令和2年度

かながわ県立小児医療基金研究助成による

研究成果報告

神奈川県立こども医療センター

※※※ 令和２年度かながわ県立病院小児医療基金研究助成による研究報告 ※※※※※※※※※

フォンタン術後患者における運動時静脈圧と脳組織酸素飽和度の関係

小　野　　晋

背　景

2017，2018 年度に行った先行研究「Fontan 術後患者における運動負荷時血行動態評価」において，われわれはフォンタン術後患者では運動時に末梢静脈圧が上昇し，さらに運動時末梢静脈圧と脳組織酸素飽和度の間には負の相関関係があることを証明した。運動時末梢静脈圧はフォンタン術後患者の血行動態を評価するうえで有用な指標になり，新たな治療ターゲットになり得ると考えた。しかしながら，運動時に末梢静脈圧を測定することは煩雑さを伴う。NIRO-200 は組織酸素飽和度をはじめ，その他の末梢組織の組織循環を表すいくつかの指標を簡便に測定することができるモニターであり，運動時の測定も可能である。本研究では，NIRO-200 により測定できる各種指標の中から，運動時末梢静脈圧と相関する指標を抽出することを目的とする。

対　象

神奈川県立こども医療センターでフォロー中のフォンタン術後患者 25 名。年齢は 7−19 歳で平均 13 歳であり，男性が 10 名であった。

方　法

対象者に末梢静脈ルートを確保し静脈圧［VP（mmHg）］が測定できる状態とし，さらに浜松ホトニクス社製の NIRO-200 を用い，前頭部の組織酸素飽和度［Tissue Oxygenation Index: TOI（%）］，酸素化 Hb 濃度［oHb（μmol/l）］，脱酸素化 Hb 濃度［dHb（μmol/l）］，総 Hb 濃度［cHb（μmol/l）］，組織 Hb 指標［nTHI］を測定できる状態とした。

この状態で心肺運動負荷試験を行い，上記指標を最大運動時に測定した（peak VP，peak TOI，peak oHb，peak dHb，peak cHb，peak nTHI）。

peak VP とその他 5 指標との間の相関関係を求めた。

結　果

peak VP と相関関係を示したのは peak nTHI のみで，負の相関であった（R2: 0.26 $p<0.01$）（図 1）。

考　察

Fontan 循環は機能的右心室を欠く特異な循環様式であり，静脈系のうっ血が特徴とされる。そのため，術後遠隔期には腹部臓器の慢性うっ血による合併症が近年問題視されている。これまでの診療では，カテーテル検査で得られる安静時の中心静脈圧を指標に遠隔期患者の病態評価が行われ，治療戦略が立てられてきた。しかしながら，多くの術後患者は日常生活の中である程度の運動負荷にさらされており，運動負荷時の血行動態評価も必要であると考えられる。先行研究「Fontan

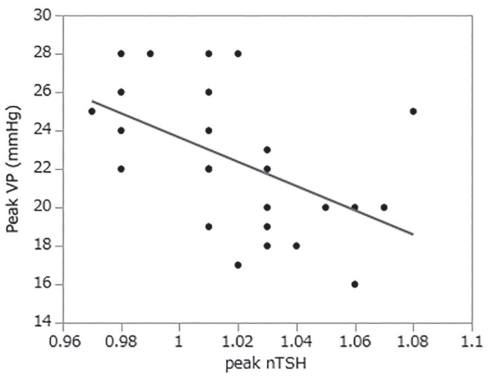


図１　peak VP と peak nTHI の相関関係

神奈川県立こども医療センター　循環器内科

術後患者における運動負荷時血行動態評価」では運動時末梢静脈圧上昇と運動耐容能の間に負の相関関係を認めた。運動時末梢静脈圧は患者の血行動態評価のための重要な指標となり，さらには治療ターゲットとなり得る可能性が示唆されたが，測定に煩雑さがあるという難点があった。一方，NIRO-200 は組織酸素飽和度をはじめ，その他の末梢組織の組織循環を表すいくつかの指標を測定することができる。

TOI は組織内の酸素飽和度を表し，対象組織の組織循環を反映する指標である。本研究では peak TOI と peak VP との間の相関関係を期待していたが，その結果は得られなかった。しかしながら，同時に測定した nTHI と peak VP の間に負の相関関係を認めた。nTHI は組織血液量を表す指標であり，安静時を 1 とした時の変化値を表す。本指標も対象組織の組織循環を表す指標である。健常人では，運動負荷により筋組織の nTHI が上昇することが知られているが，脳の nTHI については不明である。運動により心拍出量は上昇するため，脳 nTHI も運動により上昇することが予想される。今回の対象群では peak nTHI は 0.98 から 1.08 であり中央値 1.02（図 2）であった。多くの患者で安静時より，運動時の nTHI は上昇するものの，低下している患者も少数いた。さらに peak VP と peak nTHI との間に負の相関を認めたということは，運動時末梢静脈圧が高いほど，運動時の脳血液量の上昇が妨げられていることを意味し，興味深い結果となった。しかしながら，相関係数は R^2=0.26 と低く，peak nTHI が peak VP を代替する指標になり得るとは言い難い。

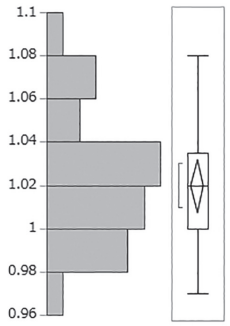


図2　対象患者における peak nTHI の分布

小児がん経験者（childhood cancer survivors）の晩期内分泌合併症に関する検討

花　川　純　子[1)]，室　谷　浩　二[1)]，朝　倉　由　美[1)]
後　藤　裕　明[2)]

背　景

小児の悪性疾患には，白血病，脳腫瘍，および神経芽細胞腫等の固形腫瘍等が含まれ「小児がん」と総称されている。治療成績の向上に伴い，長期寛解を維持し生存する患者が増加し，80 % 近い小児がん患者の長期生存が可能となってきた。小児がんからの長期生存者は，小児がん経験者 childhood cancer survivors（CCS）と呼ばれる[1)]。北米では，若年成人の 350–600 人に 1 人が CCS に該当するとの試算がある。CCS では，がん自体およびそれに対する治療により，多くの健康障害が併発し，晩期合併症として注目され，適切な対応が求められるようになった。とりわけ，内分泌・代謝関連の合併症が高頻度で，CCS の約 40 % に何らかの内分泌・代謝合併症を認めるとされる。

特に，視床下部・下垂体とその付近の脳腫瘍で

1）神奈川県立こども医療センター　内分泌代謝科　　2）同　血液・腫瘍科

は，脳腫瘍自体あるいは手術侵襲および放射線照射により高率に内分泌障害を起こす。また，造血幹細胞移植 hematopoietic stem cell transplantation（HSCT）では，全身放射線照射 total body irradiation（TBI）や強力な化学療法が行われ，さらに慢性 graft-versus-host disease（GVHD）を併発した場合，ステロイドホルモン等の免疫抑制剤が投与されるため，晩期合併症の発症はより高率となり，かつ程度が重篤であることが多い[2]。

「晩期」という字句どおり，CCS の健康障害は基本的に生涯にわたり，時間の経過とともに発生頻度が増加するため，長期にわたる医療体制の構築が求められている。原疾患とそれに対する治療内容から，晩期合併症の発症時期や頻度が予測できるようになっているが[3]，それらは国外での検討およびガイドラインに準じており，本邦ではいまだ十分に検討されていない[4]。

本研究では，単一の小児専門施設で治療を受けた CCS 患者における内分泌合併症の現状を分析することにより，早期診断・早期治療介入に向けた長期フォローアップ体制の確立を最終目標とする。

対象と方法

＜対象＞

神奈川県立こども医療センターで 2005 年 1 月から 2016 年 5 月まで小児がんに対して造血幹細胞移植を行った患者のうち，移植後 1 年時点で生存しており，抗がん剤および放射線による治療を終了している患者

＜評価日＞

①移植後 10 年　② 2018 年 1 月　③移植後 1 年以降に再発・死亡した日　のうちいずれか早く到来した日

＜評価項目＞

・性別
・基礎疾患
・治療内容：化学療法（使用薬剤および総投与量）
　放射線治療（照射部位および総線量）
　造血幹細胞移植（前処置の種類および TBI の照射量）
　手術（部位）
・体格：身長・体重・体格指数 body mass index（BMI）それぞれ性別・年齢に応じた SDS を算出
・性成熟度の評価：Tannerの性成熟度分類で評価
　男児はオーキドメーターを用いて精巣容量も測定
・ホルモン基礎値：甲状腺機能；TSH・fT_3・fT_4
　性腺機能；LH・FSH・T（男児）or E2（女児）
　副腎皮質機能；ACTH・コルチゾール・DHEA-S
　成長ホルモン；IGF-1
・骨密度測定：Dual energy X-ray absorptiometry（DEXA）法で測定Z-score を算出

上記項目を，診療録を元に後方視的に移植直後，1 年後，2 年後，5 年後，10 年後の時点で評価する

・内分泌合併症の定義

低身長；身長 <−2 SD または 2 年以上にわたって成長率 <−1.5 SD

成長ホルモン分泌不全；IGF-1 の低値および負荷試験での GH 頂値低値 *

（*インスリン・アルギニン・クロニジン・L-DOPA・グルカゴン負荷では 6 ng/mL 以下，GHRP2 負荷では 16 ng/mL 以下）

思春期早発；男児① 9 歳未満で，精巣・陰茎・陰嚢の発育
　② 10 歳未満で，陰毛発生
　③ 11 歳未満で，腋毛・髭の発生
　女児① 7 歳 6 ヶ月未満で，乳房発育
　② 8 歳未満で，陰毛発生または外陰部早熟，腋毛発生
　③ 10 歳 6 ヶ月未満で，初経発来

性腺機能低下；男児で 14 歳までに精巣容量の増大がない場合
　女児で 13 歳までに乳房腫大がない場合
　思春期進行の停止，早発閉経
　LH/FSH 低下を中枢性，LH/FSH 上昇を原発性と定義

肥満；標準体重の 20 %以上

尿崩症；デスモプレシン点鼻または舌下錠を使用

骨粗鬆症；Z-score < −2.5 または脆弱性骨折の既往

結　果

対象患者は 127 名（男児 75 名・女児 52 名）で評価時の年齢の中央値は 13 歳，移植時の年齢の中央値は 6 歳であった（表 1）。

基礎疾患の内訳は下記のとおりである。

造血器腫瘍；急性骨髄性白血病・急性リンパ球性白血病・骨髄異形成症候群・慢性骨髄白血病・びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫

固形腫瘍；骨肉腫・横紋筋肉腫・Ewing 肉腫・神経芽腫 *

* 症例数が多いため固形腫瘍には含めずに検討

脳腫瘍（間脳下垂体腫瘍以外）

非腫瘍性疾患；再生不良性貧血・免疫不全・副腎白質ジストロフィー・赤血球形成異常等

移植前の治療は化学療法のみが多く（表 1），アルキル化剤は全例に使用されており，TBI は 66.9 %で施行されていた（表 1）。

79 例（62.2 %）の患者で，1 つ以上の内分泌合併症を認めた。

甲状腺機能異常は，LT4 補充を要する甲状腺機能低下症を 24 例（18.9 %）で認め（表 2），基礎疾患としては造血腫瘍・神経芽腫・脳腫瘍で多かった（表 3）。6 歳以下の低年齢での移植や TBI を含む放射線照射例，2 種類以上のアルキル化剤使用症例で多い傾向にあった。

表 1　患者背景

	n (%)　中央値 [range]		
	男児 (n=75)	女児 (n=52)	合計 (n=127)
評価時年齢	14.0 [3-28]	11.5 [3-25]	13.0 [3-28]
<6 歳	4 (5.3)	4 (7.7)	8 (6.3)
6-10 歳	21 (28.0)	15 (28.8)	36 (28.3)
>10 歳	50 (66.7)	33 (63.5)	83 (65.4)
移植時年齢	7.0 [0-21]	5.5 [1-17]	6.0 [0-21]
<6 歳	29 (38.6)	26 (50.0)	55 (43.3)
6-10 歳	23 (30.7)	12 (23.1)	35 (27.6)
>10 歳 n (%)	23 (30.7)	14 (26.9)	37 (29.1)
移植後年数（年）	5.0 [1-10]	5.5 [1-10]	5.0 [1-10]
基礎疾患			
造血器腫瘍	45 (60.0)	28 (53.9)	73 (57.5)
神経芽腫	9 (12.0)	10 (19.2)	19 (15.0)
その他固形腫瘍	2 (2.7)	2 (3.8)	4 (3.1)
脳腫瘍	7 (9.3)	3 (5.8)	10 (7.9)
非悪性疾患	12 (16.0)	9 (17.3)	21 (16.5)
移植前の治療			
化学療法のみ	44 (58.7)	31 (59.6)	75 (59.0)
化学療法＋放射線治療	10 (13.3)	5 (9.6)	15 (11.8)
化学療法＋骨髄移植	9 (12.0)	9 (17.3)	18 (14.2)
骨髄移植のみ	2 (2.7)	0 (0.0)	2 (1.6)
なし	10 (13.3)	7 (13.5)	17 (13.4)
TBI			
あり	51 (68.0)	34 (65.4)	85 (66.9)
なし	24 (32.0)	18 (34.6)	42 (33.1)

表 2　甲状腺機能異常

甲状腺機能低下症*	24/127例 (18.9 %)
甲状腺機能亢進症	1/127例　(0.8 %)
甲状腺結節	1/127例　(0.8 %)
甲状腺腫瘍	0/127例　(0.0 %)

表 3　甲状腺機能低下症

	n (%)　中央値 [range]		p value
	甲状腺機能正常 (n=103)	甲状腺機能低下症 (n=24)	
移植時年齢	8 [0-21]	3 [1-12]	<0.01
<6 歳	38 (36.8)	16 (66.6)	
6-10 歳	32 (31.0)	4 (16.7)	
>10 歳	33 (32.0)	4 (16.7)	
基礎疾患			<0.01
造血器腫瘍	63 (61.2)	10 (41.6)	
神経芽腫	10 (9.7)	9 (37.5)	
その他固形腫瘍	4 (3.9)	0 (0.0)	
脳腫瘍	5 (4.8)	5 (20.9)	
非悪性疾患	21 (20.4)	0 (0.0)	

考　察

内分泌合併症は，従来の報告に比して高率に認めた。本検討では，アルキル化剤が全例に使用されていたことと，従来の検討に比して TBI 施行例が多いことが関与した可能性がある。HSCT 後の甲状腺機能低下症に対しては，放射線照射・アルキル化剤の使用・低年齢での HSCT 施行がリスクであると報告されており，本検討でも同様の結果であった。

結　論

脳腫瘍・神経芽腫では甲状腺機能低下症を高率に合併するため，慎重にフォローを要す。

今後の方針

使用した化学療法の薬剤投与量や放射線照射量と内分泌合併症との関連を検討し，危険因子の同定を目指す。

文　献

1）石田也寸志. 北米Childhood Cancer Survivors Studyによる小児がん経験者の長期的な問題点－第 1 編. 日本小児科学会雑誌 2006;110:1513-1522.

2）Shalitin S, Phillip M, Stein J, et al. Endocrine dysfunction and parameters of the metabolic syndrome after bone marrow transplantation during childhood and adolescence. Bone Marrow Transplant 2006;37:1109-1117.

3）日本小児内分泌学会CCS委員会. 小児がん経験者（CCS）のための内分泌フォローアップガイド. Ver1.2 http://jspe.umin.jp/medical/files/guide161006.pdf

4）Chidren's Oncology Group. Long-term follow-up guidelines for survivors of childhood, adolescent, and young adult cancers. Ver 5.0 http://www.survivorshipguidelines.org

先天性心疾患患者における心臓手術と痙攣発作・てんかん発生の検討

池　川　　健

背　景

この研究は，先天性心疾患（CHD）の手術後の小児における周術期臨床発作（PCS）とてんかんの発生率と危険因子を調査するために実施された。

方　法

2013 年 1 月から 2016 年 12 月まで神奈川県立こども医療センターで心臓外科手術を受けた 777 人の小児を対象とした。周産期データ，周術期データ，およびフォローアップ医療データを収集し，エラスティックネット回帰分析および媒介分析を実行して，PCS およびてんかんの危険因子を調査した。解剖学的 CHD 分類は，術前の心エコー図に基づいて分類され，心臓外科手術は RACHS-1 を使用して評価された。

結　果

23 人の患者（3.0 %）が PCS を経験し，15 人の患者（1.9 %）がてんかんを経験した。てんかんを目的変数とした部分回帰係数は，解剖学的 CHD 分類で 0.367，RACHS-1 で 0.014，手術回数で 0.142 であった。 PCS を介したてんかんに対する間接的影響の割合は，解剖学的 CHD 分類で 22.0 %，RACHS-1 で 21.0 %，手術回数で 33.0 % であった。てんかん患者 15 例では，脳梗塞 8 例，脳出血 2 例，低酸素性虚血性脳症（HIE）3 例が認められ，白質損傷（WMI）は認められなかった。

結　語

PCS の発生率は 3.0 %で，てんかんの発生率は 1.9 %であった。CHD の解剖学的複雑さ，高リスクの心臓手術，および複数の心臓手術は，てんかんを発症する危険因子の可能性がある。これらは PCS を介した間接的な関与の割合が低く，PCS を介さない直接的な関与の割合が高いてんかんを発症する危険因子の可能性がある。脳卒中と HIE がてんかんを発症する要因である可能性が高く，WMI がてんかんを発症する要因である可能性は低い。

現在，本検討の詳細を英文誌である Pediatoric Cardiology に投稿中である。

神奈川県立こども医療センター　循環器内科

ピーナツ経口免疫療法の最適維持治療の探索

犬　尾　千　聡

はじめに

経口免疫療法 oral immunotherapy（OIT）は食物アレルギーの児にとって各種の食材で有効な治療法であるが，維持量に到達後もアレルゲンの継続摂取が必要である。ピーナッツは独特な味のため，味の嫌悪感や摂取量の多さなどが，ピーナツ

