

研究年報

Annual Research Reports

第47号 2023年度

No.47, 2023

公益財団法人 成長科学協会
THE FOUNDATION FOR GROWTH SCIENCE

研究年報

第47号 2023年度

公益財団法人 成長科学協会

序 文

当財団は設立後47年を迎えますが、設立以来その年度に行った研究助成の成果を次の年度に研究年報として刊行し、全国の大学（医科大学・大学医学部）等の図書館及び関係者に配布してきました。

その第47号として、2023年度に行った指定課題研究（3件）、自由課題研究（10件）、FGHR臨床研究（4件）及びソルディサイエンス研究（4件）の報告書をまとめて刊行する運びとなりました。これらの研究成果の中に、国際的に高く評価されるものが年々増加しつつあることは喜ばしい限りです。

本年報を通じて、2023年度の当財団の研究助成関係などの活動状況を見て頂きたいと思います。また、本年報は関係者の研究に寄与するものと考えており、その活用を強く願っております。

尚これらの研究助成費は、2023年度に当財団に御寄付下された各位の寄付金によるものです。ここにそれらの方々の御厚意に対し、衷心よりお礼申し上げる次第であります。

2024年12月

公益財団法人 成長科学協会理事長

田中 敏章

凡 例

1. 内容は、当財団が2023年度に助成した指定課題研究(3件)、自由課題研究(10件)、FGHR臨床研究(4件)、ノルディサイエンス研究(4件)、計21件につき、それぞれ助成対象者より提出された報告書を収載した。
2. 報告書を収載するにあたっては、前記の4項目の記載順とした。各項目内における記載順は、指定課題研究は当該年度の事業計画に記載の順、自由課題研究、FGHR臨床研究及びノルディサイエンス研究は報告者の氏名の五十音順である。
3. 助成対象者については、指定課題研究及び自由課題研究は当財団において設定した「研究助成事業に関する実施要領」に基づき、それぞれ公募のうえ選考したものである。

目 次

指定課題研究報告

成長ホルモン療法の治療効果に及ぼす諸因子の解析並びにアドバース・イベントの調査に関する研究	1	
主任研究者	石井 智弘	慶應義塾大学医学部小児科学教室
共同研究者	横谷 進	福島県立医科大学ふくしま国際医療科学センター
	島津 章	淡海医療センター先進医療センター
	松野 彰	国際医療福祉大学成田病院脳神経外科
	濱崎 祐子	東邦大学医学部腎臓学講座
	村上 信行	獨協医科大学埼玉医療センター小児科
	西 美和	広島赤十字・原爆病院小児科
	羽二生 邦彦	羽二生クリニック
	堀川 玲子	国立成育医療研究センター内分泌・代謝科
	棚橋 祐典	市立稚内病院小児科
	高野 幸路	森山記念病院内分泌代謝内科
	松井 克之	滋賀県立小児保健医療センター内分泌代謝糖尿病科
	望月 貴博	希望の森成長発達クリニック
	高橋 裕	奈良県立医科大学糖尿病・内分泌内科学講座
	長谷川 奉延	慶應義塾大学医学部小児科学教室
成人成長ホルモン分泌不全症患者の病態解析、診断、治療及び追跡調査に関する研究	17	
主任研究者	福岡 秀規	神戸大学医学部附属病院糖尿病・内分泌内科
共同研究者	大塚 文男	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科総合内科学
	田原 重志	日本医科大学武蔵小杉病院脳神経外科
	藤尾 信吾	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科脳神経外科学
	亀田 啓	北海道大学病院糖尿病・内分泌内科
ヨウ素摂取と甲状腺機能、成長発達との関連に関する研究	19	
主任研究者	伊藤 善也	日本赤十字北海道看護大学臨床医学領域
共同研究者	山口 真由、浦川 由美子	鎌倉女子大学家政学部管理栄養学科
	塚田 信	女子栄養大学栄養科学研究所
	長崎 啓祐	新潟大学医学部小児科学教室
	布施 養善	Iodine Global Network

自由課題研究報告

ターナー症候群の視機能と視覚認知を含む脳・認知機能の検討 －早期発見のための質問表や訓練作成と継続的な教育・就労支援の検討－	23
荒木 久美子	秋山成長クリニック
稲田 勤	高知リハビリテーション専門職大学言語療法学科
望月 貴博、西垣 五月	希望の森成長発達クリニック
荒木 まり子	高知大学医学部小児思春期医学
間部 裕代	間部病院小児科
内山 仁志	島根県立大学人間文化学部保育教育学科
Multi-locus imprinting disturbance 症例における遺伝学的原因および異常メチル化可変領域と成長障害、 GH 治療反応性の検討	39
鏡 雅代	国立成育医療研究センター分子内分泌研究部
学校健診における新たな成長曲線異常判定簡易プログラムの作成	45
鞆嶋 有紀	島根大学医学部小児科
LC-MS/MS による日本人小児テストステロン・エストラジオール基準値の作成	47
今野 麻里絵	東京都立小児総合医療センター内分泌・代謝科 (現：慶應義塾大学医学部小児科学教室)
思春期遅発症における臨床学的・分子遺伝学的研究 －疾患責任遺伝子変異と生殖能力に対する予後への影響に対する検討－	51
佐藤 直子	なみファミリークリニック
小笠原 敦子	茨城県立こども病院小児科
瀬尾 美鈴	京都産業大学工学部生物工学科
三井 純	東京大学ゲノム医学研究支援センター
高身長を伴う骨系統疾患の成因解析と新規責任遺伝子の同定	55
志村 和浩	慶應義塾大学医学部小児科学教室
Kallmann 症候群・特発性中枢性性腺機能低下症における新規責任遺伝子の探索ならびに新規発症機序の解明	59
増永 陽平	浜松医科大学小児科学講座・地域医療支援学講座
日本人のヨウ素栄養に重要な影響を及ぼす食品のうち、日本食品標準成分表に記載のない食品の ヨウ素含有量の測定によるヨウ素摂取量の正確な評価についての研究	61
山口 真由	鎌倉女子大学家政学部管理栄養学科
塚田 信	女子栄養大学栄養科学研究所
伊藤 善也	日本赤十字北海道看護大学臨床医学領域
長崎 啓祐	長野県立こども病院 生命科学研究センター
布施 養善	Iodine Global Network
下垂体機能低下症におけるオキシトシン分泌不全症の診断法確立とその病態解明	65
山本 雅昭	神戸大学大学院医学系研究科糖尿病内分泌内科学

小児骨格筋におけるアンドロゲン受容体の遺伝子制御メカニズムの解明	67
横山 敦	東北大学大学院医学系研究科

FGHR 臨床研究報告

性腺トランスクリプトームを利用した SRY 陰性 46, XX 精巢性分化疾患の分子遺伝学的原因探索	69
市橋 洋輔	慶應義塾大学医学部小児科

中枢性尿崩症におけるデスマプレシン口腔内崩壊錠の薬物動態・臨床指標の検討	71
小川 哲史	虎の門病院小児科
小川 敦、滝沢 文彦、向山 祐理、伊藤 純子、磯島 豪	虎の門病院小児科

肥満症児における皮膚 AGEs 値の検討－正常体格児との比較および皮膚 AGEs 値に影響を与える因子解析－	75
永原 敬子	昭和大学医学部小児科学講座
茂木 桜、越智 彩子、豊田 純也、安達 昌功	昭和大学医学部小児科学講座
中野 有也	昭和大学江東豊洲病院小児内科

臍帯由来間葉系幹細胞 (UCMSC) を用いた SGA 児におけるプログラミングと成長障害の病態解明	85
野口 優輔	東京医科歯科大学小児科
杉江 学、森丘 千夏子、滝 敦子、高澤 啓、鹿島田 健一	東京医科歯科大学小児科

ノルディサイエンス研究報告

染色体異数性を合併する Prader-Willi 症候群の乳幼児期における成長ホルモンの治療効果	89
木島 俊英	慶應義塾大学病院

Daily GH 製剤から Weekly GH 製剤への切り替えに伴う血糖変動と体組成への長期的な影響	97
田口 朋	北里大学医学部内分泌代謝内科学

SGA 児における PAPP-A2 による IGF-1 生体利用率調節と体格との関連解析	99
難波 範行	鳥取大学医学部周産期・小児医学分野

フローサイトメトリーを用いた先端巨大症における腫瘍被膜同定法確立に向けた研究	103
藤尾 信吾	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科脳神経外科学

2022 年度分

ノルディサイエンス研究報告

FGFR3 遺伝子異常症に対する成長ホルモン治療効果に影響を与える因子の検討	105
原田 大輔	地域医療機能推進機構 (JCHO) 大阪病院小児科
上山 薫、柏木 博子、清野 佳紀	
	地域医療機能推進機構 (JCHO) 大阪病院 小児科
田中弘之	岡山済生会総合病院 小児科

指定課題研究報告

「成長ホルモン療法の治療効果に及ぼす諸因子の解析並びに アドバース・イベントの調査に関する研究」研究総括

主任研究者	石井 智弘	(慶應義塾大学医学部小児科学教室)
共同研究者	横谷 進	(福島県立医科大学放射線医学県民健康管理センター)
	島津 章	(淡海医療センター先進医療センター)
	松野 彰	(国際医療福祉大学成田病院脳神経外科)
	濱崎 祐子	(東邦大学医学部腎臓学講座)
	村上 信行	(獨協医科大学埼玉医療センター小児科)
	西 美和	(広島赤十字・原爆病院小児科)
	羽二生 邦彦	(羽二生クリニック)
	堀川 玲子	(国立成育医療研究センター内分泌・代謝科)
	棚橋 祐典	(市立稚内病院小児科)
	高野 幸路	(森山記念病院内分泌代謝内科)
	松井 克之	(滋賀県立小児保健医療センター内分泌代謝糖尿病科)
	望月 貴博	(希望の森成長発達クリニック)
	高橋 裕	(奈良県立医科大学糖尿病・内分泌内科学講座)
	長谷川 奉延	(慶應義塾大学医学部小児科学教室)

研究目的

わが国における成長ホルモン（GH）分泌不全性低身長症、ターナー症候群、ヌーナン症候群、小児慢性腎不全性低身長症、プラダー・ウィリ症候群、軟骨異栄養症、SGA 性低身長症、SHOX 異常症、成人成長ホルモン分泌不全症に対する GH 療法の治療効果、およびアドバースイベントを収集し、解析する。

研究成果

本年度の研究のうち、特筆すべき7個の成果を以下にまとめる。

1. 成長ホルモン分泌刺激試験における感度・特異度についての検討（松井克之）
2. 過剰染色体を有するプラダー・ウィリ症候群（PWS）患者の頻度とその由来について（村上信行）
3. 小児腎移植後患者の成長ホルモン注射の使用実態と使用量（濱崎祐子）
4. SGA 性低身長症における出生時体格の層別化による GH 治療効果の解析（石井智弘）
5. 下垂体疾患、成人 GH 分泌不全症に関する診断・病因・病態の解明（高橋裕）
6. 成長科学協会アドバースイベント報告（2023年1月－12月）（西美和）
7. 成長ホルモン療法の治療効果に及ぼす諸因子の解析並びにアドバース・イベントの調査に関する研究（松野彰）

小児期成長ホルモン分泌不全症の治療効果の評価 成長ホルモン分泌刺激試験における感度・特異度についての検討

松井 克之

滋賀県立小児保健医療センター内分泌代謝糖尿病科

A：文献検索

1：検討内容

成長ホルモン分泌不全症（GHD）の診断に成長ホルモン分泌刺激試験（GHST）が用いられるが、その感度や特異度は十分には高くないと考えられている。さらに感度や特異度についていくつもの研究が報告されているが、対象や検査方法（負荷の種類や量など）、Cut-off 値などが異なっている。本研究ではこれまでの文献を検討し、小児に関する成長ホルモン分泌刺激試験の感度や特異度に関する研究の全体像を把握することを目的とする。

2：対象と方法

PubMedにて以下の条件をすべて満たす文献を検索した。はじめに抄録を用いて本研究の目的に合致しうる文献を抽出し、さらに抽出した文献で本文を確認して、該当する文献を選定し、その内容をまとめた。

小児：（“infant” [MH] OR “Child, Preschool” [MH] OR “child” [MH] OR “Adolescent” [MH] OR child OR pediatric OR Adolescent）

成長ホルモン分泌不全症：（“Growth hormone deficiency” [All Fields] OR “GH deficiency” [All Fields] OR “GHD” [All Fields]）

ホルモン分泌刺激試験：（“provocative” [All Fields] OR “provocation” [All Fields] OR “stimulative” [All Fields] OR “stimulation” [All Fields] OR “tests” [All Fields] OR “test” [All Fields]）

感度と特異度：（“sensitivity” [All fields] AND “specificity” [All fields]）

検索期間：（“1960/1/1” [Date - Publication]：“2023/12/31” [Date - Publication]）

3：解析結果

検索結果：134 文献中該当は 8 論文

番号	筆頭著者	雑誌/年	検査種類	GHST GH頂値	感度 (%)	特異度 (%)	有効度 (%)	症例数	対照数	対照	症例の 成長率 低下	症例の 脳腫瘍や 頭部照射	症例の 全ての器 質的所見	症例の 治療 反応性
1	C Guzzetti	EJE/2016	アルギニン	6.5	93.4	92.1	92.5	61	151	SS	必要条件	74%	100%	必要条件
1	C Guzzetti	EJE/2016	インスリン	5.1	91.3	91.7	91.5	46	60	SS	必要条件	74%	100%	必要条件
1	C Guzzetti	EJE/2016	クロニジン	6.8	88.5	97.4	96.3	26	192	SS	必要条件	74%	100%	必要条件
2	AS Martinez	JCEM/2000	アルギニン・ クロニジン連続	5	86.7	90.9	89.8	15	44	SS	必要条件	不明	41%	不問
3	V Tillmann	JCEM/1997	各種混合	7.5	73	85	81	60	110	SS	必要条件	72%	72%	不問
4	MT Dattani	JE/1992	インスリン	13.5	63.5	70	66	85	63	c-SS	必要条件	0%	0%	不問
5	S Cianfarani	CE/2002	アルギニンか クロニジン	7	66	78	73.6	33	56	SS	不問	不明	100%	必要条件
6	G Binder	GHIR/2011	アルギニン	6.6	84.3	75.5	78.4	52	106	TS, SGA	必要条件	0%	0%	必要条件
7	GM Bright	Ped/1999	各種混合	10	82	25	56.6	131	105	c-SS	不問	0%	0%	必要条件
8	JS Felicio	FE/2019	インスリン	7	93.9	22.7	71.8	≦62*	≦55*	SS	不問	0%	0%	必要条件
8	JS Felicio	FE/2019	クロニジン	7	93.2	26.3	73	≦62*	≦55*	SS	不問	0%	0%	必要条件
8	JS Felicio	FE/2019	インスリン	5	81.6	36.4	67.6	≦62*	≦55*	SS	不問	0%	0%	必要条件
8	JS Felicio	FE/2019	クロニジン	5	70.5	36.8	60.3	≦62*	≦55*	SS	不問	0%	0%	必要条件

EJE: Eur J Endocrinol, JCEM: J Clin Endocrinol Metab, JEI: J Endocrinol, CE: Clin Endocrinol (Oxf),

GHIR: Growth Horm IGF Res., Ped: Pediatrics, FE: Front Endocrinol (Lausanne)

SS: 低身長小児、c-SS: 元々は case と同じ低身長小児 (classified-SS)、TS: ターナー症候群小児、SGA: SAG 性低身長小児
全ての器質的所見には複合型下垂体ホルモン欠損症や下垂体の器質的所見症例を含む。*: 一部症例で該当の負荷試験が行われていない

論文7: GHST の GH<10 μ g/L で治療後身長 SDS が年 0.5SD 以上改善したものを GHD と仮定も対照設定に問題点あるため、感度と特異度に影響する。対象を独自に設定し直して計算すると感度 87%、特異度 46%になる。

論文8: 全症例に 0.9 U (0.3mg)/kg/ 週 の GH 治療施行。身長 SDS が年 0.3 以上改善し、かつ治療前に GHD 所見を有りを GHD と仮定。

- 1: 事前に GHD を定義した報告 (1-6) では、感度 64%~93.4%、特異度 70%~97.4%
- 2: 症例に脳腫瘍や頭部照射が多い報告 (1, 3) では、感度 73%~93.4%、特異度 85%~97.4%
- 3: 症例が特発性 GHD のみの報告 (4,6) では、感度 63.5%~84.3%、特異度 70.0%~75.5%
- 4: GHD の定義を GH 治療の反応性だけで定義した報告 (7, 8) では、有効度を優先した GH カットオフ値の設定で感度 82%~93%、特異度 23%~26%、他の報告と同程度の感度になるカットオフ値の設定で感度 70%~82%、特異度 25%~37%

4：考察

感度と特異度は症例の設定によって変わってくる。GHST に関しては GHD をどのように定義するかとなるが、報告により様々であって、そのため感度も特異度も違いが大きい。多くの報告 (1-6) では GHD の定義に検査前の成長速度低下か成長ホルモン治療後の身長改善、もしくはその両方を条件に加えているが、これは本邦の成長ホルン分泌不全性低身長症の診断基準とは異なるため、本邦の実診療においてどの程度当てはまるかは不明である。

また、GH 治療の反応性を主体に GHD を定義した報告 (7, 8) では特異度が極端に低くなっている。この原因としては GH 治療量が生理量より多いため (特に論文 8 は 0.3 mg/kg/ 週)、GHD でなくても身長が改善したケースがあるものと推察される。

GHST の感度と特異度は実臨床の上では十分高いとは言えないと思われる。

過剰染色体を有するプラダー・ウィリー症候群 (PWS) 患者の頻度とその由来について

村上 信行

獨協医科大学埼玉医療センター小児科

目的

PWSは低身長、肥満、性腺機能不全、糖尿病などの内分泌学的異常を特徴する疾患である。PWSは染色体15q11-13領域の父性発現遺伝子の機能喪失により発症する。遺伝学的に分類するとPWS患者の70～75%に父親由来の染色体15q11-13の欠失がみられ、20～25%に染色体15番双方が母親由来である片親性ダイソミー（母性片親性ダイソミー:UPD）、2～5%に刷り込みセンターの異常（欠失、エピ変異）、1%に転座がみられる。近年、本邦では高齢出産の増加により本症におけるUPDの割合が増加している。過剰染色体を伴うUPDの報告がみられ、その発達遅滞は比較的軽度であると報告された。

今回、我々は過剰染色体を有するPWS患者の頻度と臨床経過について検討する。また、その過剰染色体の由来、機序について検討する。

対象

2021年4月1日までに獨協医科大学埼玉医療センター小児科PWS外来を受診した患者延べ362名を対象とした。

方法

近年PWS患者の診断は、FISHとメチル化PCRで行われる。このため当院に紹介されたPWS患者でも染色体検査が行われていない、または不明であることが多い。過剰染色体を伴うUPDの頻度を検討するため染色体検査が不明である患者に関しては染色体検査を行い、その頻度を検討する。過剰染色体を伴うUPD患者に関してその発達について検討、非欠失患者の発達と比較検討する。過剰染色体に関してはMS-MLPA、多型解析などを行い、その由来などを検討する。

結果

362名のPWS患者のうち過剰染色体を伴う患者は7名であり、PWS患者の1.9%であった。7名の患者で欠失患者0名、非欠失患者7名であり、非欠失患者110名中7名、6.4%であった。年齢は5歳9か月から30歳6か月（中央値14歳11か月）、男性4名、女性3名である。7名の患者の患者年齢などを表1に示した。

表 1 過剰染色体を有した患者

患者	年齢	性	出生時 母年齢	独歩年齢	発語年齢	その他の症状
1	36歳6か月	M	27	ND	ND	重度肥満 脊椎側弯症
2	20歳3か月	F	25	1歳9か月	1歳9か月	脊椎側弯症
3	18歳2か月	F	26	2歳	2歳2か月	脊椎側弯症
4	14歳11か月	M	28	不明	不明	
5	12歳7か月	F	27	2歳7か月	2歳7か月	脊椎側弯症
6	8歳4か月	M	38	4歳6か月	未	重度知的障害 てんかん
7	5歳9か月	M	38	1歳6か月	1歳9か月	脊椎側弯症

表 2-1 遺伝子解析

患者	G 染色 FISH 法
1	47, XY, +mar[25]/46, XY[5]. ish der(15) (D15Z1+, SNRPN-)
2	47, XX, +mar[3]/46, XX[17], idic(15) (D15Z1+, SNRPN+)
3	47, XX, inv(13)(q22q34), +mar[4]/46, XX, inv(13)(q22q34)[56], idic(15) (D15Z1+, SNRPN-)
4	47, XY, +mar[27]/46, XY[3], idic(15) (D15Z1+, SNRPN +)
5	47, XX, mar[16]/46, XX[4]. ish der(15) (D15Z1+, SNRPN-)
6	47, XY, +mar[26]/46, XY[24]. ish der(15) (D15Z1+, SNRPN+)
7	47, XY, +mar[24]/46, XY[6]. ish der(15) (D15Z1-, D15Z4+, SNRPN-)

7名の患者のG染色体検査、FISH法の解析結果を表2-1に示した。過剰染色体は全例15番染色体であり、モザイクであった。患者2-4の過剰染色体はisodicentric染色体であった。患者2、6の過剰染色体はSNRPN - DMRを含んでいた。これに対して患者1、3、4、5、7の過剰染色体はSNRPN - DMRは含まなかった。MS-MPLA、多型解析は患者2、3では現在解析中である。その他の5名の解析結果を表2-2に示した。MS-MPLA、多型解析の結果から解析した患者は解析した4例はmaternal uniparental heterodisomy: mUPD(h)であった。患者4、6の過剰染色体はMS-MPLAメチル化解析、多型解析から父由来であった。

表 2-2 遺伝子解析

患者	MS-MLPA	多型解析
1	SNRPN-DMR 高メチル化	コピー数異常なし
2	解析中	解析中
3	解析中	解析中
4	SNRPN-DMR 高メチル化	コピー数異常あり
5	SNRPN-DMR 高メチル化	コピー数異常なし
6	SNRPN-DMR 高メチル化	コピー数異常あり
7	SNRPN-DMR 高メチル化	コピー数異常なし

mUPDD(h) : maternal uniparental heterodisomy

考察

362名のPWS患者について検討を行い、過剰染色体を有する患者は7名であった。また、7名の患者すべてが非欠失PWS患者であった。過剰染色体を有した患者は6.4%と比較的多くの患者に認められた。

過剰染色体の由来は全例が15番染色体であり、モザイクで存在した。過剰染色体の父母の由来を特定できたのは解析が終了していない2名の患者を除き、過剰染色体にSNRPNを含む患者4、6の2名のみであるが、父由来であった。過剰染色体は15番染色体のisodicentric染色体と考えられる患者が3名と15番染色体の一部一つの患者4名であった。また、これらに伴って認められたUPDは解析できた4名のすべてがmaternal uniparental heterodisomyであったことなどから、すべての解析が終了してから考察するべきであるが、これらの結果から過剰染色体はtrisomy rescueの結果によるものと考えられる。

これまで過剰染色体を有するPWS患者についての症例報告があり、その患者の発達が比較的良いことを報告している。これについては今後臨床症状を検討し、検討したい。

結語

362名のPWS患者について検討を行い、過剰染色体を有する患者は7名、6.4%であった。また、7名の患者すべてがUPD患者であった。過剰染色体を有した患者は非欠失患者110名中7名、6.4%と比較的多くの患者に認められた。

解析中ではあるが、過剰染色体はすべて15番染色体由来であった。これに伴うUPDはmaternal uniparental heterodisomyであり、過剰染色体はtrisomy rescueの結果と考えられた。

小児腎移植後患者の成長ホルモン注射の使用実態と使用量

濱崎 祐子

東邦大学医学部腎臓学講座

背景・目的

小児慢性腎臓病（CKD）の合併症の1つに成長障害があり、小児に特有で重要な合併症と考えられている。CKD患者における成長や発達の問題は、入院率の高さや死亡リスクの上昇と関連しており、また、学歴や就職、結婚などの社会生活の質の低下にも繋がることから明らかにされているため、生命予後や腎機能予後の改善のみならず重要である。本邦の腎移植後患者における成長ホルモン製剤の使用頻度や投与量についての実態を明らかにするために全国調査を計画した。

方法

1) 研究のデザイン

後方視的、多施設共同観察研究。

施設調査、症例調査の2段階に分けて調査する。

2) 方法

調査方法：施設調査と症例調査に分けて実施する

<施設調査>

小児腎移植を行っている、または小児腎移植患者を診療している施設（診療科）に対して、施設（診療科）としての見解と、使用症例数を調査する。

<症例調査>

研究対象者

1. 小児腎移植研究会に参加している施設において、2023/04/01時点で16歳以下の腎移植を受けた患者で、2年間以上のフォローアップを受けている患者
2. 施設調査で「症例調査に協力する」との返答があった施設の症例

3) 評価項目

主要評価項目：eGFR < 75 mL/分/1.73 m² で身長が -2SD の患者のうち rhGH の使用有無とその割合、および rhGH を使用していた場合の使用量（0.175 mg/kg/週もしくは 0.35 mg/kg/週）とその割合

副次評価項目：

- 1) CKD のステージ別での rhGH 治療の使用割合と成長率
- 2) 男女別での rhGH 治療の使用割合と成長率
- 3) 年齢別での rhGH 治療の使用割合と成長率
- 4) 身長 SD 別（0.5 SD 毎）での rhGH 治療の使用割合と成長率
- 5) 腎不全に至った原疾患別での rhGH 治療の使用割合と成長率

- 6) 腎疾患以外の併存症別での rhGH 治療の使用割合と成長率
- 7) ドナー別（生体腎、献腎）での rhGH 治療の使用割合と成長率
- 8) rhGH を使用していない理由
- 9) rhGH 使用の有無と移植拒絶反応（有無、回数）
- 10) rhGH の使用と、rhGH によるものと思われる有害事象の有無

研究経過

本研究は、東京都立小児総合医療センター総合診療科、幡谷医師が研究代表者となり、実施することになっている。東邦大学は研究分担施設として研究に協力しており、以前当院で行った調査を参考に計画が進められた。現在、データの集積中である。

SGA 性低身長症における出生時体格の層別化による GH 治療効果の解析

石井 智弘

慶應義塾大学医学部小児科学教室

要旨

SGA (small for gestational age) 性低身長症に対する成長ホルモン (GH) 治療効果をより正確に予測するために、出生時の体格的特徴で層別化し、治療効果を解析する後方視的観察研究を計画し、慶應義塾大学医学部倫理委員会に申請した。

背景

SGA (small for gestational age) は在胎週数別の基準範囲を下回る小さい出生時体格で定義される。SGA は胎盤や母体要因などの外的要因 (75%)、児本人の体質や疾患に由来する内的要因 (25%) など複数の因子で生じる¹⁾。SGA 出生児のうち 80-90% は出生後の成長でキャッチアップするが、残りの 10-20% はキャッチアップせずに SGA 性低身長症と診断される。SGA 性低身長に対しては、成長ホルモン (GH) 治療が行われ、成人身長への改善効果が明らかとなっている。しかし、この成人身長の改善効果は多様で、一部の症例では改善効果がみられない。各症例の成人身長の改善効果は治療開始時には予測困難である。

SGA は出生時の体長と体重の双方が小さい群 (SGA-LW)、体長のみが小さい群 (SGA-L)、体重のみが小さい群 (SGA-W) に分けられる。このうち、SGA-L 群の成人身長が SGA-W 群に比べて有意に低くなることが報告されている²⁾。SGA 性低身長症に対する GH 治療効果についての報告は多数あるが、出生時の体格的特徴で層別化した治療効果については詳細には解析されていない。

目的

SGA-LW 群、SGA-L 群、SGA-W 群の三群間で成人身長に対する GH の治療効果を比較する。

研究デザイン

後方視的観察研究

対象

2012 年 1 月から 2024 年 3 月までに慶應義塾大学病院に通院歴のある SGA 性低身長症患者、ないしは公益財団法人・成長科学協会の成長ホルモン剤適正使用指導事業でデータを学問的に用いることに同意が得られた SGA 性低身長症患者を対象とする。

収集する情報

登録された症例について、以下の項目を中心に診療情報を後方視的に収集する。

- 1) 在胎週数、出生時の身長・体重・頭囲
- 2) 初経産の区別、両親の身長
- 3) 身長、体重、頭囲の推移

- 4) 遺伝学的検査結果、背景疾患、共存疾患
- 5) 成長ホルモン分泌刺激試験の頂値（負荷試験名、測定キット名）
- 6) 骨年齢、血清 IGF1 値の推移
- 7) 成長ホルモン治療の経過
- 8) 二次性徴に関する身体所見（精巣容積、乳房発育、恥毛発育、初経など）
- 9) その他の合併症（発達遅滞など）出生時の体格的特徴で層別化した SGA-L 群、SGA-W 群、SGA-LW 群の間で評価項目を比較し検討する。

主要評価項目

治療前身長 SD 値と成人身長 SD 値との差
成人身長 SD 値と target height SD 値の差

副次評価項目

治療前身長 SD 値と治療後身長 SD 値との差
GH 治療効果の予測因子
候補：在胎週数、治療前身長 SD 値、思春期開始年齢、
思春期開始時の身長 SD 値、両親の身長

本研究の意義

本研究により SGA 性低身長症の治療効果の予測が可能になることで、治療しない選択肢の提示など効率的な治療適応の選択、治療早期の GH 投与量の増量など効果的な治療方針の決定、など、SGA 性低身長症患者の診療の質の向上に資することが期待できる。

次年度以降の予定

慶應義塾大学医学部倫理委員会承認され、実施許可が得られた後に、データの収集と解析を行う。

文献

1. Pediatr Adolesc Med 2009;13:116-126.
2. Pediatr Res 1999;46:491-495.

下垂体疾患、成人 GH 分泌不全症に関する診断・病因・病態の解明

高橋 裕

奈良県立医科大学糖尿病内分泌内科学

研究内容

下垂体機能低下症をきたす下垂体機能低下症、成人 GH 分泌不全症に関連する下記の診断、治療、病態解明に関する研究を行い、下記の論文で発表した（業績欄参照）。

1. 成人 GH 分泌不全症の新たな原因である抗 PIT-1 下垂体炎の病因・病態の解明
2. 関連した自己免疫性疾患、代謝異常の病態解明
3. 薬剤関連下垂体炎など下垂体機能低下症きたす病態の解明
4. 長時間作用型 GH 製剤の特徴

また関連する厚生労働科学研究費調査研究班において、ガイドライン策定に参加、ガイドラインを発表した（政策提言、ガイドライン欄参照）。

業績

著書

1. Takahashi Y Autoimmune paraneoplastic hypophysitis. *Williams text book of Endocrinology 15th edition* 2024 in press.
2. Kamitani F, Takahashi Y Endocrine immune-related adverse events immune checkpoint inhibitors. *Nova Science Advance in Health and Disease* 2023 Chapter 5 165-194.

総説

1. Takahashi Y. Paraneoplastic autoimmune hypophysitis: a novel form of paraneoplastic endocrine syndrome *Endocri J.* 2023 70, 559-565.
2. Takahashi Y Nonalcoholic fatty liver disease and adult GH deficiency: an under-recognized association?. *Best Prac Res Clin Endocrinol Metab.* 2023 37 101816.

原著論文

1. Clinical features of anti-PIT-1 hypophysitis: A new aspect of paraneoplastic autoimmune condition. Urai S, Iguchi G, Kanie K, Bando H, Yamamoto M, Oi Y, Kashitani Y, Iida K, Kanzawa M, Fukuoka H, Takahashi M, Shintani Y, Ogawa W, Takahashi Y *Eur J Endocrinol* 2024 190, K1-K7.
2. Novel subgroups of obesity and their association with outcomes: a data driven cluster analysis. Takeshita S, Nishioka Y, Tamaki Y, Kamitani F, Mohri T, Nakajima H, Kurematsu Y, Okada S, Myojin T, Noda T, Imamura T, Takahashi Y *BMC Public Health* 2024 24, 124.

3. Secondary hypophysitis associated with Rathke's cleft cyst resembling a pituitary abscess
Inoue E, Kesumayadi I, Fujio S, Kitazono I, Takahashi Y, Hanaya R *Surg Neurol Int.*2024 in press.
4. A Novel Mechanism of Idiopathic Orthostatic Hypotension and Hypocatecholaminemia Due to Autoimmunity against Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase. Uenish Eita, Seino Y, Nakashima A, Kato K, Kato M, Nagasaki H, Ishikawa K, Izumoto T, Yamamoto M, Takahashi Y, Sugimura Y, Oiso Y *Biochem Biophys Res Commun.* 2024 in press.
5. Fujita Y, Kamitani F, Yamamoto M, Fukuoka H, Hirota Y, Nishiyama N, Goda N, Okada Y, Inaba Y, Nakajima H, Kurematsu K, Kanie K, Shichi H, Urai S, Suzuki M, Yamamoto N, Bando H, Iguchi G, Suto H, Funakoshi Y, Kiyota N, Takahashi Y, Ogawa W. Combined Hypophysitis and Type 1 Diabetes Mellitus Related to Immune Checkpoint Inhibitors *J Endocri Soc.* 2023 7, 1-11.
6. Adrenal crisis associated with COVID-19 vaccination in patients with adrenal insufficiency: A literature review Kurematsu Y, Mohri T, Okada S, Takahashi Y *J Clini Endocrinol Metab Case Rep* 2023 1, luad079.
7. New predicting parameters of octreotide test in patients with acromegaly. Urai S , Yamamoto M, Yamamoto N, Suzuki M, Shichi H, Kanie K, Fujita Y, Bando H, Fukuoka H, Takahashi M, Iguchi G, Takahashi Y, Ogawa W *The Pituitary* 2023 27, 33-43.
8. Antithyroid drug-induced leukopenia and G-CSF administration: a long-term cohort study. Kamitani F, Nishioka Y, Koizumi M, Nakajima H, Kurematsu Y, Okada S, Kubo S, Myojin T, Noda T, Imamura T, Takahashi Y. *Sci Rep.* 2023 13(1):19336.
9. Efficacious Primary Pasireotide Therapy in a Case of a Large Invasive Adenocorticotropin-secreting Pituitary Tumor. Tamaki Y, Nakaue J, Nishimura F, Takahashi Y *J Clini Endocrinol Metab Case Rep* 2023 1, lUSD141.
10. Kawai M, Muroya K, Murakami N, Ihara H, Takahashi Y, Horikawa R, Ogata T A questionnaire-based survey of medical conditions and transitional care in adults with Prader-Willi syndrome in Japan *Endocri J.* 2023 70(5), 519-528.
11. Bidlingmaier M, Biller BK, Clemmons D, Otto J, Nishioka H, Takahashi Y. Guidance for the treatment of adult growth hormone deficiency with somapacitan, a long-acting growth hormone preparation. *Front Endocrinol.* 2023 2, 14, 1158214.

