延長術および前頭蓋形成術により良好な頭蓋形態が獲得できた。

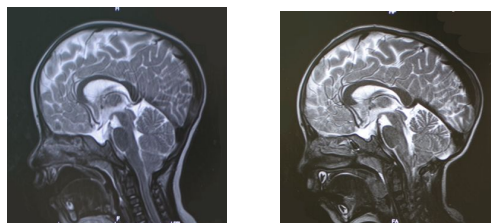


図3 術前のキアリ奇形が後頭蓋骨延長により改善した。

(2)後頭蓋骨延長を行ったうち 7 例の 3 次元 CT データより術前後の頭蓋容積を計測し頭蓋容積の拡大率及び拡大率を数値化することができた。後頭蓋骨延長により頭蓋容積は 113% ~ 134% (平均 121%) と拡大した。従来広く行われてきた fronto-orbital advancement による前頭蓋拡大よりも後頭部での拡大のほうが延長距離に対する頭蓋容積拡大量が大きく効率のより頭蓋拡大が行われたことが明らかとなった。

(3)症例の集積を行い、8 例の新規患者より両親の承諾を得て手術を行う際に早期癒合した部位の骨片を採取した。以前に採取した 2 症例と合わせ 10 症例(斜頭症 5 例、舟状頭 5 例)で TGF の局在を検討した(図4、表1)。

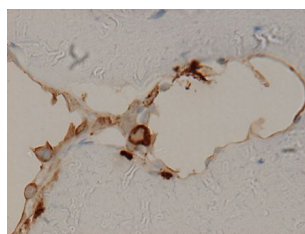


図4 斜頭症の osteoblast の染色で TGF 1 陽性を認める。

症例	osteoblast			periosteum		
	TGF 1	TGF 2	TGF 3	TGF 1	TGF 2	TGF 3
斜頭症						
1	±	+	+	-	+	+
2	±	+	±	-	±	-
3	-	+	+	-	+	-
4	-	+	+	-	-	-
5	-	+	+	-	-	-
舟状頭						
1	-	+	+	+	+	±
2	-	+	±	±	+	-
3	-	+	+	±	+	-
4	-	+	+	±	+	-
5	-	+	+	-	-	-

表2 斜頭症 5 例、舟状頭 5 例における osteoblast と periosteum における TGF の局在

TGF は Rb 蛋白のリン酸化を阻害し細胞増殖

分化の抑制と促進、アポトーシスの促進などを引き起こす。頭蓋骨縫合部ではそれぞれの isoform が dura、骨膜に存在し異なる発現をすることにより骨、軟骨、osteoblast、osteoclast の増殖、分化をコントロールする。従来ラットの冠状縫合での実験では、TGF-1 が高値で縫合は閉鎖、TGF- 1,2 が減弱すると縫合は開存、TGF- 3 が高値で縫合は開存すると報告されている。今回の検討では以下のことが考えられた。1. 矢状縫合部の骨膜は TGF 1 陽性傾向であったため冠状縫合よりも矢状縫合の骨膜がより TGF 1 に関連している可能性がある。2. TGF 2 はいずれの縫合部の osteoblast、骨膜ともに陽性の傾向がみられ、従来の閉鎖部の報告と一致した。3. TGF- 3 はいずれの骨膜でも陰性傾向がみられ、osteoblast よりも関連がある可能性がある。4. ラットにおける TGF 1 は閉鎖、TGF 3 は開存、TGF- 1,2 の減弱が開存に関与するという報告と本実験では舟状頭症の骨膜に関しては同様の傾向がみられた。今後は、縫合部の骨組織での FGFR2 などの遺伝子の発現を検討していく予定である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

Shimizu A, Komuro Y, Shimoji K, Miyajima M, Arai H: Quantitative Analysis of Change in Intracranial Volume After Posterior Cranial Vault Distraction. J Craniofac Surg 27: 1135-1138, 2016 査読有り  
DOI: 10.1097/SCS

小室裕造、下地一彰、宮島雅一、新井一：後頭蓋骨延長術によってもたらされた頭蓋縫合早期癒合症の治療アルゴリズムの変化小児の脳神経 41: 338-343, 2016 査読有り

<http://jpn-spn.umin.jp/kikanshi.html>

Komuro Y, Shimizu A, Shimoji K, Miyajima M, Arai H: Posterior Cranial Vault Distraction Osteogenesis with Barrel Stave Osteotomy in the Treatment of Craniosynostosis. Neurol Med Chir (Tokyo) 55: 617-623, 2015 査読有り  
DOI: 10.2176/nmc

[学会発表](計 16 件)

小室裕造、清水梓：後頭蓋骨延長術．第 60 回日本形成外科学会 2017/4/12 大阪シンポジウム

Komuro Y, Shimizu A, Shimoji K, Miyajima M, Arai H : Posterior cranial vault distraction osteogenesis with barrel stave osteotomy in the treatment of craniosynostosis: operative technique and outcome. American Society for Craniofacial Surgery Symposium 2017/1/24 Maui

Komuro Y, Shimizu A, Shimoji K, Miyajima M, Arai H : Posterior calvarial distraction in syndromic craniosynostosis

The 11th Congress of the Asian Pacific Craniofacial Association 2016/12/2 Nara

小室裕造：頭蓋顔面領域における骨・軟骨再建 - 臨床の現場からみた基礎研究

第 25 回日本形成外科学会基礎学術集会

2016/9/15 大阪 パネルディスカッション

Komuro Y, Shimizu A, Shimoji K, Miyajima M, Arai H : Changes in the treatment algorithm for craniosynostosis by the introduction of a posterior cranial distraction. The 16th congress of international society of craniofacial surgery 2015/9/17 Maihama

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

小室 裕造 (KOMURO, Yuzo)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号：90306928

##### (2) 研究分担者

福村 由紀 (FUKUMURA, Yuki)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：90407312

##### (3) 研究分担者

上田 晃子 (UEDA, Akiko)

順天堂大学・医学部・非常勤助教

研究者番号：50337961