神奈川県立こども医療センター　アレルギー科

アレルギーに対する OIT の継続の困難につながると報告されている。

当院ではピーナッツアレルギーに対するピーナッツの急速経口免疫療法（rush OIT）後，連日摂取から徐々に摂取間隔を広げることや，摂取量を減量することで定期的な摂取を促しているが，rush OIT を行った患者にとって経口免疫寛容を維持する摂取量や摂取間隔は不明である。

今回，rush OIT で維持期に達したピーナッツアレルギー患者における摂取アレルゲン減量の影響を評価した。

方　法

2008 年 7 月～ 2017 年 1 月に当科でピーナッツ rush OIT を開始し，維持期に到達した患者を対象とし，維持期に達したピーナツアレルギー患者のピーナツ摂取量と摂取間隔，ピーナツ特異的 IgE 値を後方視的に検討した。対象患者は 33 人で，男児が 25 人（76 %），平均年齢は 9.6 歳，到達量中央値は 5 個，維持治療期間中央値は 50 ヶ月であった。

結　果

開始前と維持期のピーナツ特異的 IgE 中央値は 34.7 IU/mL（rush OIT 前），15 IU/mL（維持期）と低下した。摂取量別では 52.6 IU/mL から 15 IU/mL（同量摂取群；13 人），27.4 IU/mL から 6.8 IU/mL（減量群；15 人），29 IU/mL から 17. 2IU/mL（中断群；5 人）と低下した（図 1）。摂取間隔別でも 64.75 IU/mL から 29.4 IU/mL（連日群；4 人），

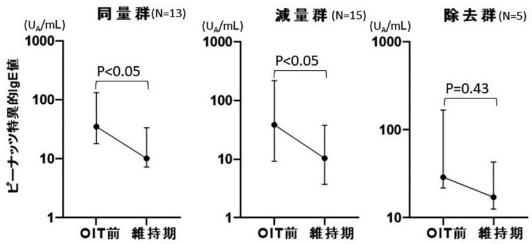


図１　摂取量別のピーナッツ特異的 IgE 値の変化

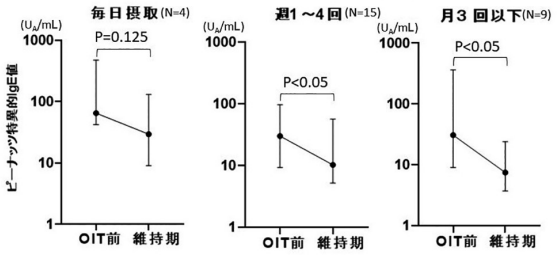


図２　摂取間隔別のピーナッツ特異的 IgE 値の変化

25.4 IU/mL から 10.4 IU/mL（週 1−4 回群；15 人），28.65 IU/mL から 7.6 IU/mL（月 3 回以下；9 人）と低下した（図 2）。

まとめ

今回の検討では，ピーナッツの rush OIT 後の維持期において，ピーナッツの摂取量の減量や摂取間隔の開大でも，ピーナツ抗原特異的 IgE 値が低下することが示唆された。

ピーナッツ OIT の維持期において，高用量群（3,000 mg）と低用量群（1,200 mg）の比較では，治療を中断した割合は高用量群は 31.4 %，低用量群は 3.9 %であったと報告されている [1)]。ピーナッツ OIT の維持期において，低用量であるほうが治療を継続しやすいと考えられる。

本検討で示された摂取量減量，摂取間隔の開大による抗原特異的 IgE 値に低下は，摂取量減量，摂取間隔の開大によっても治療効果は低下せずに，OIT の継続率が向上することが期待され，新たな維持治療方法の探索につながることが期待される。

今後は，症状出現に関与するピーナツアレルゲンコンポーネントの検索を行う予定である。

文　献

1）Nachsho L, Goldberg MR, Katz Y, et al. Long-term outcome of peanut oral immunotherapy-Real-life experience. Pediatr Allergy Immunol 2018;29:519-526.

末梢血幹細胞採取術の標準化のための研究

岩　崎　史　記

緒　言

自家末梢血幹細胞移植・超大量化学療法は神経芽腫等小児難治性固形腫瘍に対する治療戦略の1つとして確立している[1]。超大量化学療法を施行する準備としての末梢血幹細胞採取を行う上で重要なのは効率のよい採取と安全性である。

しかしながら一部の患者においてはpoor mobilizerと言われる必要十分量の採取を行うのが困難な患者が知られている。それらに対する治療薬としてplerixafor（商品名：モゾビル）という薬剤を使用することで克服可能な症例があるとされるが[2]，薬剤は非常に高価である。くわえて，特に小児においてどの患者に使用するのが適切であるかの知見は少なく，適切な投与基準があるとは言えない。

現在当院で使用している血球分離装置Spectra optia®を用いた末梢血幹細胞採取は，標準的な末梢血幹細胞採取に用いられる機材と考えられる[3]。採取プロトコルは原則的には成人ないしは年長児に対しては自動採取モードが確立しているが，低体重の児の場合，回路プライミングの問題やACD-A投与量など種々の面で調整が必要とされる場合が多く，安全性の面でも完全にプロトコルとして確立しているとは言えない。

採取プロトコル確立の上で問題となるのは，血球採取効率，plerixaforの適応，血管確保である。

血球採取効率に関しては，当日の末梢血CD34陽性細胞数に基づく当院独自のCD34陽性細胞採取に関する予測式が回帰分析により得られている。これはあくまで当日の採取量予測に用いることはできるものの，採取前日に投与すべきplerixaforが必要なものの抽出にはふさわしいとは言えない。十分量の採取を建前とした不適切なplerixaforの投与による医療コスト押し上げの可能性を内包している。

採取に用いるルートに関して言えば，一般には静脈ルートを用いるとされるが[4]，当院では年少児の場合安定した血流確保のため，多くが動脈ラインの確保が行われている。したがって，年少児の場合，血管確保時およびその後も含めて安全な採取を行うために長時間の鎮静を要する。

これらの諸問題に対して，末梢血幹細胞採取術の標準化を行うことにより，安全かつ効率のよい末梢血幹細胞採取が可能となれば，患者の安全面，医療の効率面，費用対効果のいずれの面においても恩恵がもたらされると考える。今回，われわれは標準化を前提とした研究を行った。

末梢血幹細胞採取の現状

現在当院における末梢血幹細胞採取術の状況を以下に述べる。

使用機材：Spectra Optia®（テルモBCT社）

2017年7−12月実績：12件（うち健常0名）

2018年採取実績：14件（うち健常ドナー3名）

2019年1−5月実績：4件（うちドナー1件）

以上より，2017年7月−2019年5月の23ヶ月において延30件，月1.2件の採取が行われている。採取患者の年齢中央値は4歳6ヶ月，採取時の体重中央値は16 kgであった。なお本機材では循環血液量TBVを元に血液処理回数を決定する。それには身長，体重，性別を元にして自動算出されるが，25 kg以下に関しては直接入力が必要で，現時点で過半数が直接入力データでTBVが規定されている。これらのデータは効率的な採取を行うための基礎データとして用いられる。手技は抗凝固剤としてACD-Aを用いた体外循環で行われる。停滞中の患者に対しては赤血球液200 mL以上を用いてカイロプライミングを行い，単核球採取モード（MNCモード）を用いて血液処理を行う。血液処理量の中央値はTBV3.0で，おおよそ

神奈川県立こども医療センター　血液・腫瘍科

の運転時間は 4 時間程度となる。低年齢の患者はこの間静脈麻酔で維持されることが多い。採血のために動脈ルート確保が行われたのは 26 例で，返血ルートとして末梢静脈の確保が行われたのは 23 例であった。

以上のことから当院での末梢血幹細胞採取は，5 歳未満の児が半数以上を占め，多くが動脈ルートを確保の上，4 時間程度をかけて静脈麻酔下で行われているという現状が浮かび上がる。また，自家移植のみならず同種移植のソースとしても末梢血幹細胞は用いられる頻度が上昇しており，健常者からの採取を行う場合があることも特徴であると言える。

目　的

本研究の目的は当院で行われている末梢血幹細胞採取術の手技的標準化を目的とするものである。採取手技の標準化の上で必要と考えられる，1）小児・低体重患者での採取プロトコルの確定，2）ブラッドアクセスに関する検討，3）採取前日時点での採取量予測，4）plerixafor 投与基準の確定を行う。

方　法

末梢血幹細胞採取の必要がある患者に対して，G-CSF 開始後 4 日目の時点での末梢血を採取し，白血球数および CD34 陽性細胞数を測定する。5 日目の G-CSF 製剤の投与ののち，採取直前時点での白血球数および CD34 陽性細胞数を測定する。採取にあたってはヘパリン 2000 単位を添加した ACD-A 液を用い，初期設定 AC 比 12：1 で患者血液ないしは赤血球製剤を用いて充填したのち，AC 比 17:1 を基本設定として採取を行う。採取は標準手技である MNC モードに従い自動モードで行う。運転開始後 30 分の時点で APTT 値を確認し，ヘパリン添加の必要性に関し検討する。その後も必要に応じて APTT 値を再検し，成書にある AC 比 22:1 での採取が可能かどうか検討する。

採取量は血液処理量 TBV2.0 以上かつ最低採取量 40 mL 以上の採取とし，TBV5.0 未満，運転時間 5 時間未満の範囲で最低必要細胞数が確保される（患者体重あたりの CD34＋細胞数 2.0×10^6/kg）よう血液処理を行う。TBV2.0 の時点で採取バッグ内の細胞数，CD34 陽性細胞数を測定し，必要十分量が確保されていれば採取終了とする。また，その時点で CD34 陽性細胞数が極めて少なく，今後血球分離を行っても明確に必要量が採取できないと判断した場合は，採取を中止し，plerixafor の投与を行い，あらためて翌日に採取を行う。健常ドナーの場合は TBV3.0 までの運転とし，翌日の採取ないしは骨髄採取を検討する。

採取終了後の細胞数，CD34 陽性細胞数を測定し，実際の採取量と前日の CD34 陽性細胞数との相関，plerixafor 投与の有無を含めて解析を行う。

また，合わせて採血ルートの検討として以下の順での採取の可能性を検討する。1）中心静脈 Brobiac/Hicman カテーテル（脱血／返血），2）末梢静脈ルート（20 GA/18 GA）（脱血／返血），3）動脈ルート（24 GA/22 GA）（脱血）カイロ充填・初期インターフェース形成までに，血球分離装置の採血／返血圧モニターを用いてアラームの有無，最大流量，採取効率（CE2 %），および実効性を検討する。採取中の有害事象，薬物鎮静状況を合わせて評価する。

統計解析は統計ソフト R を用い，各パラメータの解析と前日の検査値を用いた回帰分析を行う。また，plerixafor の有無を指標として比較検討を行う。

結　果

報告時点で 4 例の研究参加があり，該当症例の解析を行った。結果を表 1 に示す。

登録症例の年齢中央値 8 歳（6–13 歳），体重中央値 27.5 kg（15–44 kg），総血液処理量中央値 4.3 ℓ（2.6–8.2 ℓ）で，採取に伴う有害事象を認めなかった。CV カテーテルから脱血を行ったのは 1 例のみで鎮静剤を使用せず処理が可能であった。また，2 例で動脈からの脱血が行われ，鎮静を要した。採取された体重当たりの CD34 陽性細胞数の中央値は 31.2×10^6/ kg でいずれも充分量の細胞が確保された。plerixafor の投与を行った症例はいなかった。過去症例も合わせての検討では，CE2（%）の中央値 49.2（13.4–491.5），CR 中央値 0.11（0.05–0.86）で，既報と同等と考えられた。また採取当日末梢血 CD34 陽性細胞数（/μL）と体重当たりの採取 CD34 陽性細胞数は正の相関

を認めた（図1b）が（相関係数 0.438, 95 %信頼区間 0.0921－0.689，P 値＝0.0155），前日の末梢血 CD34 陽性細胞数との相関は統計学的に有意であると言えなかった（相関係数＝0.267，95 %信頼区間 －0.0969－0.567，P 値＝0.147）（図1a）。また機材操作においては CV カテーテル留置例以外は処理時間短縮のため採血流量を上昇させたが血小板凝集などの問題により AC 比を低下させる症例を認めなかった。

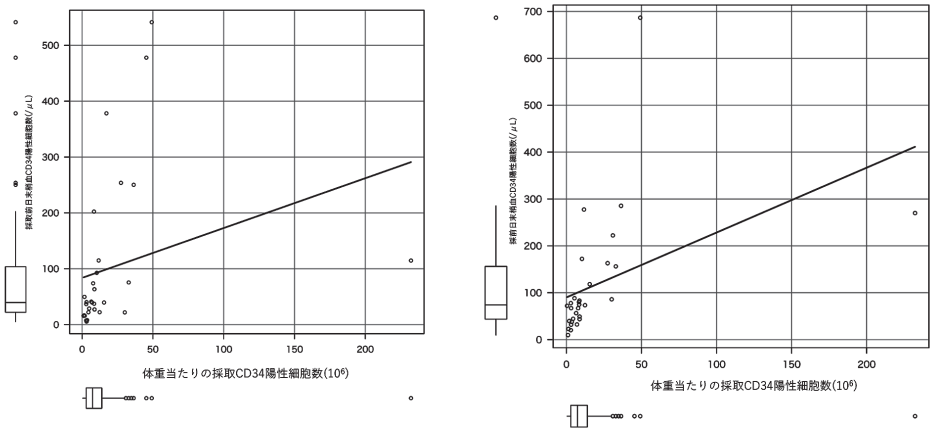
表1　患者背景と採取結果

	中央値	範囲
年齢	8 歳	(6－13 歳)
体重中央値	27.5 kg	(15－44 kg)
総血液処理量	4.3 ℓ	(2.6－8.2 ℓ)
白血球数		
採取前	30,800 /μL	(18,500－57,080)
前日	18,940 /μL	(3,200－30,150)
末梢血 CD34 陽性細胞数		
採取前	281.45 /μL	(277.5－285.4)
前日	314.24 /μL	(114.88－477.9)
体重当たり CD34 陽性細胞採取量（10^6/ kg）		
	26.8	(11.7－45.3)
CE2 (%)	46.2	(22.4－70.0)
CR	0.08	(0.04－0.12)
過去症例を合わせた採取効率評価		
CE2 (%)	49.2	(13.5－491.5)
CR	0.11	(0.05－0.86)

CE2 (%) ＝採取 CD34＋cells/kg×体重 /（採取前 CD34＋細胞×（処理量－ACD 量）
CR ＝（採取 CD34＋cells/kg）/ 採取前 CD34＋cells/L）

考　案

今回，4 例の末梢血幹細胞採取適応症例の検討では採取効率等の評価をするには不十分であった。過去の症例と合わせての検討では採取当日の採取量と採取量の相関が認められた。また既報と同様に CV カテーテルからの採血はトラブルもなく安全に施行できたが，1 例のみの経験であり今後の検討が必要である[5]。本研究により標準的採取手順の確立が行うことができれば，ブラッドアクセスを含めた本邦小児での標準的採取手順確立に繋がる可能性があり少なくとも当院においてはオペレーターの煩わしい調整作業から解放される可能性がある。また，今回検討例いずれも最低採取目標細胞数の 5 倍程度の採取が可能であった。前日の値を基に最終採取量を予測することができれば採取のタイミングや実際の時間の短縮が可能となる可能性がある。加えて，高価な薬剤である plerixafor 投与の適正化が行われることで，必要十分量の採取が必要最低限の薬剤使用で可能となることで医療費の軽減が可能となる可能性がある。また，採取ルートとして留置型中心静脈カテーテルないしは末梢静脈ルートの利用が可能であると判断されれば，動脈穿刺のための鎮静や抑制から解放され結果として年少児の負担軽減と手技を行う上での安全性がさらに担保できる可能性がある。過去症例も合わせれば十分な採取が行える本法は安全で患者および操作者に利益のある方



相関係数 = 0.267, 95%信頼区間 -0.0969-0.567, P値 = 0.14
a 採取前 CD34 陽性細胞数

相関係数 = 0.438, 95%信頼区間 0.0921-0.689, P値 = 0.0155
b 採取当日 CD34 陽性細胞数

図1　末梢血 CD34 陽性細胞数と採取結果

法となりうる。研究期間を延長し症例の蓄積を行い，評価を行いたい。

文　献

1）Yalçin B, Kremer LC, Caron HN, et al. High-dose chemotherapy and autologous haematopoietic stem cell rescue for children with high-risk neuroblastoma. Cochrane Database Syst Rev 2010;12:CD006301.
2）Karres D, Ali S, van Hennik PB, et al. EMA Recommendation for the Pediatric Indications of Plerixafor（Mozobil）to Enhance Mobilization of Hematopoietic Stem Cells for Collection and Subsequent Autologous Transplantation in Children with Lymphoma or Malignant Solid Tumors. Oncologist 2020;25:e976-e981.
3）Sörensen J, Jarisch A, Smorta C, et al. Pediatric apheresis with a novel apheresis device with electronic interface control. Transfusion 2013;53:761-765.
4）尾形隆, 大戸斉. 小児のアフェレーシス. 大戸斉, 遠山博 編, 小児輸血学, 中外医学社, 東京, 2006;261-269.
5）Doberschuetz N, Soerensen J, Bonig H, et al. Mobilized peripheral blood stem cell apheresis via Hickman catheter in pediatric patients. Transfusion 2019;59:1061-1068.