政策提言、ガイドライン

- 厚生労働科学研究費間脳下垂体機能障害に関する調査研究班
研究分担者 (GH 分泌異常症グループリーダー)
クリニカルクエスト作成、レジストリ登録を進めた。

- 厚生労働科学研究費性分化・性成熟異常を伴う内分泌症候群の診療水準向上を目指す調査研究班
研究分担者
関連疾患ガイドライン作成を進めた。
- 厚生労働科学研究費 IgG4 関連疾患の診断基準並びに治療指針の確立を目指す研究班
研究協力者
神経内分泌分野ガイドライン作成を進めた。

アドバースイベント報告 (2023年1月～12月)

西 美和

広島赤十字・原爆病院小児科

成長ホルモン分泌不全性低身長症

	性	年齢	A E
1	F	9歳3か月	思春期早発症疑い
2	F	5 1	一過性味覚障害 (苦い)
3	M	14 2	自閉症スペクトラム障害 (受動型)
4	M	13 10	FT4 0.72ng/dL
5	F	8 2	思春期早発症
6	M	13 4	肥満症 マイスタン、バルプロ酸Na、エルカルチン
7	M	11 6	貧血、反対咬合
8	M	7 5	視床下部性副腎機能不全症
9	F	13 6	尿蛋白+ 思春期早発症、 リュープリン注射
10	F	8 8	反対咬合
11	M	14 11	糖尿病 降圧剤
12	M	15 6	両側眼瞼下垂
13	M	12 3	ヘリコバクターピロリ感染症
14	M	14 5	咽頭炎、ひょう疽
15	M	9 3	コロナウイルス感染症
16	M	13 7	側弯症の悪化 → GH治療中止
17	F	13 6	心因性多飲多尿 骨端線閉鎖でGH治療中止
18	F	12 2	潜在性亜鉛欠乏、卵巣嚢腫 → GH治療中止
19	M	14 3	IGF-I低値(123ng/mL)、伸び不良でGH治療中止
20	M	10 10	下垂体後葉不明領域、伸び不良でGH治療中止
21	M	17 8	FT4 0.77ng/dL
22	M	12 10	血清Zn 61μg/dl ノベルジン投与
23	M	11 8	中枢性思春期早発症、くも膜嚢胞 リュープリン使用
24	M	9 7	尿潜血 +
25	M	8 9	尿糖 ++
26	F	8 11	尿潜血 +
27	F	9 3	甲状腺機能低下症 チラージンS投与 間質性肺炎 プレドニン投与
28	F	10 6	思春期早発症 リュープリン使用
29	M	10 1	アレルギー性疾患 シングレア、ジルテック投与 LaGH
30	M	14 6	血清UA 7.2mg/dl
31	F	12 6	頭痛 本人・家族の希望で中止
32	M	9 8	便秘症、てんかん 抗てんかん薬、モビコール投与 本人・家族の希望で中止
33	M	5 2	中枢性副腎皮質機能不全、松果体嚢胞、ラトケ嚢胞 適応なし
34	M	10 9	ネグレクト疑いで一時保護中 GH治療中止
35	M	5 2	脳梁膨大部のT1W1で低信号、T2W1で高信号病変 適応なし。

ターナー症候群

	性	年齢	A E
1	F	10 6	非持続性心室頻拍
2	F	15 10	中等度肥満、 BS 160mg/dL エストラナーナテープ使用
3	F	12 2	脱毛

軟骨異栄養症

	性	年齢	A E
1	M	6 2	IGF-I高値(-355ng/mL)
2	M	12 9	皮膚色素沈着
3	M	10 10	一過性のCr軽度高値(0.71mg/dL)
4	M	10 1	色素沈着
5	M	12 1	腰部脊柱管狭窄 → GH治療中止
6	M	9 5	思春期早発症疑い ボックスゾゴ治療開始のためGH治療中止
7	F	8 6	頭痛、 成長率の改善が無いために一旦中止

プラダー・ウィリー症候群

	性	年齢	A E
1	M	19 5	側弯症の手術 骨端線閉鎖でGH治療中止
2	F	7 9	喘息発作 オノン内服

SGA性低身長症

	性	年齢	A E
1	F	14 1	CK 451U/L
2	M	13 6	中枢性思春期早発症 リュープリン治療
3	M	5 3	注射部位の発赤
4	M	8 4	気管支喘息、アレルギー性鼻炎
5	F	5 5	脚が寒い、慢性便秘症
6	F	4 2	術後癒着性イレウス
7	F	12 0	中枢性思春期早発症疑い
8	M	7 2	HbA1C 6.3% → GH治療中止
9	F	4 4	OGTT 境界型 甲状腺機能低下症 チラージンS投与
10	F	10 1	潜在性亜鉛欠乏症(Zn 70 μ g/dL) ノベルジン投与
11	F	6 3	軽度知的障害
12	F	12 3	思春期早発症 リュープリン使用
13	M	6 5	平滑筋母斑疑い
14	F	5 11	自閉症スペクトラム障害、 アデノイド・扁桃肥大
15	M	10 1	思春期早発症
16	F	5 9	肥満傾向
17	M	15 5	肥満 骨端線閉鎖で中止

慢性腎不全性低身長症

1	F	2 7	アデノイド肥大
---	---	-----	---------

成長ホルモン療法の治療効果に及ぼす諸因子の解析並びに アドバース・イベントの調査に関する研究

松野 彰

国際医療福祉大学医学部脳神経外科

AGHD と診断した 65 例の患者さんについて、外来において GH 補充療法を継続した。うち、18 例の患者さんについては週 1 回の製剤に変更した。いずれの症例におきましても GH 補充は適切に行われており、合併症の発症はみられなかった。仕事や日常生活において意欲の向上が見られるなど治療効果が認められる。

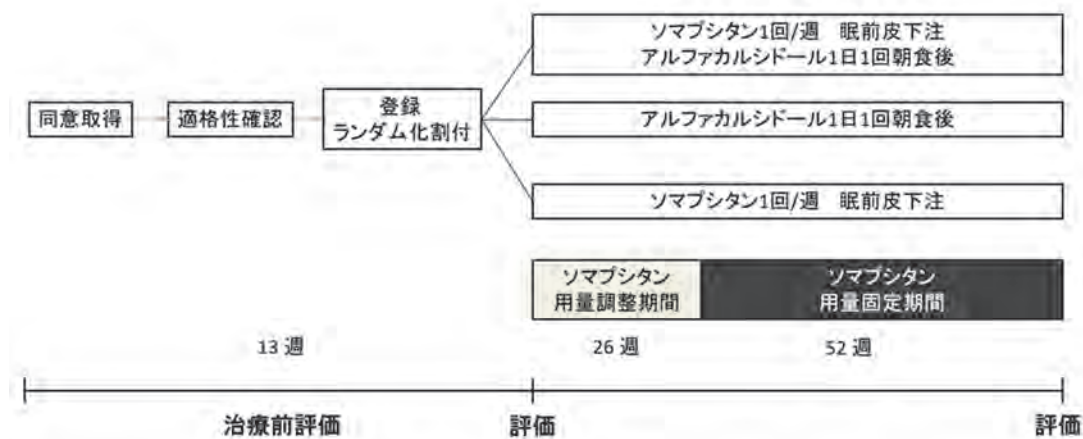
成人 GH 分泌不全症患者に対する GH 補充療法における ビタミン D 充足が骨に与える影響に関する研究

主任研究者 福岡 秀規 (神戸大学医学部附属病院糖尿病・内分泌内科)
 共同研究者 大塚 文男 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科総合内科学)
 田原 重志 (日本医科大学武蔵小杉病院脳神経外科)
 藤尾 信吾 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科脳神経外科学)
 亀田 啓 (北海道大学病院 糖尿病・内分泌内科)

報告内容

成人成長ホルモン分泌不全症 (AGHD) では骨密度低下を認め、GH 補充により骨密度の改善が期待されるが、実際には骨密度上昇する症例としない症例があり、その理由は明らかでない。我々は GH 補充患者においてビタミン D が充足していないことが GH による骨密度上昇効果を抑制している可能性に着目し、ビタミン D 充足の有無が GH の骨密度上昇効果に与える影響について明らかにすることを目的に本研究を行っている。

本試験のデザインとして、下記を設定し、現在本試験を特定臨床研究として進めるため、ソマプシタン製造メーカーであるノボノルディスクファーマ株式会社と現在協議中である。主要アウトカムとして治療開始 78 週時点の DEXA 法で測定した骨密度 (腰椎 L2-4, 大腿骨頸部) である。



現在同様にソマプシタンに対してソマトロピンから切り替えた群とソマトロピンを継続した群でのオープンラベル前向き比較検討を行っている。共同研究施設として、岡山大学病院総合診療科、北海道大学病院糖尿病・内分泌内科、日本医科大学武蔵小杉病院脳神経外科、鹿児島大学病院脳神経外科にご承諾いただいている。

こちらはエントリー期間が終了し、現在観察期間として残り 4 週で終了予定である。本試験においては DEXA で測定した lean body mass が腫瘍アウトカムであるが、服地アウトカムとしてリハ

ペリテーション科との共同研究により、筋力、筋肉量の変化を、脳神経内科との共同研究で認知脳、睡眠に対する変化をモニターし、検討を行っている。また、探索的な遺伝子発現変化についても網羅的解析を行って検討をしている。2024 年中には解析を終え、その結果が報告できるものとする。

ヨウ素摂取と甲状腺機能、成長発達との関連に関する研究－乳児、 幼児のヨウ素摂取量

主任研究者 伊藤 善也 (日本赤十字北海道看護大学臨床医学領域)
 共同研究者 山口 真由、浦川 由美子
 (鎌倉女子大学家政学部管理栄養学科)
 塚田 信 (女子栄養大学栄養科学研究所)
 長崎 啓祐 (新潟大学医学部小児科学教室)
 布施 養善 (Iodine Global Network)

研究の進行状況

本研究は2022－2023年の指定課題研究として2022年9月より開始し、現時点で研究協力施設を探している状況で、未だ決まっていない。研究実施施設が決まり次第、前方視的コホート研究を開始する予定である。この間にヨウ素摂取量の評価に必須である市販の育児用ミルク、離乳食のヨウ素摂取量を測定したので、本報告書に記載する。

研究の背景と目的

ヨウ素は甲状腺ホルモンの合成に必須の微量栄養素であり、その不足は胎児、新生児、乳児において非可逆的な発育・発達障害を生じる¹⁾。ヨウ素の供給源は胎児期は母体からのヨウ素移行であり、新生児、乳児期は母乳、人工乳、離乳食に依存している。また母乳中のヨウ素量は母体のヨウ素摂取量と密接に関連している。日本人のヨウ素摂取量は申請者らの全国調査²⁾の結果、適量であることが明らかとなったが、特に授乳婦人においてはヨウ素欠乏基準に近いものが少なからず存在する³⁾。また、日本人の新生児、乳幼児のヨウ素栄養状態についてはデータが存在せず、厚生労働省の「日本人の食事摂取基準」においても乳児以外の小児のヨウ素については成人値を外挿して作成されている⁴⁾。

新生児、乳幼児のヨウ素摂取量の評価方法は生体指標である尿、血液のヨウ素濃度を測定してヨウ素排泄量からヨウ素摂取量を推測する方法と、母乳、育児用ミルク、離乳食などからのヨウ素摂取量を測定する方法があり、いずれも重要な方法である。したがって、市販の育児用ミルク、離乳食のヨウ素含有量のデータベースが必要であるが存在していない。

研究の目的

本研究の目的は、日本人新生児、乳児、幼児の現在のヨウ素摂取状況を明らかにすることである。

研究の方法

1. 前方視的コホート研究

(1) 対象：妊婦、授乳婦、新生児、乳児、幼児（1歳以降）

- (2) 対象数：全国3都市において1施設で母子150組を目標とする。
- (3) 調査時期：生後1、3～4、6～7、9～10、12か月、幼児は1歳6か月、3歳までとし、縦断的研究を原則とする。
- (4) 調査項目：児については性別、身長、体重、BMI、哺乳量、母乳と人工乳の比率、離乳食の種類（市販か自家製）と摂取量、尿中ヨウ素濃度
- (5) 調査項目：母親については母乳、随時尿、血清ヨウ素濃度、FFQによるヨウ素摂取量
- (6) 血清、母乳、尿、人工乳、離乳食のヨウ素濃度は誘導結合プラズマ質量分析法（Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS）によって測定する。

2. 市販の育児用ミルク、離乳食のヨウ素含有量のデータベース作成

- (1) 育児用ミルクは森永乳業株式会社、株式会社明治、雪印ビーンスターク株式会社、雪印メグミルク株式会社、和光堂（アサヒグループ食品株式会社）、アイクレオ株式会社（江崎グリコ）から発売されている製品を購入した。
- (2) 離乳食の品目は日経POS⁴⁾を用いて選択した。日経POSは日本経済新聞社が独自に全国のスーパーマーケット、コンビニエンスストア、ドラッグストアなどから収集し、新聞・報道にも採用しているPOS（Point of Sale, 販売時点情報管理）データベースサービスである⁵⁾。大阪と東京の1年間の売れ行きデータを商品ごとに平均し、大阪と東京の数値を合計して順位付けをし、上位141品目の原料を検索し、売れ筋順上位品目を購入した。現在、販売していない商品を除き、離乳期ごとに分けた。離乳食の製造会社は和光堂、キューピー、雪印BS、ピジョンである。すべての食品試料は主に神奈川県内の店舗と一部はインターネットから購入した。
- (3) ヨウ素測定方法

ヨウ素測定方法は公定法⁶⁾に従い、固形試料は粉碎、攪拌後し、離乳食は0.5 gと1.5 g、育児用ミルクは0.5 gと1.0 gを採取し、50 mLのアルカリ溶液（0.5% Tetramethyl ammonium hydroxide, TMAH）に加え、60℃で12時間加温後、遠心分離した。離乳食はフィルター（Sartorius, Ministaut RC Hydrophilic, 25mm, 0.2 μm）を通した。抽出液のヨウ素濃度を Thermo Fisher Scientific 社の iCAP Q を用いて誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS）によって測定した。測定感度は0.005ppbである。標準物質はNIST SRM1869（Infant/Adult Nutritional Formula II, milk/whey/soy-based）を使用した。2つの重量の食品試料のヨウ素含有量が著しく異なる場合は再測定し、2試料の平均値を用いた。

研究結果

ヨウ素含有量を測定した食品は育児用ミルクが25食品、離乳食が111食品である。

1. 育児用ミルクのヨウ素含有量

粉末の育児用ミルク、フォローアップミルクのヨウ素含有量は製品によって大きな差があった。液体ミルクのヨウ素含有量は11 - 12 μg/100gで、ほぼ一定であった。特殊ミルクのヨウ素含有量も製品による含有量の差が大きかったが、育児用ミルク、フォローアップミルクよりも少なかった。19製品については製造元からヨウ素含有量の情報を得て、比較したが、今回の測定値は概ね公表値と近い値であった。

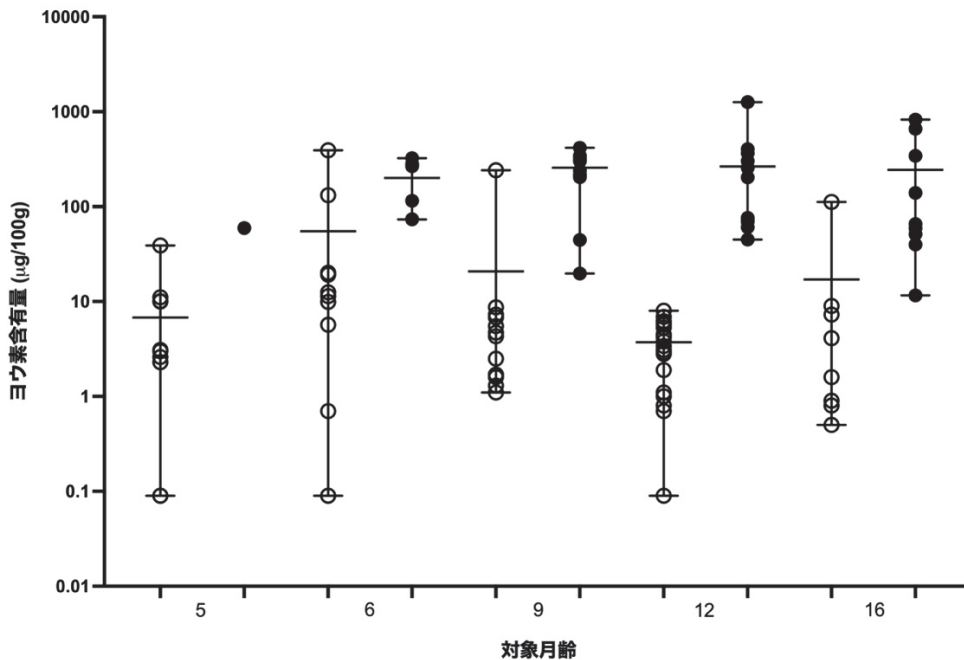
表 育児用ミルクのヨウ素含有量

種類	性状	試料数	ヨウ素含有量 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)			
			平均値	標準偏差	範囲	中央値
育児用ミルク (0 か月～1 歳)	粉末	7	70.7	25.7	22.0-98.2	72.7
	液体	4	12.8	2.0	10.5-14.5	13.1
フォローアップミルク (9 か月～3 歳)	粉末	6	83.8	26.6	46.4-119.5	80.4
	液体	1	11.6	-	-	
ミルクアレルギー用ミルク	粉末	5	36.9	59.5	4.9-143.1	11.0
乳糖不耐症用		1	50.4	-	-	
胃食道逆流症用		1	39.4	-	-	

2. 離乳食のヨウ素含有量

離乳食の対象月齢は5、7、9、12、16 か月である。ヨウ素含有量は測定感度以下から1260 $\mu\text{g}/100$ であった。製品の成分表示に「昆布エキス」の記載のある製品が111 製品中41 検体あった。使用開始時期が5 か月、7 か月、9 か月、12 か月、16 か月である製品で「昆布エキス」の記載のない離乳食ヨウ素含有量の中央値はそれぞれ2.8、11.4、3.4、3.8、2.9 $\mu\text{g}/100\text{g}$ であるのに対し、記載のある離乳食は59.4、266.5、309.6、139.7、65.5 $\mu\text{g}/100\text{g}$ と高い値であった。「昆布エキス」の記載のない離乳食であっても、ヨウ素含有量が100 - 300 $\mu\text{g}/100\text{g}$ の製品が4 点あった。

図 離乳食ヨウ素含有量 (図中、●は成分表示に「昆布エキス」の表示がある製品)



考察

乳幼児におけるヨウ素摂取量は乳児の主食である母乳、育児用ミルク、市販離乳食のヨウ素含有量を測定し、その値と食事摂取量から推定することが可能となる。今期の研究により主な育児用ミルク、市販離乳食のヨウ素濃度が明らかになった。これから行う前方視的コホート研究に活用し、乳幼児のヨウ素摂取量の現状から、ヨウ素の食事摂取基準の評価に有用であると考えられる。

文献

1. Zimmermann MB, Boelaert K. Iodine deficiency and thyroid disorders. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015 Apr;3(4):286-95. doi: 10.1016/S2213-8587(14)70225-6. Epub 2015 Jan 13. PMID: 25591468.
2. Fuse Y, Ito Y, Shishiba Y, Irie M. Current iodine status in Japan: A cross-sectional nationwide survey of schoolchildren, 2014-2019. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022 Apr 19;107(5): e2065-e2079. doi: 10.1210/clinem/dgab919. PMID: 34935958.
3. Fuse Y, Ogawa H, Tsukahara Y, Fuse Y, Ito Y, Shishiba Y, Irie M. Iodine Metabolism and Thyroid Function During the Perinatal Period: Maternal-Neonatal Correlation and Effects of Topical Povidone-Iodine Skin Disinfectants. *Biol Trace Elem Res.* 2022 Aug 6. doi: 10.1007/s12011-022-03363-8. Epub ahead of print. PMID: 35931927.
4. 厚生労働省:「日本人の食事摂取基準(2020年版)策定検討会報告書:「日本人の食事摂取基準2020年版」. 東京: 第一出版; 2021.
5. 日経のPOSデータ
https://nkpos.nikkei.co.jp/?utm_source=Google&utm_medium=cpc&utm_term=2312&utm_campaign=brand_pos&gad_source=1&gclid=EAIaIQobChMI-9iDzYKqhQMV5ix7Bx0Q7wJ4EAAAYASAAEgJF-_D_BwE
2023年6月アクセス

自由課題研究報告

ターナー症候群の視機能と視覚認知を含む脳・認知機能の検討 －早期発見のための質問表や訓練作成と継続的な教育・就労支援の検討－

荒木 久美子

秋山成長クリニック

稲田 勤

高知リハビリテーション専門職大学言語療法学科

望月 貴博、西垣 五月

希望の森成長発達クリニック

荒木 まり子

高知大学医学部小児思春期医学

間部 裕代

間部病院小児科

内山 仁志

島根県立大学人間文化学部保育教育学科

はじめに

ターナー症候群は空間認知機能や学習、社会適応など多岐にわたる心理社会的な問題が多いとされる^{1),2)}。私たちはターナー症候群の視覚認知機能を含む脳・認知機能を検討し、小児・成人ともに視覚認知障害と視機能の異常が多いこと、視覚認知機能訓練や視機能訓練により両者とも改善して社会適応がよくなること、しかし、小児では訓練中止後は視覚認知機能が低下することを報告してきた³⁾⁻⁵⁾。

今年度は、ターナー症候群の視機能と視覚認知機能を含む脳・認知機能の低下を早期に発見する目的で簡便な質問表を作成して母親に記入してもらい、同時に神経心理学的な検査や視機能検査を行って比較検討し、さらに視覚認知機能訓練を行った症例の訓練前後の推移を評価してその有用性を検討したので報告する。

対象と方法

対象は、7歳から25歳のターナー症候群患者（患者）22人とその姉妹の10歳から22歳の9人である。患者の染色体検査結果と治療を表1に示したが、症例20の染色体検査結果は不明であった。症例1は支援級であったが、他の20人の学習や生活状況は普通であった。また、姉妹は健康で普通の生活を送っていた。

母親に患者と姉妹について、表2のターナー女性の視覚認知機能と目と手の協調性のチェックリスト（チェックリスト）を記入してもらい評価した。可能な場合は患者自身で評価を行ってもらい、その結果を母親の評価と比較検討した。また、姉妹の評価の平均値（M）と標準偏差（SD）を算出して基準値とし、項目毎のスコアが姉妹のM+2SDを超える患者の出現率を算出し、合計スコアが姉

妹の M+2SD である 15 を基準として 2 群に分けて検討を行った。さらに、学習障害や就業困難のために受診され、視覚認知機能訓練⁶⁾と視機能訓練（ビジョントレーニング⁷⁾を自宅で 2 年間実施してもらった症例 7、症例 13、症例 22 の 3 人については、母親に訓練開始前の状況を記入してもらい、訓練後の現在の評価と比較検討した。なお、症例 7 については協調運動障害が強いので、訓練開始 1 年後からは言語聴覚士による協調運動障害訓練も併用した。

チェックリストの項目は、Q1-4 が文字の視知覚認知能力、Q5-7 が書字能力、Q8-9 が算数の視知覚認知能力、Q10-11 がプランニング能力、Q12-14 が手指の器用さ、Q15-16 が対人関係能力を示し、「全くない」をスコア 0、「ごくまれにある」をスコア 1、「ときどきある」をスコア 2、「しばしばある」をスコア 3、「いつもある」をスコア 4 として評価した。

次に、7 人については、神経心理学的検査として小児期は Wechsler Adult Intelligence Scale-Third Edition (WISC-III)⁸⁾を、成人期は Wechsler Adult Intelligence Scale-Third Edition (WAIS-III)⁹⁾あるいは Wechsler Adult Intelligence Scale-Fourth Edition (WAIS-IV)¹⁰⁾を実施し、群指数と全検査 IQ を評価した。視機能検査としては視力検査や眼球運動能力、両眼視能力、Test of Visual Perceptual Skills 検査 (TVPS 検査)¹¹⁾を行い、さらに聞き取り調査を実施した。ついで、これらの検査結果をチェックリストの評価と比較検討した。なお、WISC-IIIと WAIS-III、IV には心理検査の指標に多少の差があるため、WAIS-III、IV の下位検査については WISC-III と共通項目のみを記載した。視覚認知機能は WISC-III については下位検査の絵画完成および積木模様、組み合わせの評価点¹²⁾から評価し、WAIS-III、IV については群指数の知覚推理の合成得点および下位項目の積木模様の評価点から評価した。統計分析は T 検定を行い、ピアソンの積率相関係数を算出した。

結果

1. チェックリストの検討

患者 22 人と姉妹 9 人のチェックリストの項目別スコアと合計スコアを表 3、表 4、表 5 および図 1 に示した。患者は文字の視知覚認知スコアが対人関係スコアより有意 ($p < 0.05$) に高かったが、姉妹では項目別スコアの明らかな差は認められなかった。患者は対人関係を除いた他の項目すべてのスコアと合計スコアが姉妹より有意 (それぞれ $p < 0.05$ 、 $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ 、 $p < 0.01$ 、 $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$) に高かった (表 5)。

姉妹の M+2SD のスコアを超える患者の出現率と、患者の合計スコアの差による 2 群と姉妹との比較を表 6 と図 2 に示した。姉妹の 2SD のスコアを超える患者の出現率は文字の視知覚認知スコアが 55% と最も高く、書字スコアが 41%、その他の項目は 36% であったが、合計スコアは 55% であった。患者の合計スコアの差による 2 群の比較では、合計スコアが 15 未満の群 10 人 (45.5%) は、それ以上の群 12 人 (54.5%) よりすべての項目のスコアと合計スコアが有意 (それぞれ $p < 0.001$ 、 $p < 0.01$ 、 $p < 0.01$ 、 $p < 0.01$ 、 $p < 0.001$ 、 $p < 0.001$) に低く、また、姉妹との明らかな差は認められなかった。染色体検査については、合計スコアが 15 以上の群の症例 1 と症例 4 が環状 X 染色体を持っていたが、残りの 10 人と合計スコアが 15 未満の群 10 人との明らかな差は認められなかった。

11人の母と患者自身のチェックリストの項目別スコアの比較を表7と表8に示した。チェックリストのスコアは、症例9、10、11、16の4人の母の評価の合計スコアが15未満であったが、他の7人は15以上であった。母のスコアが患者自身のスコアよりやや高い傾向がみられたが有意差は認められず、合計スコアが15未満と15以上の症例の差は認められなかった。

2. 心理検査を実施した7人の検討

表9に心理検査を実施した7人の検査結果を示した。症例1は視覚認知障害と聴覚認知障害が認められ、症例10は視覚認知障害と軽度の協調運動障害を、症例12は視覚認知障害が認められたが、他の症例の明らかな異常は認められなかった。群指数や全検査IQは、症例10の言語理解を除いておおむね正常で、群指数の明らかな差は認められなかった。

チェックリストのスコアについては、症例8と症例10は合計スコアが15未満であったが、他の5人は15以上で、症例1は57と明らかに高かった。7人のスコアは文字の視知覚認知スコアと書字スコア、算数の視知覚認知スコアが姉妹のM+2SDのスコアを超えていたが、プランニングスコアと手指の器用さスコア、対人関係スコアは姉妹のM+2SDのスコアより低かった(表10)。

7人のチェックリストの合計スコアと、群指数および全検査IQとの相関を図3に示した。合計スコアと言語理解との相関係数は低かったが、知覚推理やワーキングメモリー、処理速度、全検査IQとの相関係数はやや高かった。

3. 3人の訓練によるチェックリストと心理検査、視機能検査の推移

自宅での2年間の訓練を行った3人の、訓練前後のチェックリストの項目別スコアの推移を表11と表12に示した。3人とも訓練前はほぼすべての項目のスコアが高く、合計スコアは3人とも15以上であった。しかし、訓練によりすべてのスコアが低下し、対人関係スコアについては有意($p<0.05$)に低下したが、合計スコアは3人とも15以上であった。表13に訓練による心理検査結果の推移を示した。訓練前は、言語理解は知覚推理やワーキングメモリー、処理速度より高く、知覚推理と処理速度より有意(それぞれ $p<0.05$)に高値であった。訓練により群指数と全検査IQすべてが向上し、知覚推理は有意($p<0.05$)に向上した。訓練後は、言語理解がワーキングメモリーや処理速度よりやや高かったが、有意差は認められなかった。

3人の訓練前後のチェックリストの合計スコアと、群指数および全検査IQとの相関を図4に示した。合計スコアと言語理解およびワーキングメモリーとの相関係数は低かったが、知覚推理や処理速度、全検査IQとの相関係数はやや高かった。表14に3人の訓練による視機能検査結果の推移を示した。症例7は訓練前の検査ができなかったのでビジョントレーニング⁷⁾が実施できず、視覚認知機能訓練⁶⁾と後半の1年は協調運動障害訓練も行ったが、訓練後の検査でも視機能とTVPS検査¹¹⁾での低下が認められた。一方、症例13と症例22は訓練前の検査が実施できたので、視覚認知機能訓練⁶⁾とビジョントレーニング⁷⁾を同時に実施できた。症例13については、訓練前は視機能の低下がみられたがTVPS検査¹¹⁾には異常がなく、訓練により視機能が著明に向上した。症例22は視機能とTVPS検査¹¹⁾での低下が認められたが、訓練によりいずれも著明な向上が認められた。

考察

今回のチェックリストの検討では、患者はすべての項目で姉妹よりスコアが高い傾向を示し、特に文字や算数の視覚認知スコアや書字スコア、プランニングスコア、手指の器用さスコアが高いこと、合計スコアの検討では姉妹の $M+2SD$ を超える群と超えない群の二つに分けられ、超えない群は姉妹との差が認められないこと、また、母親の評価と患者自身の評価には明らかな差がないことが判明した。この結果から、ターナー症候群には視覚認知障害が多いことやそれに伴い学業や社会生活などの支障が認められること、母子で同じような認識をもっていることが推測された。しかし、視覚認知障害が明らかな群は半数程度で、この結果は2012年に私たちが報告した患者会であるひまわりの会のアンケート調査で、小児と成人の約60%が空間認知機能に不安があると答えた結果¹²⁾と一致した。また、環状X染色体を持つ2例を除いて、2群の染色体検査結果には明らかな差はなかった。ターナー症候群の脳の発達については、X染色体遺伝子の刷り込みやエピジェネティックな要因、ホルモン環境などが関与するとされているが、最近の研究ではX連鎖型自閉症スペクトラム障害および学習障害など神経発達障害と関連する遺伝子などが報告¹³⁾されている。上記の2群の差にはこれらの遺伝子の関与だけでなく、成育歴などの環境因子の関与などもあると思われるので、今後はより詳細な検討が必要であると考えられた。

次に、心理検査を実施した7例の検討では、3例に視覚認知障害が認められたが、全体としては群指数や全検査IQはおおむね正常で、群指数の明らかな差は認められず、ターナー症候群の特性は明らかではなかった。しかし、チェックリストのスコアからは、文字の視覚認知スコアと書字スコア、算数の視覚認知スコアがやや高かったことから、視覚認知障害やそれに伴う学業の困難さが推測される結果であった。また、合計スコアは知覚推理やワーキングメモリー、処理速度、全検査IQとの相関がやや認められた。この結果から、チェックリストは知覚推理やワーキングメモリー、処理速度を反映し、視覚認知障害の有無を判定する簡便なツールとして利用できる可能性が考えられた。

訓練によるチェックリストと心理検査や視機能検査の推移については、3人とも訓練前はチェックリストでほぼすべての項目のスコアが高く、合計スコアも15以上であり、心理検査でもターナー症候群の特性が認められた典型的な症例と考えられた。しかし、2年間の訓練により3人ともチェックリストや心理検査結果の著明な改善が認められ、学業や就業の問題も改善されたが、合計スコアはまだ17、25とやや高かった。

また、3人の視機能検査については、症例22は視機能とTVPS検査¹¹⁾での低下が認められたが、訓練によりいずれも著明な向上が認められた。しかし、症例7の訓練後の検査では、チェックリストや心理検査の改善にもかかわらず、なお明らかな低下が認められた。症例7は訓練開始前の視機能検査やビジョントレーニング¹¹⁾が実施できていなかったので正確な評価は困難であるが、視覚認知機能訓練⁵⁾だけでは眼球運動能力や両眼視能力の向上は期待できない可能性も考えられた。一方、症例13については、訓練前は視機能の低下がみられたがTVPS検査¹⁰⁾には異常がなく、訓練により視機能が著明に向上した。この結果から、症例13は、視機能の低下が視覚認知機能の低下に大きく関与していたと考えられるので、視機能の向上にはビジョントレーニング¹¹⁾が非常に有効であっ

た可能性が推察された。症例 7 と症例 13 の検討から、視覚認知障害の訓練には私たちの作成した視覚認知機能訓練⁵⁾だけでなく、ビジョントレーニング¹¹⁾も重要な訓練であることが推察された。また、私たちの作成した視覚認知機能訓練⁵⁾は協調運動障害の訓練を兼ねているが、症例 7 のように協調運動障害が強い場合には、さらに特別な訓練を行うことを考慮する必要があると思われた。

また、3 例の訓練前後のチェックリストの合計スコアは、知覚推理や処理速度、全検査 IQ との相関がやや高かった。この検討では、3 例の母親による訓練前後の合計 6 回の評価である点が上記の 7 例の検討とはやや異なるが、チェックリストは知覚推理や処理速度を反映し、視覚認知障害の有無と訓練効果を判定する簡便なツールとして利用できる可能性を支持する結果であると考えられた。

2017 年の Gravholt ら¹⁾のガイドラインでは、ターナー症候群は視覚認知障害や発達性協調運動障害、注意欠陥多動性障害などの心理社会的問題が多いと報告している。IQ については、90% は平均かそれ以上であるが 10% は IQ75 未満で、50% から 75% に計算障害、言語や視空間の作業記憶の低下 (-1SD ~ -2SD)、視空間および知覚運動の低下 (-1SD ~ -2SD)、注意欠陥多動障害のリスク増加 (25%) があるとされ、小児期早期からの発達と行動のスクリーニングや介入を勧めている。

今回の検討から、チェックリストは心理検査の知覚推理やワーキングメモリー、処理速度を反映し、ターナー症候群の視覚認知障害の有無や訓練効果を判定する簡便なツールとして利用できることが推察された。しかし、問題点として、チェックリストと心理検査の比較ができた患者が 7 例と少ないことや、母親による主体的な評価であるので客観性に乏しい点があること、学業に関する質問が多いため低年齢の小児では使いにくいことが考えられた。

Gravholt ら¹⁾のガイドラインでは、眼科的な異常として約 40% に屈折異常が認められ、遠視や近視、斜視、弱視が多く、約 35% に複数の視覚障害が見られると報告している。Wikiera ら¹⁴⁾は、染色体の核型に関わらずターナー症候群は眼科的な合併症が多く、特に遠視と乱視が多いことを報告した。私たちも小児や成人の検討で眼科的な合併症が多いことや、訓練で視機能や視覚認知機能が向上することを報告^{3), 4)}してきた。今回の検討でも、ビジョントレーニング¹¹⁾により眼球運動能力や両眼視能力の著しい向上および視覚認知機能の向上が認められたので、視覚認知障害が疑われた場合は積極的な眼科的検査が必要であると考えられた。

今回の検討から、ターナー症候群は学業や就業などで困った際には心理社会的な検査を受けることが重要であるが、小児では今回作成したチェックリストが簡便で有用であることが判明した。しかし、チェックリストの使用には一定の制限があり、今後はさらに症例を増やして検討していくと同時に、効果的な訓練方法を検討していく予定である。

文献

1. Gravholt, C. H., et al.: Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syndrome: proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting. *Eur J Endocrinol.* 177: G1, 2017.
2. Gravholt, C. H., et al.: Turner syndrome: mechanisms and management. *Nat Rev Endocrinol.* 15: 601, 2019.

3. 荒木久美子, 他.: ターナー症候群女児の視機能と視覚認知を含む脳・認知機能の検討.
成長科学協会研究年報, 43:77, 2019.
4. 荒木久美子, 他.: ターナー症候群の視機能と視覚認知を含む脳・認知機能の検討－教育や訓練、
環境整備と社会的支援の検討－. 成長科学協会研究年報, 44:47, 2020.
5. 荒木久美子, 他.: ターナー症候群の視機能と視覚認知を含む脳・認知機能の検討－就業のため
の小児期からの長期的な教育・環境整備と社会的支援の検討－. 成長科学協会研究年報, 46:41,
2022.
6. 荒木久美子, 稲田勤.: ターナー症候群のお子様のためのトレーニングキット (基礎編). 株式
会社 メディカルトリビューン. 東京, 2012.
7. 北出勝也.: 学習・運動が好きになる1日5分! 眼と体を楽しく動かす ビジョントレーニング・
ワークブック. 株式会社ナツメ社. 東京, 2020.
8. Wechsler, D.: 日本版 WISC－Ⅲ知能検査. 株式会社 日本文化科学社. 東京. 2002.
9. Wechsler, D.: 日本版 WAIS－Ⅲ. 株式会社 日本文化科学社. 東京. 2006.
10. Wechsler, D.: 日本版 WAIS－Ⅳ. 株式会社 日本文化科学社. 東京. 2010.
11. 永松裕稀, 他.: 学校の中の発達性協調運動障害について－視覚効率から見た読みの問題－.
The Annual Report of Educational Psychology in Japan, 43:166, 2004.
12. 荒木久美子, 他.: ターナー症候群小児と成人の空間認知障害を含む脳・認知機能の検討－アン
ケート調査による実際の頻度と各種ホルモン治療の影響の検討－. 成長科学協会研究年報, 36:
59, 2012.
13. Gravholt, C. H., et al.: The Changing face of Turner syndrome. Endocrine Reviews 44:33, 2022.
14. Wikiera, B. et al.: The presence of eye defects in patients with Turner syndrome is
irrespective of their karyotype. Clinical Endocrinology 83:842, 2015.

図1 患者と姉妹のチェックリストの項目別スコア

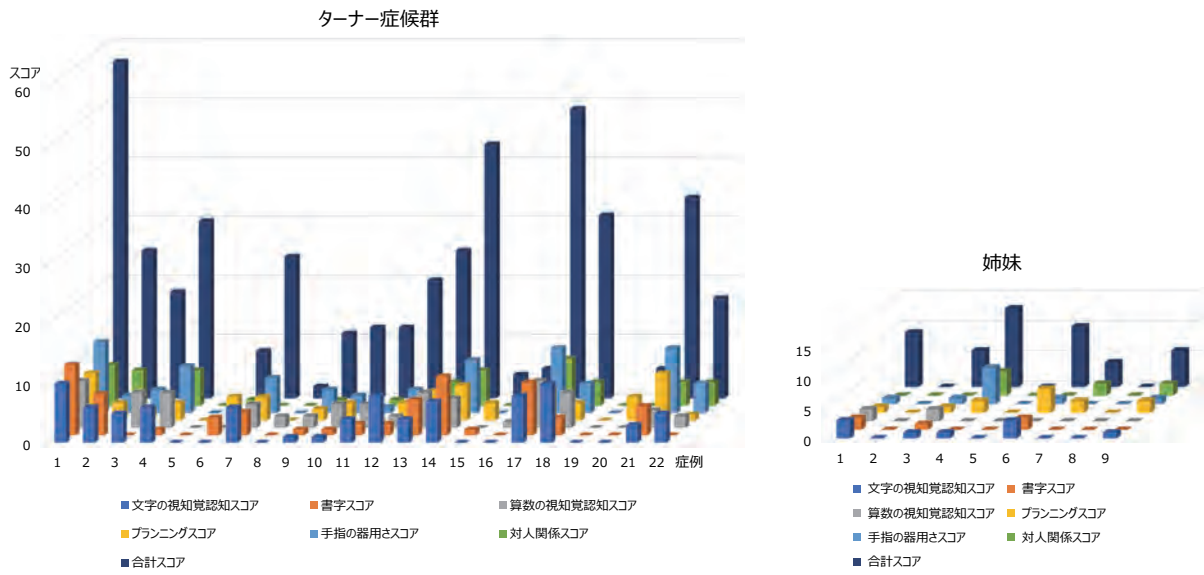


図2 患者のチェックリストの合計スコアによる2群の比較

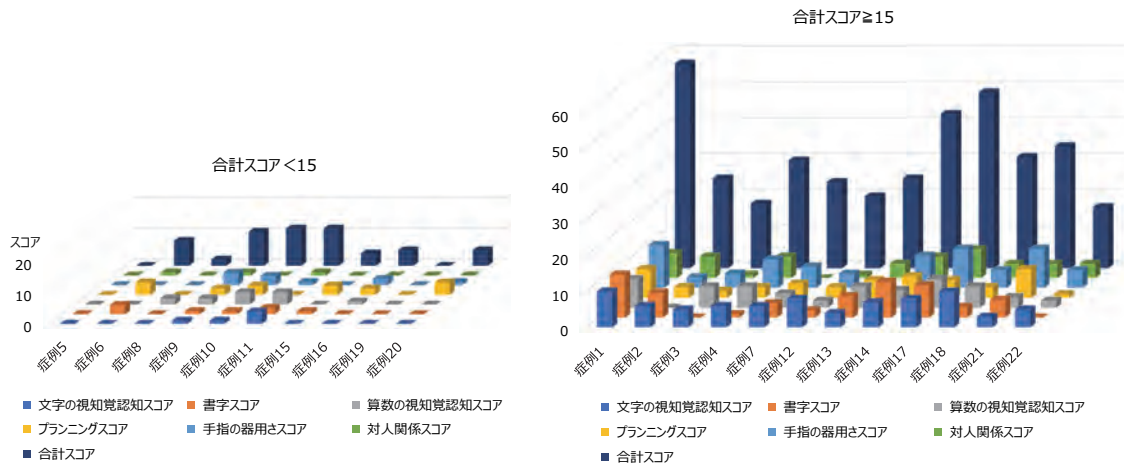


図3 7人のチェックリストの合計スコアと群指数および全検査IQとの相関

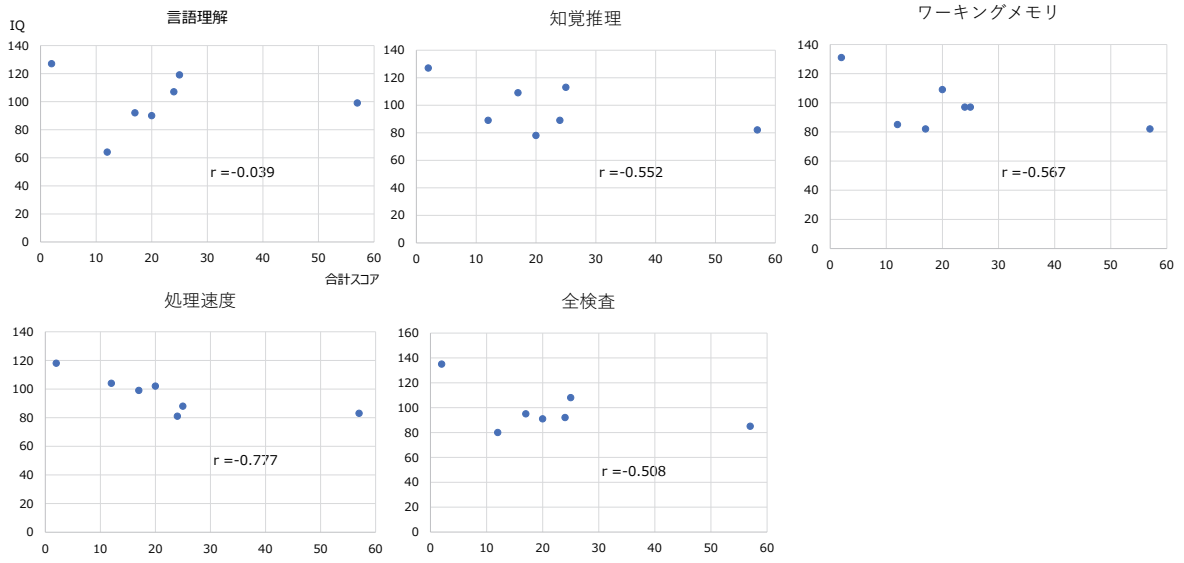


図4 3例の訓練前後のチェックリストの合計スコアと群指数および全検査IQとの相関

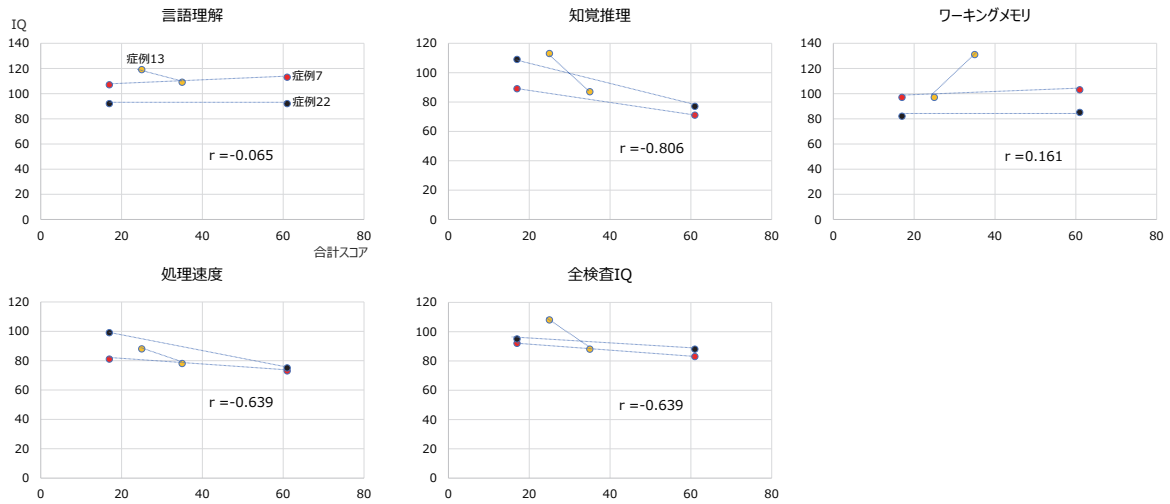


表 1 患者の染色体検査結果

症例	年齢(歳)	染色体検査	GH治療	女性ホルモン治療
症例1	7	46,X,rX/45,X		
症例2	9	45,X/46,X,idic(X)(p11.2)		
症例3	9	45,X	GH	
症例4	10	45,X/46,r(X)(p11.4q26)	GH	
症例5	10	45,X/46,XX	GH	
症例6	10	46,X,i(X)(q10)	GH	
症例7	11	45,X	GH	
症例8	11	45,X		
症例9	13	45,X/46,XX	GH	あり
症例10	14	45,X		
症例11	14	45,X/46,X,+mar		
症例12	14	45,X/47,XXX		
症例13	15	45,X/46,XX	GH	あり
症例14	15	45,X/46,XX	GH	あり
症例15	15	45,X/47,XXX	GH	あり
症例16	15	45,X/47,XXX		
症例17	15	45,X/46,X,i(X)(q10)	GH	あり
症例18	16	46,X,add(X)(q13)or del(X)(q13)	GH	あり
症例19	17	46X,del(X)(p22.2)	GH	月経自然発来
症例20	20	45,X	GH	あり
症例21	21	不明		
症例22	25	46,X,i(X)(q10)	GH	あり

表 2 ターナー女性の視覚認知機能と目と手の協調性のチェックリスト

		全くない	ごくまれにある	ときどきある	しばしばある	いつもある
Q1	漢字が覚えられない	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q2	漢字の小さい点や線をまちがえる	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q3	文章の句読点をまちがえる	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q4	文章の読みまちがえや読みとぼしが多い	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q5	字を書くのに時間がかかる	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q6	字をきれいに書けない	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q7	黒板の書き写しに時間がかかる	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q8	小数点や桁をまちがえる	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q9	図表をまちがえる	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q10	片付けや整理に時間がかかる	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q11	料理の手順がわからない	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q12	タオルをたたむとき端がそろわない	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q13	ひもを結ぶのが苦手	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q14	裁縫や手芸が苦手	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q15	人の行動を見て真似ることが苦手	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Q16	人の話を聞いて理解することが苦手	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

表3 患者のチェックリストの項目別スコア

症例	症例 1	症例 2	症例 3	症例 4	症例 5	症例 6	症例 7	症例 8	症例 9	症例 10	症例 11	症例 12	症例 13	症例 14	症例 15	症例 16	症例 17	症例 18	症例 19	症例 20	症例 21	症例 22	M±SD
年齢 (歳)	7	9	9	10	10	10	11	11	13	14	14	14	15	15	15	15	15	16	17	20	21	25	13.9 ± 4.3
文字の視知覚認知スコア	10	6	5	6	0	0	6	0	1	1	4	8	4	7	0	0	8	10	0	0	3	5	3.8 ± 3.5
書字スコア	12	7	0	1	0	3	4	0	1	1	2	2	6	10	1	0	9	3	0	0	5	0	3.0 ± 3.6
算数の視知覚認知スコア	8	0	6	6	0	0	4	2	2	4	4	2	6	5	0	1	8	6	0	0	3	2	3.3 ± 2.7
プランニングスコア	8	3	2	3	0	4	4	0	2	3	0	3	5	6	3	2	5	3	0	4	8	1	3.1 ± 2.3
手指の器用さスコア	12	3	4	8	0	0	6	0	4	3	1	4	0	9	0	2	11	5	0	1	11	5	4.0 ± 4.0
対人関係スコア	7	6	1	6	0	1	0	0	1	0	1	1	4	6	0	0	8	4	0	0	4	4	2.5 ± 2.7
合計スコア	57	25	18	30	0	8	24	2	11	12	12	20	25	43	4	5	49	31	0	5	34	17	19.6 ± 16.1

表4 姉妹のチェックリストの項目別スコア

姉妹	1	2	3	4	5	6	7	8	9	M±SD
年齢 (歳)	10	10	13	14	14	16	19	19	22	15.2 ± 4.1
文字の視知覚認知スコア	3	0	1	1	0	3	0	0	1	1.0 ± 1.2
書字スコア	2	0	1	0	0	2	0	0	0	0.6 ± 0.9
算数の視知覚認知スコア	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0.4 ± 0.9
プランニングスコア	1	0	1	2	0	4	2	0	2	1.3 ± 1.3
手指の器用さスコア	1	0	1	6	0	1	0	0	1	1.1 ± 1.9
対人関係スコア	0	0	0	4	0	0	2	0	2	0.9 ± 1.5
合計スコア	9	0	6	13	0	10	4	0	6	5.3 ± 4.8

表5 患者と姉妹のチェックリストの項目別スコアの比較

	患者 (22人)	姉妹 (9人)	有意差
年齢	13.9 ± 4.3	15.2±4.1	
文字の視知覚認知スコア	3.8 ± 3.5	1.0±1.2	p<0.05
書字スコア	3.0 ± 3.6	0.6±0.9	p<0.05
算数の視知覚認知スコア	3.3 ± 2.7	0.4±0.9	p<0.01
プランニングスコア	3.1 ± 2.3	1.3±1.3	p<0.01
手指の器用さスコア	4.0 ± 4.0	1.1±1.9	p<0.05
対人関係スコア	2.5 ± 2.7	0.9±1.5	
合計スコア	19.6 ± 16.1	5.3±4.8	p<0.01

表6 患者のチェックリストの合計スコアによる2群の比較

姉妹のM+2SDのスコアを超える患者の出現率

> 姉妹のM+2SD	人数	出現率%
文字の視知覚認知スコア > 3.4	12	55
書字スコア > 2.4	9	41
算数の視知覚認知スコア > 2.2	8	36
プランニングスコア > 3.9	8	36
手指の器用さスコア > 4.9	8	36
対人関係スコア > 3.9	8	36
合計スコア > 14.9	12	55

合計スコアの差による2群の比較と姉妹との差

合計スコア	<15 (n=10)	≥15 (n=12)	有意差
年齢	13.9 ± 3.1	13.9 ± 5.2	
文字の視知覚認知スコア	0.6 ± 1.3	6.5 ± 2.2	p<0.001
書字スコア	0.8 ± 1.0	4.9 ± 4.0	p<0.01
算数の視知覚認知スコア	1.3 ± 1.6	4.7 ± 2.5	p<0.01
プランニングスコア	1.8 ± 1.7	4.3 ± 2.2	p<0.01
手指の器用さスコア	1.1 ± 1.4	6.5 ± 3.7	p<0.001
対人関係スコア	0.3 ± 0.5	4.3 ± 2.5	p<0.001
合計スコア	5.9 ± 4.7	31.1 ± 12.7	p<0.001

表7 母と患者自身のチェックリストの項目別スコアの比較

項目	症例1		症例2		症例9		症例10		症例11		症例12		症例13		症例16		症例17		症例21		症例22	
	母	患者	母	患者	母	患者	母	患者	母	患者	母	患者	母	患者	母	患者	母	患者	母	患者	母	患者
文字の視知覚認知スコア	10	11	6	7	1	1	1	0	4	0	8	7	4	1	0	1	8	10	3	2	5	7
書字スコア	12	3	7	7	1	1	1	3	2	2	2	7	6	8	0	1	9	9	5	1	0	5
算数の視知覚認知スコア	8	0	0	1	2	1	4	2	4	0	2	3	6	1	1	1	8	8	3	1	2	2
プランニングスコア	8	8	3	3	2	2	3	2	0	0	3	6	5	4	2	0	5	4	8	5	1	2
手指の器用さスコア	12	0	3	6	4	4	3	1	1	2	4	4	0	0	2	1	11	11	11	5	5	3
対人関係スコア	7	5	6	5	1	0	0	2	1	0	1	0	4	1	0	0	8	7	4	6	4	2
合計スコア	57	27	25	29	11	9	12	10	12	4	20	26	25	15	5	4	49	49	34	20	17	21

表8 母と患者のチェックリストの項目別スコアの比較

項目	母の評価	患者の評価
年齢(歳)	14.7 ± 4.9	
文字の視知覚認知スコア	4.5 ± 3.3	4.3 ± 4.2
書字スコア	4.1 ± 4.0	4.3 ± 3.0
算数の視知覚認知スコア	3.6 ± 2.7	1.8 ± 2.2
プランニングスコア	3.6 ± 2.6	3.4 ± 2.5
手指の器用さスコア	5.1 ± 4.3	3.4 ± 3.2
対人関係スコア	3.3 ± 2.9	2.5 ± 2.7
合計スコア	24.3 ± 16.4	19.5 ± 13.3

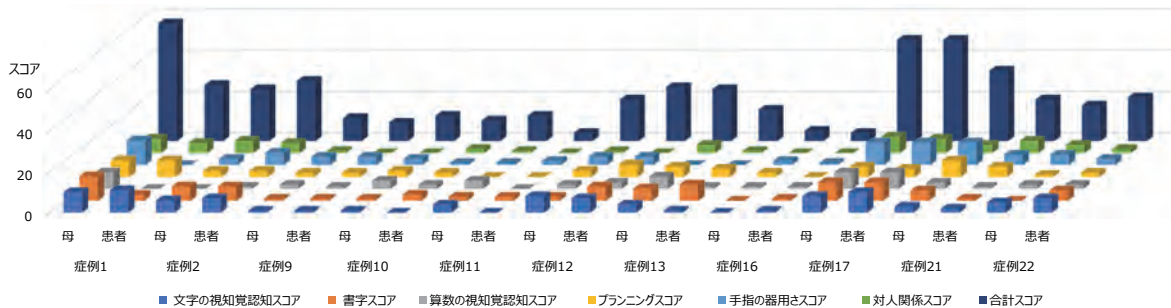


表9 心理検査を実施した7人の結果

症例		症例1	症例7	症例8	症例10	症例12	症例13	症例22	M±SD
年齢		7	11	11	14	14	15	25	13.9 ± 5.6
心理検査		WISC-IV						WAIS-IV	
言語理解	類似	9	13	12	3	11	10	8	
	単語	11	11	16	6	5	15	8	
	理解	10	10	16	3	9	15	9	
	(知識)	11	7	14	11	11		10	
	(語の推理)	9	10	15	8	9			
知覚推理	積木模様	9	8	13	10	8	10	11	
	絵の概念	7	9	13	8	6	14		
	行列推理	6	8	16	7	6	12	12	
	(絵の完成)	5	7	12	6	10		10	
ワーキングメモリ	数唱	7	10	17	8	12	9	7	
	語音整列	7	9	14	7	11	10	10	
	(算数)	10	9	13	6	6		7	
処理速度	符号	7	8	17	11	8	8	11	
	記号探し	7	5	10	11	13	8	9	
	(絵の抹消)	9	5	17	6	9			
言語理解		99	107	127	64	90	119	92	99.7 ± 20.8
知覚推理		82	89	127	89	78	113	109	98.1 ± 18.3
ワーキングメモリ		82	97	131	85	109	97	82	97.6 ± 17.8
処理速度		83	81	118	104	102	88	99	96.4 ± 13.2
全検査		85	92	135	80	91	108	95	98.0 ± 18.5

表10 7人のチェックリストの項目別スコア

姉妹のM+2SD		症例1	症例7	症例8	症例10	症例12	症例13	症例22	M±SD
文字の視知覚認知スコア	3.4	10	6	0	1	8	4	5	4.9 ± 3.6
書字スコア	2.4	12	4	0	1	2	6	0	3.6 ± 4.3
算数の視知覚認知スコア	2.2	8	4	2	4	2	6	2	4.0 ± 2.3
プランニングスコア	3.9	8	4	0	3	3	5	1	3.4 ± 2.6
手指の器用さスコア	4.9	12	6	0	3	4	0	5	4.3 ± 4.1
対人関係スコア	3.9	7	0	0	0	1	4	4	2.3 ± 2.8
合計スコア	14.9	57	24	2	12	20	25	17	22.4 ± 17.2

表 11 3人の訓練によるチェックリストの項目別スコアの推移

症例	症例7		症例13		症例22	
	訓練前	訓練後	訓練前	訓練後	訓練前	訓練後
年齢 (歳)	10	11	12	15	22	25
文字の視知覚認知スコア	14	5	6	4	14	5
書字スコア	12	0	7	6	12	0
算数の視知覚認知スコア	7	2	8	6	7	2
プランニングスコア	8	1	6	5	8	1
手指の器用さスコア	12	5	2	0	12	5
対人関係スコア	8	4	6	4	8	4
合計スコア	61	17	35	25	61	17

表 12 訓練による3人のチェックリストの項目別スコアの推移

	訓練開始前	訓練終了後	有意差
年齢	14.7 ± 6.4	17.0 ± 7.2	
文字の視知覚認知スコア	11.3 ± 4.6	4.7 ± 0.6	
書字スコア	10.3 ± 2.9	2.0 ± 3.5	
算数の視知覚認知スコア	7.3 ± 0.6	3.3 ± 2.3	
プランニングスコア	7.3 ± 1.2	2.3 ± 2.3	
手指の器用さスコア	8.7 ± 5.8	3.3 ± 2.9	
対人関係スコア	7.3 ± 1.2	4.0 ± 0.0	p<0.05
合計スコア	52.3 ± 15.0	19.7 ± 4.6	

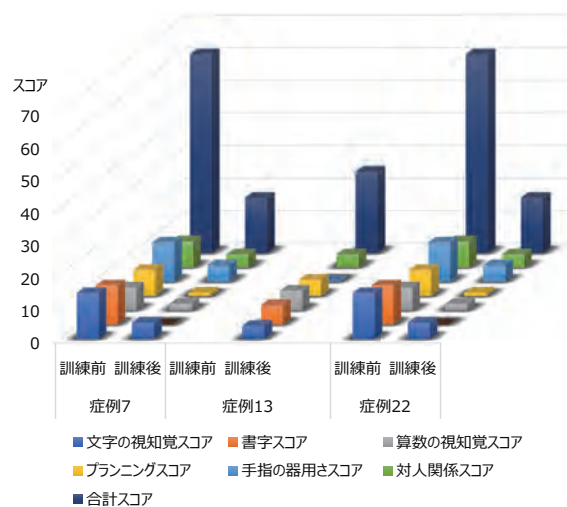


表 13 訓練による心理検査結果の推移

項目	症例7		症例13		症例22		M±SD	有意差	
	WISC-IV				WAIS-III	WAIS-IV			
訓練	訓練前	訓練後	訓練前	訓練後	訓練前	訓練後	訓練前	訓練後	
言語理解	類似	12	13	8	10	9	8		
	単語	13	11	13	15	9	8		
	理解	12	10	14	15	8	9		
	(知識)	9	7			7	10		
知覚推理	積木模様	9	8	10	10	8	11		
	絵の概念	4	9	9	14				
	行列推理	3	8	5	12	6	12		
	(絵の完成)	10	7			5	10		
ワーキングメモリ	数唱	11	10	5	9	8	7		
	語音整列	10	9	9	10	9	10		
	(算数)	7	9			6	7		
処理速度	符号	5	8	4	8	7	11		
	記号探し	5	5	8	8	4	9		
	(絵の抹消)	5	5						
言語理解	113	107	109	119	92	92	104.7 ± 11.2	106.0 ± 13.5	
知覚推理	71	89	87	113	77	109	78.3 ± 8.1	103.7 ± 12.9	p<0.05
ワーキングメモリ	103	97	82	97	85	82	90.0 ± 11.4	92.0 ± 8.7	
処理速度	73	81	78	88	75	99	75.3 ± 2.5	89.3 ± 9.1	
全検査	88	92	88	108	83	95	86.3 ± 2.9	98.3 ± 8.5	

表 14 訓練による視機能検査結果の推移

検査項目	症例7		症例13				症例22					
	訓練後		訓練前		訓練後		訓練前		訓練後			
	検査結果	評価	検査結果	評価	検査結果	評価	検査結果	評価	検査結果	評価		
視機能	(視力検査) 遠見	5mでの視力の確認	右1.0 左1.0	良好	右0.15 左0.9	右近視	右0.1 左0.1	近視 (両眼視0.3)	両眼1.0	異常なし	両眼1.0 (眼鏡)	異常なし
	(視力検査) 近見	30cmでの視力の確認	両眼1.0	良好	左右・両眼1.0	異常なし	左右・両眼1.0	異常なし	両眼1.0	異常なし	両眼1.0	異常なし
	眼球運動能力	Developmental Eye Movement 眼球運動 検査	低下 (9歳相当)	眼で追う力が低下	縦読み 8歳 横読み 9.5歳	眼で追う力がやや低下	縦読み 13歳 横読み 13歳	追従運動・跳躍運動良好	低下 (8歳相当)	眼で追う力が低下	12歳相当	追従運動・跳躍運動良好
両眼視能力		両眼の間から10cmで外れる	近くのものを見る力がやや低下	やや低下 (5cmずれ)	近くのものを見る力がやや低下	適正レベル (4cmずれ)	正常	やや低下 (8cmずれ)	近くのものを見る力が低下	良好 (3cmずれ)	正常	
視知覚認知機能	形の弁別		6歳1か月相当	細かい複雑な形を認識する力が弱く、眼球運動、両眼視の力の弱さの影響も考えられる	12歳6か月相当	正常	18歳3か月相当	順番記憶以外は良好	12歳6ヶ月相当	細かい形を認識したり、記憶する力が少し低下	22歳以上相当	順番記憶以外は良好
	形の短期記憶		14歳2か月相当		14歳2か月相当		21歳以上相当		11歳5ヶ月相当		22歳以上相当	
	空間認識		10歳0ヶ月相当		18歳相当		18歳相当		18歳0ヶ月相当		22歳相当	
	形の恒常性		5歳11ヶ月相当		20歳10ヶ月相当		21歳以上相当		12歳9ヶ月相当		22歳相当	
	順番記憶		11歳1ヶ月相当		14歳5か月相当		14歳5か月相当		11歳1ヶ月相当		14歳5ヶ月相当	
	図と地の認識		5歳以下相当		18歳3か月相当		21歳以上相当		21歳以上相当		22歳以上相当	
	欠所補完		6歳6か月相当		19歳11か月相当		21歳以上相当		14歳1ヶ月相当		22歳以上相当	

Multi-locus imprinting disturbance 症例における遺伝学的原因および異常メチル化可変領域と成長障害、GH 治療反応性の検討

鏡 雅代

国立成育医療研究センター分子内分泌研究部

はじめに

Multi-locus imprinting disturbance (MLID) は複数のインプリンティング遺伝子発現制御領域であるメチル化可変領域 (DMR) のメチル化異常を示すインプリンティング異常症の特殊型である。MLID の遺伝学的原因は多くで不明であるが、一部の MLID 症例で DMR のメチル化維持に関わる Subcortical maternal complex (SCMC) を構成するタンパクをコードする *NLRP2*、*NLRP5*、*NLRP7*、*PADI6*、*KHDC3L* 遺伝子変異を母において、DMR のメチル化 CpG に結合するタンパクをコードする *ZFP57*、*ZNF445* 遺伝子の変異を児において報告されている。エピ変異の多い Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS)、Silver-Russell 症候群 (SRS) の患者を対象とした MLID 同定の報告は認めるが、それ以外のインプリンティング疾患について、MLID の有無についてほとんど検討されていない。加えて、MLID 症例における原因遺伝子の包括的な検索、MLID 症例で認められるメチル化異常と臨床像との関連性の検討もされていない。

研究方法および結果

我々は、さまざまなインプリンティング疾患疑いで紹介され、DMR のメチル化異常が同定された 697 症例に対し、それぞれのインプリンティング疾患における遺伝学的原因を検索し、300 名のエピ変異症例を同定した。これらのエピ変異症例に対し、すべてのインプリンティング疾患責任 DMR に対する包括的メチル化解析をパイロシーケンス法および methylation-specific multiple ligation-dependent probe amplification (MS-MLPA) 法を用いて行った。300 名のエピ変異症例のうち、22 名 (7.3%) に MLID を同定した (表 1)。過成長を示す BWS 表現型患者において、約 12% に MLID を同定した。成長障害を示す SRS 表現型患者では、約 5% に MLID を同定した。一方、Kagami-Ogata 症候群 (KOS)、Prader-Willi 症候群 (PWS)、Angelman 症候群 (AS) 患者では MLID は同定されなかった。加えて、我々は *KCNQ1OT1*-DMR 低メチル化を示す BWS 症例 86 名に対しても同様にメチル化解析を行い、7 名の MLID を同定した。

合計 29 名の MLID 症例に対し、アレイを用いた網羅的メチル化解析を施行し、78 の DMR のメチル化レベルを評価し、56 の DMR にメチル化異常を認めた (図 1)。次に MLID の同定に用いたパイロシーケンス法と MS-MLPA 法の結果と、アレイによるメチル化解析の結果を比較した (図 2)。異常低メチル化を示す DMR は半分以上でメチル化解析手法に関わらず低メチル化を示したが、異常高メチルの DMR は一致せず、アレイを用いたメチル化解析が最も高頻度に異常高メチル化を同定した。

MLID 症例の患者および母親に対し、MLID の原因遺伝子に対する変異解析を行い、8 名の患者

の母親で、SCMCを構成するタンパクをコードする遺伝子にヘテロの原因と疑われるレアバリエントを同定し、1名のMLID症例にホモの*ZNF445*のナンセンス変異を同定した(表2)。これらのバリエントに固有のメチル化パターンや表現型は同定されなかった(図1)。

29名のMLID症例について、臨床像や妊娠歴などについて検討した(表3)。遺伝子解析を依頼されたときの臨床診断は、15名がBWS、6名がSRS、犠牲副甲状腺機能低下症 Type1B (PHP1B)が1名、BWSとPHP1Bの表現型を示した症例が1名、Temple症候群(TS14)が2名、新生児一過性糖尿病が1名、過成長が1名、PWSとTS14表現型を示した症例が1名、small for gestational age (SGA)出生でインプリンティング疾患としては非典型的な臨床像を呈した症例が1名であった。妊娠歴の情報のある28名のうち7名が生殖補助医療で出生していた。そしてその全例がBWS表現型であった。精神運動発達遅延はMLIDの約半数の症例で同定された。BWSの臨床診断基準を示すBWSpスコアは、BWS型MLID症例の中央値が7で基準を満たしていた。SRSの臨床診断基準であるNetchine-Harbisson clinical scoring system (NH-CSS)はSRS型MLID症例の中央値は5で、診断基準である4を満たしていた。個々の症例での検討では、BWS-MLIDグループの症例11、12、15は軽度の筋緊張低下、哺乳不良、前額突出といったSRSで認められる臨床像を伴っていた。症例19はSGA出生、小頭症、巨舌、知的障害と様々なインプリンティング疾患で認められる症状を合わせもっていた。2例のSRS型MLID、2例のTS14型MLID、1例のPWS+TS14型MLID症例でGH治療を受けていた。SRS型MLIDの1例はGH治療への反応は良好で、もう1例の治療反応性は不明である。TS14のうち1例は、3歳時に低身長(-5.1 SD)にてGH治療を開始した。5歳時に中枢性思春期早発症を発症、その後もGH治療を続け、現在10歳で身長は-2.3 SDである。もう一例のTS14症例は、10才から低身長(-2.5 SD)でGH治療を開始したが、最終身長は-2.4 SDであった。PWS+TS14型MLID症例はGH治療への反応性は不良であった。

考察

本研究において、エピ変異によるインプリンティング疾患の約7%にMLIDを同定した。BWSでは12%、SRSでは5%にMLIDを認めたが、KOS、AS、PWS症例のエピ変異ではMLIDは同定されず、MLIDの頻度は疾患により異なることが判明した。29名のMLIDのうち9名でMLID原因遺伝子の病的バリエントと考えられるレアバリエントを認めたが、遺伝子特異的なメチル化異常パターンは認められなかった。DMRのメチル化維持機構の脆弱性をもつ症例およびその母親において、メチル化異常はstochasticに生じると予想された。MLID症例において、生殖補助医療にて妊娠した児の割合が高くなっていた。ゲノムインプリンティングの消去、獲得、維持の過程での操作を伴う生殖補助医療はMLID発症のリスク因子の可能性もある。さらなる検討が必要である。MLID患者では、精神運動発達遅延が約半数で同定された。BWSやSRSに精神運動発達遅延を同定することは稀であり、精神運動発達遅延を合併しないインプリンティング疾患で精神運動発達遅延を同定する場合は、MLIDである可能性を念頭に疾患責任DMR以外のメチル化解析を施行すべきである。GH治療は成長障害型のインプリンティング疾患であるSRS、TS14、PWS表現型を示すMLID症例で行われていた。GH治療反応性に一定の傾向は認めなかった。

表 1 MLID の頻度

表現型	遺伝学的原因							MLIDの頻度		
	エピソード		MLID	UPD	エピソード		合計	max ^a	min ^b	
	メチル化異常を示すDMR	疾患責任 DMRのみ			もしくは UPD	構造異常				
TNDM	<i>PLAGL1</i> : TSS-DMR LOM	2	1	UPD(6)pat	3	1	1	8	33.3% (1/3)	25.0% (1/4)
SRS	-	-	-	UPD(7)mat	42	-	-	42	-	-
	<i>H19/IGF2</i> : TSS-DMR LOM	129	6	-	-	-	6	141	4.4% (6/135)	4.4% (6/135)
BWS	<i>H19/IGF2</i> : TSS-DMR GOM	18	8	UPD(11)pat	36	-	7	108	12.3% (8/65)	12.3% (8/65)
	<i>KCNQ1OT1</i> : TSS-DMR LOM	39	-	-	-	-	-	-	-	-
TS14	<i>MEG3</i> : TSS-DMR LOM	19	2	UPD(14)mat	26	5	4	56	9.5% (2/21)	7.7% (2/26)
KOS	<i>MEG3</i> : TSS-DMR GOM	18	0	UPD(14)pat	26	4	14	62	0.0% (0/18)	0.0% (0/22)
AS	<i>SNURF</i> : TSS-DMR LOM	11	0	UPD(15)pat	6	11	14	42	0.0% (0/11)	0.0% (0/22)
PWS	<i>SNURF</i> : TSS-DMR GOM	6	0	UPD(15)mat	56	39	25	126	0.0% (0/6)	0.0% (0/45)
PHP1B	<i>GNAS A/B</i> : TSS-DMR LOM	36	1	UPD(20)pat	5	11	37	90	2.7% (1/37)	2.1% (1/48)
SRS様	-	-	-	UPD(6)mat	3	-	-	3	-	-
	-	-	-	UPD(11)mat	1	-	-	1	-	-
	-	-	-	UPD(16)mat	4	-	-	4	-	-
	-	-	-	UPD(20)mat	10	-	-	10	-	-
PWS + TS14	-	-	1	-	-	-	1	-	-	
BWS + PHP	-	-	1	-	-	-	1	-	-	
SGA	-	-	1	-	-	-	1	-	-	
過成長	-	-	1	-	-	-	1	-	-	
All	-	278	22	-	218	71	108	697	7.3% (22/300)	5.9% (22/371)