化学療法中の発熱に対する抗菌薬開始に関する業務改善の評価
－業務改善前との比較－

岡　部　卓　也[1)]，横須賀　とも子[2)]

背　景

近年，化学療法や造血細胞移植による治療法により，小児がん患者の生命予後は改善してきた[1)]。化学療法により生じる薬物有害反応の1つに骨髄抑制がある。骨髄抑制による生体防御機能の破綻は，重症感染症のリスクが増大し，感染症に対する適切な対策を講じなければ治療成績に多大な影響を及ぼす。

小児白血病・リンパ腫診療ガイドラインでは，発熱性好中球減少症 febrile neutropenia（FN）の定義を，末梢血好中球絶対数が 500 /μL 未満もしくは今後 48 時間以内に 500 /μL 未満に減少することが予測される状態で，かつ腋窩温測定値で 38.0 ℃以上に発熱した状態としている。小児がん患者においては，化学療法を1サイクル以上受けた場合，固形腫瘍では 10－50 %，血液腫瘍では 80 % 以上の患者で FN が認められる[2)]。FN において原因が特定できる割合は全体の 2－4 割程度であり，それ以外の多くが原因不明である[3)]。FN の診療における重要な点は，oncologic emergency であるとの認識のもと，直ちに患者の状態の把握と発熱の原因検索を行うとともに，経験的な感染症治療を開始することである[4)]。

海外の敗血症患者において，抗菌薬の迅速投与が死亡率に関与するとの報告が近年相次いでいる。患者が救急部門に到着後に 3 時間以内に抗菌薬投与を終了させることは，院内死亡率の減少と関連し，抗菌薬投与が 60 分遅れるごとに 4 %死亡率が増加するという報告や[5)]，敗血症性ショックの成人患者を対象とした研究では，発症からの抗菌薬投与開始の遅れは死亡率に影響し，適切な抗菌薬投与が 60 分遅れると，死亡率が 7.6 % 上昇するという報告もある[6)]。

海外の単一施設における FN 入院を対象とした報告では，60 分以内に抗菌薬が開始された群では 60 分以上経過した群と比較して有害事象が有

1）神奈川県立こども医療センター　看護局クリーン病棟看護科　　2）同　血液・腫瘍科

意に少なく，予後の改善が得られている[7]。FNを発症した患者が時として重篤な転帰をとることを念頭に置き，発熱の認知から抗菌薬を開始までの時間を短縮することで，患者の有害事象を最小限に抑えることが可能となる。

海外では，救急外来において抗菌薬投与開始までの時間を短縮する取り組みが行われている。その研究によれば，FNに対応する際の手順を詳細に理解することが抗菌薬投与開始までの時間の短縮に役立つとされている[8]。

今回の研究では，小児がん患者のうちFNを発症した患者を対象に，現在の抗菌薬投与手順の問題点を抽出し，発熱を確認後に抗菌薬投与開始までの時間を短縮することを目的とした。

本報では，前報に引き続き収集したデータを基に，対象症例を改善策開始前後の2群間に分け，後方視的に有効性について報告する。

方　法

2016年4月1日から2020年5月31日の期間に，当院で化学療法を受け，抗菌薬が投与された小児がん患者を対象とし調査した。調査対象の入院病棟は4病棟（学童・思春期内科外科混合，乳幼児内科系，幼児・学童内科系，骨髄移植系）とした。発熱を腋窩体温38℃以上と定義し，発熱の認知時刻と初回抗菌薬投与開始時刻を後方視的に診療録から抽出し，その間の時間を経過時間と定義した。また，観察集団をFN初期対応改善策施行前後で2群に大別し，施行前は第1集団（2016年4月1日以降），施行後（2019年6月以降）を第2集団とし，単純集計し評価した。

倫理的配慮

本研究は，倫理委員会で承認を得て研究公開はオプトアウトとした。

結　果

2019年6月17日よりFN対応の改善策を全対象病棟で施行開始した。4病棟で対象となった患者は，第1集団が188患者544発熱エピソード，第2集団が78患者164発熱エピソードであった。表1に患者背景を示す。

第1集団では，抗菌薬投与までの経過時間は，中央値（IQR）が47（33–75）分であり，平均値（SD）は63.9（48.6）分であった。経過時間が60分以上の群は191（35 %）例，60分以内は353（65 %）例であった。そのうち，感染症性ショックによるカテコラミンを使用した6例が存在したものの，死亡例はなかった。

改善策施行後の第2集団では，中央値（IQR）は33（22–53）分であり，平均値（SD）は40.3（26.8）分であった。経過時間が60分以上の群は27（16.5 %）例，60分以内は137（83.5 %）例であった。カテコラミン使用例は1例あったが，死亡例はなかった。表2に施行前後の経過時間の比較を示す。各時間帯における経過時間を施行前後で示すと，全体平均時間を上回る時間帯は，勤務開始前後や食事時間，看護師の休憩時間であっ

表1　患者背景

	全患者	第1集団	第2集団
患者数	266	188	78
発熱エピソード(数)	708	544	164
年齢(歳)			
中央値［IQR］	5［3–11］	5［2–11］	5［2–9］
女性(患者数)(%)	119 (45)	87 (46)	32 (41)
疾患(患者数)(%)			
白血病	120 (45)	81 (43)	39 (50)
骨髄異形成症候群	4 (2)	3 (2)	1 (1)
リンパ腫	25 (8)	14 (7)	11 (14)
組織球症	1 (1)	0 (0)	1 (1)
固形腫瘍	72 (27)	58 (31)	14 (18)
中枢神経腫瘍	44 (17)	32 (17)	12 (16)

表2　施行前後の経過時間の比較

	第1集団	第2集団
経過時間(分)		
中央値［IQR］	47［33–75］	33［22–53］
平均(SD)	63.9(48.6)	40.3(26.8)
60＞(例)(%)	353(64.9)	137(83.5)
60≦(例)(%)	191(35.1)	27 (16.5)
カテコラミン使用例	6	1
死亡例	0	0

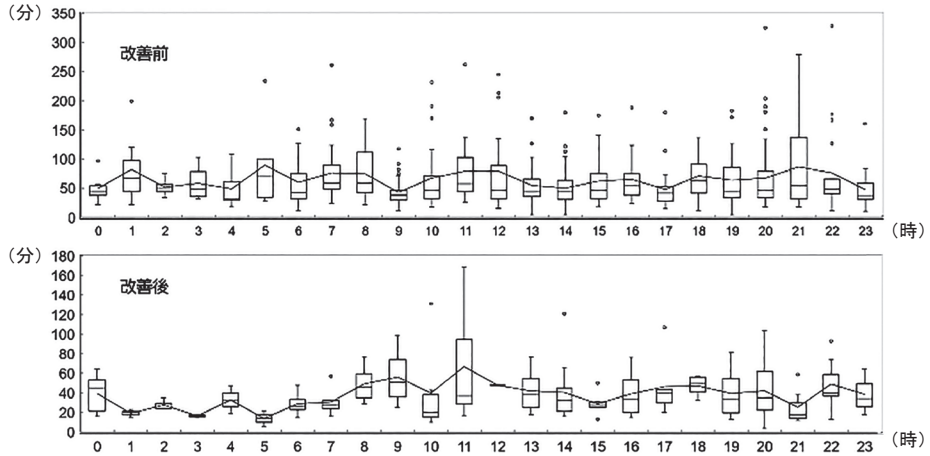


図1　各時間帯における経過時間

た。図1に各時間帯における経過時間を示す。

考　察

改善策施行前では，FN患者に対して抗菌薬を投与開始する手順に改善の余地があると示唆された。抗菌薬投与開始までの時間を短縮するために，対象病棟に介入し改善策を実施した。

その前後で比較すると，経過時間が短縮されており，看護師のFNに対する意識改革やドクターコール内容の検討，フローシートの作成，病棟定置薬の充足を含む改善策を実施したことが要因として考えられる。また，各発熱時間帯での経過時間の傾向では，看護師の業務や患者の日課が影響している可能性があることが推測された。

研究対象期間において，カテコラミン使用率も低下していることからFNに対する意識改革と対応手順の見直しにより，重症化予防に一定の効果があったと推察される。

結　論

抗菌薬の初回投与までの経過時間から，FNに対するoncologic emergencyという認識に関して，以前までの認識を改める必要性があった。そこで，初期対応フローを含めた教育システムの構築が必要であり，FNに対する看護としての改善策を実施した。その結果，施行前後で有意に改善したことから，改善策に一定の効果が認められた。詳細の結果は，統計解析中である。

文　献

1）菅秀, 庵原俊昭. 発熱性好中球減少症のマネージメント. 小児内科 2012;44:1122-1127.

2）下澤克宜, 関屋由子,小島勢二. 発熱性好中球減少症. 小児内科 2015;47:552-557.

3）宮入烈. 小児がん治療における感染症とその管理 最近の進歩 小児がん患者における感染症診療～小児感染症医の視点から～. 日本小児血液・がん学会雑誌 2014;51:362-370.

4）菊田敦. 発熱性好中球減少症の標準的治療は何か. 太田節雄, 梶原道子, 加藤陽子, 他編, 小児白血病・リンパ腫の診療ガイドライン. 第3版, 金原出版, 東京, 2016;133-134.

5）Seymour CW, Gesten F, Prescott HC, et al. Time to Treatment and Mortality during Mandated Emergency Care for Sepsis. N Engl J Med 2017;376:2235-2244.

6）Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. Crit Care Med 2006;34:1589-1596.

7）Fletcher M, Hodgkiss H, Zhang S, et al. Prompt administration of antibiotics is associated with improved outcomes in febrile neutropenia in children with cancer. Pediatr Blood Cancer 2013;60:1299-1306.

8）Monroe K, Cohen CT, Whelan K, et al. Quality Initiative to Improve time to Antibiotics for Febrile Pediatric Patients with Potential Neutropenia. Pediatr Qual Saf 2018;3:e095.

エクソーム解析では診断困難な症例に対するRNA-seq 解析による診断の試み

村 上 博 昭[1)]，榎 本 友 美[2)]，黒 澤 健 司[1)]

研究背景

次世代シーケンサーの普及により，先天異常症の診断率は大幅に上昇した。特に whole exome sequencing（WES）による全遺伝子のエクソン領域の網羅的解析が果たしている役割は非常に大きい。しかし，WES による先天異常症の診断率は，依然として全世界で概ね 50 %弱であり，未診断例が課題である。WES で未診断となる原因はさまざま指摘されているが，主なものとして，原因変異がエクソン外，つまりイントロンや遺伝子領域外の転写調節領域などに存在することが考えられている。現在，この問題点を解決する解析方法の 1 つとして，遺伝子転写産物である RNA の配列解析（RNA-seq）が世界中で臨床応用され始めている[1)]。RNA-seq は，転写産物の量的異常（発現量の減少もしくは増加），質的異常（スプライシング異常や染色体構造異常による異常転写産物）を検出することが可能であり，それらは共に，従来の WES では検出ができない。

研究目的

本研究は，当院の先天異常症の未診断例について，RNA-seq 解析の臨床的な有用性を評価することを目的とした。

症例①

自閉症と精神発達遅滞に加えて，眼間解離，眼裂斜下，濃い眉，目立つ耳などの顔貌特徴を有する女児。WES で明らかな疾患関連変異を特定できなかったが，1 番染色体全長の片親アイソダイソミー［iUPD（1）］を検出し，SNP アレイで確認した。1 番染色体上に，iUPD（1）により転写の量的異常を来す領域が存在する可能性が高く，RNA-seq 解析の適応症例と判断した。

症例②

重度の精神運動発達遅滞を示す男児。眼間解離，眼裂斜下などの顔貌特徴と先細りの手指を有しており，臨床的に Coffin-Lowry 症候群が強く疑われた。しかし，原因遺伝子である RPS6KA3 のターゲットシーケンスで明らかな疾患関連変異は検出できなかった。本症例は，イントロン領域の変異や染色体構造異常により RPS6KA3 の転写産物に質的異常が生じている可能性が高く，RNA-seq 解析の良い適応と判断した。

研究方法

患者と両親に研究の概要を説明し書面で同意を取得した。患者末梢血リンパ球から RNA を抽出し，品質チェックを行った上で，ライブラリの作製，次世代シーケンサによる解析を経て FASTQ ファイルを取得した。その後，量的異常と質的異常を検出する特異的な解析パイプラインを用いて，解析を行った。

解析結果

症例①，②それぞれ 9.9 Gb/6.5 × 10^7 reads，8.1 Gb/5.3 × 10^7 reads と十分なデータ収量が得られた。症例①については，解析対象を 1 番染色体に限定し，得られたシーケンスリード量より遺伝子ごとに正規化転写量 fragments per kilobase of exon per million mapped fragments（FPKM）を算出し，症例②と比較した。今回の研究では，有意な転写量減少は 1/4 未満，有意な転写量増加は 4 倍以上と定義した。症例①と②の FPKM を比較し，症例①において転写量低下した 1 番染色体遺伝子は計 56 遺伝子，増加したのは計 19 遺伝子であった。転写量低下を示した遺伝子

1）神奈川県立こども医療センター　遺伝科　　2）同　臨床研究室

が，ハプロ不全によりヒトの疾患原因となる可能性があるかどうかは，pLI（probability of being loss-of-function intolerant）スコアにより評価した。56個の遺伝子の中でpLI>0.95を示したのは，AKT3，ARID4B，CEP350，PKN2の4遺伝子のみであった。転写量増加を示した遺伝子19個の中でClinGen dosage sensitivity map（https://dosage.clinicalgenome.org/）でtriplosensitivity scoreが高いものは1つも存在せず，また疾患関連として知られている遺伝子も認めなかった。症例②については，解析対象遺伝子をRPS6KA3のみに絞り，RNAのシーケンスリードをintegrative genomics viewer（IGV）ブラウザを用いて可視化し異常転写産物を示すリードの有無を目視で確認した。相同組み換えによって生じたRPS6KA3遺伝子内の部分重複を示すunmatched readを検出した。

考　察

本研究は，WESで診断困難であった症例に対するRNA-seq解析の有用性を評価することを目的とした。RNA-seq解析の強みである転写産物の量的異常と質的異常の検出を活かして，未診断症例2例を解析対象とした。まず，患者末梢血からのRNA抽出からシーケンスデータ取得までが臨床的に問題なく施行できることを確認できた。解析した2症例中，1症例で遺伝学的確定診断が得られる見通しが付いた。

量的異常の検出を目的とした症例①では，RNA-seqによって診断を確定することはできなかった。iUPD(1)という非常に稀な染色体異常を持つ症例であり，1番染色体に解析対象領域を限定できると考えた。有意な発現量低下遺伝子は計56個，増加遺伝子は19個検出した。1番染色体には約3,000の遺伝子が存在するため，それぞれ1.8％，0.6％に相当する。これらの中で疾患関連遺伝子として唯一候補に残ったのはAKT3であるが，AKT3のハプロ不全は小頭症や脳奇形であり，本症例とは臨床像が一致するとは言えなかった[2)]。診断に至らなかった最大の原因は，症例数の不足であると思われた。量的異常は症例間での発現量比較が不可欠である。症例①のように，1番染色体のみに解析対象領域を限定できる場合であっても2例では不十分であった。今後，RNA-seq症例数を蓄積することができれば，診断確定に至ることが可能かもしれない。なお，1番染色体には，15q11q13のPrader-Willi/Angelman症候群領域のように由来する親によって転写が明らかに調節されているimprinting領域は知られていない。そのため，本症例ではiUPD(1)がどちらの親由来であるかまでは特定しなかった。

症例②は，臨床診断からターゲットとなる原因遺伝子が十分に絞り込めている症例であり，質的異常の検出を目的とした。原因となる染色体構造異常を検出することができた。2ヶ所のイントロンに共通して存在する，わずか15塩基の配列が相同組み換えの原因となり，遺伝子内でエクソンの重複が生じていることが分かった。重複領域の詳細について，現在quantitative PCR（qPCR）で最終確認中である。

以上のように，未診断例の診断確定にRNA-seqは非常に有用なツールであることが分かった。特に，症例数が十分でない段階では，ターゲット遺伝子を絞って質的異常を検出を目的とする症例に対して，効果が高いと思われた。

文　献

1）Wai HA, Lord J, Lyon M, et al. Blood RNA analysis can increase clinical diagnostic rate and resolve variants of uncertain significance. Genet Med 2020;22:1005-1014.

2）Boland E, Clayton-Smith J, Woo VG, et al. Mapping of deletion and translocation breakpoints in 1q44 implicates the serine/threonine kinase AKT3 in postnatal microcephaly and agenesis of the corpus callosum. Am J Hum Genet 2007;81:292-303.