^a エピソード症例におけるMLIDの頻度。 ^b エピソードかUPDか判別されていない症例とエピソード症例におけるMLIDの頻度。 DMR, differentially methylated region; UPD, uniparental disomy; Epi, epimutation; CNV, copy number variant; MLID, multi-locus imprinting disturbance; TNDM, transient neonatal diabetes mellitus; SRS, Silver-Russell syndrome; BWS, Beckwith-Wiedemann syndrome; TS14, Temple syndrome; KOS, Kagami-Ogata syndrome; PWS, Prader-Willi syndrome; AS, Angelman syndrome; PHP, pseudohypoparathyroidism; SGA, small for gestational age; LOM, loss of methylation; GOM, gain of methylation; UPD(6)mat, maternal UPD of chromosome 6; UPD(6)pat, paternal UPD of chromosome 6; UPD(7)mat, maternal UPD of chromosome 7; UPD(7)pat, paternal UPD of chromosome 7; UPD(11)mat, maternal UPD of chromosome

表 2 MLID 関連遺伝子の変異解析結果

Genes	Variant	Protein	dbSNP	GnomAD allele frequency v4.0.0	Prediction				ClinVar	ACMG guideline
					CADD PHRED	SIFT	Poly-phen2	Mutation Taster		
<i>NLRP2</i>	c.1564G>A	p.(Glu522Lys)	rs1183506640	0.000001253	0.8	T	PD	Benign	-	VUS (PM2)
<i>NLRP2</i>	c.592C>T	p.(Pro198Ser)	-	-	19.5	T	PD	Benign	-	VUS (PM2)
<i>NLRP2</i>	c.1521G>T	p.(Gln507His)	rs142785605	0.00004213	23.4	D	D	Benign	-	VUS (PM2+PP3)
<i>NLRP2</i>	c.492_493insGA	p.(Ala164fs)	-	-	-	-	-	Deleterious	-	Likely Pathogenic (PVS1+PM2)
<i>NLRP5</i>	c.437T>C	p.(Met146Thr)	-	-	19	T	PD	Benign	-	VUS (PM2)
<i>PADI6</i>	c.1247T>C	p.(Ile416Thr)	rs372065243	0.00006011	23.4	D	PD	-	LP ^a	VUS (PM1+PM2+PP3)
<i>PADI6</i>	c.526dupA	p.(Lys175fs)	-	-	-	-	-	-	-	Likely Pathogenic (PVS1+PM2)
<i>PADI6</i>	c.609_612del	p.(Leu203fs)	-	-	-	-	-	-	-	Likely Pathogenic (PVS1+PM2)
<i>ZNF445</i>	c.2803C>T	p.(Gln935*)	-	-	35	-	-	Deleterious	-	Likely Pathogenic (PVS1+PM2)

^a biallelic variants in early embryonic arrest. Mo, mother; CADD, combined annotation-dependent depletion; SIFT, Sorting Intolerant from Tolerant; T, tolerated; D, damaging; PD, Possibly damaging; LP, likely pathogenic; VUS, variant of unknown significance; hetero, heterozygote; homo, homozygote,

表3 MLID 症例の臨床像

臨床診断	BWS	BWS + PHP1B	PHP1B	Overgrowth	SRS	TS14	TNDM	PWS + TS14	SGA	All
患者数	15	1	1	1	6	2	1	1	1	29
	Cases 1-15	Case 16	Case 17	Case 18	Cases 19-24	Cases 25-26	Case 27	Case 28	Case 29	
BL (SDS)	1.6 [-0.5 to 3.4]	2.1	2	2.7	-3.5 [-1.1 to -4.1]	-2.4 [-2.9 to -1.9]	1	-2.5	-1	0.8 [-4.1 to 3.4]
BW (SDS)	2.4 [1.4 to 5.2]	2.1	3.8	1.2	-3.7 [-4.1 to -1.9]	-3.5 [-3.8 to -3.2]	-0.4	-4.1	-3.6	1.7 [-4.1 to 5.2]
BOFC (SDS)	1.5 [-1.8 to 2.3]	ND	ND	-0.8	-1.0 [-1.4 to -0.2]	-0.7 [-0.9 to -0.4]	0.4	-1.1	0.9	0.5 [-1.8 to 2.3]
GA (weeks:days)	36:5 [23:2 to 41:1]	35:0	37:0	42:0	37:2 [30:2 to 37:6]	37:6 [34:6 to 41:0]	38:0	31:0	35:0	37:0 [23:2 to 42:0]
父親年齢 (y)	36 [28 to 48]	35	50	26	33.5 [28 to 45]	33 [31 to 35]	32	36	41	35 [25 to 50]
母親年齢 (y)	33 [24 to 41]	34	47	26	32.5 [23 to 38]	32.5 [27 to 38]	22	38	29	33 [22 to 47]
第一子	11/15	1/1	0/1	1/1	4/5	1/2	1/1	0/1	1/1	20/28
流産歴	0/9	0/1	ND	0/1	1/2	ND	0/1	0/1	0/1	1/16
ART	7/14	0/1	0/1	0/1	0/6	0/2	0/1	0/1	0/1	7/28
BWSp scores	7 [3-11]	9	1	0	2 [1-3]	2 [2]	0	1	3	3 [0-11]
巨舌	15/15	1/1	0/1	0/1	0/5	0/2	ND	0/1	1/1	17/27
Exomphalos	5/12	1/1	0/1	0/1	0/4	0/2	0/1	0/1	0/1	6/25
低血糖	6/14	1/1	ND	0/1	1/3	0/2	0/1	0/1	0/1	8/24
出生児過成長	11/15	1/1	1/1	0/1	0/6	0/2	0/1	0/1	0/1	13/29
火焔状母斑	5/15	0/1	0/1	0/1	1/4	0/2	ND	0/1	0/1	6/26
耳の奇形	8/15	0/1	0/1	0/1	1/6	0/2	ND	0/1	0/1	9/28
顔ヘルニア	10/14	0/1	0/1	0/1	0/3	0/2	ND	0/1	1/1	11/24
羊水過多/胎盤過形成	7/11	1/1	ND	0/1	0/3	0/2	0/1	1/1	0/1	9/21
臓器腫大	1/15	0/1	0/1	0/1	0/3	0/2	0/1	0/1	0/1	1/26
NH-CSS	0 [0-1]	1	0	0	4.5 [2-5]	5.5 [5-6]	0	4	2	0 [0-6]
SGA	0/15	0/1	0/1	0/1	5/6	2/2	0/1	1/1	1/1	9/29
哺乳不良	1/6	0/1	0/1	0/1	1/5	1/2	ND	1/1	ND	4/17
前顔突出	1/8	0/1	0/1	0/1	5/5	2/2	ND	0/1	0/1	8/20
低身長	0/10	0/1	0/1	0/1	5/5	2/2	ND	1/1	0/1	8/22
体の左右非対称	7/15	1/1	0/1	0/1	5/6	2/2	ND	0/1	0/1	15/28
相対的大顔	0/9	0/1	0/1	0/1	6/6	2/2	0/1	1/1	1/1	10/23
筋緊張低下	1/6	0/1	0/1	0/1	3/5	2/2	0/1	1/1	ND	7/18
ND/ID	5/12	0/1	0/1	0/1	3/5	2/2	0/1	1/1	1/1	12/25
腫瘍合併	0/15	0/1	0/1	0/1	0/4	0/2	0/1	0/1	0/1	0/27
その他 (n)	Scoliosis (2)	Round face PTH resistance	Brachydactyly PTH resistance	Cafe au lait spots	Cafe au lait spots (1) Low-set ears (1)	S-H (2), J-H (2) High palate (1)	-	S-H, A-S Round face	Micro- cephaly	
病的バリエーション (n) ^a	-	-	-	-	PAD16 (2), NLPR2 (1)	ZNF445 (1)	-	-	-	

Data are present as median [min-max]. ^aPathogenic and Likely pathogenic (ACMG guideline). Dx, diagnosis; BWS, Beckwith-Wiedemann syndrome; PHP, pseudohypoparathyroidism; SRS, Silver-Russell syndrome; TS14, Temple syndrome; TNDM, transient neonatal diabetes mellitus; PWS, Prader-Willi syndrome; SGA, small for gestational age; BL, birth length; BW, birth weight; BOFC, birth occipitofrontal circumference; SDS, standard deviation score; GA, gestational age; w, week; y, year; ART, assisted reproductive technology; BWSp, BWS spectrum; NH-CSS, Netchine-Harbinson clinical scoring system, ND/ID, neurodevelopmental delay and/or intellectual disability; PTH, parathyroid hormone; S-H, small hands; J-H, joint hypermobility; A-S, almond-shaped eyes; ND, no data.

図1 56 か所の DMR に対するメチル化アレイによる解析結果

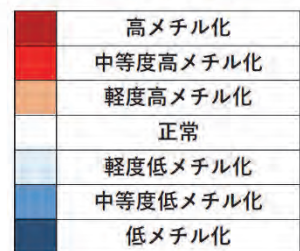
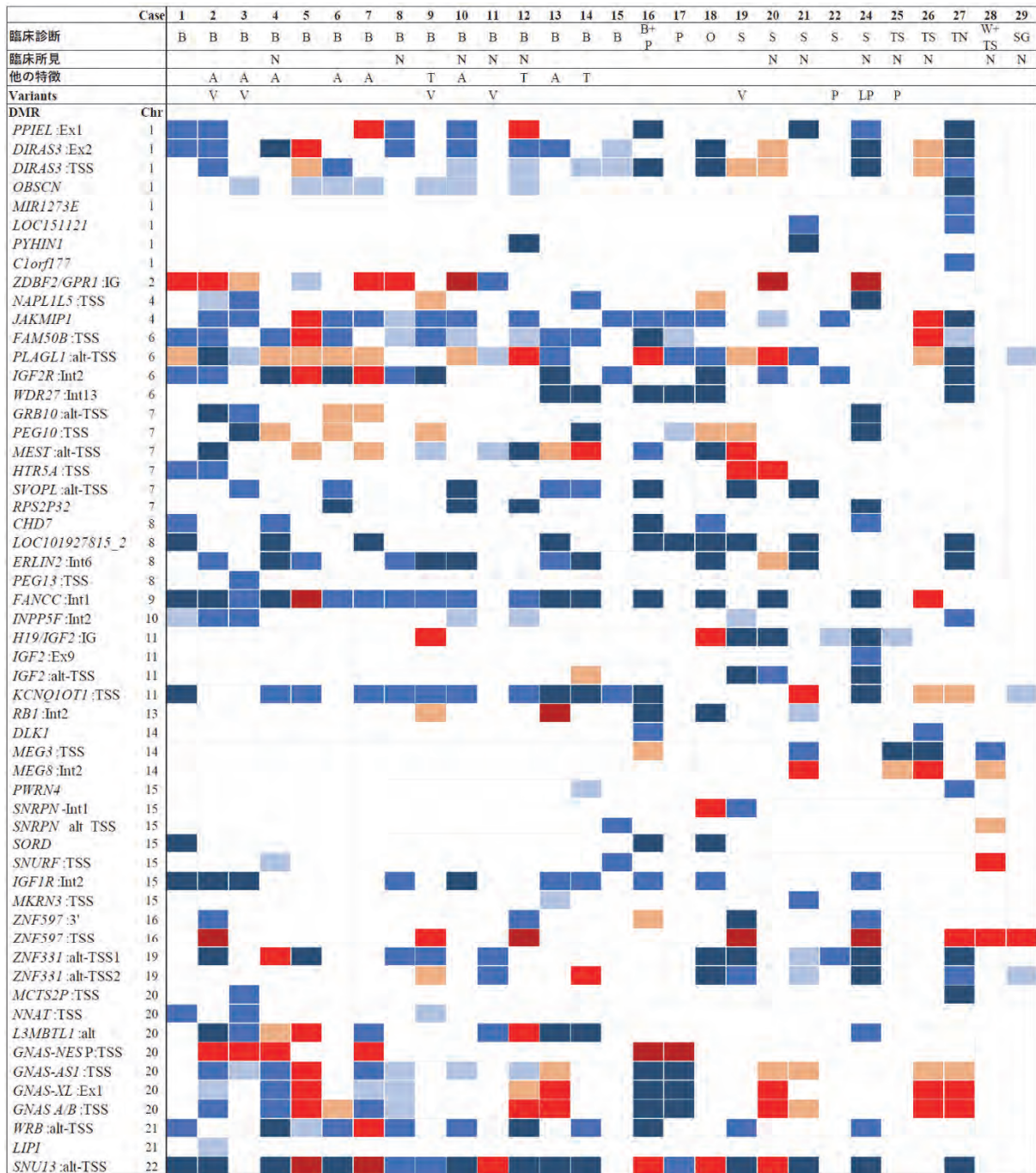
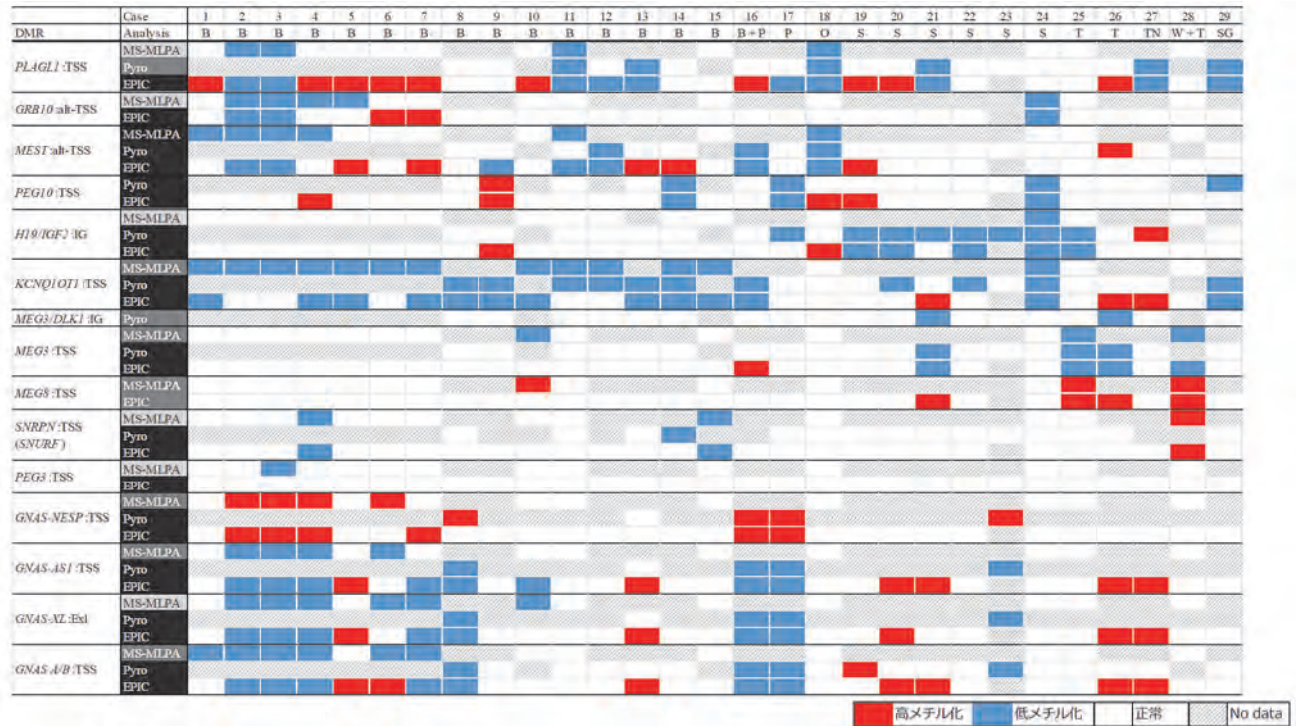


図2 パイロシーケンス法、MS-MLPA 法、EPIC を用いたメチル化解析の結果の比較



学校健診における新たな成長曲線異常判定簡易プログラムの作成

鞆嶋 有紀

島根大学医学部小児科

研究目的

文部科学省による「児童生徒等の健康診断」平成27年度の改訂に伴い、成長曲線の記録と検討が義務化され、島根県出雲市および松江市教育委員会の学校健診では、日本学校保健会提供の成長曲線プログラム（子供の健康管理V4：以下V4）を使用し、専門医による成長曲線判定委員会を設け判定を行っているが、V4で異常値のうち、精密が必要な生徒は約4%程度である。今回、私達は成長曲線判定委員会および学校現場の負担を軽減する目的で、より簡便で、精度の高い判定プログラムの開発を目指す。

研究方法

1. 本邦の成長曲線2010年度版データを基に、VBA（Visual Basic For Applications）を用いたMicrosoft ExcelにてV4の基準（最新の1年間身長SDの差（ $\pm 1SD$ ）、高身長（ $2SD$ 以上）、低身長（ $2SD$ 以下）、肥満度20%以上、 -20% 以下、最新の肥満度減少 $\leq -20\%$ 、肥満度増加 $\geq 20\%$ ）に加え、成長速度増加異常（ $2SD$ 以上または $-2SD$ 以下）、 $-1SD$ 以下の低身長の場合も含む思春期早発症の定義に合わせた成長増加異常データを基に思春期早発症を検出する機能を付加したプログラムを松江工業高等専門学校にて作成する。
2. 作成したプログラムを元に、2021年度春の島根県出雲市学校健診データで精度を検討する。（島根大学医学部医学研究倫理委員会承認済み）
3. 精度を検討した後、AI機能などを用いて改善点を修正して本プログラムを改訂する。
4. 精度検証後、島根県出雲市教育委員会学校健診において、前向き研究としてV4と本プログラムを併行して使用し、精度をさらに検証する。
5. 本プログラム検証後、本プログラム使用方法と疾患に関する教育を養護教諭、教員に行う。

結果

図1に示す基準でエクセルによる成長曲線判定プログラムを作成した。

図1 判定プログラム開発方法

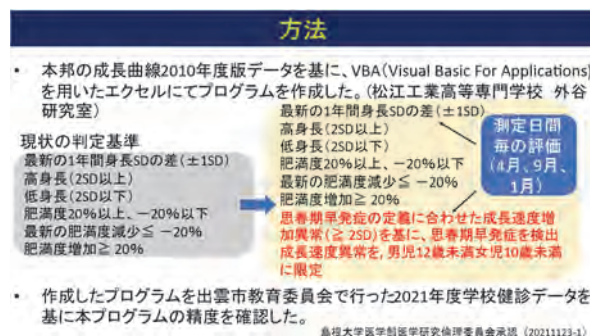
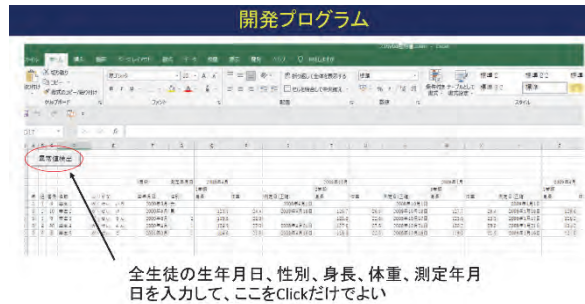


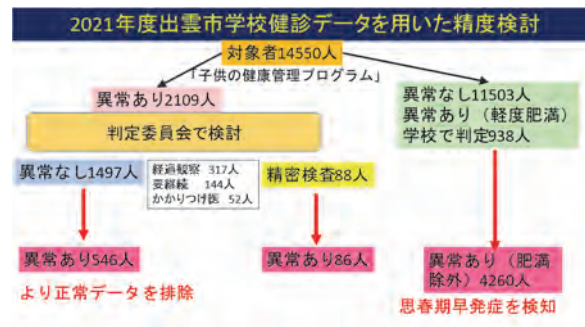
図2のように松江工業高等専門学校外谷昭洋准教授の協力を得て、全生徒の生年月日、性別、身長、体重、測定年月日を入力し、1クリックだけで判別、成長曲線が確認可能なソフトを開発した。

図2 開発プログラムの1部



この判定プログラムを用いて、島根大学医学部倫理委員会の承認を経て、2021年度出雲市学校健診データ（全14,550人）を用いて精度確認を行った。その結果、V4で「異常あり」と判定した2,109人のうち、出雲市判定委員会で精査が必要と判断した児童は88人（4.2%）、このプログラムで「異常あり」としたのは546人（25%）であった。一方、V4で「異常なし」群（12,441人）のうち、このプログラムで4,260人（34%）を「異常あり」と判断した。異常のうち、早期の思春期早発症も含まれたが、正常成長曲線も存在した（図3）。現在V4で異常なしとされ、本プログラムで異常とされた群にどの程度思春期早発症が含まれるか解析途中である。解析後、論文化し、投稿予定としている。

図3 2021年度出雲市学校健診データ解析結果まとめ



LC-MS/MSによる日本人小児 テストステロン・エストラジオール基準値の作成

今野 麻里絵

東京都立小児総合医療センター内分泌・代謝科
(現：慶應義塾大学医学部小児科学教室)

背景

従来、血清テストステロン (T)・エストラジオール (E₂) は免疫学的測定法 (IA) にて測定されてきた。しかし、①新生児期・mini-puberty 期には残存する胎生副腎由来ホルモンが交差性を示すこと、②前思春期の測定値が IA 感度未満であること、の 2 点から新生児期以降、前思春期までの T・E₂ 値の正確な評価は困難であった。液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法 (LC-MS/MS) は IA に比して、交差反応がなく、低濃度の測定が可能であるが、新生児期・前思春期は特に T・E₂ 濃度が低いため、既報の LC-MS/MS では感度が不十分であった。

目的

高感度 LC-MS/MS 測定系により、新生児早期・mini-puberty 期・前思春期の T、E₂ の基準値を作成する。

方法

日齢 4-6 (新生児早期群)、日齢 20-125 (mini-puberty 群)、1-7 歳 (前思春期群) の患者のうち、性腺機能に影響を与える疾患が疑われる者、急性疾患に罹患している者などを除外した。対象の血清を用いて、LC-MS/MS で T、E₂ を測定した。

結果

新生児早期群 60 例 (男児 30 例、女児 30 例)、mini-puberty 群 49 例 (男児 23 例、女児 26 例)、前思春期群 122 例 (男児 60 例、女児 62 例) を解析した。血清 T (ng/dL) の中央値 (2.5 ~ 97.5 パーセントイル値) は、新生児早期群が男児 14.47 (3.44-54.17)、女児 2.42 (0.88-36.71)、mini-puberty 群が男児 145.71 (57.89-222.20)、女児 3.09 (1.22-7.92)、前思春期群が男児 1.09 (<0.13-4.81)、女児 0.91 (0.18-5.69) あった (図 1)。血清 E₂ (pg/mL) の中央値は、新生児早期群が男児 0.38 (0.15-0.91)、女児 0.33 (0.11-1.03)、mini-puberty 群が男児 0.90 (0.38-1.55)、女児 5.88 (0.14-22.40)、前思春期群が男児 0.05 (<0.025-0.27)、女児 0.99 (0.10-3.78) であった (図 2)。血清 T 値は新生児早期群・mini-puberty 群において男児で有意に高く (いずれも $p < 0.001$)、前思春期において性差はなかった ($p = 0.469$)。血清 E₂ 値は新生児早期群において性差はなく ($p = 0.412$)、mini-puberty 群・前思春期群において女児で有意に高かった ($p = 0.004$, $p < 0.001$)。

図1 血清テストステロン値の推移

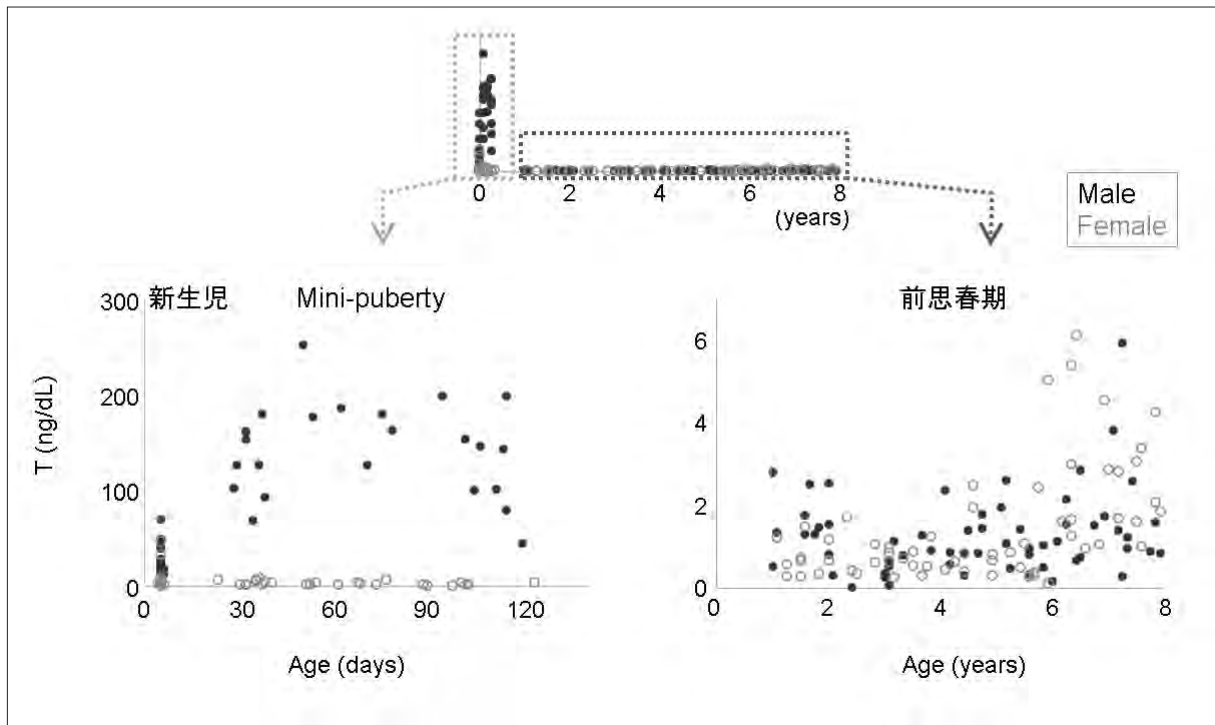
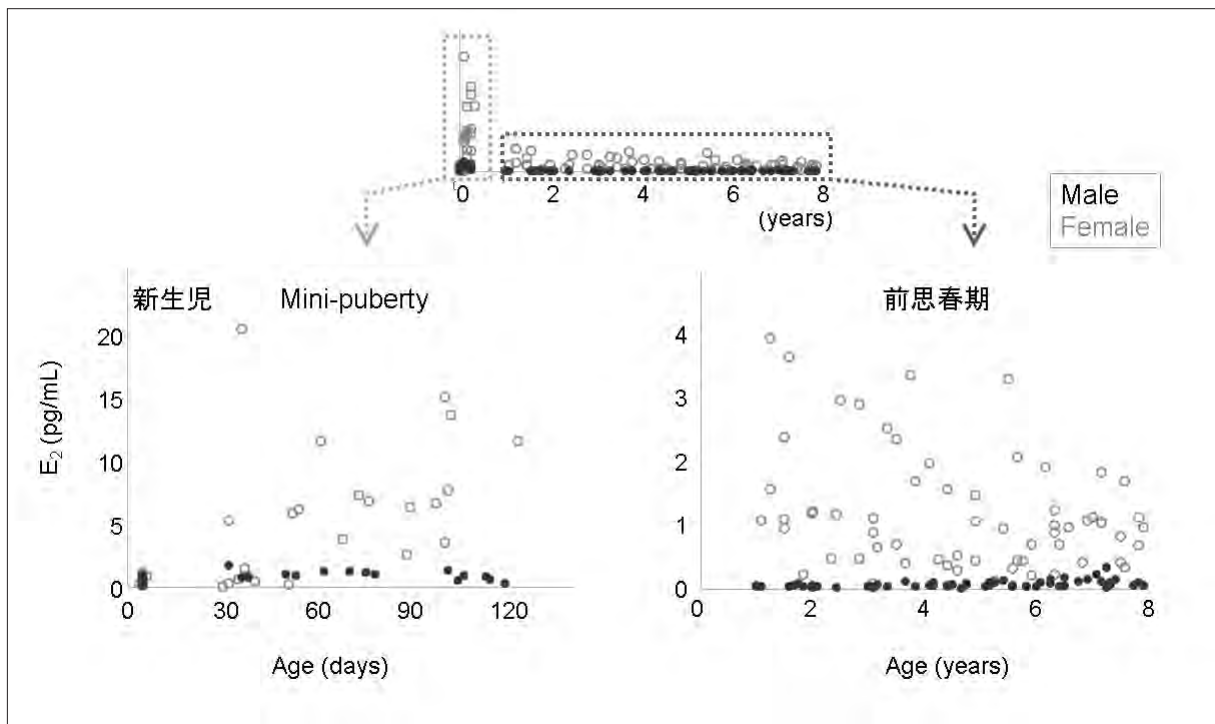


図2 血清エストラジオール値の推移



考察

本研究は既報より高感度の LC-MS/MS 測定系を用い、新生児期から前思春期までの血清 T・E₂ 基準値を示した点が重要である。既報の LC-MS/MS の定量下限は最も低いもので T 1.0 ng/dL¹、E₂ 1.0 pg/mL² であり、前思春期の T、新生児期から前思春期の E₂ の多くの測定値が定量下限値以下となっていた。我々が用いた LC-MS/MS 測定系は、誘導体化法を採用することで、定量下限 T 0.25 ng/dL、E₂ 0.025 pg/mL までの測定が可能である。

今回示した新生児早期群・mini-puberty 群での T・E₂ 値の性差・推移は、性分化疾患の診療において有用である。出生直後に性分化疾患が疑われた場合において、first-line の検査項目として T は推奨されているが、E₂ は重要視されていなかった。本研究の結果から、LC-MS/MS による T 値は日齢 4-6 および日齢 20-120 において、ホルモン産生能のある精巣成分の存在を評価する際に有用と考える。一方、E₂ 値は女児において日齢 60 から上昇し、男女の測定値が日齢 120 までオーバーラップせず、ホルモン産生能のある卵巣成分の存在を評価する際に有用である。この時期の T・E₂ について、LC-MS/MS の既報でも性差は認められていたが、十分な感度で測定できておらず（特に男児の E₂）、今回はすべての測定値を定量した上で性差の検討ができた。

また、前思春期には血清 T 値に性差がなく、血清 E₂ 値に性差があることを、細胞を用いない系で初めて示した。前思春期 T 値は性差がなかったことから、この時期の T は精巣からは卵巣と同程度にしか分泌されていない、あるいは、T は性腺由来ではなく、副腎由来であると考えた。T 値は、6 歳以降で緩やかに上昇傾向になっており、この分布が副腎皮質特異的なホルモンである DHEA-S の分布と似ていることや、DHEA-S は前思春期において性差がないことは、T が副腎由来であることと矛盾しない。一方、E₂ 値は性差が明らかであった。E₂ は精巣・卵巣および副腎で産生されるほかに、精巣・卵巣や副腎からのアンドロゲンがそれ以外の組織で E₂ に変換されて産生される。上述したようにこの時期の（性差のない）T 値の由来を副腎皮質由来と仮定すると、E₂ の性差は副腎、性腺、あるいはそれら以外の末梢組織でのアロマトラーゼ活性の差異に起因しうるとこの組織のアロマトラーゼ活性に性差が存在するかは今回の結果から推定できないが、精巣・卵巣での差異がもっとも想定しやすい。

参考文献

1. Bae YJ, Zeidler R, Baber R, Vogel M, Wirkner K, Loeffler M, et al. Reference intervals of nine steroid hormones over the life-span analyzed by LC-MS/MS: Effect of age, gender, puberty, and oral contraceptives. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2019;193:105409.
2. Frederiksen H, Johannsen TH, Andersen SE, Albrethsen J, Landersoe SK, Petersen JH, et al. Sex-specific Estrogen Levels and Reference Intervals from Infancy to Late Adulthood Determined by LC-MS/MS. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2020;105(3):754-768.

思春期遅発症における臨床学的・分子遺伝学的研究 —疾患責任遺伝子変異と生殖能力に対する予後への影響に対する検討—

佐藤 直子

なみファミリークリニック

小笠原 敦子

茨城県立こども病院小児科

瀬尾 美鈴

京都産業大学工学部生物工学科

三井 純

東京大学ゲノム医学研究支援センター

研究目的

初診時に思春期遅発症 (DP) と診断された症例を対象に、①初診時から現在までの長期的な成長・性成熟・内分泌学的所見の変化・性腺機能を後方視的に集積する、② DP・低ゴナドトロピン性性腺機能低下症 (HH)、Kallmann 症候群 (KS) の既知・新規責任遺伝子群の変異解析を行い、同定された遺伝子変異の臨床経過と性腺機能の予後に与える影響を比較検討する、③未解明の self-limited DP の新規疾患成立機序を明らかにすることである。この self-limited DP の長期予後の明確化により、本疾患の診療・治療方針を再検討する必要性が生じうる。

研究の背景

DP は思春期の成長促進欠如と性成熟の遅れを示す疾患である。DP は低ゴナドトロピン性性腺機能低下症 (HH)、Kallmann 症候群 (KS)、体質性思春期遅発症 (CDGP self-limited DP) に大別される。Self-limited DP は自然に思春期発来を認めるのに対し、HH/KS は将来的に不妊症のリスクがあり、両疾患の鑑別診断が必要とされてきた。近年、HH の約 5 割の原因遺伝子が明らかにされてきたが、self-limited DP は思春期年齢の約 2% にみられる一般的な疾患であるにもかかわらず、その約 9 割の病因が世界的にもいまだ不明である。また、我々は、当初 self-limited DP と診断されたが、成人期の不妊により HH と診断された adult HH の症例を経験した。この症例の遺伝子変異解析で HH の既知遺伝子バリエーションが同定されたことから、self-limited DP は HH と明確に鑑別されるのではなく、HH の臨床スペクトラムの一部である可能性が示唆された。これにより、我々は self-limited DP において、同定された遺伝子変異が臨床経過と性腺機能の予後に与える影響を比較検討する着想に至った。

対象

DP を主訴に医療機関を受診し、当初 self-limited DP と推測され、経過観察が行われた 11 症例を対象とした。そのうち家系例は 3 例含まれていた。

方法

- ① 臨床解析：初診時から現在まで経時的なデータ収集を行った。成長記録の収集、骨年齢、タナー徴候、内分泌学的データ（LH、FSH、性ホルモン 値、LHRH 負荷試験・男性患者の HCG 負荷試験）、頭部 MRI、家族歴、既往歴、合併症、治療経過、最終診断、精液検査、結婚・妊娠・出産経験など。
- ② 変異解析：同意書が得られた対象患者において、self-limited DP・HH/KS の既知責任遺伝子群・思春期発来に関与する候補遺伝子群に対して、次世代シーケンサーによるエクソーム解析・直接シーケンス法にて変異解析を行った。インシリコ解析で有意な変異とされた場合は変異機能解析を進める予定である。

結果

現在までの解析状況

今回の研究では、DP を主訴に来院した患者において、遺伝子変異解析を行った症例は、現在 11 例であり、現在も患者の集積と遺伝子変異解析を継続中である。

- ① 遺伝子検査：遺伝子解析において、全例にバリエーションが認められた。*IGSF10* バリエーション 5 例、*HS6ST* バリエーション変異 3 例、*FGFR* ヘテロバリエーション 7 例、*ANOS1* バリエーション 1 例であった。2 遺伝子以上の複合バリエーションを有する症例は、7 例存在した。
- ② 臨床所見：治療を必要とせず、成人になってから不妊症と診断され治療を行った症例は 2 例であった。1 例は治療を必要とせず、結婚後、パートナーが自然妊娠し出産した児は Kallmann 症候群であった。思春期の進行が自然に認められた症例は 2 例であり、現在も経過観察中である。7 例を CDGP として 2-3 年経過を見ていたが、思春期の進行が認められず、性ホルモンの補充を開始している。症例の精巣容量は診断時に 5mL 未満であった。その他の臨床所見と検査結果は現在集計中であり、既に HH と診断された症例と比較検討中である。

考察

遺伝子検査において、CDGP では CDGP の責任遺伝子である *IGSF10* に加え、HH の既知遺伝子に変異が同定された。約 7 割の症例でバリエーションを複数の遺伝子にもつ、oligogenicity が認められた。現時点において、性ホルモンの補充療法を必要とせず、性成熟の進行が認められている 2 症例も oligogenicity を有しているが、インシリコ解析において、蛋白機能の低下が認められず、ゴナドトロピン分泌能が保たれていると推測される。2 症例ともに 10 代であり、HH へ移行する可能性があり、今後の注意深い経過観察が必要と思われる。CDGP と診断され、成人期に不妊と診断された症例は、蛋白機能低下を引き起こすと推測される *FGFR1* バリエーションを有しており、また、CDGP の 7 割の症例で HH に移行し、性ホルモンの補充療法を開始していることから、CDGP においても定期的な経過観察あるいは将来的に相談できる医療機関が必要な場合があることを念頭に置くべきと考える。しかしながら、今回解析対象となった症例の診断時の精巣容量は 5mL 未満で、性成熟の

進行が緩徐であり、HHとの鑑別が困難なため、遺伝子解析が行われた症例も存在していることから、症例の選択にバイアスがかかった可能性があると思われる。今後も共同研究者との協力の下、研究対象のバイアスを生じないように研究対象の年齢を広げ、検討する患者検体数を増やし、新しい臨床・検査データ集積し、臨床解析および分子遺伝学的解析を進め、今後のCDGPの診断に役立つ情報提供を目指し、研究を継続していく予定である。

結語

CDGPの病因は、既報のCDGPの既知遺伝子である*IGSF10*のみならず、HHの責任遺伝子も病因に関与することが明らかにされた。将来的にHHへの以降も留意し、患者への情報提供が必要と思われる。

高身長を伴う骨系統疾患の成因解析と新規責任遺伝子の同定

志村 和浩

慶應義塾大学医学部小児科学教室

研究目的

骨系統疾患の多くは、低身長を来し、高身長を伴う骨系統疾患の原因として判明している遺伝子は少ない。高身長および骨レントゲン所見の変化を来す疾患として、Sotos 症候群、Marfan 症候群、Weaver 症候群、ホモシチン尿症等の過成長疾患があげられてきたが、近年、Penttinen 症候群 (PS) や Kosaki overgrowth 症候群 (KOGS) といった PDGFRB 遺伝子の機能獲得型バリエントが報告されている。本研究の目的は、高身長を伴う骨系統疾患の原因遺伝子の同定、およびその臨床像を解明することである。

対象と方法

慶應義塾大学病院およびその関連施設に受診した患者のうち、高身長 (97th パーセンタイル以上) かつ target range の上限パーセンタイルを超えている、または骨レントゲン写真で過成長を来しうる既知症候群に特徴的な所見が認められている症例を対象とする。

対象に対して、下記のように遺伝学的検査を実施する。

1. 特定の疾患が疑われる際

1-1. 候補遺伝子の Sanger 解析を行う。例として、上顎骨低形成・四肢末端の先端骨骨融解像から臨床的に PS を疑うことが可能であり、PDGFRB 遺伝子の Sanger 解析を行う。高身長・過伸展を伴う長い指等から Marfan 症候群を、高身長・側弯症・大きな第 1 趾等から epiphyseal chondrodysplasia、Miura type を疑い、それぞれの責任遺伝子の Sanger 解析を行う。

1-2. 候補遺伝子バリエント陰性であった際にはエクソーム解析を行う。両親の末梢血検体を得られている症例に関しては、両親と発端者のエクソーム解析を行う。

2. 特定の疾患が疑われない際

始めから前述の 1-2 の方法でエクソーム解析を行う。

上記の遺伝子検査でバリエント陽性となった症例では、成長曲線などの臨床経過、全身骨レントゲン所見、内分泌検査などの各種検査所見の情報を収集する。

本研究の遺伝学的解析については、慶應義塾大学医学部倫理委員会において「内分泌代謝疾患の遺伝子型・核型・表現型関連等に関する研究」(承認番号 20170130) として既に承認を得ている。

結果

3 歳時から原因不明の骨系統疾患としてフォローされていた症例で、上顎骨低形成・四肢末端の先端骨骨融解像を認め、臨床的に PS を疑った。本症例に対して、PDGFRB 遺伝子の Sanger 解析を行い、c.1994T>C、p.Val665Ala の既報病的バリエントを認めた。同バリエントは両親の解析では

認められなかったため、de novo と判断した。更に全エクソーム解析を行い、既知の骨系統疾患の原因となる遺伝子に変異を認めないことを確認した。

図1 症例における先端骨融解像

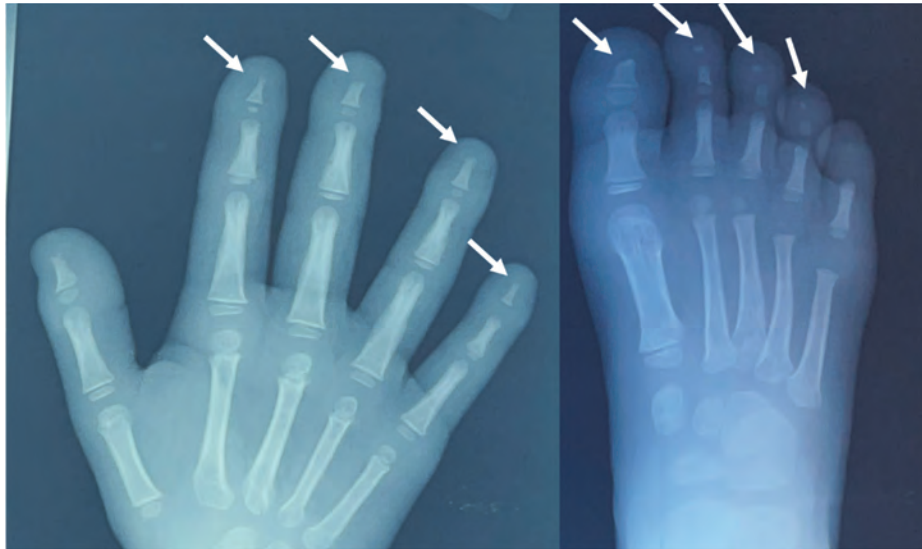
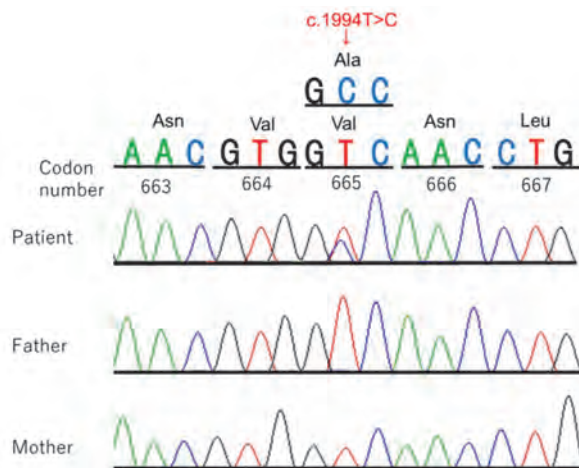


図2 症例および両親の Sanger 解析結果



考察

PS は、現在まで世界で9例、日本では未報告である。また、本症例では3歳から長期にわたりフォローされており、レントゲン画像の変化が確認可能である。PS は、緩徐に経時的に進行する所見が特徴的であるが、今までの海外の報告では長期にわたる画像の変化は報告されていない。そのため、本症例は同症候群の症状の自然経過を見るうえで非常に有用であると考えている。

参考文献

1. Penttinen M, Niemi KM, Vinkka-Puhakka H, Johansson R, Aula P. New progeroid disorder. *Am J Med Genet.* 1997 Mar 17;69 (2) :182-7.
2. Zufferey F, Hadj-Rabia S, De Sandre-Giovannoli A, Dufier JL, Leheup B, Schweitze C, Bodemer C, Cormier-Daire V, Le Merrer M. Acro-osteolysis, keloid like-lesions, distinctive facial features, and overgrowth: two newly recognized patients with premature aging syndrome, Penttinen type. *Am J Med Genet A.* 2013 Jul;161A (7) :1786-91.
3. Johnston JJ, Sanchez-Contreras MY, Keppler-Noreuil KM, Sapp J, Crenshaw M, Finch NA, Cormier-Daire V, Rademakers R, Sybert VP, Biesecker LG. A Point Mutation in PDGFRB Causes Autosomal-Dominant Penttinen Syndrome. *Am J Hum Genet.* 2015 Sep 3;97 (3) :465-74.
4. Zhang Z, Zheng S, Zheng S, Wang Y, Xu XG, Gao XH, Chen HD. Premature Aging Syndrome, Penttinen Type: Report of a Chinese Case with a PDGFRB Mutation. *Acta Derm Venereol.* 2018 Oct 10;98 (9) :912-913.
5. Iznardo H, Bredrup C, Bernal S, Gladkauskas T, Mascaró JM Jr, Roé E, Baselga E. Clinical and molecular response to dasatinib in an adult patient with Penttinen syndrome. *Am J Med Genet A.* 2022 Apr;188 (4) :1233-1238.

Kallmann 症候群・特発性中枢性性腺機能低下症における新規責任遺伝子の探索 ならびに新規発症機序の解明

増永 陽平

浜松医科大学小児科学講座・地域医療支援学講座

報告内容

研究目的

Kallmann 症候群・中枢性性腺機能低下症の責任遺伝子はこれまでに 50 種類以上同定されているものの、半数程度の患者においては責任遺伝子が同定されていない^{1)・3)}。このことは、未知の責任遺伝子や二つ以上の遺伝子異常 (oligogenicity) を原因とする未解明の発症機序が存在することを示唆している。本研究の目的は、原因が同定できていない Kallmann 症候群・中枢性性腺機能低下症患者における全エクソーム解析を含む遺伝学的解析により、新規責任遺伝子を同定すること、ならびに oligogenicity を含む未解明の発症機序を解明することである。

背景・方法

われわれはこれまでに、Kallmann 症候群および中枢性性腺機能低下症患者 125 例において次世代シーケンサーを用いたパネル解析を行い、72 例において原因遺伝子変異および候補遺伝子変異を同定したが、残る 53 例では病因となりうる遺伝子変異が判明していない。本研究では、これらの原因不明患者において全エクソーム解析を含む遺伝学的解析を行い、候補となる責任遺伝子を抽出した。

結果

これまでに 30 例のエクソーム解析が完了し、複数の単一遺伝子異常候補バリエントと oligogenicity 候補バリエントが同定された。単一遺伝子異常の候補として、*FGF8* イントロン領域のバリエント (スプライス異常が予測されるもの)、*CCDC141* フレームシフトバリエント、*HS6ST1* ミスセンスバリエントが同定され、oligogenicity 候補として、(1) *IGSF10* および *FGFR1* バリエント、(2) *GNRHR* および *WDR11* バリエント、(3) *PCSK1* および *AMHR2* バリエント、(4) *PLXNA1*, *IGSF10* および *SEMA3A* バリエント、(5) *PCSK1* および *AMHR2* バリエント、(6) *CHD7* および *DCC* バリエント、(7) *SPRY4* および *GLCE* バリエント、(8) *AMHR2* および *ANOS1* バリエント、(9) *TACR3* および *PROKR2* バリエントが同定された。

考察

いずれのバリエントもまだ病原性は不明であるため、確定するには機能解析による病原性の評価が必要である。単一遺伝子異常の候補バリエントとして同定されたものは、パネル解析で解析されていたが、イントロン領域のバリエントのため抽出されていなかったもの、パネル解析の対象外で

あった既知遺伝子のバリエーションであった。Oligogenicity 候補バリエーションは9例（症例全体の7.2%）で同定でき、全てのバリエーションが病因とは確定していないが、これまでの報告と同程度の頻度（2.5-15%）と考えられる⁴⁾。

参考文献

1. Vezzoli V, Hrvat F, Goggi G, Federici S, Cangiano B, Quinton R, Persani L, Bonomi M. Genetic architecture of self-limited delayed puberty and congenital hypogonadotropic hypogonadism. *Front Endocrinol.* 2023;13:1069741.
2. Millar AC, Faghfoury H, Bieniek JM. Genetics of hypogonadotropic hypogonadism. *Transl Androl Urol.* 2021;10:1401-1409.
3. Young J, Xu C, Papadakis GE, Acierno JS, Maione L, Hietamäki J, Raivio T, Pitteloud N. Clinical Management of Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism. *Endocr Rev.* 2019;40:669-710.
4. Cannarella R, Gusmano C, Condorelli RA, Bernini A, Kaftalli J, Maltese PE, Paolacci S, Dautaj A, Marceddu G, Bertelli M, La Vignera S, Calogero AE. Genetic Analysis of Patients with Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism: A Case Series. *Int J Mol Sci.* 2023;24:7428.

日本人のヨウ素栄養に重要な影響を及ぼす食品のうち、 日本食品標準成分表に記載のない食品のヨウ素含有量の測定による ヨウ素摂取量の正確な評価についての研究

山口 真由

鎌倉女子大学家政学部管理栄養学科

塚田 信

女子栄養大学栄養科学研究所

伊藤 善也

日本赤十字北海道看護大学臨床医学領域

長崎 啓祐

長野県立こども病院生命科学研究センター

布施 養善

Iodine Global Network (IGN)

研究の背景

ヨウ素は甲状腺ホルモンの構成元素で必須微量栄養素である。日本以外の国ではヨウ素摂取不足が現在でも大きな問題となっている。日本にはヨウ素不足はないと考えられてきたが、近年の食習慣の変化により、ヨウ素摂取量の減少が報告されている。ヨウ素不足に脆弱なグループである妊産婦、新生児、乳幼児ではヨウ素の摂取不足や過剰は児の発育・発達に大きな影響を与える。

ヨウ素摂取量の評価方法は尿、血液、母乳などの生体指標と食事調査である。食事調査法は摂取食品名とその重量を調査し、食品成分表を用いてヨウ素摂取量を計算する方法であり、その信頼性は確立されている。しかし日本人のヨウ素栄養に重要な影響を及ぼす主な食品のヨウ素含有量は、「日本食品標準成分表 2020 年（八訂）」（以下食品成分表とする）¹⁾にはすべて掲載されていない。日本食品標準成分表に必須微量ミネラルであるヨウ素の食品中含有量が初めて掲載されたのは 2010 年であった。その後 2 回の改訂を経て掲載食品数は徐々に増えているが、現行の食品成分表においても、全掲載 2,478 食品中ヨウ素は 1,283 食品（51.8%）である。原材料的食品も含めレトルト食品、加工食品などの掲載数が不十分のため、未掲載の食品は最も類似した食品と見做す方法を取らざるを得ないが、妥当性は検証されていない。

研究目的

本研究は、食事からのヨウ素摂取量を正確に評価するために食品成分表にはヨウ素含有量が未掲載であるが、日常的に摂取する頻度の高い食品およびヨウ素含有量の多い食品など、ヨウ素摂取量の評価に必須である食品のヨウ素量を測定し、食事調査法の精度を高めることを目的とする。

研究方法

一般に市販されている食品で 1. 食品成分表にヨウ素含有量が未掲載の食品と 2. 市販の牛乳のヨウ素含有量を測定する。

1. 検体の選択方法

(1) 食品成分表未掲載食品

食品成分表以外のデータベース、論文から^{2),3)}、日常的に摂取する頻度の高い食品およびヨウ素含有量の多いとされている食品で一般に市販されている食品を購入した。

(2) 牛乳は一般に市販されている食品を購入した。すべての食品試料は主に神奈川県内の店舗と一部はインターネットから購入した。

2. ヨウ素測定方法、食品中ヨウ素含有量測定⁴⁾の公定法⁴⁾に従って測定した。

(1) 食品検体の前処理

- ① 固体や粒状の食品はフォースミル（大阪ケミカル FM-1）を用いて粉碎し、液体状の食品はそのまます料とした。
- ② 試料は電子天秤を使用して小数点以下4桁の計測値で1試料につき牛乳は0.5gと1g、他の食品は0.5gと1.5gを秤量した。
- ③ 試料に0.5% Tetramethyl ammonium hydroxide (TMAH) 溶液を加えて50mLにメスアップし、恒温槽で60℃、12時間加温した。
- ④ 常温に戻したのち、遠心分離機（KOKUSAN H-30R）で3,000rpm、10分間遠心分離した。
- ⑤ 液体状食品は25mm、その他の食品は45mmのフィルター（SARTORIUS Minisart RC）で上清を濾過し、その5mlを分析試料として-30℃で冷凍保存した。

(2) ヨウ素濃度の測定

Thermo Fisher Scientific 社の iCAP Q を用い、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) によって測定した。標準物質として NIST SRM1869 (Infant/Adult Nutritional Formula II, milk/whey/soy-based) を使用した。分析検出限界は $1\mu\text{g}/100\text{g}$ であり、ヨウ素含有量は2種類の試料の測定値の平均とした。

結果

ヨウ素含有量を測定した食品は食品成分表未掲載食品が46食品、牛乳が83食品である。測定結果の一部を記載する。

1. 食品成分表未掲載食品のヨウ素含有量と置き換え食品のヨウ素含有量との比較

(1) 藻類の加工品

表 1

食品番号	食品名	ヨウ素含有量 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	食品番号	置き換え食品名	ヨウ素含有量 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
9005	味付けのり	4476.9	9004	焼きのり	2100.0
9021	削り昆布	292362.6	9020	刻み昆布	230000.0
9022	塩昆布	15885.9			
9023	昆布巻	2580.3	9023	昆布佃煮	11000.0
9033	のりの佃煮	117.2			86 *
9046	荳わかめ (湯通し塩蔵)	216.8	9047	めかぶ	390.0

(2) 魚類の生の切り身と加工品

表 2

食品番号	食品名	ヨウ素含有量 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	食品番号	置き換え食品名	ヨウ素含有量 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
18010	ホキ (白身魚のフライ)	13.3	10134	しろさけ, 生	5.0
10171	さわら	10.0	10134		
10115	銀だら	24.5	10205	まだら, 生	350.0
10094	まぐろの角煮	13.1	10252	まぐろ, きはだ, 生	14.0
10177	サンマの缶詰 (味付)	23.5	10174	さんま 皮つき, 焼き	25.0
10064	いわしの缶詰 (蒲焼)	30.7	10064	いわし, 缶詰, かば焼	62.0
10164	鯖の水煮	19.0	10155	まさば, 水煮	23.0
10143	鮭の缶詰	32.3	10135	しろさけ, 水煮	6.0
10260	ツナのパレークライト缶 (水煮)	15.8	10252	まぐろ, きはだ, 生	14.0
10263	ツナのパレークライト缶 (油漬け)	7.9	10252		
10096	かつおのパレークライト缶 (水煮)	512.6	10087	かつお, 秋獲り, 生	25.0
10097	かつおのパレークライト缶 (油漬け)	7.4	10087		

(3) 水産練り製品

10 製品の水産練り製品のヨウ素含有量の平均値は $10.0 \mu\text{g}/100\text{g}$ であり、置き換え食品である黒はんぺん・焼きちくわとさつま揚げのヨウ素含有量はそれぞれ $13 \mu\text{g}/100\text{g}$ と $18 \mu\text{g}/100\text{g}$ であった。

2. 食品成分表にヨウ素含有量の記載のない調味料

だし醤油、めんつゆ (17030, 17141)、和風だしなど 12 製品のヨウ素含有量は $0.23 \sim 36,162 \mu\text{g}/100\text{g}$ と大きな幅があった。昆布エキスも含む昆布を使用した製品のヨウ素含有量が多いが、昆布製品記載の有無とヨウ素含有量とは必ずしも一致しなかった。

3. 牛乳のヨウ素含有量

牛乳の生産地は北海道から鹿児島県に及ぶ 18 都道府県である。ヨウ素含有量は 1.6 から $61.6 \mu\text{g}/100\text{g}$ 、平均 (標準偏差) は $27.7 (8.8) \mu\text{g}/100\text{g}$ 、中央値は $27.3 \mu\text{g}/100\text{g}$ であった。低脂肪、無脂肪牛乳のヨウ素含有量平均値は他よりやや高めであるが統計学的有意差はなかった。

表 3 牛乳のヨウ素含有量

種類	試料数	ヨウ素含有量 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)		
		平均値	標準偏差	範囲
牛乳	66	27.1	9.4	1.6 - 61.6
成分調整牛乳	3	23.3	3.2	19.7 - 25.9
低脂肪牛乳	6	31.7	4.7	27.3 - 38.4
無脂肪牛乳	3	34.8	5.2	30.2 - 40.4
加工乳	5	28.9	5.0	21.1 - 34.9
すべて	83	27.7	8.8	1.6 - 61.6

考察

食品成分表に未掲載食品のヨウ素含有量を測定し、置き換え食品の値と比較したところ、魚類加工品、水産練り製品については両者がほぼ一致する製品が比較的多いが、食品によっては非常に大きな値の乖離を認めた。その理由の一つとしては、食品成分表作成においては、全国から食品試料を集めて混合して測定しており、成分表には値の範囲、標準偏差は記載されていない。すなわち個々の製品のヨウ素含有量の違いによるものと推測される。

牛乳のヨウ素含有量は83種類の平均値が27.7 μ g/100g、普通牛乳が平均27.1 μ g/100gであった。成分表には普通牛乳が16 μ g/100g、加工乳濃厚が24 μ g/100g、加工乳低脂肪が19 μ g/100gとあり、今回の測定値は従来の報告の値よりやや高いが、その理由は不明である。

ヨウ素欠乏症の存在しない日本においては、食品の成分表示にヨウ素は記載する法律的義務はないが、昆布エキスも含めた昆布類の使用の有無が記載されていることが望ましい。食事調査にあたって加工食品については摂取している製品名を把握することが重要である。今後、多種の食品のヨウ素含有量が明らかになることにより、ヨウ素摂取量を高い精度で推定することができると思われる。

文献

1. 文部科学省. 日本食品標準成分表 2020 年版 (八訂)
https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/mext_01110.html 2023 年 6 月アクセス
2. 山口真由, 他. 2017: 藻類、藻類を含む食品および摂取頻度の高い食品中のヨウ素含有量の測定
鎌女大紀要 24:83-90.
3. 布施養善, 大橋俊則, 紫芝良昌, 他. 2010: 日本人のヨウ素摂取量推定のための加工食品類のヨウ素含有量についての研究. 日臨栄会誌. 2010;32:26-51.
4. 文部科学省 科学技術・学術制作局 制作課 資源室監修 2016 日本食品標準成分表 2015 年版 (七訂) 分析マニュアル・解説. 建帛社. 東京.

下垂体機能低下症におけるオキシトシン分泌不全症の診断法確立とその病態解明

山本 雅昭

神戸大学大学院医学研究科糖尿病内分泌内科学

報告内容

目的

オキシトシンは分娩時の子宮収縮や射乳だけでなく、エネルギー代謝や骨代謝さらには愛着形成、安心感など社会心理的にも重要性が着目されている。オキシトシンは視床下部の室傍核と視索上核の神経分泌細胞で合成され、下垂体後葉から分泌されることから、視床下部および下垂体後葉障害を有する患者ではオキシトシン分泌不全を併存することが最近報告された。しかしその分泌は脈動性であることから、基礎値のみでの評価は困難であり、現在臨床応用されたオキシトシン分泌刺激試験はない。そこで本研究では視床下部および下垂体後葉障害患者におけるオキシトシン分泌不全の評価法を確立し、さらに患者 QOL との関連を検討することにより、その病態を明らかにすることを目的とする。

方法

- ① 下垂体機能低下症患者のうち後葉障害の有無が QOL に与える影響について AHQ スコアを用いて検討する。下垂体機能低下症 74 名、うち後葉機能障害あり 23 名、前葉機能障害のみ 51 名を対象とした。シャピロウィルク検定で正規分布か確認したところ身体、尿量調節、体重、性機能以外は正規分布していたことから t 検定 (Welch's correction) を行い、それ以外の非正規分布の項目については Kolmogorov-Sminov test を施行した。
- ② オキシトシン分泌能評価のために、高張食塩水試験、インスリン低血糖試験、CRH 試験における血液検体を用いて各刺激試験の 0、30、60、90、120 分値の採血検体を用いてオキシトシンを測定する。各検体は採取後 4℃ 下で速やかに遠心分離を行い、血清を - 80℃ で保存したものをを用いた。測定は Oxytocin ELISA kit (ENZO, ADI-900-153A) を用いる。検体の測定前処理としては、逆相クロマトグラフィー用 C18 カラムを用いてサンプルを溶出した後、真空下遠心濃縮機にて濃縮を行う。その後はサンプルバッファーに溶出し、マニュアルに従って測定を行う。

結果

	後葉機能障害 あり	後葉機能障害 なし	<i>P</i>
心理・社会	51.1 ± 17.5	57.6 ± 19.0	0.16
うつ気分	45.2 ± 20.0	52.7 ± 24.7	0.17
社会活動の制限	56.4 ± 19.4	66.5 ± 21.1	0.05
気力・活力	49.5 ± 22.7	54.2 ± 24.9	0.43
睡眠	52.0 ± 17.6	53.7 ± 22.3	0.73
治療への不安	54.7 ± 26.8	61.2 ± 22.4	0.32
対人関係	50.5 ± 21.2	54.6 ± 22.3	0.46
身体	53.8 [44.8-63.8]	62.9 [48.1-76.9]	0.11
体温調節	45.4 ± 21.6	56.4 ± 24.8	0.06
全般的体力	48.5 ± 23.6	52.8 ± 24.7	0.48
免疫・消化器・筋骨格	68.5 ± 17.4	67.4 ± 18.8	0.80
尿量調節	50.0 [35.4-64.6]	70.8 [41.7-93.8]	0.02
皮膚・視覚	63.9 ± 16.4	66.8 ± 18.7	0.49
体重	33.3 [26.7-45.0]	50.0 [33.3-75.0]	0.02
性機能	56.7 [46.7-80.0]	73.3 [60.0-91.7]	0.03

- ① 後葉障害の有無で AHQ のスコアを比較した場合に、尿量調節の項目のみならず、全般的に後葉障害を有する患者では身体とくに体重調節、性機能でスコアが低く、心理社会面のスコアにおいても社会活動の制限に関して有意な低値であり、その他も全般的に低い傾向が見られた。
- ② 現時点で下垂体前葉機能障害および後葉障害の疑い 11 例に対してインスリン低血糖試験、あるいは高張食塩水負荷試験を施行した患者血液検体を保存しており、サンプルサイズが 18 例に達した時点でオキシトシン測定を行う予定である。

考察

後葉障害を有する患者の一部は視床下部障害も伴っており、この結果が後葉機能低下だけによるものとは言えない。しかし、これら後葉障害患者が示すより低い QOL の原因の一つにオキシトシン低下が寄与している可能性はある。今後 AHQ データを蓄積しながら、検体が目標数に達した時点でオキシトシン測定を行い、オキシトシン基礎値および反応性と臨床パラメーターおよび QOL データとの関連を検討する。

小児骨格筋におけるアンドロゲン受容体の遺伝子制御メカニズムの解明

横山 敦

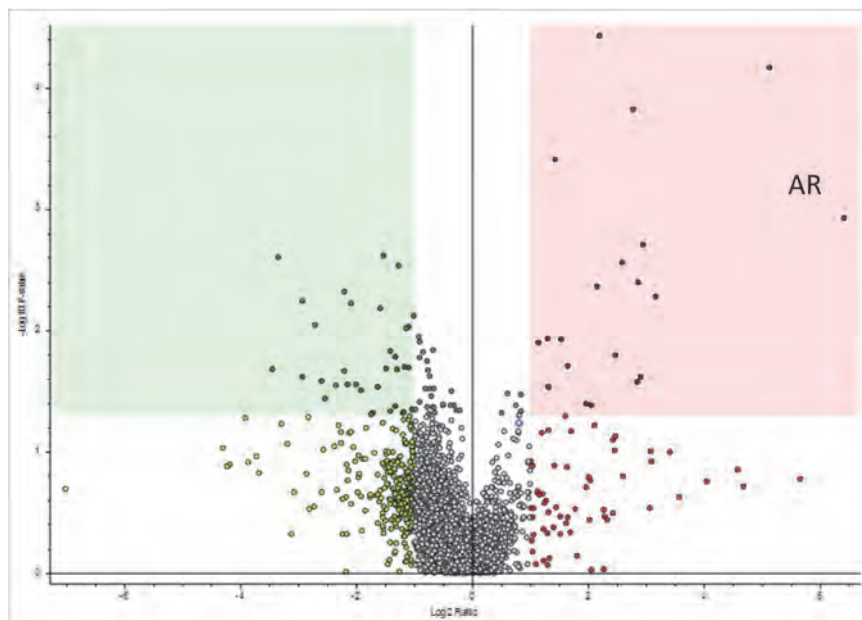
東北大学大学院医学系研究科

報告内容

骨格筋はテストステロンの標的組織の一つであるために、生殖腺機能低下症の男児では筋肉量が少ないことが知られている。治療法としては、ホルモン療法によりテストステロンを補うことで上記の成長障害を防ぐ事が可能であるが、テストステロンが骨格筋の同化作用を刺激する分子メカニズムには不明な点が多いことが課題である¹⁾。そこで本研究課題では、テストステロンにより活性化し遺伝子発現制御を行う転写因子アンドロゲン受容体 (AR) に着目し、AR の骨格筋における機能制御メカニズムを明らかにすることを目的とし実験を行った。

まずは、骨格筋細胞における AR の転写共役因子の同定を行った。マウス筋芽細胞由来 C2C12 細胞に FLAG-AR を安定的に過剰発現させた細胞株を樹立し、筋管細胞に分化させた後にジヒドロテストステロン (DHT) 刺激を行った。続いて内在性の転写因子複合体を網羅的に同定する手法である RIME 法^{2),3)} を利用して AR の転写共役因子の網羅的同定を行った。その結果を、図 1 に示す通り約 20 の候補因子群を同定することに成功した。今後は、これらの因子について細胞の DHT 応答能への関与をゲノム編集等を用いて検証していきたい。

図 1 C2C12 細胞を用いた AR の転写共役因子の同定



FLAG-AR を安定的に発現する C2C12 細胞 (分化後) を用いた RIME の結果。IgG をコントロールに抗 AR 抗体により有意に濃縮されてくる因子群を右上のピンク色の領域に示した ($\text{Log}_2 (\text{AR}/\text{IgG}) > 1, -\log_{10} \text{P-value} > 1.3$)。

続いて、骨格筋における AR の標的遺伝子を同定するために上述の細胞株を用いた ChIP-seq 実験を行った。その結果、図 2 に一部を示すが AR 標的遺伝子候補群を同定することに成功した。骨格筋特異的な AR 標的遺伝子である *Mylk4* 遺伝子座⁴⁾ における AR ピークが得られていることがわかる。

図 2 C2C12 細胞を用いた AR の ChIP シークエンス結果の一例



FLAG-AR を安定的に発現する C2C12 細胞（分化後）を用いた ChIP シークエンスの結果をゲノムブラウザ（IGV）を用いて表示した。冗談からリファレンスゲノム（mm10）、input、IP サンプルを示した。

以上の実験より、本研究課題において骨格筋細胞における AR の転写共役因子と標的遺伝子の候補を得ることに成功した。今後は、これらのデータをもとにこれまで全く不明であった骨格筋細胞における AR の転写制御メカニズムを明らかにし、小児男性生殖腺機能低下症の新規治療戦略の分子基盤としたい。

1. Kraemer, W.J., Ratamess, N.A., Hymer, W.C. *et al.*, *Growth Hormone (s), Testosterone, Insulin-Like Growth Factors, and Cortisol: Roles and Integration for Cellular Development and Growth With Exercise*, *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020, 11, 33.
2. Mohammed, H., Taylor, C., Brown, G.D. *et al.*, *Rapid immunoprecipitation mass spectrometry of endogenous proteins (RIME) for analysis of chromatin complexes*, *Nat Protoc*, 2016, 11, 316-326.
3. Yokoyama, A., Kouketsu, T., Otsubo, Y. *et al.*, *Identification and Functional Characterization of a Novel Androgen Receptor Coregulator, EAPI*, *J Endocr Soc*, 2021, 5, bvab150.
4. Sakakibara, I., Yanagihara, Y., Himori, K. *et al.*, *Myofiber androgen receptor increases muscle strength mediated by a skeletal muscle splicing variant of *Mylk4**, *iScience*, 2021, 24, 102303.