組織学的・細胞遺伝学的検討による先天性嚢胞性肺疾患の病因に基づく分類の試み

田中水緒[1)]，梅本沙代子[1)]，永原則之[1,2)]
田中祐吉[1)]

背　景

先天性肺気道奇形 congenital pulmonary airway malformation（CPAM）に代表される先天性嚢胞性肺疾患は，小児科領域では少なからず経験される。近年一部の CPAM を母地として胸膜肺芽腫 pleuropulmonary blastoma（PPB）や肺癌が発症することが報告されてきている。例えば，CPAM type4 と PPB type1（purely cystic PPB）とは肉眼的／組織学的所見ともに重複する部分があり，双方の背景として *DICER1* 遺伝子の異常が指摘されている[1)]。また，長期経過を経た CPAM type1 に発症した腺癌に，*KRAS* 遺伝子[2)] や *EGFR* 遺伝子[3)] の変異が確認された報告がある。さらに，新生児・乳児にみられる肺腫瘍性病変である fetal lung interstitial tumor（FLIT）の一部では *ALK* 融合遺伝子が検出され[4-5)]，inflammatory myofibroblastic tumor（IMT）との疾患概念の重複が検討されている。

このように CPAM の各型もそれぞれ病因が異なる可能性が議論されており，中には悪性腫瘍発症のポテンシャルを持つものもある。適切な治療法の選択のためには，従来の形態学的・組織化学的・免疫組織化学的検索に加えて，細胞遺伝学的・分子生物学的手法を取り入れた診断基準の確立が求められている。

本研究では，病因に基づく先天性嚢胞性肺疾患の分類の構築を目指して，組織学的および細胞遺伝学的に検討を行う。この研究から得られた知見は，先天性嚢胞性肺疾患に生じる腫瘍発生のメカニズムの解明への手がかりともなり，その診断および治療に貢献できると考える。

本年度は肺 IMT 自験例における融合遺伝子の検索を，次世代シーケンサーを用いて行った。IMT は小児原発性肺腫瘍で比較的頻度が高い。一部の IMT では *ALK* 遺伝子の転座があり，さら近年では *ROS1* 遺伝子や *RET* 遺伝子の転座も報告されている[6)]。免疫染色や FISH 法で融合遺伝子の存在は示唆しうるが，それぞれの転座のパートナーが多岐にわたるため，RT-PCR 法での同定は容易ではないことが多い。頻度の高い融合遺伝子を RT-PCR 法では検出しえなかった小児肺 IMT 4 例について RNA シーケンスでの融合遺伝子の検出を試みた。

対　象

当科に組織診断目的で提出された肺腫瘍性病変のうち，組織学的に IMT と診断された症例を対象とする。

方　法

1．RNA シーケンス

腫瘍の凍結検体もしくは FFPE 検体より total RNA を抽出し，逆転写反応により得た cDNA を用いて TruSight RNA Pan-Cancer Panel（Illumina 社）によるターゲットシーケンスを行った。

2．PCR 法・RT-PCR 法

腫瘍の凍結検体もしくは formalin fixed paraffin embedded（FFPE）検体より genomic DNA を抽出し PCR 法を行った。また同様に total RNA を抽出し，逆転写反応により cDNA を得て RT-PCR 法を行った。各々の腫瘍の組織診断をもとにそれぞれに特異的な遺伝子変異もしくは融合遺伝子を標的としたプライマーを設計し，PCR 法にて遺伝子増幅を行った。得られた増幅産物をアガロースゲル中で電気泳動し，標的とする遺伝子の確認を行った。

1）神奈川県立こども医療センター　病理診断科　　2）日本医科大学　共同実験センターアイソトープ教室

表1　次世代シーケンサーを用いて検討を行った肺 inflammatory myofibroblastic tumor の概要と結果

症例	年齢・性別	検出された融合遺伝子	最終診断名（括弧付きは暫定診断名）
1	13・女	*HMBOX1-ALK*	Inflammatory myofibroblastic tumor
2	16・男	*FN1-ROS1*	Inflammatory myofibroblastic tumor
3	8・男	検出されず	（Inflammatory myofibroblastic tumor, histologically）
4	14・女	検討不可能	（Inflammatory myofibroblastic tumor-like lesion, histologically）

3．塩基配列の確認

PCR 産物のダイレクトシーケンスを行い，塩基配列を明らかにした。

4．FISH 法

市販のプローブを用いて行った（SureFISH ALK BA probe, Agilent Technologies, Paulo Alto, CA）。FFPE 切片はプローブの浸透性を改善するために温熱処理して作成した。プローブを組織切片と反応させ，蛍光顕微鏡で観察して，1 切片につき 50 細胞確認したうえで，結果を判定した。

結　果

当科アーカイブより *ALK* 融合遺伝子が検出されていない肺 IMT は 4 例抽出された。1 例（症例 2）は脳腫瘍治療後に二次がんとして発生した肺腫瘍である。いずれも IMT に合致する組織所見を示し ALK の免疫染色でさまざまな割合で陽性所見がみられたが，従来の方法では *ALK* 融合遺伝子の検出には至らなかった。

RNA シーケンスにより症例 1 から *HMBOX1-ALK* が，症例 2 からは *FN1-ROS1* が検出された。症例 3 からは有意な融合遺伝子は検出されなかった。症例 4 は検査に必要な核酸の抽出が困難であった。

HMBOX1-ALK についてさらに検討を行った。FISH 法にて *ALK* 遺伝子の再構成を検討したが，明らかな異常は検出しえなかった。そこで RNA シーケンスの結果を参考にプライマーを設定して RT-PCR 法を施行したところ *HMBOX1-ALK* が同定された。

さらに今年度は今までの研究結果も踏まえて，先天性嚢胞性肺疾患の病理組織学的所見について執筆を 2 件行った（Pathological characters of congenital cystic lung disease in *Congenital cystic lung disease*, Springer，および小児嚢胞性肺疾患の臨床病理，病理と臨床，文光堂）。

考　察

RNA シーケンスの結果，4 例の肺 IMT のうち 2 例に融合遺伝子を有する可能性が示唆された。

HMBOX1-ALK は IMT 以外の腫瘍でも報告のない融合遺伝子である。昨年度より継続課題となっていた同融合遺伝子の検出に至った。今後論文化を検討する。

FN1-ROS1 は IMT で 2 例（肺と顎下腺）[7-8]，atypical tenosynovial giant cell tumor で 1 例報告 [9] を認める。今後 RT-PCR 法で確認予定である。同症例は骨肉腫治療後の二次がんとして発症している。*ROS1* 融合遺伝子は標的治療の対象であり，今回の融合遺伝子検出は臨床対応において有用な情報となりうると考える。また，融合遺伝子が検出されなかった 1 例については，融合遺伝子以外の遺伝子異常の検索を RNA シーケンスで得られたデータからさらに検討する予定である。

来年度は IMT 以外の小児肺腫瘍および先天性肺疾患をターゲットに次世代シーケンサーを加えて検討を継続する予定である。

文　献

1）Messinger YH, Stewart DR, Priest JR, et al. Pleuropulmonary blastoma: a report on 350 central pathology-confirmed pleuropulmonary blastoma cases by the International Pleuropulmonary Blastoma Registry. Cancer 2015;121:276-285.

2）Lantuejoul S, Nicholson AG, Sartori G, et al. Mucinous cells in type 1 pulmonary congenital cystic adenomatoid malformation as mucinous bronchioloalveolar carcinoma precursors. Am J Surg Pathol 2007;31:961-969.

3）Guo H, Cajaiba MM, Borys D, et al. Expression of epidermal growth factor receptor, but not K-RAS mutations, is present in congenital cystic airway malformation/congenital pulmonary airway malformation.

Hum Pathol 2007;38:1772-1778.
4）Onoda T, Kanno M, Sato H, et al. Identification of novel ALK rearrangement A2M-ALK in a neonate with fetal lung interstitial tumor. Genes Chromosomes Cancer 2014;53:865-874.
5）Tanaka M, Kohashi K, Kushitani K, et al. Inflammatory myofibroblastic tumors of the lung carrying a chimeric A2M-ALK gene: report of 2 infantile cases and review of the differential diagnosis of infantile pulmonary lesions. Hum Pathol 2017;66:177-182.
6）Antonescu CR, Suurmeijer AJ, Zhang L, et al. Molecular characterization of inflammatory myofibroblastic tumors with frequent ALK and ROS1 gene fusions and rare novel RET rearrangement. Am J Surg Pathol 2015;39:957-967.
7）Kurihara T, Suehara Y, Akaike K, et al. Nanostring-based screening for tyrosine kinase fusions in inflammatory myofibroblastic tumors. Sci Rep 2020;10:18724.
8）Lopez-Nunez O, John I, Panasiti RN, et al. Infantile inflammatory myofibroblastic tumors: clinicopathological and molecular characterization of 12 cases. Mod Pathol 2020;33:576-590.
9）Vougiouklakis T, Shen G, Feng X, et al. Molecular Profiling of Atypical Tenosynovial Giant Cell Tumors Reveals Novel Non-CSF1 Fusions. Cancers（Basel）2019;12:100.

中学生を対象とした病名・病状告知と治療の自己決定に関する意識調査

辻　　恵[1,2)]，竹之内　直　子[1,3)]，庄　　紀　子[1,4)]
永　渕　弘　之[1,5)]

緒　言

神奈川県立こども医療センターでは2015年12月に倫理コンサルテーションチームが発足し，医療現場の倫理的葛藤を各種ガイドラインや指針に基づき調整し助言を行うことを主たる業務として活動している。小児専門医療機関として，中でも子どもへの病名・病状説明や意思決定支援に際して生じる倫理的問題は当チームでも注力すべき重要課題として位置づけている。日本の小児医療現場においてインフォームド・アセントは十分に浸透しているとはいえず，さらに子どもがどの程度自身の病名・病状を知りたいか，治療について自己決定したいかについて子どもの意見を調査した研究は国内にはない。当院での15歳未満の患者への対応を検討するための基礎データを得る目的で，中学生を対象に意識調査を行った。

対象と方法

2018年4月1日から2019年3月31日に当センターを初めて受診する中学生（1-3年生，12-15歳）の患者のうち，本人・保護者ともに調査研究参加に同意した者を対象とした。緊急対応を要する初診患者は事前の書類郵送が困難のため調査対象外とした。

調査項目と集計

質問票の回答は患者の属性年齢，性別，受診科などと連結して解析するため記名式とし，項目別に集計を行った。

1）神奈川県立こども医療センター　倫理コンサルテーションチーム　　2）同　神経内科
3）同　小児がん相談支援室　　4）同　児童思春期精神科　　5）同　集中治療科

結　果

1．患者背景（受診者数，受診科）（表 1）

当センターを初診した中学生 369 名うち 185 名（男 79 名，女 106 名）から有効回答を得た（回収率 50.1 %）。受診科は 17 診療科，児童思春期精神科が最多で 52 名（28.0 %），整形外科 40 名（21.5 %），総合診療科 26 名（13.9 %）と続いた。

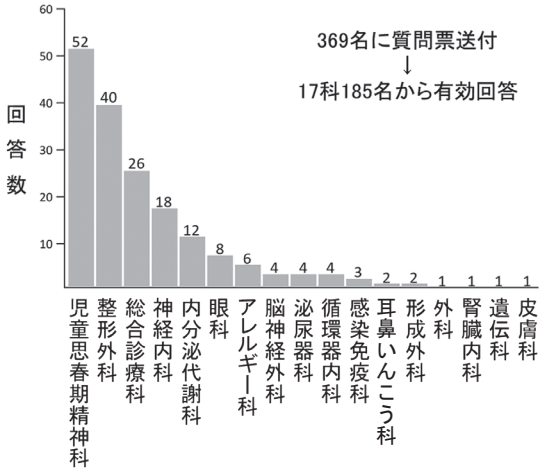


表 1　対象者の内訳

2．調査結果（図 1）

149 名（80.5 %）が病名を「知りたい」と回答し，次いで「どちらでもない」31 名（16.8 %），「知りたくない」5 名（2.7 %）と続いた。病状と予後については「全て知りたい」が最多で 106 名（57.3 %），次いで「ある程度は知りたい」61 名（33.0 %），「どちらでもない」13 名（7.0 %）であり，「何も知りたくない」と回答した者はいなかった。治療方針の選択の意思については「どちらでもよい」が 79 名（42.5 %）と最多，次いで「だいたい自分で決めたい」65 名（34.9 %），「絶対に自分で決めたい」20 名（10.8 %）と続いた。医師と 1 対 1 の面談希望について「あった方がいい」と答えた割合は年齢が上がるにつれて増加し，15 歳では半数近くが家族同伴ではない個別対応の希望があった。

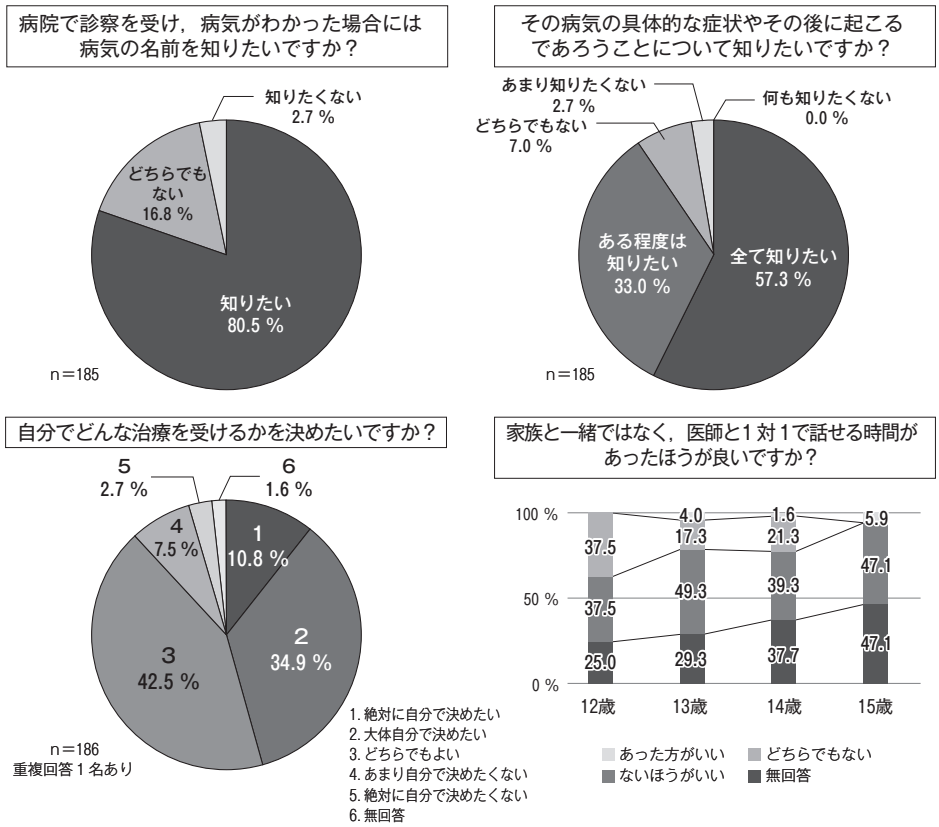


図 1　集計結果

考　察

今回の研究対象者の 80 %以上で病名告知の希望があり，病状説明の希望に関する質問でも 90 %以上で病状説明を受けたいと希望があったことから，中学生であっても原則，病名・病状説明を必ず行うことをわれわれ医療者は期待されていることが明らかとなった。中学生・高校生の患者に行われた過去の意識調査では，年齢的にも診療内容に関する理解力は問題ないと結論付けているが[1]，病態のより複雑な悪性疾患や慢性疾患への正しい理解を促すためには，患者の理解度を常に確認しながら支援を行う必要がある。

思春期は日常生活のほとんどの面を親に依存し，一般的には医学的な意思決定を下す経験は限られているため，治療選択の意思決定を希望する回答が半数以下にとどまったことは予想された結果といえる。また，思春期の意思決定は成人とは異なったプロセスにより行われることも指摘されている[2]。必ずしも患者本人の意思が医学的最善と一致していない可能性を検証する必要があり，保護者と医療チームが協力して患者の意思決定をサポートすることが不可欠である。

12 歳から 15 歳に年齢が上がるに従い単独面接の希望割合が増えていることは注目すべき結果である。思春期患者では，よりよい関係性の構築と患者の積極的な治療参加のためには守秘義務に関して事前に医師と患者で確認する機会を持つことが推奨されており[3]，たとえ保護者であっても本人の同意がない部分の情報開示には慎重になるべきである。

結　語

15 歳以下でも病名告知や病状説明を希望している割合が高く，自己の健康問題に関心があることが明らかとなった。思春期患者が自身の治療方針決定に関われるような取り組みが，われわれ小児科医療者に期待される。

文　献

1）細野恵子, 片岡恵理. 小児科外来で医療者が行う病気説明に対する思春期の子どものとらえ. 旭川大学保健福祉学部研究紀要 2014;6:1-7.

2）Steinberg L. Neuroscience perspctive on adolescent risk taking. Dev Rev 2008;28:1-27.

3）Cottrell LA, Nield LS, Perkins KC. Effective interviewing and counseling of the adolescent patient. Psychiatr Ann 2006;36:674-681.

リンパ管奇形（リンパ管腫）に対する病態解明および新たな治療法確立のための研究

臼井秀仁[1)]，新開真人[1)]，新保裕子[2)]
北河徳彦[1)]，望月響子[1)]，益田宗孝[3)]

はじめに

リンパ管腫は，リンパ管奇形 lymphatic malformations（LM）とも呼ばれる疾患で，出生時より存在する先天性腫瘤性疾患である[1)]。ヒトの発生段階において形成されるリンパ嚢が，全身のリンパ系へと分化する過程での異常から生じるリンパ管の奇形とされる。浸潤転移しない良性疾患ながら，特に好発する頸部症例においてさまざ

1）神奈川県立こども医療センター　外科　　2）同　臨床研究室
3）横浜市立大学　外科治療学（現福岡和白病院）

まな弊害を引き起こす。嚥下障害から胃瘻が不可避となる症例や，気道閉塞から気管切開を余儀なくされる症例も少なくない。また LM は感染や内部への出血に伴い突発的に増大することがある。このため，呼吸状態が安定しており気管切開等を要しない児であっても，急激に気道閉塞が進行し，致死的になりうる危険性に常にさらされる。

現在日本で一般的に選択しうる治療法は，手術か OK432（ピシバニール）硬化療法が主体である[1]。前者は完全切除ができれば速やかな減量効果を期待できるが，部分切除に留めると高率で再発することが知られる。特に頸部などでは神経障害などが合併するリスクがあるため，部分切除に留めざるを得ないことも多い。後者は 1 cm 以上の嚢胞を主体とする macrocystic type には 70–80 % と高率で硬化が期待できる。反復施行も可能なため，現在第一選択になりやすい。一方で術後の反応性腫脹が強く長期にわたり出現するため，気道周囲の LM に対しての施行は危険を伴い，予防的気管切開などを要することも多い。また 1 cm 未満の嚢胞が主体である microcystic type への効果は乏しいことが知られる。このため，気道周囲病変や頸部の microcytic type のびまん性病変などは現在でも有効な治療法がなく，世界的に病態解明・新しい治療薬の開発が望まれる。

われわれはこれまでに，リンパ管腫内皮細胞 lymphatic malformations-lymphatic endothelialcells（LM-LEC）の分離培養に成功し，この細胞を使用しての PIK3CA 変異の同定など基礎的研究を行ってきた[2]。また，日本ではまだ保険適応外であるブレオマイシンによる硬化療法を行い，気道周囲の病変や OK432 抵抗例において良好な結果を報告した[3]。