F G H R 臨 床 研 究 報 告

性腺トランスクリプトームを利用した SRY 陰性 46, XX 精巢性性分化疾患の分子遺伝学的原因探索

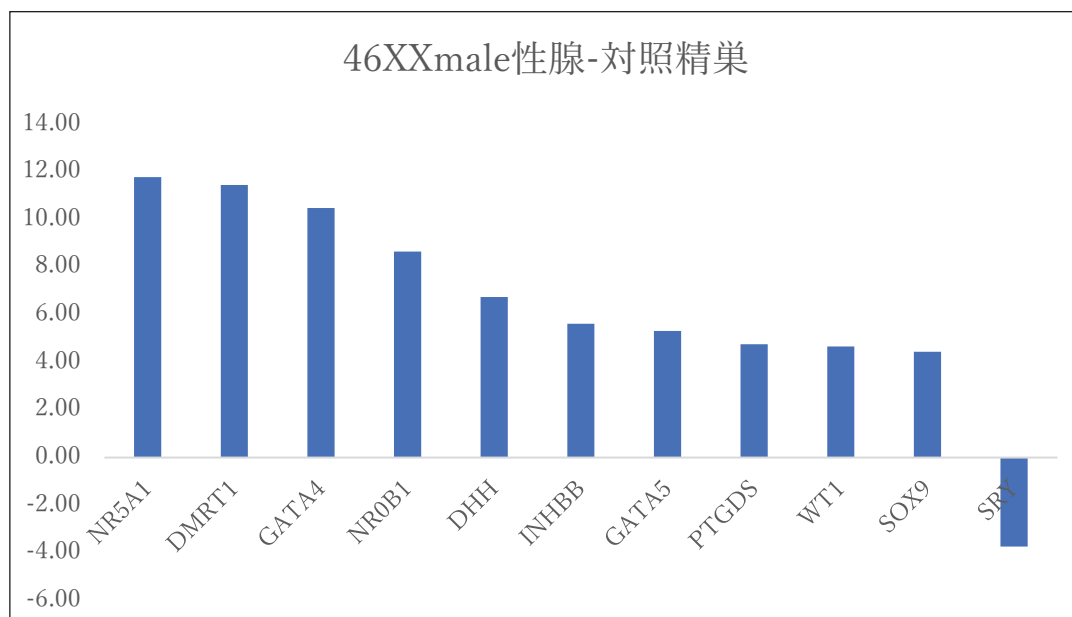
市橋 洋輔

慶応義塾大学医学部小児科

報告内容

46,XX 精巢性性分化疾患患者 4 名の性腺検体から抽出した total RNA を polyA capture で補足し、QuantSeq で定量化した。対照はデータベース上の乳児期精巢の RNA seq を用いた。いずれの症例でも SRY は検出できず、SOX9 高値であった。対照と比較して高値であった分子は図の通りであった。今回のデータから特定の分子メカニズムを証明できたわけではないが、発現量が高くなっている分子に病態解明のヒントがあると考えている。

図 1 性腺トランスクリプトーム解析、46XX male4 症例と対照精巢 3 症例の発現量平均比較



縦軸は log2 スケール。既知の精巢発生に関与する遺伝子群のなかで対照精巢との差が上位 10 個の遺伝子を記載した。

中枢性尿崩症におけるデスモプレシン口腔内崩壊錠の薬物動態・臨床指標の検討

小川 哲史、小川 敦、滝沢 文彦、
向山 祐理、伊藤 純子、磯島 豪
虎の門病院小児科

背景

中枢性尿崩症 (Arginine vasopressin deficiency: AVP-D) は下垂体からの抗利尿ホルモン (ADH) の分泌障害により腎集合管での水再吸収が行われず多尿をきたす疾患である¹⁾。その原因として先天性、特発性、および視床下部・下垂体周辺の器質的疾患による続発性などがあげられる²⁾。そのうち最も多くを占めるものが続発性であり、間脳下垂体腫瘍 (頭蓋咽頭腫、胚細胞腫瘍、ラトケ嚢胞など) や炎症性疾患、自己免疫疾患などが原因となる³⁾。

AVP-D の治療には長時間作用型の AVP アナログである 1-deamino-8-D-arginine vasopressin (DDAVP) が用いられるが⁴⁾、従来は点鼻製剤が主であり手技や保存方法などに制限があった。2013 年に保険収載された DDAVP の口腔内崩壊錠 (Desmopressin orally disintegrating tablet: ODT) は簡便に服用できることから現在では広く使用されている。

小児では AVP-D はまれな疾患であるが、小児は成人と比較して体格的予備能が小さいために、DDAVP による治療を行うにあたっては低ナトリウム血症・水中毒といった副作用に十分に注意する必要がある。しかしながら ODT の小児に対する研究報告はきわめて限定的で、その薬物動態はほとんど知られていない。そこで本研究は間脳下垂体腫瘍に続発した AVP-D の小児患者において ODT 投与前後の尿量、尿比重の推移を検討することにより、その薬物動態を明らかにすることを目的とする。

対象と方法

対象

2013 年 3 月から 2022 年 12 月までの期間に、間脳下垂体腫瘍に続発した AVP-D の診断のもと虎の門病院小児科で ODT による治療が開始された小児患者 94 例のうち、本検討に必要な臨床情報が得られた 16 例。

方法

以下の項目について診療録から臨床情報を収集し、後方視的に検討した。

- ・ 主要評価項目：間脳下垂体腫瘍手術後には全例で膀胱内カテーテルを留置し、微量計を有する蓄尿バックを用いて 1 時間毎の正確な尿量、尿比重を評価、記録している。尿量 125ml/kg/h かつ尿比重 1.101 以下となった時点を AVP-D による多尿出現と判断し、ODT (60 μ g) を投与、その前後 4 時間における 1 時間毎の尿量、尿比重データを診療録から収集する。
- ・ 副次評価項目：臨床データとして治療開始時の血液生化学検査 (尿素窒素、クレアチニン、血糖値)、尿定性検査、胸部レントゲン、心電図の各々の所見を評価する。腎機能については年齢、身長、

クレアチニン値により5次式を用いて算定されるeGFRによる評価を行う⁵⁾。

- ・統計学的検討：多尿出現前後の尿量、尿比重の変化についてt検定を用いて解析を行い、 $P < 0.01$ を統計学的有意とした。

結果

患者背景

表1に患者背景を示す。対象患者は計16名で男児10名、女児6名、年齢は4歳11か月から14歳10か月（中央値9歳8か月）であった。病理診断は全例で頭蓋咽頭腫であった。16例のうち6例では手術前よりすでにODTの使用が開始されていたが、残り10名は初回投与であった。

eGFRは93.25～174.89ml/min/1.73m²であり全例で腎機能は正常であった。尿定性検査で尿糖陽性のものはおらず、空腹時血糖は74～106mg/dLで糖尿病が疑われる症例は認めなかった。胸部レントゲン、心電図は全例で正常であった。

ODT投与前後の尿量の変化

16症例における計25回のODT投与機会について検討した。図1にODT投与前後4時間での1時間毎の尿量変化を示す。投与前4～2時間までは25.3～33.5ml/h/m²で推移したが、1時間前に86.6ml/h/m²へ上昇し、投与時には209.0ml/h/m²へ至った ($p < 0.01$)。ODT投与1時間では171.0ml/h/m²とわずかに低下したが、2時間以降は21.1～39.5ml/h/m²へと有意な低下を認めた ($p < 0.01$)。

ODT投与前後の尿比重の変化

図2にODT投与前後4時間での尿比重の変化を示す。投与4～1時間前までは1.022～1.028で推移していた尿比重は尿量増加時に1.007へ急激に低下した ($p < 0.01$)。ODT投与後1時間の尿比重は1.006と低値であったが、徐々に増加し2時間後以降は1.015～1.029へと有意に増加した ($p < 0.01$)。

考察

ODTの作用として投与後1時間以内には尿量の減少がみられ、2時間までには統計学的有意に低下した。多尿出現時に急激に低下した尿比重は投与後1時間では低値であったが、2時間以降から徐々に上昇した。これらの結果から、ODT投与1時間が経過しても尿量減少がみられない場合は再投与を検討してもよいと考えられる。

Fiellestand-Paulsenらは小児中枢性尿崩症患者10例における検討で、デスマプレシン内服錠の内服2時間後に尿浸透圧が上昇したことを報告しているが、用いられた剤型がODTではない⁶⁾。またVande Valleらは6歳から12歳の夜尿症患者72人に30～480μgのODTを投与したところ、1時間以内に尿量が減少し尿浸透圧は上昇したことを報告しているが、対象がAVP-Dではない⁷⁾。

このように小児AVP-Dに対するODTの効果として尿量、尿比重の変化を検討したものはこれまでなく、本結果は小児AVP-Dの治療に直接に関係する有用な知見を提供できるものと考えられる。

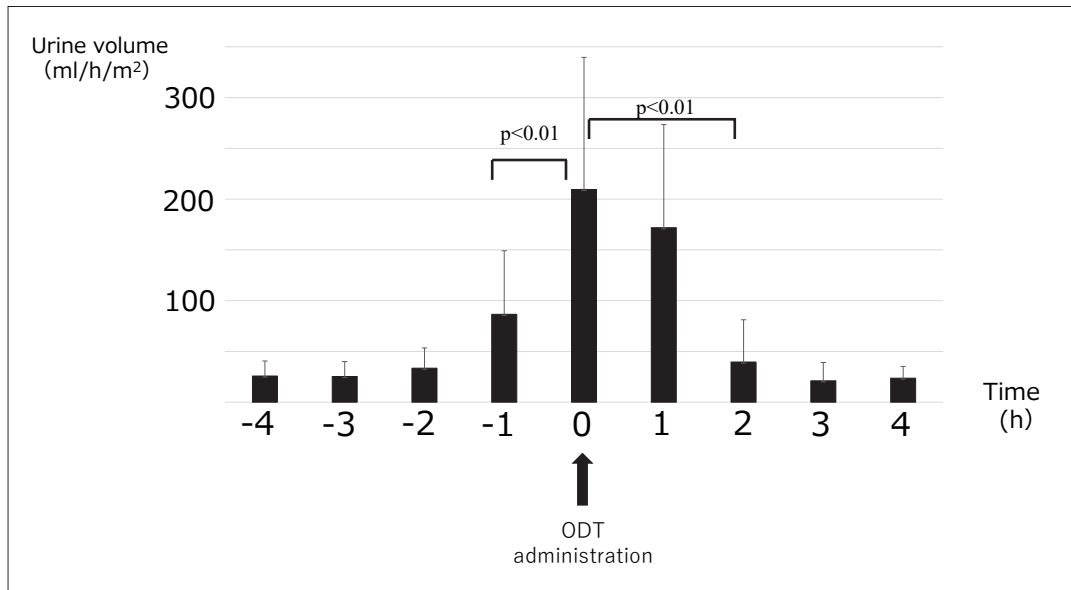
引用文献

1. Di Iorgi N, Napoli F, Allegri AE, Olivieri I, Bertelli E, Gallizia A, Rossi A, et al. Diabetes insipidus – diagnosis and management. *Horm Res Paediatr.* 2012;77(2):69-84.
2. Refardt J, Winzeler B, Christ-Crain M. Diabetes insipidus: An update. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2020;49(3):517-531.
3. Hoshino Y, Inoue K, Ikeda S, Goshima Y, Tatsushima K, Fukuhara N, Okada M, Nishioka H, Yamada S, Takeuchi Y, Takeshita A. Clinical factors affecting daily dosage of desmopressin orally disintegrating tablets in arginine vasopressin deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2023; doi: 10.1210/clinem/dgad694.
4. Refardt J, Atila C, Christ-Crain M. New insights on diagnosis and treatment of AVP deficiency. *Rev Endocr Metab Disord.* 2023; doi: 10.1007/s11154-032-09862-w.
5. Uemura O, Nagai T, Ishikura K, Ito S, Hataya H, Gotoh Y, Fujita N, Akioka Y, Kaneko T, Honda M. Creatinine-based equation to estimate the glomerular filtration rate in Japanese children and adolescents with chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol.* 2014;18:626-633.
6. Fjellestad-Paulsen A, Tubiana-Rufi N, Harrins A, Czernichow P. Central diabetes insipidus in children. Antidiuretic effect and pharmacokinetics of intranasal and peroral 1-deamino-8-D-arginine vasopressin. *Acta Endocrinol.* 1987;115(3):307-312.
7. Vande-Walle J, Bogaert GA, Mattsson S, Schurmans T, Hoebeke P, Deboe V, Norgaard JP; Desmopressin Oral Lyophilisate PD/PK Study Group. A new fast-melting oral formulation of desmopressin: a pharmacodynamic study in children with primary nocturnal enuresis. *BJU Int.* 97(3):603-609.

表 1 患者背景

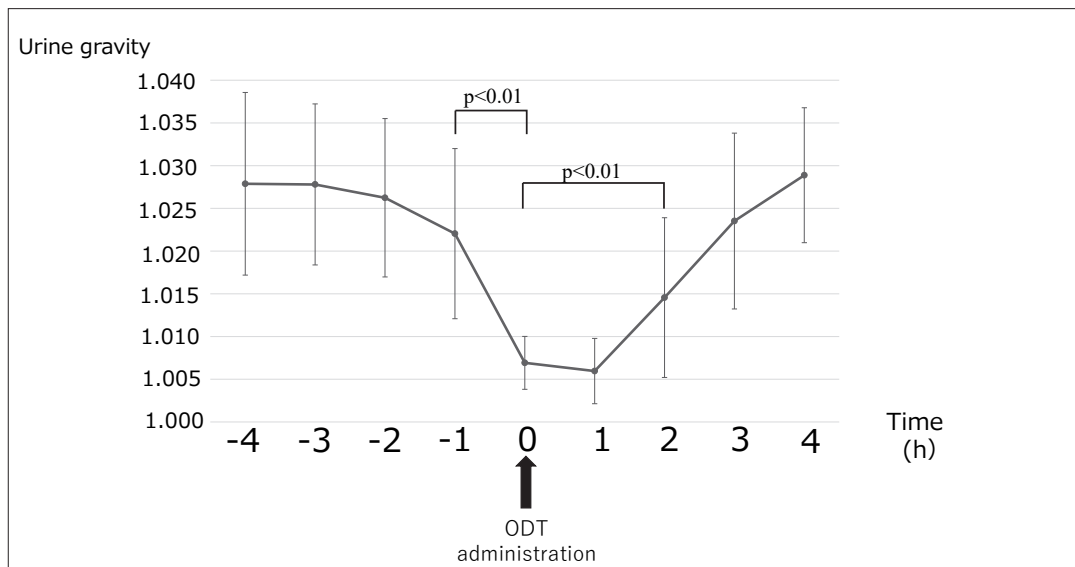
case	age at operation (year/month)	sex (M/F)	height (cm)	body weight (kg)	body surface area (m ²)	operation	ODT intake
1	4y11m	M	105.1	20.1	0.751	re-operation	first time
2	5y9m	M	104.4	13.7	0.635	initial	first time
3	5y10m	M	115.3	20.9	0.817	initial	first time
4	6y3m	M	113.4	22.6	0.802	re-operation	already started
5	7y0m	F	108.6	20.6	0.778	re-operation	first time
6	9y5m	F	116.8	20.7	0.821	initial	first time
7	9y6m	F	122.7	32.9	1.037	re-operation	first time
8	9y8	M	122.8	30.6	1.006	re-operation	already started
9	9y10m	F	119.8	22.7	0.87	initial	first time
10	10y0m	M	132	29.3	1.04	re-operation	already started
11	10y5m	M	122.6	27.1	0.954	re-operation	already started
12	11y8m	M	131.9	30.2	1.053	initial	first time
13	12y3m	M	141.3	43.2	1.289	re-operation	already started
14	13y2m	F	152.8	39.1	1.308	re-operation	already started
15	13y8m	M	157	62.1	1.624	re-operation	first time
16	13y11m	F	149.8	46	1.103	initial	first time

図1 ODT 内服前後の尿量変化



Bar chart showing the urinary volume of each time by median. Error bars indicate standard deviation.

図2 ODT 内服前後の尿比重変化



Line chart showing the urinary gravity of each time by median. Error bars indicate standard deviation

肥満症児における皮膚 AGEs 値の検討 - 正常体格児との比較および皮膚 AGEs 値に影響を与える因子解析 -

永原 敬子、茂木 桜、越智 彩子、
豊田 純也、中野 有也、安達 昌功
昭和大学医学部小児科学講座
中野 有也
昭和大学医学部小児科学講座
昭和大学江東豊洲病院小児内科

報告内容

はじめに

皮膚終末糖化産物 (Advanced Glycation Endo-products : AGEs) は還元糖とタンパク質との間の非酵素的糖化反応で生成する構造体である。AGEs は不可逆性最終産物で生体内に蓄積し、細胞障害性を示して酸化ストレスや炎症を誘導する。成人領域では、AGEs が糖尿病血管合併症、非アルコール性脂肪肝炎 (NASH)、がん、不妊症、アルツハイマー病などの疾患と関連することが報告され、最近では老化物質としても注目されている¹⁾⁻⁴⁾。AGEs は食品中にも含まれ、糖質を多く含む食品や、加工肉食品・ファストフードなど高温で長時間調理された食品に多く含まれている⁵⁾。日本人の食生活は欧米化が進み、肥満小児の割合は増加しており⁶⁾、食品由来を含む AGEs が小児の身体へ与える影響を明らかにすることは急務と言える。

生体内 AGEs 量は皮膚 AGEs 値を測定することで非侵襲的に推測することができる⁷⁾。皮膚 AGEs 値は皮膚・皮下の血管壁に蓄積される AGEs を自己蛍光量として検出し、その積分値を AGEs 値として算出する手法で、従来の組織生検における各種 AGEs 測定方法と良好な相関性が示されている⁷⁾。成人領域では、一般集団の皮膚 AGEs 値の基準値および加齢や喫煙による影響が報告されている⁸⁾。一方、小児の皮膚 AGEs 値に関する報告は少なく、その特徴も明らかではない。

本研究の目的は、肥満症児の皮膚 AGEs 値の特徴と皮膚 AGEs 値に影響を与える因子を解明することである。そのために、肥満症児の皮膚 AGEs 値を測定し、その特徴および皮膚 AGEs 値と肥満関連データとの関連を検討した。

方法

昭和大学病院に通院中の原発性肥満に伴う肥満症児を対象とし、保護者から本研究参加に同意が得られた児童の皮膚 AGEs 値を測定した。皮膚 AGEs 値は AGE Reader mu (Diagnoptics, Netherlands) を用いて測定した。本機器は皮膚に励起波長 (300 ~ 420nm) を照射し、皮膚から発せられる蛍光波長 (420 ~ 600nm) を測定して、蛍光強度の積分値を皮膚 AGEs 値 (arbitrary units: AU) として示すものである。測定では左右どちらかの前腕掌側部位を 3 回測定し、その平均値をとった。対象者の背景として、周産期歴、食事内容 (清涼飲料水・ジュース類の摂取頻度、菓

子類の摂取頻度、加工肉食品の摂取頻度、給食のお代わりの頻度)、スクリーンタイム、運動習慣の有無、家庭内喫煙者の有無、不登校の有無、母親の就労の有無、合併症、肥満の罹病期間、家族歴を診療録から情報収集した。食事摂取カロリーは、計算の煩雑性により正確な摂取カロリーの算出が困難であり、検討項目から除外した。血液データは皮膚 AGEs 測定と同日に採取した血液検体を用いた。採血は、空腹時(午前絶食時あるいは昼食後4時間以上経過時)に行った。肥満関連データとして、計測値、内臓脂肪面積、HbA1c 値、血糖値、IRI (インスリン) 値、LDL コレステロール (LDL-C) 値、HDL コレステロール (HDL-C) 値、中性脂肪 (TG) 値、高血圧の有無、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の有無、高尿酸血症の有無に加えて、血清ウロテンシン II (UT-II) 濃度と血清 Fibroblast Growth Factor 21 (FGF-21) 濃度についても検討した。UT-II は主に血管内皮細胞やリンパ球から分泌され、ヒト UT-II および UT 受容体は心血管系、中枢神経系、腎臓をはじめ全身に発現している⁹⁾。UT-II は強い血管収縮作用をもち、血管壁細胞に直接作用して動脈硬化を惹起・進展させることが知られている¹⁰⁾。FGF-21 は肝臓で合成・分泌され、脂質利用能の亢進、エネルギー消費の亢進、肝臓における TG 蓄積の抑制や脂肪酸酸化を促し、抗肥満ホルモンとして知られている¹¹⁾。血清 UT-II 濃度は high-precision human ELISA kit (Cloud-Clone, CEA362Hu) を、血清 FGF-21 濃度は Human FGF-21 Quantikine ELISA Kit (R & D, DF2100) を用い、酵素結合免疫吸着測定法で測定した。UT-II はシングルアッセイでの測定値を、FGF-21 はダブルアッセイで得た測定値の平均値を用いた。正常体格児の皮膚 AGEs 値として、我々が以前に調査した正常体格の小学生(身長 -2SD ~ 2SD かつ肥満度 -20 ~ 20%) の皮膚 AGEs 値(投稿中)を用いた。肥満度は 2000 年の学校保健統計調査に基づいた年齢別性別身長別の値を村田の計算式¹²⁾を用いて算出した。肥満症の診断は小児肥満症診療ガイドライン 2017⁶⁾ に準拠した。

主解析として肥満症児と正常体格児との皮膚 AGEs 値の比較、および肥満症児の皮膚 AGEs 値に関連する因子の検討を行った。サブ解析として、肥満症児の血清 UT-II 濃度および血清 FGF-21 濃度と皮膚 AGEs 値および肥満関連データとの関連を検討した。統計解析には JMP16 software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を使用した。本研究は、昭和大学の研究倫理審査委員会の承認を受けて実施した(承認番号:M3343)。

結果

研究期間内に、14 例(男児 8 例、女児 6 例)において、皮膚 AGEs 値測定および肥満関連データの評価が可能であった。うち 1 例は 5 歳で肥満症の判定可能年齢以下であったが、研究期間中に 6 歳となり肥満症と診断ができたため、本検討の対象に含めた。対象者の皮膚 AGEs 値、計測値、肥満関連データと主な背景を表 1 に示した。年齢の中央値は 11 歳 6 か月(5 歳 4 か月 -17 歳 8 か月)で、皮膚 AGEs 値は 0.73-1.40 (中央値 1.22) に分布し、肥満度の中央値は 48.4%であった。計測値および肥満関連データの各項目において男女差はなかった。アレルギー疾患以外の合併症は、思春期早発症(LH-RH アナログ治療中)が 1 例、睡眠時無呼吸症候群が 2 例、起立性調節障害が 1 例であった。

肥満症児と正常体格児との皮膚 AGEs 値の比較には、年齢を調整した共分散分析をした。その結果、

肥満症児の皮膚 AGEs 値は正常体格児 (n=426) の皮膚 AGEs 値 (中央値 1.03, IQR: 0.97 ; 1.13, Range: 0.63-3.63) と比較して有意差はないものの、高値である傾向を認めた (p=0.076, 図 1)。

皮膚 AGEs 値の因子解析として重回帰分析を行うのに十分な対象数を得られなかったため、各因子 (計測値、肥満関連データ、背景) について単変量解析をした。内臓脂肪面積と HbA1c 値が皮膚 AGEs 値と負の相関を認め、その他の因子は皮膚 AGEs 値と有意な関連を認めなかった (表 2)。

血清 UT- II 濃度は 73.3-649.8 pg/mL (中央値 130.9 pg/mL)、血清 FGF-21 濃度は 48.6-384.5 pg/mL (中央値 150.5 pg/mL) に分布していた (表 1)。両者と肥満関連データとの単変量解析では、血清 UT- II 濃度と LDL-C 値とで有意に正の相関を認めた (r=0.60, p=0.023, 図 2)。その他の項目では有意な関連は認めなかった (表 3)。

考察

研究期間の制約により、本報告は中間解析の結果となり、検討内容は予備的な結果である。それでも、有意差は認めないものの、肥満症児では正常体格児と比較して皮膚 AGEs 値が高値である傾向を認めた。Lentferink らは、肥満児と非肥満児で皮膚 AGEs 値を比較し、10 歳未満では両群で有意な差を認めなかった一方、10 歳以上では肥満児の方が非肥満児より有意に高値であることを報告している。(肥満群 vs 非肥満群; 10-12 歳: 1.3 AU vs 1.1 AU, p=0.02, 13-14 歳: 1.3 AU vs 1.1 AU, p=0.03, 15-16 歳: 1.3 AU vs 1.2 AU, p=0.03, 17-18 歳: 1.5 AU vs 1.2 AU, p < 0.01)¹³⁾。その結果から、小児期の肥満が持続すると、酸化ストレスの長期的暴露により青年期の皮膚 AGEs 値が増加する可能性が示唆された。本検討では肥満の罹病期間と皮膚 AGEs 値との関連は認めなかった (p=0.326, 表 2)。今後の検討課題として、症例を蓄積して肥満の罹病期間と肥満症児の皮膚 AGEs 値との関連を検討し、どの程度の罹病期間が皮膚 AGEs 値に影響を及ぼすかを明らかにしていきたい。なお、本検討では因子解析として重回帰分析を行うのに十分な対象数を得られず、肥満症児の皮膚 AGEs に影響を与える因子の特定には至らなかった。症例数を蓄積し、今後の検討課題とする。また、一般的には皮膚 AGEs 値と内臓脂肪面積および HbA1c 値とは正の相関が期待されるところであるが、本検討では負の相関を認めた。症例数が少ない影響がうかがわれ、この点は症例数を蓄積して、再検討を要する。

小児における血清 UT- II および FGF-21 濃度に関する報告は少なく、その特徴は明らかではない。UT- II に関しては、受動喫煙者を含む非肥満児童 (2-16 歳) の血清 UT- II 濃度の中央値が 33.1 pg/mL (BMI < 25 percentile 群) -45.1 pg/mL (BMI 25-75 percentile 群) と報告されている¹⁴⁾。本検討の方が血清 UT- II 濃度は高い値に分布しており、肥満による影響が示唆された。また、動脈硬化巣では UT- II /UT 受容体が多く発現し、酸化 LDL-C によって UT 受容体の発現が促進することが報告されている¹⁵⁾。さらに、動脈硬化病変を有する成人患者では血液中の UT- II 濃度が高いことも報告されている¹⁶⁾。本検討で血清 UT- II 濃度と LDL-C 値が正の相関を示した結果は、両者が相互に動脈硬化を惹起するという既報を支持するものと言える。FGF-21 に関しては、肥満児では非肥満児よりも血清 FGF-21 値が有意に高値であることが最近報告された (肥満児 113.8 pg/mL vs 非肥満児 67.8 pg/mL, p=0.009)¹⁷⁾。本検討における肥満症児の血清 FGF-21 濃度 (中央値 150.5 pg/

mL) も、既報の非肥満児の血清 FGF-21 濃度よりも高値であった。一般的に FGF-21 は抗肥満ホルモンとして知られているが、肥満症や 2 型糖尿病の患者では血清 FGF-21 値が上昇していることが報告され^{18),19)}、肥満や 2 型糖尿病の状況下では FGF-21 の抗肥満作用が低下していると考えられている。本検討の結果より、肥満症児において非肥満児よりも血清 FGF-21 濃度が高値であることは、肥満症児では既に FGF-21 の持つ抗肥満作用に抵抗性を生じていることが推測された。

本検討の対象者の背景として、受動喫煙率と不登校率が一般集団より高いことが判明した。2020 年の我が国の習慣的喫煙者の割合は 16.7%²⁰⁾ である一方、本検討の喫煙者同居の割合は 58.3% であった。また、本検討での不登校率は 38.5% で、令和 4 年度の小・中学生の不登校率 3.2%²¹⁾ を、大きく上回っていた。受動喫煙や不登校が肥満に影響している可能性も示唆され、両者がどれほど小児の肥満に影響しているかも今後の検討課題としていきたい。

結語

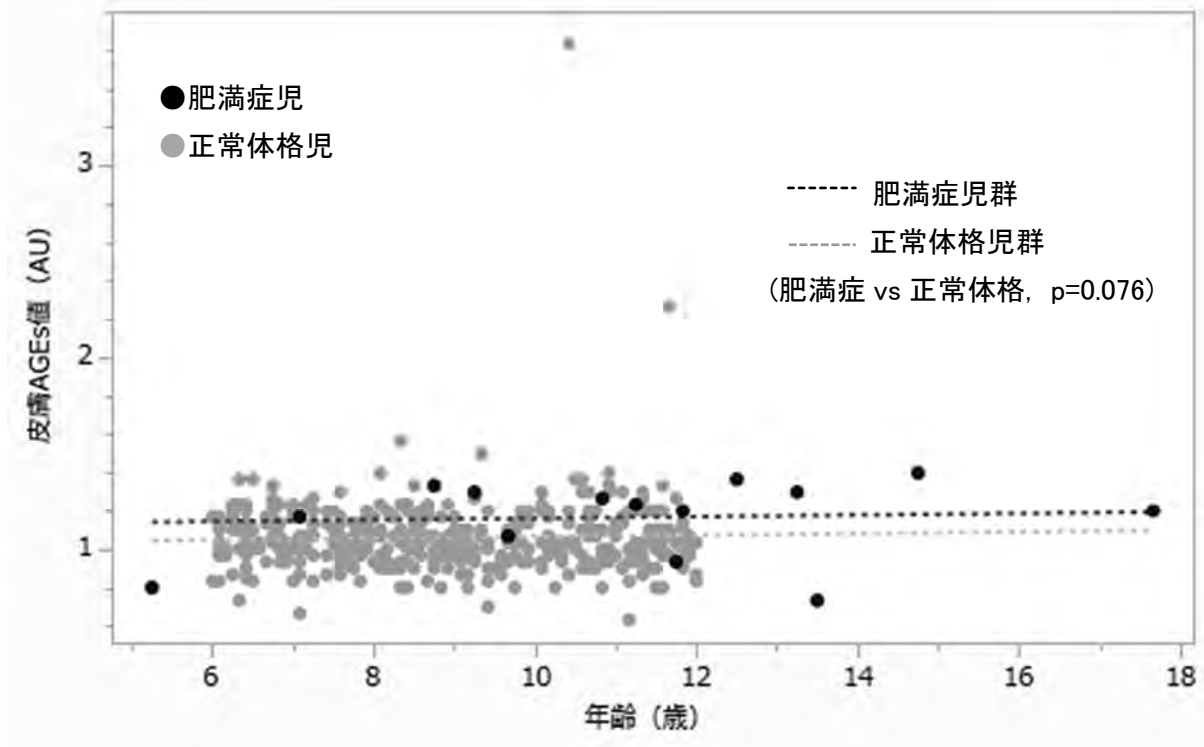
肥満症児では正常体格児と比較して皮膚 AGEs 値が高い傾向であった。本検討では対象数の少なさも影響し、肥満症児の皮膚 AGEs 値に影響を与える因子の特定には至らず、今後の検討課題とする。また、肥満症児の血清 UT- II 濃度および FGF-21 濃度は既報の非肥満児よりも高値であった。UT- II が高値であることは動脈硬化に、FGF-21 が高値であることは抗肥満作用の低下に影響している可能性が示唆された。

文献

1. Aragno M, Mastrocola R. Dietary Sugars and Endogenous Formation of Advanced Glycation Endproducts: Emerging Mechanisms of Disease. *Nutrients*. 2017;9:385.
2. Byun K, Yoo Y, Son M, Lee J, Jeong GB, Park YM, Salekdeh GH, Lee B. Advanced glycation end-products produced systemically and by macrophages: A common contributor to inflammation and degenerative diseases. *Pharmacol Ther*. 2017;177:44-55.
3. Yamagishi S. Potential clinical utility of advanced glycation end product cross-link breakers in age- and diabetes-associated disorders. *Rejuvenation Res* 2012;15:564-572.
4. Vistoli G, De Maddis D, Cipak A, Zarkovic N, Carini M, Aldini G. Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview of their mechanisms of formation. *Free Radic Res*. 2013; 47 Suppl 1:3-27.
5. Goldberg T, Cai W, Peppas M, Dardaine V, Baliga BS, Uribarri J, Vlassara H. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J Am Diet Assoc*. 2004;104:1287-91.
6. 小児肥満症診療ガイドライン 2017 小児肥満症検討委員会. 日本肥満学会 東京: ライフサイエンス出版, 2017.
7. Meerwaldt R, Graaff R, Oomen PHN, Links TP, Jager JJ, Alderson NL, Thorpe SR, Baynes JW, Gans ROB, Smit AJ. Simple non-invasive assessment of advanced glycation endproduct accumulation. *Diabetologia*. 2004;47:1324-30.

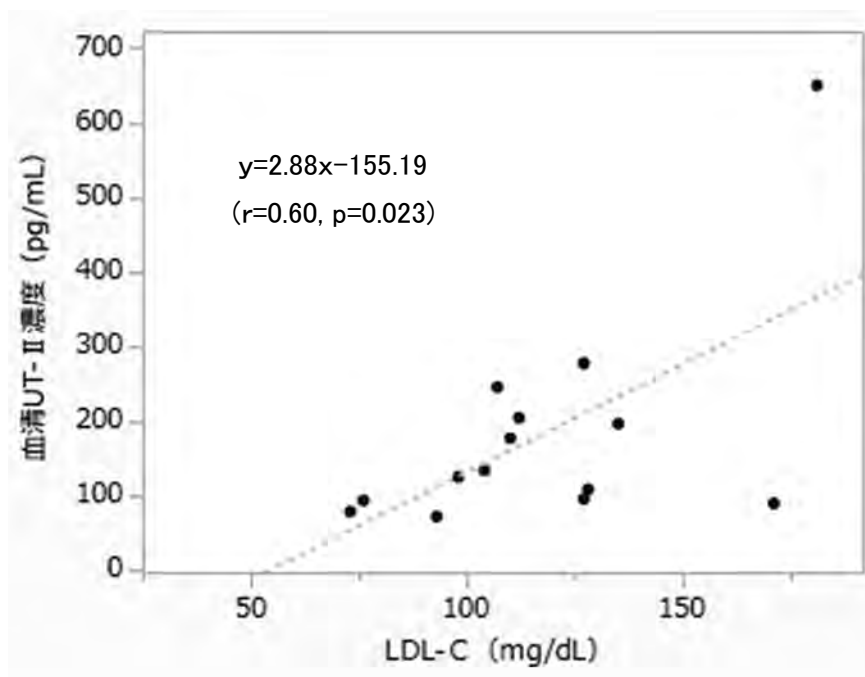
8. Koetsier M, Lutgers HL, de Jonge C, Links TP, Smit AJ, Graaff R. Reference values of skin autofluorescence. *Diabetes Technol Ther.* 2010;12:399-403.
9. 渡部 琢也 . ウロテンシン II の動脈硬化促進機構 (総説) . 生化学 . 80 巻 , 40-44, 2008.
10. Watanabe T, Kanome T, Miyazaki A, et al: Human urotensin II linking hypertension and coronary artery disease. *Hypertens Res.* 2006;29:375-87.
11. Rydén, M. Fibroblast growth factor 21: an overview from a clinical perspective. *Cell Mol Life Sci.* 2009;66:2067-73.
12. 村田光範 . 肥満判定と肥満症 肥満判定の実際, 成長曲線パターンと肥満度について. *小児臨床* .56:2315-2326, 2003.
13. Lentferink YE, van Teeseling L, Knibbe CAJ, van der Vorst MMJ. Skin autofluorescence in children with and without obesity. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2019;32:41-47.
14. Bozkurt HB, Yayla M, Binnetoglu D, Evran M. The Association of Passive Smoking and Serum Urotensin-II Levels in Children. *An Acad Bras Cienc.* 2022;94:e20201488.
15. Segain JP, Rolli-Derkinderen M, Gervois N, Raingeard de la Blétière D, Loirand G, Pacaud P. Urotensin II is a new chemotactic factor for UT receptor-expressing monocytes. *J Immunol.* 2007;179:901-9.
16. Loirand G, Rolli-Derkinderen M, Pacaud P. Urotensin II and atherosclerosis. *Peptides.* 2008;29:778-82.
17. Baek J, Nam HK, Rhie YJ, Lee KH. Serum FGF21 Levels in Obese Korean Children and Adolescents. *J Obes Metab Syndr.* 2017;26:204-9.
18. Zhang X, Yeung DC, Karpisek M, Stejskal D, Zhou ZG, Liu F, Wong RL, Chow WS, Tso AW, Lam KS, Xu A. Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes.* 2008;57:1246-53.
19. Cheng X, Zhu B, Jiang F, Fan H. Serum FGF-21 levels in type 2 diabetic patients. *Endocr Res.* 2011;36:142-8.
20. <https://www.mhlw.go.jp/content/10904750/000722240.pdf>
21. https://www.mext.go.jp/content/20231004-mxt_jidou01-100002753_2.pdf

図1 肥満症児 14 名と正常体格児 426 名の皮膚 AGEs 値の比較



年齢を調整した共分散分析の結果、有意差は認めないものの、肥満症児群の方が正常体格児群よりも皮膚 AGEs 値が高値である傾向であった ($p=0.076$)。

図2 肥満症児 14 名の血清 UT- II 濃度と LDL-C 値との関連



血清 UT- II 濃度と LDL-C 値は正の相関を認めた ($r=0.60$, $p=0.023$)。

表1 対象者の皮膚 AGEs 値・計測値・肥満関連データ・主な背景

	全例 (n=14)	男児 (n=8)	女児 (n=6)	P値
年齢(歳)	11.5 (9.1, 13.3) (5.3-17.7)	12.1 (9.5, 13.3) (8.8-17.7)	10.5 (6.5, 12.5) (5.3-14.8)	0.208
皮膚 AGEs 値 (AU)	1.22 (1.03, 1.31) (0.73-1.40)	1.28 (1.00, 1.33) (0.73-1.37)	1.18 (1.00, 1.28) (0.80-1.40)	0.771
肥満度(村田式) (%)	48.4 (40.2, 79.1) (27.1-91.5)	48.4 (40.2, 74.9) (27.1-91.5)	56.7 (40.2, 84.7) (39.4-90.7)	0.652
体脂肪率 (%) (n=10, 5/5)	44.6 (40.4, 55.4) (38.7-72.8)	42.8 (39.4, 62.8) (38.7-72.8)	45.6 (42.0, 57.4) (40.5-63.1)	0.942
腹囲(cm) (n=13, 7/6)	85.0 (76.4, 102.4) (70.2-115.0)	85.0 (82.2, 106.2) (70.2-115.0)	85.1 (74.6, 98.7) (71.0-100.8)	0.447
内臓脂肪面積(cm ²) (n=10, 5/5)	111.7 (86.6, 141.5) (72.0-249.1)	116.8 (91.9, 208.0) (72.0-249.1)	105.0 (82.1, 122.3) (73.2-133.0)	0.241
HbA1c (%)	5.6 (5.5, 5.6) (5.3-5.9)	5.6 (5.5, 5.8) (5.3-5.9)	5.6 (5.4, 5.6) (5.4-5.6)	0.266
空腹時血糖値 (mg/dL) (n=13, 8/5)	90.0 (82.0, 95.5) (75-100)	89.0 (78.8, 93.5) (75-97)	93.0 (82.5, 98.5) (80-100)	0.417
IRI (μ U/mL) (n=13, 7/6)	23.3 (14.8, 42.8) (6.0-56.7)	23.3 (14.9, 49.2) (14.6-56.7)	24.5 (12.1, 39.8) (6.0-48.9)	0.609
LDL-C (mg/dL)	111.0 (96.8, 129.8) (73-181)	108.5 (95.8, 127.0) (76-128)	123.5 (91.8, 173.5) (73-181)	0.266
HDL-C (mg/dL)	45 (39.0, 50.3) (37-59)	48 (39.8, 51.0) (37-59)	42 (38.5, 48.3) (37-49)	0.268
TG (mg/dL)	94.0 (67.8, 119.5) (61-472)	105.0 (63.5, 115.5) (61-238)	82.5 (73.0, 213.3) (67-472)	0.492
高血圧合併率 (%)	28.6 (n=4)	25.0 (n=2)	33.3 (n=2)	0.733
NAFLD 合併率 (%)	57.1 (n=8)	75.0 (n=6)	33.3 (n=2)	0.115
高尿酸血症合併率 (%)	42.9 (n=6)	37.5 (n=3)	50.0 (n=3)	0.640
血清 UT-II (pg/mL)	130.9 (94.0, 216.0) (73.3-649.8)	122.6 (95.4, 230.0) (73.3-278.3)	162.1 (88.3, 316.7) (80.0-649.8)	0.383
血清 FGF-21 (pg/mL)	150.5 (97.0, 232.7) (48.6-384.5)	107.8 (71.4, 181.1) (48.6-329.9)	187.8 (155.8, 371.1) (91.2-384.5)	0.103
家庭内喫煙者率 (%) ^{※1)}	58.3 (7/12)	57.1 (4/7)	60.0 (3/5)	0.921
不登校率 (%) ^{※2)}	38.5 (5/13)	25.0 (2/8)	60.0 (3/5)	0.207
肥満の罹病期間(年) (n=13, 8/5)	5.0 (2.0, 9.0) (1-13)	5.0 (2.3, 10.8) (1-13)	2.0 (1.5, 6.5) (1-8)	0.268

表記は中央値(上段: IQR 25%, 75%, 下段: 最小値-最大値)で示した。P値: 男児 vs 女児

全例で情報収集ができなかった項目は、検討した症例数と男児/女児の内訳を()内に示した。

IRI: インスリン, TG: 中性脂肪, NAFLD: 非アルコール性脂肪性肝疾患, UT-II: ウロテンシII, FGF-21: Fibroblast Growth Factor 21.