対象と方法

2020 年 4 月から 2021 年 3 月の期間に当科で LM と診断し，ブレオマイシンによる硬化療法を行った患者を対象とした。

気道狭窄例に対しては過去に報告した超音波検査およびバルーンを用いた硬化療法 ultrasound-guided balloon-assisted sclerotherapy（UBAS）を行った[3]。手順を簡潔に示すと，①全身麻酔下に喉頭鏡で気道評価を行った後に気管挿管を行う。②再度気道を観察しながら気道狭窄部にバルーンカテーテルを挿入し，バルーンを拡張させ固定留置する。バルーンは LM のうち気道狭窄の責任となっている病変部分を超音波で可視化させるためのものであり，適切な位置に適度な拡張具合で固定する必要がある。③体表より超音波をあて，バルーンを描出することで，気道周囲の病変全体を良好に描出することが可能である。エコーガイドで穿刺を行い，気道狭窄の責任病変部にブレオマイシンを局注する。この際，内容液の吸引を可及的に行い，置き換えるように局注を行う。microcystic type などこの投与が困難な場合は病変内に硬化剤を散布する形で投与する。④術後は腫脹対策に，気管挿管のまま最低 48 時間は経過を観察する。⑤その後気道評価を行い，抜管可能であれば，抜管を試みる。

気道狭窄例以外では超音波ガイド下に穿刺を行い，一般的な硬化療法を行った。

表在型に対しては表在型病変に対する硬化療法と合わせて，深部の嚢胞部分に対しても硬化療法を行った。

本治療に際しては神奈川県立こども医療センター倫理委員会専門部会の承認を得た。診療録，手術記録から治療時年齢，症状，病変部位，硬化療法回数，術後管理，治療効果などを後方視的に検討した。

結　果

対象症例は男児 2 例女児 6 例の 8 例であった。年齢は中央値で 4.5（0–18）歳であった。病変部位は頸部 4 例，表在型 2 例，舌 1 例，腹壁 1 例であった。頸部および舌の 5 例のうち 4 例を気道狭例またはそのリスク例として扱い，1 例は気道周囲ではあるが気道狭窄またはリスク例としては扱わなかった。表在型と腹壁は OK432 抵抗例として本治療の適応とした。硬化療法は中央値で 2（1–6）回施行した。患者詳細を表 1 に示す。

症例①（図 1）

出生前診断例。両側顎～両側頸部，縦隔へと広範に分布する病変例。超音波では気道全周が病変に覆われていた。換気不全のために日齢 0 に挿管管理を要した。UBAS 治療を合計 6 コース行った。1 コースで抜管を達成でき，4 コースで自然気道を

達成した。ただし夜間に限定した呼吸不安定さが残存し，最終的にHOT0.25L夜間を持って退院とした。

症例②

出生前診断例。頸部～左腋下のLM例。出生時に換気不安定さがあり，日齢0よりnasal high flow管理を要した。UBAS治療を計3コース行った。1コースで自然気道を確保できた。3コースで気道周囲病変は解消し，退院した。1年後に腋窩病変に4回目のブレオ硬化療法を行った。

症例③，④

いずれも腫脹時に気道緊急を生じうる気道狭窄リスク例。それぞれUBAS治療を1回，2回を行い，そのリスクが解消された。

症例⑤

他院でOK432治療を行ったが改善なく，当院紹介となった児。気道周囲ではあるが，気道狭窄リスクとまでは判断しなかった。通常のブレオ硬化療法を1回行い，軽快した。

症例⑥

右側腹部例。当院で2例のOK432硬化療法を行ったが，効果は限定的であった。OK432抵抗例としてブレオ硬化療法を2回施行。軽快した。

症例⑦（図2），症例⑧

表在型LMの2例。症例⑦は他院で表在型LMに対する切除術を受けたが，その後再発したものであった。表在型に関してはOK432の効果は期待できず，OK432抵抗例としてブレオ硬化療法を行った。2例とも2コースの治療を行い，局面型は縮小し満足いく結果を得られた。当初色素沈着が目立ったが，時間と共に軽快した。

表1　症例の概略

症例	年齢（歳）	性別	部位	本治療適応	術前呼吸状態	治療	治療回数	抜管獲得	自然気道獲得	補足	結果
①	0	F	頸部～縦隔	気道狭窄	挿管	UBAS	6	1	4		解消
②	0	M	頸部～左腋窩	気道狭窄	NHF	UBAS	3	－	1	腋窩に1回追加治療	解消
③	2	F	頸部	気道狭窄リスク	自然気道	UBAS	2	－	－		解消
④	10	M	舌	気道狭窄リスク	自然気道	UBAS	1	－	－		解消
⑤	7	F	頸部	気道周囲	－	－	1	－	－	前医OK432	解消
⑥	2	F	腹壁	OK432抵抗	－	－	2	－	－	過去にOK432治療2回	解消
⑦	13	F	表在型	OK433抵抗		－	2	－	－	前医手術歴	解消
⑧	18	F	表在型	OK434抵抗		－	2	－	－		解消

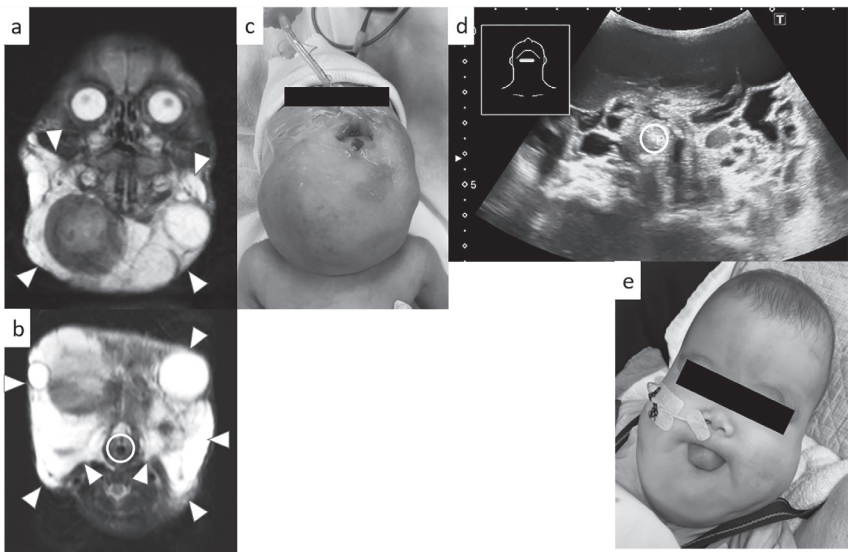


図1　症例①

頸部LM。日齢0で挿管管理を要したが，6回の治療で自然気道退院できる。
a：出生時MRI T2強調像，冠状断，b：出生時MRI T2強調像，軸位断，c：出生時肉眼所見，
d：出生時超音波所見，e：退院時肉眼所見。白矢頭：病変，白円：気道。

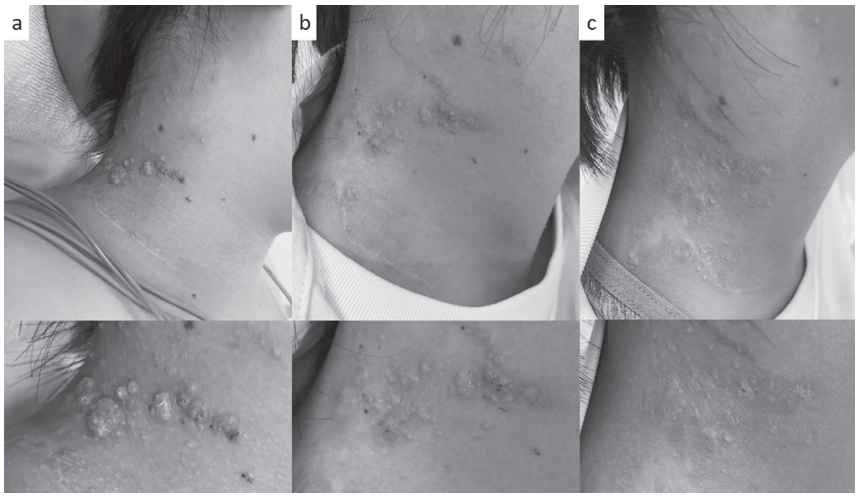


図2　症例⑦
表在型 LM。2回の治療で満足できる改善を認める。
a: 当院初診時，b:1回目治療後，c:2回目治療後。上段：遠景，下段：拡大。

考　察

呼吸器・消化器系に接する頸部 LM は致命的な気道閉塞，経口摂取障害，発声障害などを引き起こしうる[4-5]。このうち気道狭窄を伴う LM に対する治療には確立されたものがなく，内服治療，硬化療法，外科手術を組み合わせて行われている。頸部 LM の治療は一般に，合併症が少なく，反復施行が可能な硬化療法を第一選択として行うことが多い。しかし気道狭窄を伴う LM では硬化療法後の反応性腫脹による窒息のリスクがあり[6]，長期挿管や気管切開などを要することが多い[7]。日本で唯一保険収載されているピシバニールは特に腫脹が強く，この傾向が顕著である。このため LM が気道に半周以上接する場合は気管切開を検討すべきとする報告もある[8]。気管切開は上気道狭窄に対する気道確保の有効な手段であるがさまざまな生活の制約を必要とし，発声・構音機能の獲得遅延や障害の原因になったり[9]，発達全体に悪影響を及ぼしたりするとの報告もある[10]。さらに気道周囲の巨大 LM 症例では気管切開手術自体も容易ではない。したがって，気管切開は必要時に躊躇してはいけないが，可能であれば回避したい処置である。このような合併症のリスクを考慮し，気道狭窄をきたす LM には手術を優先すべきとする報告もある[6]。しかし重要な神経や血管が集中する頸部病変への手術は，血管・神経・筋肉損傷による合併症が高率に報告されており，全摘は困難で再発率も高いという問題点がある[11]。以上より，気管切開を必要としない硬化療法が可能であれば理想的な治療といえる。

われわれはそこで，これまでの LM に対する硬化療法の方法を見直し，より効果的で安全な方法を考案した。LM の治療目標を病変の完全消退ではなく症状の軽減・消失に設定し，気道狭窄の責任病巣に絞った硬化療法を行うことで，副作用を最小限に抑えながら気道への効果を期待する方法である。このような硬化療法を実現する方法として UBAS を報告した[3]。UBAS では狭窄した気道と狭窄の原因となっている LM 病巣を同時にリアルタイムに描出するために，狭窄した上気道内にバルーンを留置しながら頸部超音波検査を行う。通常超音波ビームは気道内の空気で反射されるため気道の描出はできず狭窄部の同定は困難である。これに対し気道狭窄部にバルーンを留置することで超音波によって狭窄した気道とその周囲の責任病変の同定が可能となる。また，バルーンは

アコースティック・ウインドウとしても役立つ。LM が上咽頭・中咽頭の背側に存在する場合，周囲は下顎骨・頸椎・頭蓋骨などに囲まれるため，超音波検査では頸部前方からアプローチせざるを得ない。気道にバルーンを留置すると有効なアコースティック・ウインドウとなる。この UBAS の確立によって，気道狭窄責任部位にピンポイントで硬化療法が可能となった。

本治療に使用する硬化療法剤はブレオマイシンを採用した。ブレオマイシンは，ピシバニールと異なり硬化療法後の腫脹が軽微であることが知られ，本治療の趣旨に合致する。一方でブレオマイシンは保険収載が無い点，抗癌剤である点，累積投与量に依存して発症リスクが上昇する間質性肺炎・肺線維症という重大な副作用がある点など，デメリットもある。特に肺に対する副作用の観点から，ブレオマイシンは使用量を最小限に抑える必要がある。われわれの硬化療法は部位を絞って行う方法であるため，硬化剤の使用量を最小限に抑えることができ，ブレオマイシンの安全な使用にも寄与している。

われわれはこの方法を活用することで，気道狭窄を伴う LM9 例に対し気管切開なしで治療完遂し，既に気管切開されていた 2 例に対し気管切開からの離脱に成功したと報告した[3)]。今回新たに治療介入を行った症例①−④は UBAS 施行例であり，今回も気管切開を回避しての治療完遂が可能であった。特に症例①はこれまでで最も重症例であったが，気管切開を回避しての退院を実現できた。今後，さらなる症例蓄積によって，より確立した治療としたい。

表在型に対する治療もこれまで確立したものが無く，昨年度報告した 2 例は問題となる表在型病変自体への硬化療法と同時に，深部にある病変へも同時に硬化療法を行うものであった。2 例とも効果は十分あったものの 1 例で色素沈着が残り経過観察を続けていた。この色素沈着は時間と共に軽快し，2 例ともさらなる効果を期待して 2 回目の治療を希望された。そしてさらに満足いく結果を得られた。今後さらに症例を蓄積し，治療として確立させたい。

文　献

1）臼井秀仁, 新開真人, 北河徳彦, 他. めずらしい腫瘍に対するアプローチ 治療法がめずらしい 頸部リンパ管腫. JOHNS 2020;36:1524-1528.

2）Usui H, Tsurusaki Y, Shimbo H, et al. A novel method for isolating lymphatic endothelial cells from lymphatic malformations and detecting PIK3CA somatic mutation in these isolated cells. Surg Today 2021;51:439-446.

3）Usui H, Shinkai M, Kitagawa N, et al. Lymphatic malformations compromising the upper airway in children: ultrasound-guided intralesional focal sclerotherapy with bleomycin targeting culprit lesions. Pediatr Surg Int 2020;36:1047-1054.

4）Bajaj Y, Hewitt R, Ifeacho S, et al. Surgical excision as primary treatment modality for extensive cervicofacial lymphatic malformations in children. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2011;75:673-677.

5）Berg EE, Sobol SE, Jacobs I. Laryngeal obstruction by cervical and endolaryngeal lymphatic malformations in children: proposed staging system and review of treatment. Ann Otol Rhinol Laryngol 2013;122:575-581.

6）Defnet AM, Bagrodia N, Hernandez SL, et al. Pediatric lymphatic malformations: evolving understanding and therapeutic options. Pediatr Surg Int 2016;32:425-433.

7）Manning SC, Perkins J. Lymphatic malformations. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2013;21:571-575.

8）Ueno S, Fujino A, Morikawa Y ,et al. Indications for tracheostomy in children with head and neck lymphatic malformation: analysis of a nationwide survey in Japan. Surg Today 2019;49:410-419.

9）Simon BM, Fowler SM, Handler SD. Communication Development in Young Children with Long-Term Tracheostomies: Preliminary Report. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 1983;6:37-50.

10）DeMauro SB, D'Agostino JA, Bann C, et al. Developmental outcomes of very preterm infants with tracheostomies. J Pediatr 2014;164:1303-1310.

11）Gaffuri M, Torretta S, Iofrida E, et al. Multidisciplinary Management of Congenital Giant Head and Neck Masses: Our Experience and Review of the Literature. J Pediatr Surg 2019;54:733-739.

ターナー症候群のより良い内科的治療の検討（最終報）

室谷浩二，新田祐佳，花川純子
朝倉由美，安達昌功

はじめに

ターナー症候群は，45,X に代表される X 染色体短腕の欠失を特徴とする性染色体異常症である。低身長，原発性性腺機能低下症，特徴的奇形徴候が代表的な症状である。低身長に対する成長ホルモン注射，卵巣機能不全に対する女性ホルモン補充が必要となる。

本研究では，ターナー症候群のより良い内科的治療を提示することを目的とする。そのために，神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科に通院歴のあるターナー症候群患者に対する診療録の後方視的な検討や，承諾の得られた患者に対する血中のステロイド一斉分析，欠失 X 染色体の欠失範囲や親由来の検討，を予定した。

昨年度，成長ホルモン治療を行った既往のあるターナー症候群患者について，「染色体核型と診断時の年齢・体格との関連性，および GH 開始時期による治療反応性の検討」を実施した。また，その成績を日本小児内分泌学会で発表した。

研究成果の要約

1987 年 4 月から 2018 年 5 月に神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科で診療され，1 歳以降に診断確定したターナー症候群の女児 85 症例を対象として検討した。

ターナー症候群の診断のきっかけとなった主訴は，低身長でみつかった患者が 85 例中 78 例（84.1 %）と大多数を占めていた。患者の核型は，45,X 核型（非モザイク）が最多で，45,X とのモザイク核型が続いた。核型と診断時の身長，体重，および target height に有意差を認めなかった。

GH 治療効果を GH 開始後 1 年間の身長改善（ΔHt（cm），ΔHtSDS の増加）で評価し，核型別に検討した結果を表 1 に示す。GH 治療開始時年齢，ΔHtcm，ΔHtSDS においては有意差を認めなかった。次に，核型で区別せず，GH 治療の開始年齢，性腺補充療法の有無で分類して（5 歳未満，5 歳以上～10 歳未満，10 歳以上で GH 単独，10 歳以上で性腺補充療法あり）検討した結果を表 2 に示す。Kruskal-Wallis 検定で有意差が存在したため，各群間を Bonferroni 法を用いて多重比較した。その結果，10 歳で性腺補充療法なし群と 5 歳未満群で有意差を認めた（データ非表示）。以上の結果から，GH 治療の短期的効果は，核型よりも GH 開始年齢の影響が大きいと推測された。

表 1　核型と GH 治療効果

核型	N	GH開始年齢 median	ΔHtSDS	ΔHt（cm）
All	64	8.65	0.43±0.45	7.2±2.4
45,X	12	7.02	0.42±0.39	7.8±1.3
45,X/46,X, i（Xq）	9	7.78	0.55±0.46	7.6±1.9
45,X/46,XX	5	9.96	0.42±0.51	7.9±3.5
46,X, i（Xq）	6	9.20	0.28±0.28	7.2±1.5
45,X/47,XXX	6	8.32	0.69±0.75	7.0±4.9
その他	26	9.53	0.38±0.44	6.8±2.3
Kruskal Wallis 検定（P）	－	0.798	0.758	0.707

（mean±SE or SD）

表 2　GH 治療開始年齢別の GH 治療効果

	Estrogen	N	ΔHtSDS	ΔHt（cm）
All	+/－	64	0.43±0.45	7.2±2.4
<5y	－	13	0.81±0.44	9.1±1.9
5-10y	－	29	0.45±0.26	7.5±1.7
≧10y	－	19	0.10±0.42	5.5±2.7
	＋	3	0.76±0.79	8.0±1.7
Kruskal Wallis 検定（P）		－	0.001	0.001

（mean±SE or SD）

神奈川県立こども医療センター　内分泌代謝科

考　察

本研究の結果を過去の報告[1-5]と比較し，表3に示す。本研究の結果，45,X 核型（非モザイク）では，他の核型に比較して診断時年齢が有意に低く，これは先行研究の結果と合致した。一方，ターナー症候群の診断時の年齢は，海外の報告と比較して，本研究で明らかに低年齢であった。

これまでの報告では，ターナー症候群においてGH 治療の最適な開始年齢は確立していない。しかし，思春期開始前に 4 年間以上 GH 治療を行った症例，治療開始が若年である症例は GH 治療効果が期待できると報告されている[6]。本研究は，短期的な治療効果しか検討していないが，5 歳以前に GH 治療を開始した群で最も治療効果が期待できると考えられた。また，本来二次性徴が開始している 10 歳以降で GH 治療を開始する場合，低容量のエストロゲン補充を併用することにより，短期的ではあるが，ΔHt（cm）とΔHtSDS が改善されると推測された。

ターナー症候群における身長予後の改善には，早期診断，GH 治療の早期開始，エストロゲン補充の開始時期や補充方法が重要と考えられる。今後，治療の最適化に向け，中・長期期的な治療経過を評価していくことが有用と考える。

今後の計画

今後数年間をかけて，全ての検討を完了させ，その結果を総合的に解析することにより，ターナー症候群患者の成長パターン，および，治療経過が成長パターンに及ぼす影響，遺伝的要因の関与について明らかにする方針であった。残念ながら，今回，研究費の継続が得られなかったため，一旦研究を終了とした。今後，改めて研究費の習得を目指し，ターナー症候群患者の身長予後を改善するための因子を明らかとし，内科的治療の最適化に繋げたいと考えている。

文　献

1）Stochholm K, Juul S, Juel K, et al. Prevalence, incidence, diagnostic delay, and mortality inn Turner syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2006;91:3897-3902.