^{※1)} 家庭内喫煙者の有無: 情報収集ができなかった2例を除く、12例の調査結果。

^{※2)} 不登校の有無: 未就学児1例を除く、13例の調査結果。

表2 皮膚 AGEs 値と各因子との単変量解析の結果および各因子の分布と皮膚 AGEs 値

	p 値	各因子の分布と皮膚 AGEs 値		
年齢	0.397			
性別	0.771	男(n=8) 1.28	女(n=6) 1.18	
在胎週数 (欠損 n=2)	0.706	≥37 週(n=10) 1.22	<37 週(n=2) 1.17	
哺乳方法 (欠損 n=1)	0.995	母乳(n=8) 1.22	混合(n=5) 1.20	人工乳(n=0) -
母体妊娠糖尿病 (欠損 n=1)	0.533	あり(n=3) 1.17	なし(n=10) 1.22	
肥満度 (村田式)	0.247			
体脂肪率 (欠損 n=4)	0.140			
腹囲 (欠損 n=1)	0.432			
内臓脂肪面積 (欠損 n=4)	0.023*			
HbA1c	0.039*			
空腹時血糖値 (欠損 n=1)	0.063			
IRI	0.744			
LDL-C	0.109			
HDL-C	0.109			
TG	0.407			
高血圧合併	0.635	あり(n=4) 1.20	なし(n=10) 1.27	
NAFLD 合併	0.843	あり(n=8) 1.22	なし(n=6) 1.23	
高尿酸血症合併	0.534	あり(n=6) 1.20	なし(n=8) 1.28	
血清 UT-II 濃度	0.769			
血清 FGF-21 濃度	0.384			
ジュース類の摂取頻度 (欠損 n=1)	0.731	≥週4回(n=5) 1.20	週1-3回(n=6) 1.22	飲まない(n=2) 1.03
菓子類の摂取頻度 (欠損 n=3)	0.539	≥週4回(n=9) 1.20	週1-3回(n=2) 1.25	食べない(n=0) -
加工肉食品の摂取頻度 (欠損 n=1)	0.829	≥週4回(n=3) 1.30	週1-3回(n=10) 1.20	食べない(n=0) -
給食のお代わり頻度 (欠損 n=2)	0.896	毎日(n=2) 1.18	週1-3回(n=2) 1.18	しない(n=8) 1.23
スクリーンタイム (欠損 n=1)	0.975	≥5h/日(n=5) 1.23	2-5h/日(n=7) 1.20	<2h/日(n=1) 1.17
運動習慣の有無 (欠損 n=1)	0.509	あり(n=7) 1.17	なし(n=6) 1.25	
家庭内喫煙者の有無 ^{*1)} (欠損 n=2)	0.814	あり(n=7) 1.17	なし(n=5) 1.23	
不登校の有無 ^{*2)} (欠損 n=1)	0.936	あり(n=5) 1.23	なし(n=8) 1.23	
母親の就労 (欠損 n=1)	0.554	あり(n=10) 1.22	なし(n=3) 1.20	
気管支喘息 (欠損 n=1)	0.534	治療中(n=2) 1.23	なし(n=11) 1.20	
アトピー性皮膚炎 (欠損 n=1)	0.051	治療中(n=4) 1.32	なし(n=9) 1.17	
食物アレルギー (欠損 n=1)	-	治療中(n=0) -	なし(n=13) 1.20	
花粉症 (欠損 n=1)	0.423	治療中(n=5) 1.30	なし(n=8) 1.18	
アレルギー性鼻炎 (欠損 n=2)	0.737	治療中(n=5) 1.30	なし(n=7) 1.20	
肥満の罹病期間 (欠損 n=1)	0.326			
糖尿病家族歴 (欠損 n=2)	0.959	あり(n=5) 1.17	なし(n=7) 1.20	
高血圧家族歴 (欠損 n=3)	0.225	あり(n=7) 1.27	なし(n=4) 1.05	

皮膚 AGEs 値と各因子との単変量解析の結果を p 値列に示した。* $p < 0.05$

各因子の分布と皮膚 AGEs 値の欄は、(n= 対象者数)、皮膚 AGEs 値 (中央値) を示した。

全例で情報収集ができなかった因子は、欠損者数を () 内に示した。

IRI: インスリン, TG: 中性脂肪, NAFLD: 非アルコール性脂肪性肝疾患, UT-II: ウロテンシ II, FGF-21: Fibroblast Growth Factor 21.

*¹⁾ 家庭内喫煙者の有無: 情報収集ができなかった 2 例を除く、12 例の調査結果。

*²⁾ 不登校の有無: 未就学児 1 例を除く、13 例の調査結果。

表3 血清 UT-II 濃度および FGF-21 濃度と肥満関連データとの単変量解析の結果

	血清 UT-II 濃度	血清 FGF-21 濃度
年齢	0.276	0.708
性別	0.383	0.103
肥満度(村田式)	0.200	0.413
体脂肪率 (n=10, 5/5)	0.831	0.710
腹囲 (n=13, 7/6)	0.445	0.603
内臓脂肪面積 (n=10, 5/5)	0.889	0.603
HbA1c	0.642	0.899
空腹時血糖値 (n=13, 8/5)	0.157	0.762
IRI (n=13, 7/6)	0.693	0.564
LDL-C	0.023*	0.190
HDL-C	0.815	0.727
TG	0.724	0.817
高血圧合併	0.231	0.563
NAFLD 合併	0.646	0.708
高尿酸血症合併	0.236	0.376
家庭内喫煙者の有無 ^{*1)}	0.576	0.718
不登校の有無 ^{*2)}	0.625	0.735
肥満の罹病期間 (n=13, 8/5)	0.637	0.469

* $p < 0.05$

全例で情報収集ができなかった項目は、検討した症例数と男児 / 女児の内訳を () 内に示した。

UT-II: ウロテンシII, FGF-21: Fibroblast Growth Factor 21, IRI: インスリン, TG: 中性脂肪, NAFLD: 非アルコール性脂肪性肝疾患。

*¹⁾ 家庭内喫煙者の有無: 情報収集ができなかった2例を除く、12例の調査結果。*²⁾ 不登校の有無: 未就学児1例を除く、13例の調査結果。

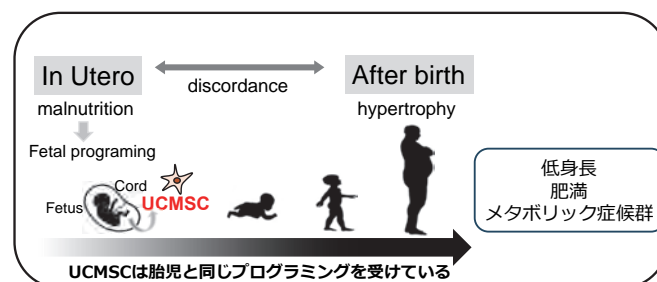
臍帯由来間葉系幹細胞（UCMSC）を用いた SGA 児におけるプログラミングと成長障害の病態解明

野口 優輔、杉江 学、森丘 千夏子、
滝 敦子、高澤 啓、鹿島田 健一
東京医科歯科大学小児科

背景・目的

出生週数に比して体格の小さい児（small for gestational age: SGA 児）は週数相当の発育をした児（appropriate for gestational age: AGA 児）に比べて将来的な低身長・肥満のリスクが高い¹⁾。この病態は子宮内環境に起因する胎児プログラミングと生後環境のミスマッチが原因である、と推察されている²⁾。しかしながら、ヒトの胎児プログラミングを反映した適切な研究モデルがなく、その詳細は不明なままである。我々は患者由来 UCMSC が胎児プログラミングの解析モデルとして有用であることを以前に報告した³⁾。本研究では、UCMSC を用いて、SGA 児における胎児プログラミングが成長障害に関与する病態の解明を目指す。

図 1 胎児発育遅延による胎児プログラミング



方法

< I-1 患者由来 UCMSC 樹立 >

対象：出生体重が 10% tile 以下の SGA 児 (n=8)、及び正常コントロール群 (各 n=4)

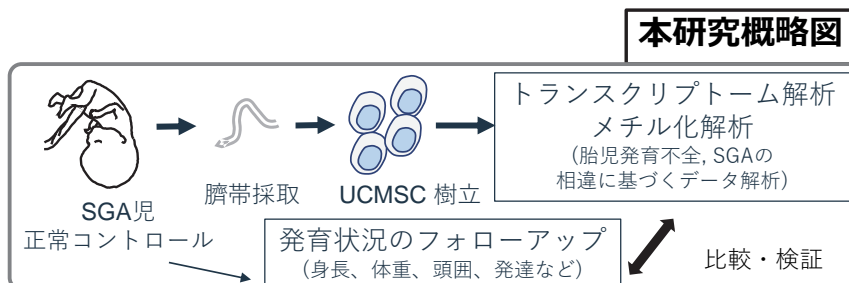
承諾を得て、出生時に臍帯検体を採取し、out growth 法により患者由来 UCMSC を樹立した。既報に基づき、臍帯は採取後 24 時間以内に組織のまま凍結保存し、初代培養時に再融解して使用した⁴⁾。

< I-2 UCMSC の解析 >

培養した UCMSC (第二継代) より mRNA を抽出し、mRNA sequence により UCMSC の遺伝子発現 profile を網羅的に解析した。Sequence には Illumina 社の NovaSeq 6000 を使用 (Novogene 社に外注) し、STAR (2.7.8.a)⁵⁾ により GRCh38 にアライメントし、featureCounts⁶⁾ を用いて count data を作成した。発現変動解析は R の DESeq2 パッケージにより行った⁷⁾。本研究では、p-value<0.05 かつ、発現差が 2 倍以上または 1/2 以下である遺伝子を Differentially expressed genes: DEG と定義した。

< II-1 患者の発育状態との比較 >

臍帯を採取した患者における生後の発育発達状況をフォローアップ外来で確認し、データ収集を行った。



結果 / 今後の予定

AGA 群 4 例 (平均出生体重 -0.4SD、平均出生身長 0.1SD)、及び SGA 群 8 例 (平均出生体重 -2.0SD、平均出生身長 -1.3SD) の合計 12 例より臍帯を採取し UCMSC を樹立した。各群の臨床背景を表 1 に示す。

表 1 AGA 及び SGA 検体の臨床背景

parameter (mean ± SE)	AGA	SGA
n	4	8
Gestational age (weeks)	38.4 ± 0.3	38.0 ± 2.0
Weight (g)	2715 ± 123	2122 ± 319
Weight (SD score)	-0.4 ± 0.1	-2.0 ± 0.3
Hight (cm)	48.6 ± 1.7	45.1 ± 2.5
Hight (SD score)	0.1 ± 0.8	-1.3 ± 0.8
Head circumference (cm)	33.3 ± 0.4	31.5 ± 1.3
Head circumference (SD score)	0.1 ± 0.3	-1.0 ± 0.7
Sex (n of Male/Female)	1/3	4/4

SGA8 例のうち 7 例で外来フォローアップを行うことができた。体重は 7 例全てで 1 歳以内に -1SD まで catch-up した。(月齢 1-11、中央値 5.5) 身長は 7 例中の 6 例で -1SD まで catch-up した (月齢 1-11、中央値 3) が、1 例は身長が catch-up せず、3 歳から SGA 性低身長症に対して GH 投与が開始された。

外来フォローアップ可能であった SGA7 例を catch-up が 3 か月以内であった early catch-up 群と、それ以上時間を要した late catch-up 群に分けた。

表 2 SGA 検体の臨床背景と catch-up の経過

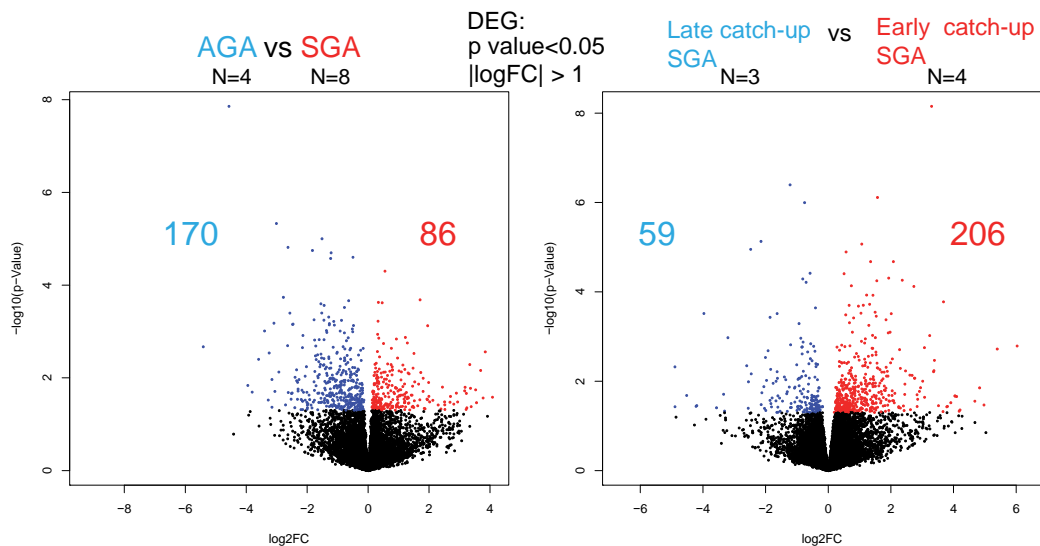
	Patient No.	Gestational weeks	Weight (g)	Weight (SD)	Hight (cm)	Hight (SD)	Weight -1SD catch up (M)	Hight -1SD catch up (M)	others
N=3 Late catch-up group	TS2	37	2060	-1.93	44	-1.58	11	11	
	TS3	36	1796	-2.52	43	-1.76	10	6	
	TS4	37	1814	-2.46	41	-2.71	5	NA	GH treatment
N=4 Early Catch-up group	TS5	37	2018	-1.84	47	-0.51	3	3	
	TS6	36	1994	-1.82	45	-0.88	3	3	
	TS7	40	2772	-1.68	49	-0.5	1	1	
	TS9	36	2160	-1.64	46	-0.53	1	1	
	TS8	40	2365	-2.02	45.6	-2.06	※NA	※NA	※no data

合計 12 例の患者より臍帯を採取し、UCMSC の初代培養を樹立した。2 回継代した細胞より RNA を抽出して RNA sequence を施行した。出生時の体格からグループ分けした AGA 群と SGA 群の比較と、生後の catch-up 速度からグループ分けした Early catch-up 群と Late catch-up 群の比較を行った。以下に遺伝子の発現変動解析の結果を示す。

AGA 群と SGA 群の比較、Early catch-up 群と Late catch-up 群の比較いずれにおいても 200 前後の遺伝子の発現に有意な差を認めた。

今後はさらに解析を進め、発現差のある遺伝子の傾向を探るとともにエピゲノム解析や機能解析を追加で行う予定である。

図 2 UCMSC の遺伝子発現変動解析結果



1. Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Phipps K, Clark PM. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. Diabetologia. 1993;36(1):62-7.
2. Gluckman PD, Hanson MA. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. Science. 2004;305(5691):1733-6.

3. Noguchi Y, Taki A, Honda I, Sugie M, Shidei T, Ito K, et al. Transcriptome analysis of umbilical cord mesenchymal stem cells revealed fetal programming due to chorioamnionitis. *Sci Rep.* 2022;12(1):6537.
4. Mori Y, Ohshimo J, Shimazu T, He H, Takahashi A, Yamamoto Y, et al. Improved explant method to isolate umbilical cord-derived mesenchymal stem cells and their immunosuppressive properties. *Tissue Eng Part C Methods.* 2015;21(4):367-72.
5. Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, Drenkow J, Zaleski C, Jha S, et al. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics.* 2013;29(1):15-21.
6. Liao Y, Smyth GK, Shi W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics.* 2014;30(7):923-30.
7. Anders S, Huber W. Differential expression analysis for sequence count data. *Genome Biol.* 2010;11(10):R106.

ノルディサイエンス研究報告

染色体異数性を合併する Prader-Willi 症候群の 乳幼児期における成長ホルモンの治療効果

木島 俊英

慶應義塾大学病院

報告内容

背景

Prader-Willi 症候群 (PWS) は乳児期に哺乳不良、筋緊張低下、精神運動発達遅滞を呈する。PWS は染色体 15q11-13 領域の欠失や母性片親性ダイソミーなどにより父性発現遺伝子が作用しなくなることで発症する。PWS の一部は染色体異数性を合併する。過去に核型が 47,XXY、47,XYY の核型の PWS が報告されている^{1),2)}。

PWS における GH 療法は、すべての年齢層で体組成の改善に有効である。PWS の乳児に対する成長ホルモン (GH) 投与は加えて成長率、運動発達や精神発達を改善する³⁾。PWS に対する GH 療法の副作用は、耐糖能異常が知られている。乳児 PWS では加えて睡眠時無呼吸症候群 (OSAS) や痙攣がある³⁾。

特に性染色体異数性を合併した PWS では、筋緊張低下や成長障害が重度で染色体異数性が見られない PWS とは GH の治療効果や有害事象が異なっていると推測されるが、これまで検討されていない。

目的

染色体異数性を合併した PWS において乳幼児期に開始した GH 治療における治療効果と有害事象を評価すること。

対象

対象：以下の①～③を満たす患者

① PWS に関連するメチル化異常あり、② G 分染法で染色体異数性あり、③ GH 治療を乳幼児期に開始。

方法

GH 治療開始時に身長、体重を測定、発達の評価を行った。

血液検査で HbA1c、グレリン、一般生化学、内分泌学的検査 (甲状腺機能、アルギニン負荷試験での GH 分泌の評価) を行った。また DEXA 法で骨密度、軟部組織脂肪率を測定した。Off The Center Sleep Testing と喉頭内視鏡を行い OSAS を評価した。

GH 治療開始後 3 か月ごとに身長、体重を測定、発達の評価を行った。また問診上でいびきの出現や上気道症状の有無、食事内容の確認を行った。6 か月ごとに随時採血で一般生化学、HbA1c、IGF-1、グレリンを測定、1 年ごとに体組成、全身の骨密度測定を行った。

結果

1 例が選択基準に合致した。以下に臨床情報の詳細を示す。

患児は 45 歳の母から生まれた 3 番目の子供であった。妊娠は自然妊娠で成立した。母は妊娠中胎動の減少を自覚していた。

児は 38 週 5 日、経陰分娩で出生した。体重は 2,294 g (-1.89 SD)、身長 47.0 cm (-0.82 SD)、頭囲 29.5 cm (-2.67 SD) であった。出生時から弱い啼泣、著明な筋緊張低下、両側の停留精巣を認めた。筋緊張低下に起因する低換気と SpO₂ 低下により、ネーザルハイフローカニューレ離脱困難であった。吸啜が弱く十分な哺乳ができず経管栄養を導入した。喉頭内視鏡検査で中咽頭の狭窄、Off The Center Sleep Testing で Oxygen Desaturation Index 3 (ODI 3) 18.8 であり、中等度の OSAS が示唆された。月齢 3 に CPAP を導入し退院した。筋緊張は緩徐に改善傾向であったが、抗重力運動はあまり認めなかった。身長、体重は出生後緩徐に低下し -2.5 SD 程度で推移した。定頸は 6 か月、寝返りは 8 か月に獲得した。

メチル化検査で PWS と分子遺伝学的に確定診断した。両親の解析で UPD と判明した。核型は 47,XXY であった。生後 9 か月に GH 開始とした。

GH 投与後の結果

1. 身長

GH 開始時、身長 64.8cm (-2.85 SD) 体重 6.30kg (-3.11 SD) であった。身長は GH 開始後は -2.5 ~ 3.0 SD で推移した。GH 0.22 mg/kg/week へ増量した 9 か月後に成長率は改善傾向となり、33 か月で身長は 85.0 cm (-1.91 SD) であった。(Figure 1)

2. 体重

GH 開始時、体重 6.30kg (-3.11 SD) であった。GH 開始後体重は -3.0 SD で推移した。生後 11 か月に離乳食を開始。成長曲線を参考に経口、経管からのミルク量を漸減し、離乳食を増量した。生後 13 か月に GH 0.22 mg/kg/week に増量、その後から体重は増加傾向となった。生後 16 か月に経管栄養終了した。21 か月時に離乳食を終了した。生後 33 か月時点で 10.5 kg (-2.0 SD) となった。(Figure 1)

3. 発達

座位を生後 11 か月、ハイハイを生後 14 か月、独歩を生後 23 か月に獲得した。有意語を生後 23 か月時に獲得した。

4. DEXA

開始前の骨密度は 0.244 g/cm²、軟部組織脂肪率は 42.7% であった。開始後 31 か月で骨密度は 0.409 g/cm² に上昇、軟部組織脂肪率は 17.8% に減少した。(Figure 2)

5. OSAS

GH 開始前、喉頭内視鏡では中咽頭の狭窄は改善傾向であった。ODI3 は 3.6% であり OSAS は改善傾向であった。GH 開始後、上気道症状やいびきの新規の訴えは認めなかった。GH 投与開始 2 か月後に在宅 CPAP 終了した。

6. 血液検査、負荷試験

GH 開始前、アルギニン負荷試験を行い GH 頂値は 23.5 ng/mL であった。IGF-1 は 9 ng/mL、IGF-1 SDS は -2.23 SD であった。GH 0.11 mg/kg/week 投与開始 3 か月後に IGF-1 SDS は上昇傾向となった。投与開始 2 年後に IGF-1 は 164 ng/mL、IGF-1 SDS は +1.8 に上昇。経過中グレリンは横ばいで経過した。HbA1c の上昇はなく肝機能害や腎機能障害、甲状腺機能低下は認めなかった。(Table 1)

考察

本論文は核型 47,XYX の乳児 PWS に対する GH 投与の治療効果と副作用を詳細に検討した。本症例に対する GH 投与は以下の点で有用であったと考えられる。

① 成長率改善

本症例で GH 投与 2 年後、身長が -2.85 SD から -1.91 SD に上昇した。また IGF-1 SDS は +1.8 SD に上昇した。4 か月から 37 か月の PWS に対する GH 投与は成長率を改善し IGF-1 を上昇させるとする過去の (染色体異数性について評価されていない) PWS を対象とした報告に合致した⁴⁾。

② 体組成の改善

本症例では GH 投与後、軟部組織脂肪率が 24.9% 低下し骨密度は 0.165 g/cm² 上昇した。4 か月から 37 か月の PWS に対する GH 投与は軟部組織脂肪率を 22.6% 低下させるという過去の報告に合致した⁵⁾。本症例の骨密度の上昇も、前思春期の PWS は GH 投与を行うことで骨密度が上昇するという過去の報告に合致した⁶⁾。

本症例は 11 か月で座位、23 か月で独歩を獲得した。GH 未治療の PWS は平均して生後 12 か月で座位、生後 24 か月から 30 か月で独歩を獲得する。1 歳以前に GH 治療を受けた PWS は平均 23.3 ± 4.8 か月で独歩を獲得した⁷⁾。運動発達面については、1 歳未満で GH 治療を受けた PWS の既報と同程度であった。既報では 31% の PWS が新生児期に呼吸サポートを必要としそのうち、3.6% がハイフローカニューレ、12.7% が nCPAP の管理を必要とした⁸⁾。呼吸サポートが必要だったことから PWS としての筋緊張低下としては強かったと考える。47,XYX 症候群単独でも筋緊張低下を呈することを考えると、本症例において 47,XYX 症候群が筋緊張低下の増悪因子になっていた可能性がある⁹⁾。本症例において GH が筋緊張と運動機能に対してよい効果であった可能性がある。本症例では GH 投与により呼吸サポートから離脱できたと考えている。

本症例は 23 か月で有意語を獲得した。GH 未治療の PWS は有意語を 21 か月から 23 か月に獲得する。また 9 か月以降に GH 治療を行った PWS は 17.2 ± 4.2 か月に有意語を獲得した¹⁰⁾。47,XYX 症候群は言語発達遅滞を合併頻度が高い⁹⁾。出生後、12.7% の 47,XYX 症候群は言語発達遅滞を契機に診断されている。本症例が GH 治療を行った PWS より有意語の獲得が遅かった原因として 47,XYX 症候群の合併を考えた。

本症例は GH 投与前後で HbA1c の上昇は認めなかった。これは PWS に対する GH 投与が 2 型

糖尿病の発症を増加させないという過去の報告と合致した¹¹⁾。グレリンについてランダムサンプリングのため正確な評価は困難であるが、年齢に伴い上昇傾向であることを考慮すると、本症例のGHがグレリン低下作用を有していたと推測する¹²⁾。これはPWSに対するGH投与がグレリンを低下させるという既報と合致する経過であった。

本症例はGH開始後、有害事象は認めなかった。47,XYX症候群はOSASや耐糖能異常、てんかんの合併頻度が高い¹³⁾。本症例においてはOSASの増悪やHbA1cの上昇、痙攣は認めなかった。

結論

2年間GHを投与し、有害事象なく成長率、軟部組織脂肪率を改善した47,XYX乳児PWSを報告した。GHは核型47,XYXの乳児PWSに対しても安全かつ有効と推測する。

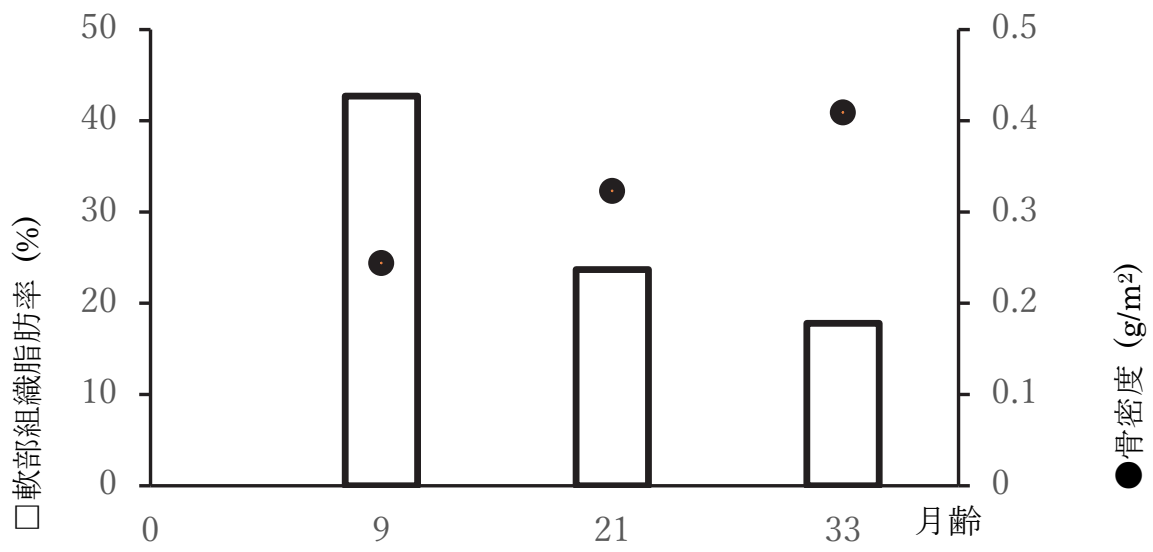
1. Palkar P, Kabasakalian A, Taylor B, Doernberg E, Ferretti CJ, Uzunova G, Hollander E. Behavioral phenotype in a child with Prader-Willi syndrome and comorbid 47, XYX. *Intractable Rare Dis Res.* 2016 Aug;5(3):235-7.
2. Rego A, Coll MD, Regal M, Guitart M, Escudero T, García-Mayor RV. A case with 47,XYX,del(15)(q11;q13) karyotype associated with Prader-Willi phenotype. *Horm Res.* 1997;48(1):44-6.
3. Yang X. Growth hormone treatment for Prader-Willi syndrome: A review. *Neuropeptides.* 2020 Oct;83:102084.
4. Passone CGB, Franco RR, Ito SS, Trindade E, Polak M, Damiani D, Bernardo WM. Growth hormone treatment in Prader-Willi syndrome patients: systematic review and meta-analysis. *BMJ Paediatr Open.* 2020 Apr 29;4(1):e000630.
5. Carrel AL, Moerchen V, Myers SE, Bekx MT, Whitman BY, Allen DB. Growth hormone improves mobility and body composition in infants and toddlers with Prader-Willi syndrome. *J Pediatr.* 2004 Dec;145(6):744-9.
6. Oto Y, Murakami N, Inoue T, Matsubara K, Saima S, Ogata H, Ihara H, Nagai T, Matsubara T. Growth hormone treatment and bone mineral density in pediatric patients with Prader-Willi syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2021 Jun 23;34(9):1181-1184.
7. Myers SE, Whitman BY, Carrel AL, Moerchen V, Bekx MT, Allen DB. Two years of growth hormone therapy in young children with Prader-Willi syndrome: physical and neurodevelopmental benefits. *Am J Med Genet A.* 2007 Mar 1;143A(5):443-8.
8. Oto Y, Murakami N, Imatani K, Inoue T, Itabashi H, Shiraishi M, Nitta A, Matsubara K, Kobayashi S, Ihara H, Nagai T, Matsubara T. Perinatal and neonatal characteristics of Prader-Willi syndrome in Japan. *Pediatr Int.* 2023 Jan-Dec;65(1):e15540.
9. Bardsley MZ, Kowal K, Levy C, Gosek A, Ayari N, Tartaglia N, Lahlou N, Winder B, Grimes S, Ross JL. 47,XYX syndrome: clinical phenotype and timing of ascertainment. *J Pediatr.* 2013 Oct;163(4):1085-94.