2）Schoemaker MJ, Swerdlow AJ, Higgins CD, et al. Mortality inn womem with turner syndrome in Great Britain: a national cohort study. J Clin Endocrinol Metab 2008;93:4735-4742.

3）Yesielkaya E, Bereket A, Darendeliler F, et al. Turner syndrome and associated problems in Turkish children: a multicenter study. J Clin Res Pediatr Endocrinol 2015;7:27-36.

4）Fiot E, Zenaty D, Boizeau P, et al. X-chromosome gene dosage as a determinant of impaired pre and postnatal growth and adultnheight in Turner syndrome. Eur J Endocrinol 2016;174:281-288.

5）Cameron-Pimblett A, La Rosa C, King TFJ, et al. The Turner syndrome life course project: Karyotype-phenotype analyses across the lifespan. Clin Endocrinol（oxf）2017;87:532-538.

6）Gravholt CH, Andersen NH, Conway GS, et al. Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syandrome: proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting. Eur J Endocrinol 2017;177:1-70.

表3　過去の報告との比較

文献	コホート時期	人数（人）	国	診断時の平均 / 中央年齢 All	45,X 核型
Stochholm, et al.[1]	1968－2001	781	デンマーク	15.1	13.3
Schoemaker, et al.[2]	1959－2002	3,439	イギリス	14.5	12.4
Yesielkaya, et al.[3]	2013－2014	842	トルコ	10.5	－
Fiot E, et al.[4]	unknown－2013	1,038	フランス	10.0	－
Cameron-Pimblett A, et al.[5]	unknown	611	イギリス	10.1	8.0
本研究	1987－2018	85	日本	7.6	5.3

膀胱尿管逆流症に対する 気膀胱下膀胱尿管新吻合術（non-cross trigonal 法）の実施

西　　盛　宏，　下木原　航　太，　郷　原　絢　子
山　崎　雄一郎

研究背景

膀胱尿管逆流症（VUR）は蓄尿時・排尿時に膀胱尿が尿管・腎へ逆流することにより，発熱，血尿，背部痛などの尿路感染症状を呈し，放置すると慢性腎盂腎炎から患側腎機能悪化をもたらす疾患である。外科的治療法として開腹による膀胱尿管新吻合術 Open-UCN は長く標準術式として施行されてきたが，現在気膀胱下した膀胱内でこの手術を行う腹腔鏡下膀胱内手術 Lap-UCN が保険適用として施行されている。この Lap-UCN は開腹手術の Cohen 法に準じて施行されている。しかしながら Cohen 法は膀胱内に尿管を牽引し，膀胱内で尿管を交差させる方法であるため，余剰尿管長が短い症例においては十分な粘膜下トンネル長が確保できない可能性があり，また尿道を介して尿管に内視鏡を挿入することができないため，将来的な結石，腫瘍の治療の際に難渋することが予想される。これに対する治療選択肢として，Open-UCN では尿管口をさらに末梢側に移動させる Glenn-Anderson 法が施行されているが，長い粘膜下トンネル長が取れず，VUR が残存し Cohen 法に比べて治療成績が劣るとされる。このためか Lap-UCN における Glenn-Anderson 法はいまだ施行された報告がないが，尿管膀胱接合部を頭側に移動したのち Glenn-Anderson 法を行うことにより，治療成績の向上を得ることが可能であると考える。今回，この Glenn-Anderson 法変法による Lap-UCN を新たな術式として確立させるべく小児医療基金として提案し，すでに 6 名に対して施行したので報告する。

目　的

Glenn-Anderson 変法による Lap-UCN の治療成績，周術期合併症を検討し，本術式の有用性と安全性について評価した。

対象と方法

当施設で 2020 年 3 月～ 2021 年 3 月の間に本術式を施行した VUR を有する患者を後方視的に検討した。対象の患者背景（月齢，性別，体重，患側，VUR の grade），周術期所見（手術時間，術中出血量，術後入院期間，周術期合併症），術後 3 ヶ月後の VUR 消失率について検討した。

結　果

対象は 6 名，うち 1 名は術中術者判断で Glenn-Anderson 変法から Cohen 法に術式変更を行っていたため除外した。残り 5 名の患者背景は平均月例 88 ヶ月（63－115 ヶ月，中央値 87 ヶ月），男児 3 人女児 2 人，平均体重 20.9 kg（16.2－24.1，中央値 21.8 kg），患側は左側 2 人，両側 3 人，最大 VUR grade は grade Ⅴ：1 人，grade Ⅳ：3 人，grade Ⅲ：1 人であった。平均手術時間は左側例が 144 分（133－155，中央値 144 分），両側例が 205 分（173－242，中央値 202 分），術後入院期間は全例 2 日，周術期合併症は全例認めなかった。術後 3 ヶ月で施行した排尿時膀胱尿道造影検査では全例 VUR の消失を得た。

結　語

Glenn-Anderson 変法による Lap-UCN は有用で安全性の高い術式であった。今後新たな術式として確立させるために，症例数を増やした詳細な検討が必要と考えられた。

神奈川県立こども医療センター　泌尿器科

神経筋性側彎症手術における術創感染リスクの因子調査

－手術室内での術前準備時間の過剰遅延は，術後深部感染の予測因子となり得るかもしれない－

中　村　直　行

背　景

神経筋性側弯症に対するインプラントを利用した脊椎矯正固定術の有益性は明らかであり，推奨治療として多くの治療ガイドラインに採用されている。その一方で，高い合併症率が常に問題であり，中でも手術部深部感染は最も重篤な合併症の1つである。胃瘻，VP シャント，気管切開，低体重などが予測因子として報告されている。しかし，われわれの患者はその全ての予測因子を有していることが少なくない。今回われわれは，術前因子として，手術室入室から腹臥位ポジショニングまでの手術室内準備時間も検討因子に含めた。

方法と対象

術中洗浄法や抗菌薬投与を統一化した 2017 年 2 月から 2019 年 8 月までに，当院で単一術者により脊柱後方矯正固定術を施行された小児神経筋性側弯症患者 67 例（女児 40，男児 27）を対象とした。手術時年齢は中央値 13.9 歳（10.7－19.7）であった。結果，術後 2 ヶ月以内に術創深部感染を発症したのは 3 例であった。この深部感染発生に関して，手術時年齢，術前 BMI，主 Cobb 角，SPO，てんかん，胃瘻，気切，VP シャント，術前検査時のヘモグロビン値と総たんぱく，GMFCS，手術時のプリパレーション時間，骨盤固定の有無，術中低体温（＜ 35.5 度の持続時間），手術時間，術中出血量，術後の主 Cobb 角，SPO，およびそれらの矯正率の関与を，単変量ロジスティック回帰分析を用いて評価した。

結　果

これらの因子の中で，術後深部感染に対して，統計学的有意差をもって関与を示したのは，術前準備時間だけであった。術前準備時間の中央値は 44 分であり，感染例の 3 例は各々 224 分，108 分，60 分であった。術前準備時間の 10 分延長につき，オッズ比が 1.54（95 %信頼区間 1.06－2.23，P＝0.022）であった。

まとめ

神経筋性側彎症手術において，麻酔導入時に末梢血管点滴ルートが極めて取りづらいという事象は患児の重篤性を示す 1 つのサインかも知れない。自施設の標準的術前準備時間より過剰に逸脱する症例は，術後感染リスクが高い症例として留意した方が良いかもしれない。

本研究は，母集団に対するイベント（感染）発生数が少なく，統計家によりもう少し症例数を増やすことを勧められたため，昨年度は発表せず，症例の蓄積を行った。研究は今年度に継続し，症例数も増えたため，今後も発表する予定である。

神奈川県立こども医療センター　整形外科

鼓膜換気チューブ留置術を施行した症例における乳突蜂巣の発育の検討

井　上　真　規

はじめに

滲出性中耳炎の反復例や遷延例では乳突蜂巣の発育が不良のことが多いが，鼓膜換気チューブは乳突蜂巣の発育を促すと考えられている[1)]。今回，1歳時に鼓膜換気チューブ留置術を施行した症例において3歳時の乳突蜂巣の発育と滲出性中耳炎予後の検討を行ったので報告する。

対象と方法

2009年1月～2015年12月に1歳時に鼓膜換気チューブ留置術を施行された126例のうち，先天性頭蓋顔面異常や症候群の40例を除外し，最長6歳時時点で経過観察を行っていた66例，127耳を対象とした（図1）。

鼓膜換気チューブ再留置術の有無で滲出性中耳炎の予後を判定した。予後因子として，初回鼓膜換気チューブ留置術施行前の1歳時と，3歳時の乳突蜂巣面積，またアデノイド切除術の有無で検討した。

滲出性中耳炎の診療プロトコール

滲出性中耳炎の診断はpneumatic otoscopeを用いて行った。3ヶ月以上の保存的治療で改善がない症例に対して全身麻酔下での鼓膜換気チューブ留置術を施行した。睡眠時無呼吸を伴うアデノイド増殖症症例ではアデノイド切除術も同時に行った。チューブは脱落がなければ3歳時に抜去予定とした。チューブ脱落または抜去後の滲出性中耳炎再発例では，3ヶ月以上の保存的治療で改善がなければ再留置を行った。1年以上滲出性中耳炎

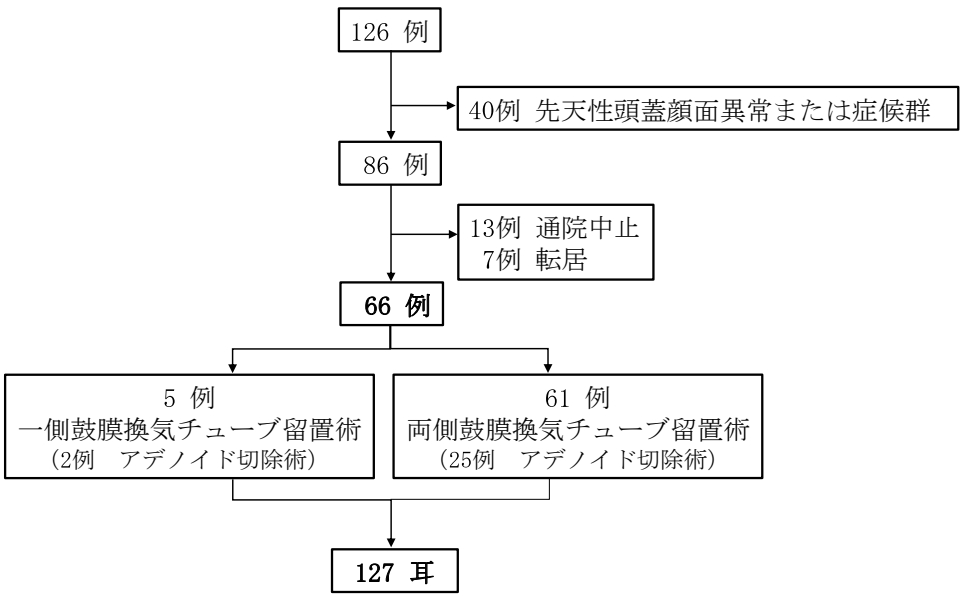


図1　対象症例

神奈川県立こども医療センター　耳鼻いんこう科

の再発がなく，鼓膜穿孔もなければ滲出性中耳炎治癒と定義し経過観察を終了した。

側頭骨単純X線検査は，初回の鼓膜換気チューブ留置術施行前と，3 歳時の耳漏のない診察時に施行した。

対象症例の内訳（表 1）

中央値で初回鼓膜換気チューブ留置術は 1.6 歳時に施行され，側頭骨単純X線検査は 1 歳時では 1.3 歳，3 歳時では 3.3 歳時に施行された。アデノイド切除術は 1.5 歳時に施行された。観察期間中央値は 5.2 年であった。

結　果

①鼓膜換気チューブ再留置術

再留置は 25 耳に施行され，5 耳に再留置が 2 回施行された。再留置の施行年齢中央値は 1 回目は 4.2 歳，2 回目の再留置は 5.7 歳であった。

②乳突蜂巣面積

（1）1 歳時の乳突蜂巣面積

中央値は再留置ありでは 178 mm^2（70−413 mm^2），再留置なしでは 190 mm^2（62−364 mm^2）であった。

（2）3 歳時の乳突蜂巣面積

中央値は再留置ありでは 314 mm^2（161−641 mm^2），再留置なしでは 439 mm^2（112−799 mm^2）であった。

（3）アデノイド切除術の有無

再留置を施行された 25 耳のうち，アデノイド切除術を施行されたのは 10 耳であった。

統計解析（表 2）

再留置の確率について，ロジスティック回帰分析にて検討を行った。1 歳時の乳突蜂巣面積とアデノイド切除術では再留置との関連はみられなかった。しかし 3 歳時の乳突蜂巣面積では，オッズ比が 0.37 となり 3 歳時の乳突蜂巣面積が大きくなると再留置の確率は減っていた。また P 値（$p<0.05$ で有意差ありとした）も 0.004 であり 3 歳時の乳突蜂巣面積と再留置は有意な関連がみられた。

表 1　対象症例の内訳

男：女(アデノイド切除術施行)	43(17)：23(10)
施行年齢中央値	
初回鼓膜換気チューブ留置術	1.6(1.1-1.9)
側頭骨単純 X 線検査	
1 歳時	1.3(1-1.8)
3 歳時	3.3(3-3.9)
アデノイド切除術	1.5(1.1-1.9)
観察年数中央値	5.2(1.9-5.9)

表 2　再留置の確率

Variables	OR	95 % CI	P-value
1 歳時乳突蜂巣面積	1.27	0.59−2.74	0.54
3 歳時乳突蜂巣面積	0.37	0.19−0.73	0.004
アデノイド切除術	0.96	0.38−2.42	0.93

OR＝odds ratio CI＝95 % confidence interval

考　察

乳突蜂巣は滲出性中耳炎により発育が抑制され，また発育不良の滲出性中耳炎の予後は不良である[2)]。鼓膜換気チューブ留置術は中耳腔の圧を正常化し乳突蜂巣の発育速度を増加させることで滲出性中耳炎の予後に貢献するといわれている[1)]。本検討では，鼓膜換気チューブ留置術施行前の 1 歳時の乳突蜂巣面積とアデノイド切除術では再留置との関連はみられなかった。しかし 3 歳時の乳突蜂巣面積において面積が大きい程再留置の確率は低く，有意な関連がみられた。以上より，1 歳時に鼓膜換気チューブ留置術を施行された滲出性中耳炎症例において，3 歳時乳突蜂巣面積が滲出性中耳炎の予後因子となると考えられた。

まとめ

1 歳時に鼓膜換気チューブ留置術を施行した症例において予後因子の検討を行った。鼓膜換気チューブ再留置術の有無で滲出性中耳炎の予後を判定し，予後因子として，1 歳時乳突蜂巣面積，3 歳時乳突蜂巣面積，アデノイド切除術の有無で検討した。1 歳時乳突蜂巣面積とアデノイド切除術では再留置との関連はみられなかった。3 歳時乳突蜂巣面積が大きいほど再留置の確率が低く，3 歳時乳突蜂巣面積が滲出性中耳炎の予後因子となると考えられた。

文　献

1）Valtonen HJ, Dietz A, Qvarnberg YH, et al. Development of mastoid air cell system in children treated with ventilation tubes for early-onset otitis media: A prospective radiographic 5-year follow-up study. Laryngoscope 2005;115:268-273.

2）Andréasson L. Correlation of tubal function and volume of mastoid and middle earspace as related to otitis medi. Acta Otolaryngol 1977;83:29-33.

^{1}H-MRS 法を用いた脳内代謝物の測定に関する研究

相田典子[1)]，野澤久美子[1)]，藤田和俊[1)]
藤井裕太[1)]，富安もよこ[1)]，嶋貫勝則[2)]
草切孝貴[2)]，村本安武[2)]，北川　藍[2)]
伍　成文[2)]

研究動機

多くの医療機関において画像診断に用いられているMRイメージング（MRI）は画像化法であるのに対し，MRスペクトロスコピー（MRS）は選択した立体体積（ボクセル：volume element）内のスペクトルから局所的な分子情報を得る手法である。^{1}H-MRSで観測可能な脳内代謝物は30数種類におよび，それぞれ異なる化学シフト値をもつ。その信号強度は^{1}Hの数に比例するため，代謝物の相対または絶対濃度を求めることが可能である。

中枢神経系に異常を来す疾患の多くで，特定の脳内代謝物（例：乳酸，クレアチン，コリンなど）の濃度変化が起こっていることが報告されている。MR装置を用いて測定することができる^{1}H-MRS法により，非侵襲的にこれらの濃度を測定することができ，臨床的な有用性が示されてきた。小児の脳内代謝物濃度に関しては，1）小児の成長に従って複数の脳内代謝物濃度が変化する，2）小児疾患によって代謝物濃度の変化が起こる，などが知られているが，これらの詳細な報告はほとんど無い状況である。健常な小児および小児神経疾患罹患者の脳内^{1}H-MRSデータを取得し，年齢や疾患／症状によって分類された脳内代謝物濃度のデータベースを構築することにより，1）健常な小児の年齢ごとの脳内代謝物濃度，および2）代謝疾患／症状ごとの^{1}H-MRS信号パターンなどが明らかになってくる。これら1，2）の情報を併せることで，疾患に対してより詳細な診断をすることが可能になると考えられる。また，診断名や治療方針がより早く特定／決定できたり，現在髄液検査で行っている測定を一部減らすことができる可能性がある。さらに小児に関する報告例は健常者および疾患患者ともにほとんど無く，この研究成果を論文や学会などにより世界に発信することの意義は非常に大きい。

こども医療センター放射線科で施行されているMRI検査では，すでに必要に応じて^{1}H-MRS測定が付加されていたが，その評価法は定性的であった。データベースの構築や詳細な臨床研究を行うには，定量的な質の高い解析技術と専門的な知識が必要となる。量子研の放射線医学研究所（以下，放医研）は，MRSの定量的解析に実績があり，MRSを専門に行う多くの研究者を有しており，密接に協力して研究を進めている。

平成20年よりの先行研究から，神経疾患の疑

1）神奈川県立こども医療センター　放射線科　　2）同　放射線技術科

われる患児に関しては ^{1}H-MRS 法による代謝物測定を行い実績を上げてきたが，平成 21 年 10 月より 3 テスラ（T）MRI が稼働したことにより，さらに微量代謝物測定の精度が上がることが期待され実現されており，測定数も増加している。

目　的

健常な小児および小児神経疾患罹患者の脳内 ^{1}H-MRS データを取得し，脳内代謝物濃度を解析によって得る。年齢や疾患／症状などの情報も加えられた脳内代謝物濃度（^{1}H-MRS）のデータベースを構築し，1）健常な小児の年齢ごとの代謝物濃度，および 2）代謝疾患／症状ごとの ^{1}H-MRS 信号パターンなどをまとめる。また，得られた ^{1}H-MRS 信号パターンを，蓄積したデータベースや脳内代謝物に関する文献の ^{1}H-MRS 信号パターンと比較し，疾患／症状の診断の一助とする。

研究方法

対象は脳 MR 画像を撮像する患児とする。脳 MRI 検査時に必要に応じて ^{1}H-MRS 測定を行う。測定は脳内の数部位（例：基底核，半卵円中心，小脳の 3 ヶ所が原則）について行う。1 部位について得られるデータは ^{1}H-MRS データ：数 100 KB 程度，および位置確認用 MRI データ：3 MB 程度である。^{1}H-MRS データから脳内代謝物の定量解析を行うため，パソコン（PC）上で動作する LCModel ソフトウェアを用いる。LCModel は basis-set というモデルスペクトルをソフトウェアに内蔵しており，線形解析を行うことにより，別の代謝物とピークの重なりがある代謝物についてもその絶対濃度推定が可能なソフトウェアである。In vivo 脳代謝物の濃度推定に世界で広く用いられている。データ転送は MR コンソールと PC を LAN ケーブルによって直接つないで行う。得られた代謝物濃度について，疾患や症状との関連性，個人間における比較，個人における経時変化，論文検索による他施設における同疾患／症状の ^{1}H-MRS 信号パターンの比較など，さまざまな事象の記録や情報収集を行い，それらも含めたデータベースの構築を行う。

個人情報の漏洩防止に関しては，1）LCModel は Linux 上で動作し，データベースは Windows に保存するが，前述の PC に Linux および Windows の 2 つの環境を整備するため，^{1}H-MRS データや LCModel 解析結果データ，画像，疾患／病状／年齢の情報など，解析からデータ蓄積までに使用されるさまざまなデータを 1 台の PC に集約する。2）使用する PC は ^{1}H-MRS データ転送以外は LAN ケーブルをつながず，転送元はネットワークから隔離されている。3）データベースは匿名化を行う。4）解析は基本的には当センター内で行う。5）^{1}H-MRS データをより詳細に解析するために当センターから研究分担者が在籍している放医研へ持ち出す場合などは当センターで匿名化を行う，などの対策をとった。

研究成果

臨床的には，平成 20 年からの先行研究と併せて，令和 2 年度末には解析症例患者（1 症例で複数回，5 回以上解析例も含む）番号は 5,111 に達し，今年度の新たな解析症例だけで 396 症例（昨年度 456 症例，これには昨年度以前から継続して経過観察で MRS を施行した症例は含まない），実患者数は 526 人（昨年度 604 人），延解析人数は 585 例（同 712 例）であった。COVID-19 流行の影響による検査数減少の影響を受け解析数も減少したが，1 検査に付き 3 ヶ所の MRS 取得と解析を標準とし有所見例では 5–6 ヶ所を計測することから，全解析数は 2,500 を超える。その全例に MRS の解析報告を作成し担当医に送付した（電子カルテ体制となってからは PACS 上で配信）。9 年前からは従来の神経内科系の全例解析に加えて，新生児の全例解析を継続、未だ報告のない修正 40 週以前の早産児での代謝物の変遷を追うことに力を注ぎ，解析したデータを検討し平成 25 年に論文発表したが [1]，その正常データをもとに新生児例の異常の検出，病態解析を行った。その中には周産期脳障害（新生児仮死）による低酸素性虚血性脳症の治療方針の決定，早産児の退院前の脳の状態評価などが含まれる。新生児を含む低酸素性虚血性脳症と感染などに続発する急性脳症では，代謝物のうち嫌気性解糖の指標である乳酸の検出と，神経細胞活動の指標とされる NAA（N-アセチルアスパラギン酸）低下

により神経予後の予想がより正確になると考えられているが，これらの変遷と患児の予後との関連を追っている。発症時には低体温療法など集中治療の適応の判断に付加情報として用いられており，現時点では臨床判断に不可欠な検査となっており，夜間休日でも急患対応を行っている。満期に近い新生児の低酸素性虚血性脳症における新生児期早期（2 日から 2 週間）の MRS による代謝物の絶対値濃度と予後の関係を解明した研究成果は，国際 MRI 学会等（Aida N, et al, ISMRM 2016 Singapore，柴崎淳他，第 52 回日本周産期・新生児医学会学術集会）で発表を行っていたが，Radiology 誌に一昨年度 2018 年に掲載された [2]。

代謝変性疾患確定例，疑い例でも，緊急，準緊急を含め検査を施行，MRS 解析を行った。代謝疾患が疑われる症例あるいは否定が必要な症例では，神経内科・新生児科以外でも解析を施行するとともに，治療モニタリングとして脳内代謝物の変動を MRS にて解析した。

今年度は COVID-19 感染の広がりにより，発表予定の学術集会の中止や日程変更，開催様式変更により発表機会が大幅に減少したが，成果発表としては，国際学会としては，国際 MRI 学会で富安が Brain glycine quantification in an infant with non-ketotic hyperglycemia: a serial proton MRS study [3] を，共同研究者の新生児科，柴崎がアメリカ小児科学会で，MRS データと拡散強調像の ADC 値の変遷を比較した Changes in Apparent Diffusion Coefficient Values and Brain Metabolite Levels after Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy（Shibasaki J, Niwa T, Tomiyasu M, Morisaki N, Fujii Y, Aida N. Pediatric Academic Societies（PAS）Meeting 2020, Web 2020, 4-5）を発表，国内学会では日本神経放射線学会で脳外科の広川が「小児における Methotrexate（MTX）投与後の白質に関する magnetic resonance spectroscopy（MRS）の検討」をデータをまとめて Web 発表した（広川大輔，富安もよこ，後藤裕明，他，小児における Methotrexate（MTX）投与後の白質に関する magnetic resonance spectroscopy（MRS）の検討. 第 49 回日本神経放射線学会，Web 2020, 4）。また，相田は久留米での放射線科医向けと，名古屋の新生児科医向けの研究会・研修会で本研究の成果を含む MRS の有用性に関する講演（相田典子，小児脳の画像診断：Pediatric Neuroradiology を楽しもう　第 188 回筑後 CT・MRI 研究会　久留米　2020.11.27）（相田典子，新生児の画像診断の見逃しを防ぐために「新生児の頭部 MRI の読影」第 2 回愛知県新生児医療スキルアップ研修会 Web 2020.1.17）を行った。

将来展望

当初は共同研究者である放医研に生データをメディアで送付して定量解析を行っていたため，匿名化はするものの患者データの外部持ち出しと言うことで，倫理委員会の承認を得て書面で同意をとった上での解析を行っていたが，放医研の MRS を専門とする研究者が隔週ごとに来所して解析を行う体制となったため，平成 22 年 4 月より通常 MRI データと同様の扱いとして解析を行うようになった。これにより解析症例数が増加するとともに，正常あるいは正常に準ずる MRS データの蓄積への展望が大きく開けた。また，現在は 1 日勤務の当科非常勤として臨床解析・研究に従事している。解析が迅速に行われるため主治医への情報提供が早くなり，早期診断，治療方針の決定により貢献できる体制となった。当院ではすでに臨床の一部として欠かせない ^{1}H-MRS の定量解析であるが，小児領域では解明しなければならない未知のことが多く，今後もさらに多くの症例 、分野で脳内代謝物の定量解析ができるように，研究費を有効活用して研究者のサポート体制を整え，放射線科・放射線技術科スタッフと神経内科・新生児科をはじめとする臨床各科，放医研の共同研究者と連携し，現体制の臨床研究を継続して小児医療へのさらなる貢献を目指す。今後は蓄積された数年来の膨大な解析データを臨床症状や予後との関連を進めるとともに，早産児の高次機能との関連や自閉症スペクトラムなどの代表される発達障害などとの MRS データの関連を調べ，それらの原因に迫れる可能性はないかについても研究を広げて行きたい。

文　献

1）Tomiyasu M, Aida N, Endo M, et al. Neonatal brain metabolite concentrations: an in vivo magnetic resonance

spectroscopy study with a clinical MR system at 3 Tesla. PLoS One 2013;28;8:e82746.
2）Shibasaki J, Aida N, Morisaki N, et al. Changes in brain metabolite concentrations after neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. Radiology 2018;288:840-848.
3）Tomiyasu M, Shibasaki J, Kawai Y, et al. Quantification of brain glycine in an infant with non-ketotic hyperglycemia: a serial proton magnetic resonance spectroscopy study. ISMRM 2020, Web 2020.8

小児涙道疾患に対する涙道内視鏡を用いた診断と治療

松　村　　望

研究目的と背景

先天鼻涙管閉塞は，涙液の排出路である涙道（鼻涙管）の先天的な閉塞により，乳幼児に目やに，流涙，感染による炎症，などをきたす。新生児の約1割が罹患し，頻度が高い疾患である。自然治癒がみられる一方で，外科的治療を必要とする場合も少なくない。当科においては，毎年150名程度の患児が涙道閉塞症の外科的治療を希望して受診し，このうち9割以上が先天鼻涙管閉塞である。

先天鼻涙管閉塞の外科的治療の第1選択はプロービングと呼ばれ，細長い針金のような道具（ブジー）を涙点から涙道内に挿入し，手探りの感触で閉塞部位をあける治療が歴史的に行われてきた（図1）。この治療は比較的よく奏功する一方で，いつまでも治らず手術治療に抵抗する難治な場合もあり，その違いの原因はいまだ解明されていない。プロービングが奏功しない場合，過去においては，就学頃まで待ってから，顔面の皮切や骨切除を伴う涙嚢鼻腔吻合術を施行していたが，侵襲が大きく，小児に適した手術ではないという問題があった。このようなプロービングが難しい症例に，涙嚢鼻腔吻合術より低侵襲で治療成績のよい治療はないのか，これは患者と眼科医にとって長年の課題であった。また，局所麻酔下でのブジーは，暴れて泣き騒ぐ小児を押さえつけて行うことから，術者にも患者にもストレスの大きい治療であった。ブジーは小児を大泣きさせて行う侵襲的な治療であり，また，涙嚢鼻腔吻合術は全身麻酔下だが手術そのものの侵襲が大きく，どちらの治療にも問題があった。筆者は当科に赴任した直後から，「どちらの治療であっても患児がかわいそうに思えるので，涙道手術だけはやりたくない」と思って，長らく避けていた。このことが結果として，自分が内視鏡を使った涙道手術の専門家になる道につながったことは，皮肉な結果なのかもしれない。まさに必要は発明の母，これが本研究を開始した背景であり，動機である。

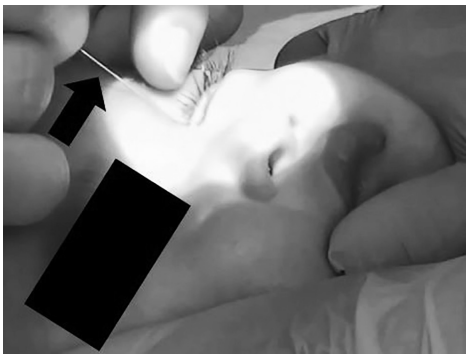


図1　先天鼻涙管閉塞のブジー治療。
矢印がブジー（針金）。近年当科では催眠鎮静下で施行している。

神奈川県立こども医療センター　眼科

研究成果

本研究では，院内倫理委員会の承認を得て，2012 年より涙道内視鏡を用いた小児の涙道閉塞症に対する治療を開始した。2021 年 3 月までに，延 154 例の涙道内視鏡手術を全身麻酔下で行った。

1）治療成績

涙道内視鏡を用いた涙道閉塞症の治療を行った延 154 例のうち，先天奇形症候群および顔面奇形を伴わなかった 131 例に関しては，全例で治癒もしくは点眼などの加療を必要としない軽快が得られた。先天鼻涙管閉塞に関しては治癒（無症状で終診となった症例）率 100 %であり，再発率はこれまで 0 %である。後天性涙道閉塞は，流行性角結膜炎後の涙小管閉塞の 2 例に軽度の症状が残存しているが，それ以外は全例治癒となった。このように，先天鼻涙管閉塞の治療としては画期的と呼べるほどの著効を示している。

一方で，先天奇形症候群および顔面奇形をともなう症例に関しては，約半数の症例でなんらかの症状が残り，完治には至らないケースが多いことがわかった。もっとも多い症候群はダウン症候群であるが，先天的に涙小管が低形成であったり，欠損していたり，涙道そのものが狭小であったりすることが治癒率を悪化させていることが本研究の結果として明らかになった。また，ダウン症候群の場合，生来狭小な涙道に，早期から後天性涙道閉塞を合併しやすいことも本研究で明らかになった[1)]。先天奇形症候群に伴う涙道閉塞の治療に関しては，今後の課題である。

2）涙道内視鏡で得られた観察所見

これまで手探りの感触だけで「想像」していた涙道内を「みる」ことができるようになったことで，さまざまな発見があった。この結果をもとに，われわれは先天鼻涙管閉塞の涙道内視鏡所見を分類し，2019 年に Transcanalicular endoscopic primary dacryoplasty for congenital nasolacrimal duct obstruction. として国際誌に発表した[2)]。主な内容としては

- 先天鼻涙管閉塞は，鼻涙管下端の 1 ヶ所のみが閉塞部位である
- 単純型（膜状閉塞，切れ込み型）と複雑型（瘢痕型，狭窄型）に分類
  単純型 73 %，複雑型 27 %
- 9 %に涙道内結石を合併していた

本報告においてはすべての症例で涙管チューブを挿入したが，実際には複雑型に対して涙管チューブ挿入が有効と考えられる。このような所見による治療方針の違いについては，今後の研究課題である。

また，小児の涙道閉塞症の 9 %もの症例に涙石内結石がみられたことは，本研究において明らかになった新たな発見であった。

複雑型の中の瘢痕型に関しては，われわれの涙液中サイトカイン濃度測定の研究によって，先天鼻涙管閉塞の涙液中には炎症性サイトカインの IL-6 が多く含まれていることがわかった[3)]。このことから，遷延する先天鼻涙管閉塞においては，涙道内に瘢痕化が起こることの一因が解明され，治療時期の議論にも一石を投じることとなった。

3）涙道内視鏡の画質の向上と周辺機器の進歩

本研究を開始した 2012 年に使用していたプローブは6,000画素（もしくは3,000画素）であった。その後，機器の進歩によって 10,000 画素のプローブが発売され，さらに，2018 年にはデジタルハイビジョンの発売，2020 年には画像鮮明化装置の開発によって，画質は格段に進歩がみられる（図 2）。画像鮮明化装置はまだ当科では導入できていないが，これらを導入し，鮮明な画質を生かしてより多くの情報を蓄積し，涙道内視鏡のカラーアトラスの作成などを検討したい。

さらにわれわれは，昨年，涙道内視鏡手術に役立つ涙点拡張針（松村・大高式涙道手術用涙点拡張針／イナミ社）を開発した（図 3）。これは，涙道内視鏡を挿入するのに必要な直径 1.0 mm の涙点拡張（挿入口の拡張）を正確に行うためのゲージ付きの拡張針である。正確なサイズ測定に加え，先端がやや鈍になっており，涙道内を傷つけにくい設計である。また，フットポンプと呼ばれる足踏み式の通水機器が開発されたことで，助手に通水してもらわなくても術者が通水量をコントロールできるようになった。このような周辺機器の開発などによって手術はより早く，正確に行えるようになり，涙道内視鏡手術がより一般的に普及しやすくなった。