10. Jin YY, Luo FH. Early psychomotor development and growth hormone therapy in children with Prader-Willi syndrome: a review. *Eur J Pediatr.* 2024 Mar;183(3):1021-1036.
11. Damen L, Donze SH, Kuppens RJ, Bakker NE, de Graaff LCG, van der Velden JAEM, Hokken-Koelega ACS. Three years of growth hormone treatment in young adults with Prader-Willi syndrome: sustained positive effects on body composition. *Orphanet J Rare Dis.* 2020 Jun 24;15(1):163.
12. Tauber M, Coupaye M, Diene G, Molinas C, Valette M, Beauloye V. Prader-Willi syndrome: A model for understanding the ghrelin system. *J Neuroendocrinol.* 2019 Jul;31(7):e12728.
13. Berglund A, Stochholm K, Gravholt CH. Morbidity in 47,XYX syndrome: a nationwide epidemiological study of hospital diagnoses and medication use. *Genet Med.* 2020 Sep;22(9):1542-1551.

table 1 血液検査

Blood sample	Age (month)				
	9	15	21	27	33
IGF-1 (ng/mL)	9	60	103	134	164
IGF-1 SDS	-2.23	-0.3	0.82	1.49	1.8
HbA1c (%)	5.2	5.3	5.3	5.2	5.4
グレリン (fmol/ m L)	556.1	686.1	353.4	350.2	561

Figure 2 軟部組織脂肪率、骨密度



Daily GH 製剤から Weekly GH 製剤への切り替えに伴う 血糖変動と体組成への長期的な影響

田口 朋

北里大学医学部内分泌代謝内科学

報告内容

研究背景

成人成長ホルモン分泌不全症（AGHD）の患者では、脂肪体重の増加と除脂肪体重の減少などの体組成の変化、骨密度低下、脂質代謝異常、Metabolic dysfunction associated steatotic liver disease（MASLD）、動脈硬化病変の進行等の合併症やこれらに伴う QOL の低下をきたすが、成長ホルモン（GH）の補充により上記合併症、症状が改善することが明らかとなっている（Diez J et al. *Int J Mol Sci*. 19:893, 2018）。以前より、AGHD に対して Daily GH 製剤が治療に用いられていたが、本邦では 2021 年から Weekly GH 製剤であるソマップシタンが処方可能となった。第三相臨床試験の事後解析において、ソマップシタンの糖代謝への影響が最長 86 週まで検討され、空腹時血糖や HbA1c、HOMA- β 、HOMA-R 値に明らかな影響がないことが報告されているが（Takahashi Y et al. *Pituitary* 26:57-72, 2023）、血糖値の日内変動や日差変動の詳細は検討されていない。ソマップシタンは Weekly 製剤であるがゆえに、生理的な GH、IGF-1 分泌とは大きな乖離があり、Daily 製剤と比較した場合にも GH、IGF-1 濃度の日差変動が大きく（Kildemoes R et al. *J Clin Endocrinol Metab*. 106: 567-576, 2021）、このことが血糖変動プロファイルに影響を及ぼす可能性がある。

研究目的

Weekly GH 製剤が血糖値の日内変動に及ぼす影響を明らかにするため、Continuous Glucose Monitoring（CGM）を用いて、ソマップシタン導入後 3 か月と 1 年後以降の血糖変動の変化を観察することを目的とした。

研究方法

研究デザイン：前向き単施設単群試験

研究対象：先行研究（Weekly GH 製剤と Daily GH 製剤における血糖変動の差異についての単施設前向き研究）*に参加し、かつ Daily GH 製剤から Weekly GH 製剤に切り替え 1 年以上経過した患者を対象とした。

評価方法：Weekly GH 製剤使用下でのセンサーグルコース値（SGL）の変動パターンを定量化するため、FreeStyle リブレプロ®を用いて、2 週間連続で SGL を測定した。

評価指標：ソマップシタン導入前、導入 3 か月後、および導入 1 年後以降に以下の SGL 変動指標を定量化し、その推移を解析した。

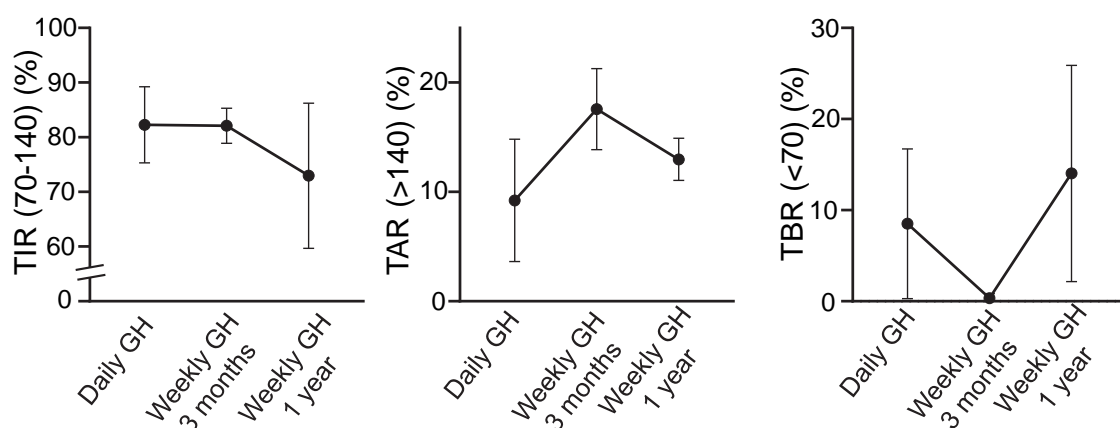
[1] coefficient of variation（CV）

[2] continuous overall net glycemic action-24（CONGA24）

- [3] Time in tight range (TITR, グルコース値が 70-140 mg/dL の範囲内にある時間 (%))
- [4] Time above range (TAR, グルコース値が >140 mg/dL の範囲内にある時間 (%))
- [5] Time below range (TBR, グルコース値が <70 mg/dL の範囲内にある時間 (%))

結果

研究期間中に 3 症例のグルコース変動を観察できた。Daily GH 製剤使用時の Time in range (TIR) (70-140 mg/dL) は $82.3 \pm 5.7\%$ 、Time above range (TAR) (>140 mg/dL) は $9.2 \pm 4.6\%$ 、Time below range (TBR) (<70 mg/dL) は $8.5 \pm 6.7\%$ であった。Weekly GH 製剤導入 3 か月後の TIR (70-140 mg/dL) は $82.1 \pm 2.6\%$ 、TAR (>140 mg/dL) は $17.6 \pm 3.0\%$ 、TBR (<70 mg/dL) は $0.4 \pm 0.3\%$ であった。Weekly GH 製剤導入 1 年後の TIR (70-140 mg/dL) は $80.0 \pm 10.8\%$ 、TAR (>140 mg/dL) は $17.6 \pm 3.0\%$ 、TBR (<70 mg/dL) は $14.0 \pm 9.7\%$ であった (下図)。



各血糖変動指標の推移

Daily GH 製剤、ソマブシタン導入 3 か月後、ソマブシタン導入後 1 年後の Time in range (TAR, 70-140 mg/dL)、Time above range (TAR, >140 mg/dL)、Time below range (TBR, <70 mg/dL) の 3 症例の推移。

また日内血糖変動指標の一つである coefficient of variation (CV)、は Daily GH 製剤使用時は $27.5 \pm 4.0\%$ 、Weekly GH 製剤導入 3 か月後は $21.7 \pm 1.6\%$ 、Weekly GH 製剤導入 1 年後は $31.9 \pm 4.7\%$ であった。またグルコース値の日差変動指標である continuous overall net glycemc action-24 (CONGA24) は Daily GH 製剤使用時は 85.5 ± 5.3 mg/dL、Weekly GH 製剤導入 3 か月後は 101.1 ± 3.5 mg/dL、Weekly GH 製剤導入 1 年後は 84.0 ± 4.9 mg/dL であった。

考察

ソマブシタン導入 1 年が経過すると、導入 3 か月時点に比べ、TAR および TITR が低下し、TBR が上昇しており、ソマブシタン導入前のグルコースレベルに近い値となった。

以上の結果は Weekly GH 製剤への切り替えによる糖代謝への影響は短期的なものであり、長期に使用すると Daily GH 製剤使用時の状態に戻ることが示唆された。今後は症例数を増やすとともに、糖代謝へ影響を与える体組成などを解析し、グルコース変動指標との相関を検証する予定である。

SGA 児における PAPP-A2 による IGF-1 生体利用率調節と体格との関連解析

難波 範行

鳥取大学医学部周産期・小児医学分野

1. 緒言

小児の成長は成長軟骨帯の伸長によって起こり、成長促進因子として最も古くから研究されてきたのが成長ホルモン (GH) / インスリン様成長因子 -1 (IGF-1) である。循環血液中での free IGF-1 (受容体に結合できる IGF-1) 量の制御システムとして、IGF 結合タンパク (IGFBP) を分解する pregnancy-associated plasma protein (PAPP-A & PAPP-A2) と、PAPP-A および PAPP-A2 の特異的インヒビターである stanniocalcin (STC1 & STC2) とによる、STC-PAPP-IGFBP-IGF axis が最近提唱されている^{1),2)}。

AGA 児の臍帯血中の pregnancy-associated plasma protein-A2 (PAPP-A2)、IGF-1 を含む GH/IGF 関連の諸因子を測定したところ、PAPP-A2 による IGFBP-3 の分解によって IGF-1 の生体利用率 (free/total IGF-1) が制御されていること、PAPP-A2 が胎内での成育環境を反映する指標となり得る可能性が示唆された (PAPP-A2 と体格は逆相関：論文執筆中)。一方、SGA 児においては、PAPP-A2 による IGF-1 の生体利用率調節と体格との関連についての研究は乏しい。そこで、本研究では SGA 児における PAPP-A2 および、その他の STC-PAPP-IGFBP-IGF axis の諸因子と体格との関連を解析し、SGA 児においても PAPP-A2 などの STC-PAPP-IGFBP-IGF axis の諸因子が、胎内での成育環境を反映する指標になり得るか検討することを目的とする。

2. 方法

SGA 児とその母体の臨床情報および臍帯血サンプルの収集・解析を以下のように行う^{3),4)}。

- 1) 臨床情報：児・母体に研究対象者識別コードを割り振り (対応表に記録)、以下の臨床情報を収集する。
 - i) 母体 (出産時の年齢、妊娠出産歴、妊娠前の身長、体重と分娩前の体重、妊娠糖尿病の有無、妊娠高血圧の有無、既往歴、使用薬、胎盤・臍帯情報 (重量、大きさ等))
 - ii) 新生児 (在胎週数、出生時身長、出生体重、出生時頭囲、Apgar Score (1 分値、5 分値)、分娩方法 (経膣分娩 or 帝王切開))
 - iii) 1 か月健診時または修正 40-44 週での児の身長・体重・頭囲と出生後の栄養方法・摂取量

- 2) 臍帯血：採取法、測定項目および測定方法

出生直後に臍帯静脈から臍帯血を採取し、配布済み採血管内で血液凝固後、4℃で血清分離を行う。血清分離後、マイクロチューブに分注し -80℃で保存する (2 時間以内)。

測定項目・方法：臍帯血血糖、インスリン (臨床検査データを流用)。total and free IGF-1, total and intact IGFBP-3, IGFBP-5, PAPP-A2, STC-1, STC-2 (ELISA 法 (Ansh Labs))。残血清があれば IGFBP-1 も測定する。

3) 臨床情報および測定データの解析

EZR を用いて、母体・児の体格と測定データとの関連を統計学的に解析する。

3. 結果

保護者のインフォームドコンセントが得られ、STC-PAPP-IGFBP-IGF axis の諸因子の解析が十分に可能な量の血清が確保できたのは 8 例の SGA 児である (Table 1A)。Table 1B に STC-PAPP-IGFBP-IGF axis の諸因子の測定値を示す。なお、既報の SGA 児の測定値も参考値として示した⁵⁾。

表 1 Demographics

A)	SGA	n	Mean	SD	IQR	他研究 (BW < 10%ile, SGA)*
	Neonates	8	M = 5, F = 3			M = 23, F = 14
	Gestational age (wks)		36.6	1.4	36.1 – 37.3	37.1 ± 0.3
	BL-SDS		-2.46	0.84	-2.94 - -2.01	-1.7 ± 0.1
	BW-SDS		-2.66	1.23	-3.25 - -1.79	-1.7 ± 0.05
	HC-SDS		-1.16	0.6	-1.56 - -0.68	N/A

B)	SGA	n	Mean	SD	IQR	他研究 (BW < 10%ile, SGA)*
	PAPP-A2 (ng/ml)	8	2.23	0.70	1.79 – 2.45	2.8 ± 0.3
	Free IGF-1 (ng/mL)	8	0.54	0.40	0.38 – 0.77	-
	Total IGF-1 (ng/mL)	8	48.4	21.2	34.0 – 67.0	51.1 ± 6.9
	F/T IGF-1 (%)	5	1.40	1.25	0.8 – 2.1	-
	Intact IGFBP-3 (ng/mL)	8	258	51	210 – 296	-
	Total IGFBP-3 (ng/mL)	8	391	191	274 – 543	-
	I/T IGFBP-3 (%)	8	59.5	10.6	52.6 – 59.3	-
	IGFBP-5 (ng/mL)	8	361	85.7	327 – 369	388.9 ± 16.1

*DiPrisco B, et al. Metabolism. 2019.

次に、SGA 児においても PAPP-A2 による IGFBP-3 の分解によって IGF-1 の生体利用率 (free/total IGF-1 比) が制御されているか検討した。ところが、PAPP-A2 と IGF-1、IGFBP-3 に相関は認められなかった (Table 2)。

表 2 Correlation analysis between PAPP-A2 and analytes

Variable		Free IGF-1	Total IGF-1	F/T IGF-1 (%)	Intact IGFBP-3
PAPP-A2	r	0.0482	0.0057	-0.0266	-0.649
	P	0.91	0.989	0.966	0.08

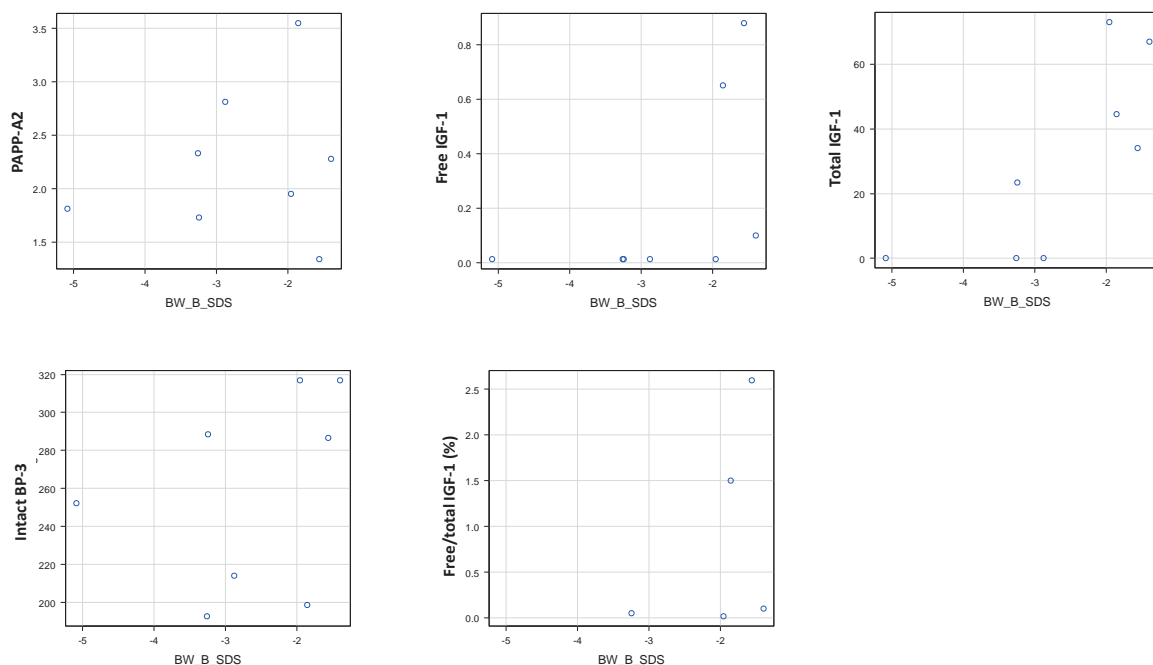
STC-PAPP-IGFBP-IGF axis の諸因子と体格との相関も認められなかった (Table 3)。

表 3 Correlation analysis between anthropometric data and analytes

Variable	PAPP-A2		Free IGF-1		Total IGF-1		F/T IGF-1 (%)		Intact IGFBP-3	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
BL_SDS	0.268	0.52	0.246	0.558	0.76	0.136	0.0583	0.926	0.253	0.545
BW_SDS	0.179	0.671	0.524	0.183	0.587	0.298	0.405	0.498	0.326	0.43
HC_SDS	0.193	0.647	0.349	0.397	0.86	0.062	0.010	0.987	0.347	0.359

ただし、散布図ではSGAの程度が強いほどPAPP-A2、IGF-1、IGFBP-3の低い傾向が認められた (Figure 1)。なお、ここでは出生時体重との関連のみを示す。

図 1 Scatter plots between BW SDS and analytes



4. 考察

AGA 児 91 例における解析では、臍帯血中の IGF-1 の生体利用率の指標として用いられる free/total IGF-1 比は、PAPP-A2 による IGFBP-3 の分解によって制御されていること、PAPP-A2 が出生時の身長・体重と逆相関を認めたことから、PAPP-A2 は胎内での生育環境を反映する指標となる可能性が示唆された。これは先行研究と一致する⁵⁾。また、STC-PAPP-IGFBP-IGF axis の諸因子の測定値もこれまでの研究と概ね合致する^{5), 6)}。

SGA 児でも AGA 児と同様の関係が認められるのか、同数程度のサンプルを収集し、STC-PAPP-IGFBP-IGF axis の諸因子と児の体格との関連を検討したいと考え、本研究を計画した。しかし、SGA 児では重篤な合併症を有することが多く、そもそも検討に加えることができない症例が多数認

められた。また、合併症のない SGA 児で採血が可能であった場合でも、引き続き STC-PAPP-IGFBP-IGF axis の諸因子の測定を行うには血清量が少なすぎ、データ欠損のため測定・解析を断念する場合もあった。このため、今後も本研究を数年間のスパンで継続し、サンプルを収集する必要がある。

STC-PAPP-IGFBP-IGF axis の解析結果から、SGA 児では PAPP-A2 と IGF-1 の生体利用率 (free/total IGF-1 比) には相関が認められなかった。このことから、IGF-1 の生体利用率は、AGA 児とは異なる制御がなされていることが示唆された。児が SGA となる胎内環境は AGA と比較して過酷であるため、同化作用 (含: IGF-1) を一定以下に抑制する機構が作用している可能性が考えられる。

また、STC-PAPP-IGFBP-IGF axis の諸因子と児の体格にも相関は認められなかったが、散布図では SGA の程度が強いほど PAPP-A2、IGF-1、IGFBP-3 も低い傾向が認められた。この結果からも SGA 児では同化作用 (含: 成長) を抑制し、生命維持を優先する機構が作用している可能性が示唆された。

サンプル数が少ないため、以上は推測に止まるが、今後サンプル数を増やすことによって SGA 児の体内環境と成長制御、生命維持機構との関連を明らかにすることができると考えられる。今後これらの機構をより詳細に解明することが、Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) の早期からの精密かつ個別化された管理法を確立するための基盤になることが期待される。

5. 文献

- 1) Oxvig C, Conover CA. The Stanniocalcin-PAPP-A-IGFBP-IGF Axis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2023 Jun 16;108(7):1624-1633.
- 2) Fujimoto M, Andrew M, Dauber A. Disorders caused by genetic defects associated with GH-dependent genes: PAPP2 defects. *Mol Cell Endocrinol.* 2020 Dec 1;518:110967.
- 3) Fujimoto M, et al. Anthropometric and Biochemical Correlates of PAPP-A2, Free IGF-I, and IGFBP-3 in Childhood. *Eur J Endocrinol.* 2020;182:363-374.
- 4) Bartell E et al. Protein QTL analysis of IGF-I and its binding proteins provides insights into growth biology. *Hum Mol Genet.* 2020 Aug 29;29(15):2625-2636.
- 5) DiPrisco B, Kumar A, Kalra B, Savjani GV, Michael Z, Farr O, Papathanasiou AE, Christou H, Mantzoros C. Placental proteases PAPP-A and PAPP-A2, the binding proteins they cleave (IGFBP-4 and -5), and IGF-I and IGF-II: Levels in umbilical cord blood and associations with birth weight and length. *Metabolism.* 2019 Nov;100:153959.
- 6) Martín-Rivada Á, Guerra-Cantera S, Campillo-Calatayud A, Andrés-Esteban EM, Sánchez Holgado M, Martos-Moreno GÁ, Pozo J, Güemes M, Soriano-Guillén L, Pellicer A, Oxvig C, Frystyk J, Chowen JA, Barrios V, Argente J. Pappalysins and Stanniocalcins and Their Relationship With the Peripheral IGF Axis in Newborns and During Development. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022 Sep 28;107(10):2912-2924.

フローサイトメトリーを用いた先端巨大症における腫瘍被膜同定法確立に向けた研究

藤尾 信吾

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科脳神経外科学

背景

先端巨大症の治癒基準は年々厳格化され、現在ではブドウ糖負荷試験による GH 底値は 0.4ng/ml 未満と定められている。この基準を達成するためには、腫瘍被膜を含めた徹底的な摘出が求められるが、腫瘍被膜は正常下垂体を含む組織であり、過度な被膜外摘出は下垂体機能障害を引き起こすリスクを伴う。しかし、術中に腫瘍被膜と正常下垂体とを肉眼的に判別することは容易ではなく、その判断は術中迅速病理診断に委ねられることが多い。

研究目的

フローサイトメーター FCM-2200 は G0/G1 期細胞と高 DNA 量細胞（増殖中の細胞や DNA aneuploidy 細胞）を区別し、その比率（malignancy index）によって組織の活動性を定量化する装置である。また 10 分弱という短時間での解析を実現し、術中でも組織の活動性と細胞数を算出することが可能となった。分別された G0/G1 期細胞と高 DNA 量細胞は、その細胞数がヒストグラムで提示されるが、腫瘍被膜のヒストグラムは PitNET の典型的なヒストグラムと異なり、ピークが乱れ細胞カウントが低下する特徴がある。これは採取された腫瘍細胞が少なく、組織の中に細胞膜や線維成分も含まれることを示していると考えられる。

このような特徴を持つフローサイトメトリーが、術中迅速病理診断の代用として術中の組織診断に有効かを評価することを本研究の主な目的とし、先端巨大症の術中における切除範囲の決定と、正常下垂体組織との判別に役立つ手法の確立を目指す。

方法

術者が腫瘍被膜と判断して摘出した組織を分割し、一方を病理診断に提出、残りの組織を FCM-2200 で迅速解析し、ヒストグラムを作成する。結果を手術室内のタブレットに転送し、術者は術中迅速病理診断の結果と合わせて最終的な摘出範囲を決定する。術後、同じ組織を HE 染色し、病理医が下記のように grading する。

- ・ grade 0: 腫瘍組織なし
- ・ grade 1: 腫瘍と腫瘍外組織の混在であるが、腫瘍が 50% 未満
- ・ grade 2: 腫瘍と腫瘍外組織の混在であるが、腫瘍が 50% 以上
- ・ grade 3: すべて腫瘍

その後、術後の寛解率や下垂体機能との関連を分析し、切除範囲の決定に有用な因子を同定する。

研究の進捗状況と今後の予定

図1 FCM-2200 で得られたヒストグラム

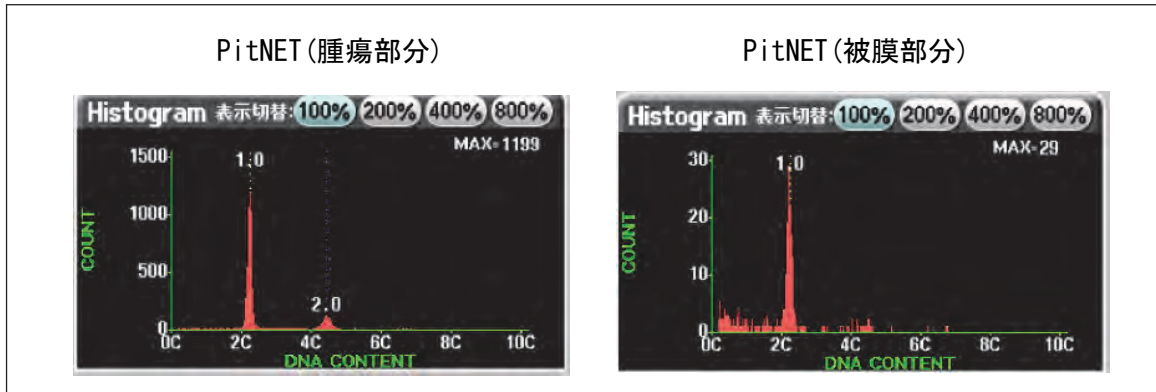


図1はPitNETの腫瘍部分と腫瘍被膜を解析したヒストグラムである。腫瘍部分はG0/G1期細胞を示すDNA content 2Cの他に、高DNA量細胞を示す4Cにもピークがある。一方、腫瘍被膜はピークが乱れ2Cの細胞カウント（縦軸）も明らかに低い。そのような特徴を反映し、組織内に腫瘍成分の少ないgrade1は、grade2よりも細胞数が低い傾向にある。現在、先端巨大症を含めたPitNET 20例で解析を終えており、今後、統計学的評価ができるまで、さらに症例の蓄積を重ねていく方針である。最終的には術中feedback情報をもとに切除範囲を決めた群と、それ以前の症例との治療成績を比較し、術中フローサイトメトリーの有用性を評価することを目標としている。

2022 年度分

FGFR3 遺伝子異常症に対する成長ホルモン治療効果に影響を与える因子の検討

原田 大輔、上山 薫、柏木 博子、清野 佳紀
地域医療機能推進機構（JCHO）大阪病院小児科
田中 弘之
岡山済生会総合病院小児科

背景

軟骨無形成症（ACH）と軟骨低形成症（HCH）は、ともに線維芽細胞増殖因子受容体 3 型（*FGFR3*）遺伝子の恒常的活性型変異に起因する最も頻度の高い四肢短縮型低身長をきたす骨系統疾患である。FGFR3 シグナルは、成長板において軟骨細胞の分化・増殖を抑制するため内軟骨性骨化を阻害する。そのため ACH や HCH を含む FGFR3 関連疾患の患者では骨伸長が障害される。我々は、FGFR3 関連疾患の重症度の違いは、*FGFR3* 遺伝子変異による FGFR3 タンパクの活性化の程度により規定されることを報告した^{1),2)}。

本邦では 1997 年に ACH と HCH を含む「軟骨異栄養症」に対して成長ホルモン（GH）治療が保険承認された。ACH や HCH に対する GH 治療は日本でのみ行われており、我々は ACH に対する GH 治療の長期治療効果を報告した³⁾。長期間継続した GH 治療の結果、無治療患者⁴⁾と比較して最終身長が 2.8 ~ 3.5 cm (+0.5 ~ +0.6 SD) 程度、脚延長術（大腿骨+脛骨）を併用した際には 17 cm (+3.0 SD) 超の身長改善効果が示された。GH 治療単独の効果は限定的であるが、根本的な治療法がない中で特に重症度の高い ACH 患者にとっては「希望の光」であった。また、一般的に HCH に対する GH 治療は ACH に対するものより効果がよいとされるが、HCH に対する GH 治療の長期効果を検証した報告はまだない。HCH も ACH と同じ *FGFR3* 遺伝子の活性型変異に起因する疾患であり、治療効果のメカニズムとしては共通するものと考えられる。

一方、FGFR3 シグナルの抑制を目指したより根本的な治療薬の開発も模索されてきた⁵⁾。代表的なターゲットとして FGFR3 活性阻害（可溶性 FGFR3、スタチン製剤、抗 FGFR3 抗体、チロシンキナーゼ阻害薬である *infigratinib*、FGFR1-4 阻害薬である ASP5878）、FGFR3 下流のシグナル経路阻害（C 型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）アナログ（ボソリチド）、CNP の徐放製剤（TransCon CNP）、メクリジン）、成長軟骨細胞の増殖促進（副甲状腺ホルモン（PTH/PTHrP）、GH）が挙げられ、それぞれ様々な段階で研究開発が進められている。その中で、ボソリチドが世界で初めての ACH 治療薬として臨床現場に登場し、本邦では 2022 年に「骨端線閉鎖を伴わない軟骨無形成症」に対して保険承認された。CNP は内因性骨伸長促進因子であるが、活性型 FGFR3 のシグナル下流で MAPK 経路を抑制して成長軟骨細胞の分化・増殖を救済することが期待される。

このように治療の選択肢が広がる中で、本邦でのみ承認されている GH 治療がどのような患者に特に効果があるかを明確にすることは、費用対効果面を含めて今後の ACH 治療および HCH 治療をより最適化するために重要な課題である。

目的

ACH 患者および HCH 患者に対する GH 治療効果に影響を与える因子を同定する。

対象と方法

GH 治療を 3 年以上行い成人身長に到達した ACH 患者と HCH 患者合計 47 症例を対象に、診療録をもとに後方視的に検討した。GH 開始時と比較した成人身長 Z スコア変化量 (Δ 身長 SD) を従属変数とし、下記の合計 69 項目を独立変数として重回帰分析による多変量解析を行った。独立変数として、性別、治療期間、病型、遺伝子変異、父母の身長、Target Height、出生体重、出生身長などの背景因子に加え、治療開始時、治療後 1 年、3 年、5 年における身長、体重、IGF-1、BMI の Z スコア、成長率、Tanner 分類、肥満度、指極長 / 身長比、下肢長 / 身長比、骨年齢 / 暦年齢比の計測因子とそれらの単年変化量を算出した。さらに多変量解析で有意差がでた項目に関して、Pearson の相関係数および分散分析で個別に成人身長への影響を解析した。p < 0.05 を有意とした。

結果

診断の内訳は ACH27 例、HCH20 例ですべて遺伝学的に確定診断された症例であった (表 1)。背景因子として、男女比は 25:22、両親身長から算出された Target height は 161.7 ± 5.57 cm であった。GH 治療開始時、平均年齢 4.0 ± 1.2 歳、身長 Z スコア -4.33 ± 0.96 SD、体重 Z スコア -1.59 ± 1.49 SD、BMI Z スコア $+1.97 \pm 1.96$ SD、指極長 / 身長比 0.92 ± 0.04 、下肢長 / 身長比 0.39 ± 0.04 、骨年齢 / 暦年齢比 0.39 ± 0.04 、IGF-1 Z スコア -0.11 ± 0.81 SD であった。GH 治療期間は 11.4 ± 0.76 年、成人身長 Z スコアの変化量は $+0.91 \pm 1.2$ SD であった。

GH 治療開始年齢は 4.0 ± 1.2 歳であった (表 2)。身長 Z スコア -4.33 ± 0.96 SD、体重 Z スコア -1.59 ± 1.49 SD、BMI Z スコア $+1.97 \pm 1.96$ kg/m²、指極長 / 身長比 0.92 ± 0.04 、下肢長 / 身長比 0.39 ± 0.04 、Tanner Stage 1.0 ± 0.0 、骨年齢 / 暦年齢比 0.72 ± 0.22 、IGF-1 Z スコア -0.11 ± 0.81 SD であった。

多変量解析の結果を表 3 に示す。GH 治療効果に影響を与える因子として「治療開始時の指極長 / 身長比」(p < 0.001、95% 信頼区間 27.4 – 38.4 cm) と「治療開始時の体重 Z スコア」(p = 0.017、95% 信頼区間 0.082 – 0.396 SD) が挙げられた。その他の因子には有意差を認めなかった。

これらの因子について個別に解析したところ、「治療開始時の指極長 / 身長比」における相関係数は 0.443 と弱い相関を認めた (図 a、b)。また、分散分析を行ったところ、指極長 / 身長比が大きくなるほど Δ 身長 Z スコアが有意に増加することが判明した (p=0.027、F=3.34)。また「治療開始時の体重 Z スコア」における相関係数は 0.510 と中等度の逆相関を認め、分散分析では、体重 Z スコアが小さいほど Δ 身長 Z スコアが有意差をもって増加することが判明した (p < 0.01、F=3.25) (図 c、d)。

考察

本解析の結果から、ACH 患者や HCH 患者に対する治療を考慮する際に、GH 治療がより効果的

に作用する可能性がある症例を選択するヒントが得られた。

はじめの因子としては、GH 治療開始前の指極長 / 身長比が大きい症例に対して GH 治療はより有効であると考えられた。これは四肢短縮の程度が軽症である症例と言い換えることができる。しかし、病型（ACH か HCH か）は影響がないとの結果であったことを考慮すると、ACH であっても HCH であっても、四肢短縮が軽い患者には GH 治療はより有効であることが示唆された。

次の因子として、GH 治療開始前の体重 Z スコアが小さい症例は GH 治療がより有効である可能性が示された。身長 Z スコアや肥満度、BMI の Z スコアの影響はないとの結果であり、ACH/HCH 幼児において体重増加を過度に促進することは、将来の治療効果に影響する可能性があることを認識する必要があるかもしれない。

また興味深いことに、今回の検討では、治療前の身長 Z スコアや治療開始後の Δ 身長 Z スコアは長期治療後の成人身長に影響がないという結果であった。これは低身長の重症度や初期の GH 治療への反応は、成人身長とは無関係であると解釈できる。これらの点に関しては、今後多数例での検討が待たれる。

今後、これらの因子を考慮して GH 治療のよりよい適応となる患者の特定を行い、他の治療法との取捨選択や併用も含めて多元的に治療適応を考えることが有効であると考えられた。

結論

ACH 患者と HCH 患者に対する GH 治療は、治療開始前に指極長 / 身長比が大きい症例、および治療開始前の体重 Z スコアが小さい症例により有効である可能性がある。

参考文献

1. Harada D, Yamanaka Y, Ueda K et al. Sustained phosphorylation of mutated FGFR3 is a crucial feature of genetic dwarfism and induces apoptosis in the ATDC5 chondrogenic cell line via PLC γ -activated STAT1. *Bone* 2007 41:273-281.
2. Harada D, Yamanaka Y, Ueda K, et al. FGFR3-related dwarfism and cell signaling. *J Bone Miner Metab* 2008.
3. Harada D, Namba N, Hanioka Y, et al. Final adult height in long-term growth hormone-treated achondroplasia patients *Eur J Pediatr* 2017 176:873-879.
4. 立花克彦, 諏訪成三, 西山宗六, 他. 全国調査に基づいた軟骨無形成症患者の身長の見直し. *小児科診療* 1997 60:1363-1369.
5. Wiktoria Wrobel, Emilia Pach and Iwona Ben-Skowronek. Advantages and Disadvantages of Different Treatment Methods in Achondroplasia: A Review *Int. J. Mol. Sci.* 2021 22:5573.

本研究の研究成果発表

原田大輔, 上山薫, 柏木博子, 田中弘之, 清野佳紀. 軟骨無形成症 / 低形成症に対する成長ホルモン治療効果に影響を与える臨床因子の探索. 第 56 回日本小児内分泌学会学術集会 2023.10 (大宮)

表 1 対象患者の背景 (平均±標準偏差)

背景因子	
性別 (男:女)	25:22
病型 (ACH:HCH)	27:20
母の身長 (cm)	161.8 ± 10.7
父の身長 (cm)	161.5 ± 7.71
Target Height (cm)	161.7 ± 5.57
出生体重 (kg)	2663 ± 574
出生身長 (cm)	44.3 ± 2.4
治療期間 (年)	11.4 ± 0.76
Δ最終身長 SD (SD)	+0.91 ± 1.22

表 2 成長ホルモン治療開始時の計測値 (平均±標準偏差)

GH 治療開始時	
年齢 (歳)	4.0 ± 1.2
身長 Z スコア (SD)	-4.33 ± 0.96
体重 Z スコア (SD)	-1.59 ± 1.49
BMI Z スコア (SD)	+1.97 ± 1.96
指極長 / 身長比	0.92 ± 0.04
下肢長 / 身長比	0.39 ± 0.04
Tanner 分類	1.0 ± 0.0
骨年齢 / 暦年齢比	0.72 ± 0.22
IGF-1 Z スコア (SD)	-0.11 ± 0.81

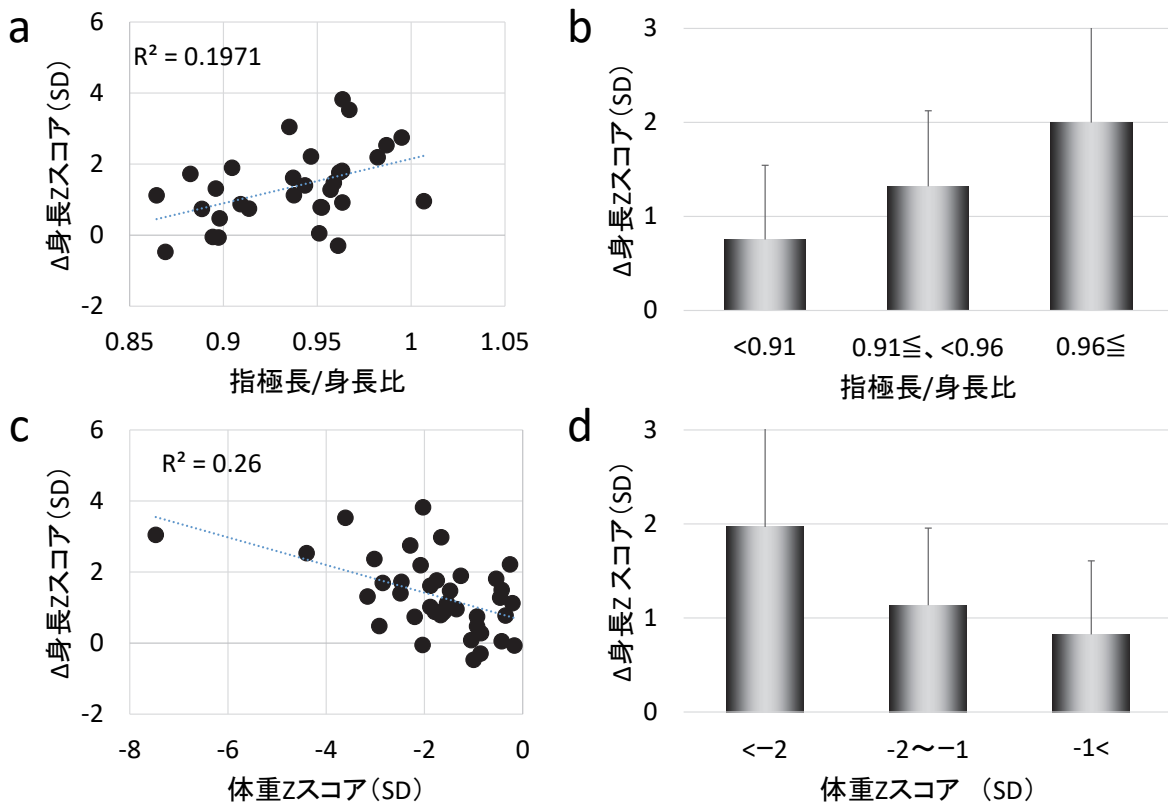
表 3 多変量解析結果 (治療開始時)

従属変数 = Δ身長 SD	標準化係数	t 値	有意確率
性別	-0.063	-1.337	0.313
病型	-0.027	-0.429	0.710
Target height	0.069	1.129	0.376
開始年齢	0.154	1.135	0.311
身長 SD	-0.320	-0.364	0.751
体重 SD	0.292	4.847	0.017
BMI-SD	0.048	0.224	0.844
肥満度	0.090	0.749	0.532
成長率	-0.081	-2.306	0.147
指極長 / 身長比	1.145	18.979	0.000
下肢長 / 身長比	0.015	0.056	0.960
骨年齢 / 暦年齢比	-0.093	-1.494	0.274
IGF-I SD	-1.111	-1.313	0.320
治療期間	0.023	0.328	0.774

表 4 多変量解析結果 (治療開始 1 年後、3 年後、5 年後)

	有意確率	治療 1 年後	治療 3 年後	治療 5 年後
Δ 身長 SD		0.491	0.493	0.474
Δ 体重 SD		0.815	0.537	0.469
Δ BMI-SD		0.844	0.555	0.420
Δ 肥満度		0.919	0.484	0.655
成長率		0.867	0.939	0.144
Δ 成長率		0.238	0.052	0.062
Δ 指極長 / 身長比		0.910	0.451	0.710
Δ 下肢長 / 身長比		0.401	0.436	0.651
Δ 骨年齢 / 暦年齢比		0.433	0.180	0.835
IGF-1SD		0.458	0.851	0.233
Δ IGF-1SD		0.198	0.539	0.077

図 治療開始時の指極長 / 身長比および体重 Z スコアが長期間の GH 治療後の身長 Z スコア変化量への影響



研究年報 第47号 2023年度

2024年12月1日発行

編集 公益財団法人 成長科学協会
発行 公益財団法人 成長科学協会
東京都文京区本郷5-1-16 (〒113-0033)
電話 (03) 5805-5370
印刷 株式会社デイ・エム・ピー
東京都新宿区早稲田鶴巻町561 (〒162-0041)
電話 (03) 5292-6800

非売品