図 3 写真下段が新しい拡張針，上段は従来品である。新しい拡張針は涙点拡張の際に涙道内視鏡を

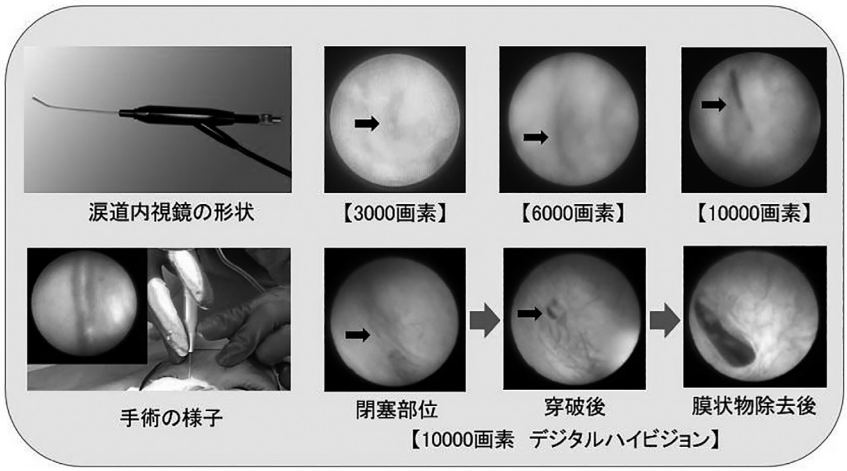


図２　涙道内視鏡の進歩と画質の向上（先天鼻涙管閉塞の観察）

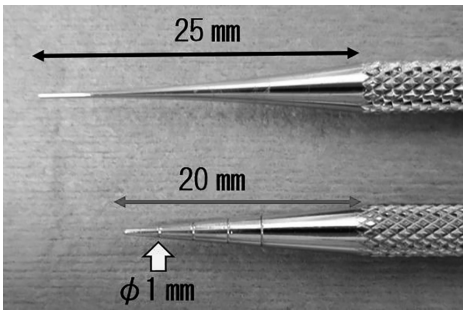


図３　松村・大高式涙道手術用涙点拡張針（イナミ社）2020 年発売

挿入するのに必要な至適サイズの拡張（直径 1 mm）ができるようにゲージが記されている。また先端を鈍にしてあり，涙道内を傷つけにくい設計になっている。

今後の課題と目標

以上をまとめると，これまでわれわれの研究をもとに，小児の涙道閉塞の病態を観察することでさまざまな知見を見出し，世界的に議論のある「先天鼻涙管閉塞の治療」にあらたな一石を投じることとなった。これらの研究成果では海外でも高く評価され，国際学会での発表，国際誌への発表などを機に，海外からの見学の医師が来院される機会なども増えた。2020 年 6 月には国際学会で新しいデジタルハイビジョン高画質の涙道内視鏡をもちいた小児の涙道手術の発表を予定していたが（ロンドン），新型コロナのパンデミックの影響によって国際学会は中止となった。この後は別の形での開催になると思われるが，それまでにさらに実績を積んで高画質の動画や新しい知見をまとめたい。

また，小児への導入はわれわれの施設が世界で最も早く，かつ症例数も多いと言える状況にあるが，近年ではほかの施設でも小児に対する涙道内視鏡手術が実施されるようになってきた。これに伴い，技術の伝承や，未熟な技術での手術による予想外のトラブルなども考慮すべき段階となってきた。このような背景の中で，先天鼻涙管閉塞の治療方法のひとつとして「涙道内視鏡を用いた手術」という選択肢をどのように加え，より安全で正確な治療を行うべきか，なんらかの指針が必要となった。このような背景のなか，現在日本涙道・涙液学会において，「先天鼻涙管閉塞治療ガイドライン」を Minds 形式に準拠して作成を予定しており，この統括を担当し，現在システマティックレビューを行っている段階である。（https://minds.jcqhc.or.jp/registry_guideline/guideline_summary?registry_id=42）

涙道内視鏡を用いた小児の涙道手術を発展させる一方で，一般に普及する手術としてどのような位置づけとするか，今後の課題として検討したい。

文　献
1）Matsumura N, Goto S, Yamane S, et al. High-resolution dacryoendoscopy for observation for pediatric lacrimal duct obstruction. Am J Ophthalmol Case Rep 2016;1:23-25.
2）Matsumura N, Suzuki T, Goto S, et al. Transcanalicular endoscopic primary dacryoplasty for congenital nasolacrimal duct obstruction. Eye（Lond）2019;33:1008-1013.
3）Matsumura N, Goto S, Uchio E, et al. Cytokine profiles of tear fluid from patients with pediatric lacrimal duct obstruction. Invest Ophthalmol Vis Sci 2017;58:252-256.

小児胚細胞腫瘍における細胞遺伝学的異常と発症部位・年齢・予後との関連の検討

梅　本　沙代子[1)]，田　中　水　緒[1)]，永　原　則　之[1,2)]
田　中　祐　吉[1)]

要　旨

現在までに詳細な分子細胞遺伝学的な検討に乏しかった小児胚細胞腫瘍の病態解明を目指して，組織学的および分子細胞遺伝学的に継続して検討を行っている。一昨年度は当院で外科的に切除された仙尾部胚細胞腫瘍症例を抽出し，臨床および組織学的検討およびFISH法の構築に取り組んだ。昨年度は仙尾部胚細胞腫瘍の中で，特に奇形腫と卵黄嚢腫瘍が混在する症例について組織学的検討を行った。

背　景

胚細胞腫瘍 germ cell tumor（GCT）は，臓器と年齢によって好発する腫瘍が異なり，異なる分子遺伝学的特徴を示すと言われており，精巣や卵巣の GCT，思春期以降の GCT などではその病因がかなり明らかにされている。例えば精巣のセミノーマ，胎児性癌，思春期以降に発生する卵黄嚢腫瘍 yolk sac tumor（YST）や奇形腫などは isochromosome 12p（i（12p）），あるいは 12p 増幅が特徴である。

一方，小児の GCT は成人発症に比してその数が圧倒的に少ないため，研究が十分進んでいない。その中で仙尾部 GCT は乳幼児に好発する特異な腫瘍で，多くは出生時よりみられ，巨大であることも少なくなく，しばしば治療に難渋する。ときに切除後数年以内に同部位に悪性腫瘍（主に YST）が発生することが知られており，かつ，初回の奇形腫標本では明らかな悪性成分を認めず，もしくは切除断端陰性であったにも関わらず悪性腫瘍が発生することも経験され，臨床的問題も大きい。仙尾部 GCT の分子細胞遺伝学的背景を明らかにすることで，的確な診断と治療方針の決定に有用な所見が得られることが期待される。

方　法

当院開院時から 2018 年までに外科的切除された仙尾部 GCT 症例のうち複数回外科的切除された症例を抽出し，臨床病理学的検討を行った。

結　果

当院開院時から 2018 年までに外科的切除され仙尾部 GCT として報告された 77 例中，12 例が複数回外科的に切除されていた。うち 3 例が初回切除時に奇形腫と診断され，8 例が YST と診断されていた。初回奇形腫と診断された 3 例いずれも後発検体内に YST を認めており，うち 2 例は奇形腫を合併していた。この 2 例の初回奇形腫検

1）神奈川県立こども医療センター　病理診断科　　2）日本医科大学　共同実験センターアイソトープ教室

体内には明らかなYSTおよびその他悪性所見は認められなかった。初回YSTと診断された8例は，全員術前化学療法（もしくは放射線治療も追加）を施行され，うち6例は治療後標本内に奇形腫とYSTを合併していた（図1）。初発年齢はいずれも6歳未満で，初発奇形腫群およびYST群の発症年齢はそれぞれ，1歳未満が3例／1例，1歳から6歳未満が0例／7例（うち6例が2歳未満）であった。残る1例は，胎児期より仙尾部腫瘤を認めており，大きさが変わらず経過観察されていたが，5歳時に思春期早発症状が出現したため生検した結果，成熟奇形腫とsteroidogenic tumorを合併していた[1]。化学療法後に摘出された検体には奇形腫のみを認めた。

考　察

抽出の結果，複数回切除された12例中8例（67 %）で，後発切除検体内に奇形腫，YSTの混在を認めた。仙尾部GCTにおいて，奇形腫とYSTが混在して認められることは知られており，仙尾部GCTの約10 %，悪性仙尾部GCTの30–40 %を占めることが報告されている。今回われわれが調べた結果は，一般的に報告されている割合よりも高い数値を示した。考えられる理由として，特にYSTにおいてはその成分の有無が予後を左右するため，奇形腫の混在についてはよほど面積が大きくない限り，あまり注意深く検討されていない可能性が考えられる。また，初発奇形腫群の後発検体内にYSTが認められたが，一般的に奇形腫がYSTに転化することはないとされており，当該症例にも両成分の明瞭な移行像は認められなかった。かつ，外科的完全切除後に発生していることから，奇形腫切除後のYSTは「再発」ではなく，奇形腫と同時 / 異時多発性に発生 / 存在していた可能性が示唆され，われわれの過去の報告を裏付ける結果となった[2]。

先に述べたように，仙尾部GCTでは奇形腫＋YSTの混在が知られているが，概念としてまだ明確に規定されていない。一方精巣では，現行のWHO（2016）で奇形腫＋YSTの概念が思春期前型（pre-pubertal type）として明記されており，精巣の思春期後型（post-pubertal type）のYSTや奇形腫でみられるisochromosome 12p（i(12p)），あるいは12p増幅を欠くとされている。同様に，精巣でteratoma with somatic-type malignancyとして規定されている概念が，仙尾部GCTでは未だ確立していない。teratoma with somatic-type malignancyは精巣GCTの3–6 %を占め，思

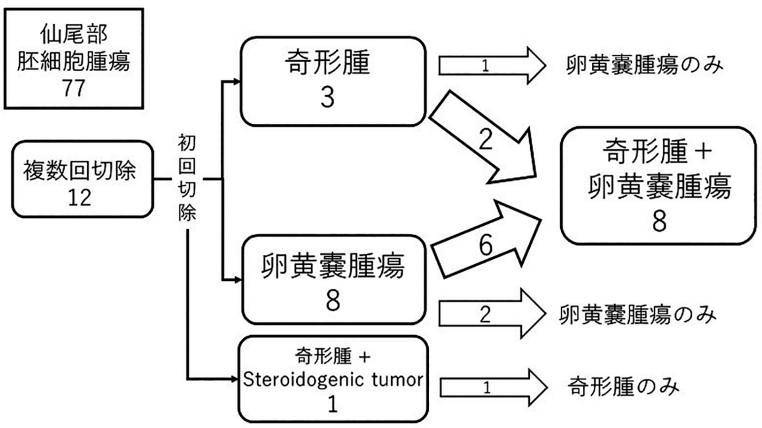


図1　当院開院時から2018年までに外科的切除された仙尾部胚細胞腫瘍のうち，複数回切除された症例の組織型とその内訳

春期以降にしか発生しないとされており，post-pubertal type の YST や奇形腫同様，12p 増幅（その多くが isochromosome 12p（i(12p)）の関与が多いことが報告されている。今回 1 例に認められた teratoma with steroidogenic tumor を含む仙尾部 GCT でも，精巣の teratoma with somatic-type malignancy を含む GCT と同様の組織学的および分子遺伝学的特徴があるのかどうか，昨年度確立した FISH 法等を用いての検討を続ける予定である。

文　献

1）Yoshida M, Tanaka M, Gomi K, et al. Malignant steroidogenic tumor arising from sacrococcygeal mature teratoma. Hum Pathol 2011;42:1568-1572.
2）Yoshida M, Matsuoka K, Nakazawa A, et al. Sacrococcygeal yolk sac tumor developing after teratoma: A clinicopathological study of pediatric sacrococcygeal germ cell tumors and a proposal of the pathogenesis of sacrococcygeal yolk sac tumors. J Pediatr Surg 2013;48:776-781.

唇顎口蓋裂に対する自己多血小板血漿 / フィブリンの臨床応用
－再生医療等安全性確保法下での実施と基礎研究－

小林眞司[1)]，安村和則[1)]，杉山　円[1)]
福井厚子[1)]，平川　崇[1)]，新保裕子[2)]
田中祐吉[3)]

目　的

唇顎口蓋裂患児に対する乳幼児期の歯肉粘骨膜形成術は，顎裂部に骨を形成させる手技である。しかし，狭い顎裂部では良好な骨形成を得られるが，広い顎裂部では十分に骨形成ができないために，顎裂部への骨形成を促進する移植材料の必要性が高まってきた。移植材料の中でも多血小板血漿 / フィブリン platelet rich plasma/fibrin（PRP/F）は，血小板のα顆粒に含まれているサイトカインを脱顆粒させることで皮膚や骨組織に関して治癒促進効果を期待するものであり，骨欠損部に移植すると骨形成が促進されることが報告されている。臨床的には，平成 26 年 11 月 25 日より施行された「再生医療等の安全性の確保等に関する法律（平成 25 年法律第 85 号）」（再生医療等安全性確保法）下の第 3 種細胞群として「PRP/F による再生医療」を行っており，全症例で安全に施行できている。一方，基礎的には in vivo において T 細胞機能欠如ラット（F344/NJcl-rnu/rnu : ヌードラット）の顎裂部へ PRP の移植を行うとともに新規のゼラチンハイドロゲルシートに含有させて移植を行い，骨形成能の機序を解明することを目的とする。

対象と方法

臨床：再生医療等安全性確保法下に「口唇顎裂」患児に対して「PRP/F による再生医療」を行った後に PRP 移植群，PRF 移植群に分類して 5 歳時の CT にて骨形成評価を行った（図 1）。基礎：ヌードラット（n=16）の上顎の門歯－犬歯間に直径 1.5 mm の骨欠損を作製し，5 % PRP および 5 % PPP（乏多血小板血漿）を新規のゼラチンハイドロゲルシートに含浸させて移植した。ゼラチンハイドロゲルシートは，京都大学ウイルス・再生医科学研究所で開発されたものを供与され使用した（図 2）。

1）神奈川県立こども医療センター　形成外科　　2）同　臨床研究室　　3）同　病理診断科

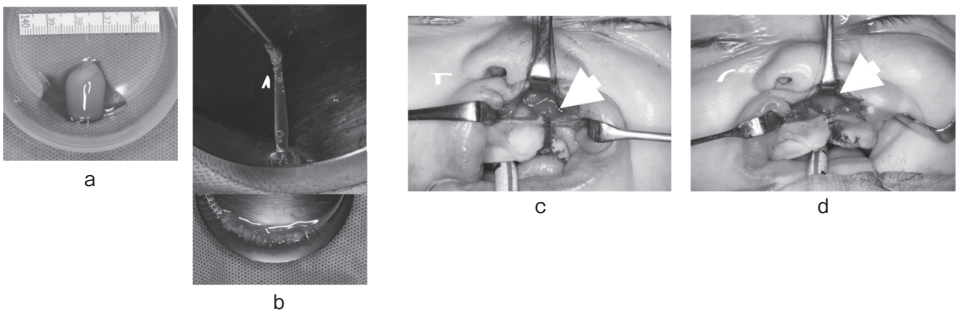


図1　PEP/F 移植方法
PRP と PRF（a, b），顎裂部へ移植された PRP（c）と PRF（d）

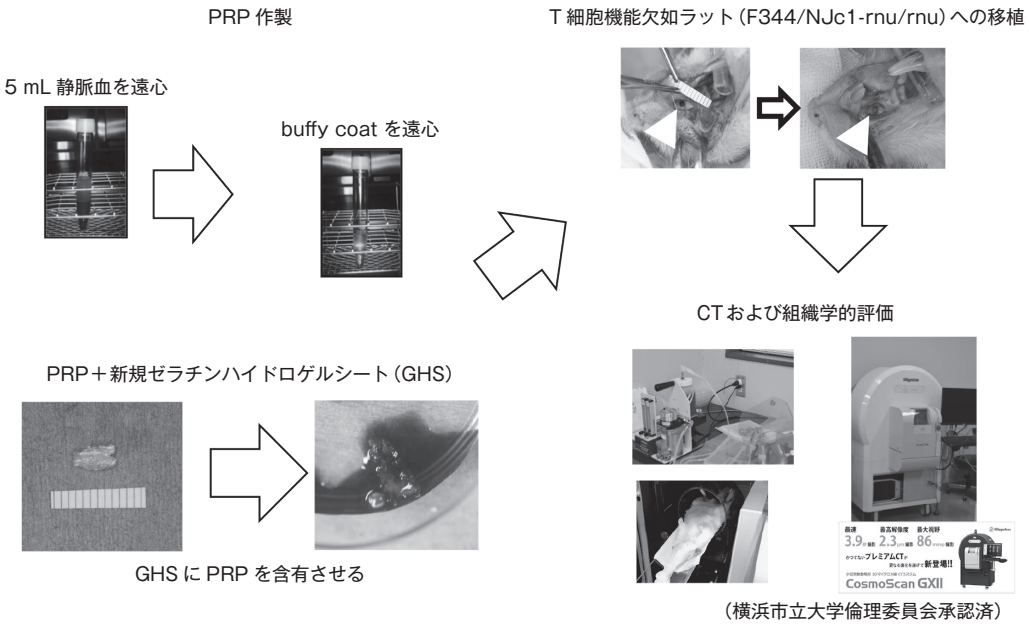


図2　ヌードラット（F344/NJcl-rnu/rnu）の顎裂部へ PRP＋ゼラチンハイドロゲルシート移植

結　果

臨床的には，「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」下に「PRP/F による再生医療」を行い，全 57 症例で手術直前に自己血液を採取することができ，術中の不具合はなく安全に施行することができた。また，感染などの術後合併症もなかった。5 歳時の CT による顎裂部骨形成の定量的解析を行った結果，骨欠損部の体積は，PRP移植群：302.2 ± 67.4 mm^3，PRF移植群：197.6 ± 88.8 mm^3 であり，統計学上有意に PRF 移植群の骨欠損体積が少なかった（図 3）。したがって PRF 移植群は，PRP 移植群よりも統計学上有意に骨形成率は高かったことが明らかとなった。基礎的には，in vivo において移植後 4 ヶ月の組織学的検討では，PRP＋ゼラチンハイドロゲルシート移植群は，乏血小板血漿（PPP）＋ゼラチンハイドロゲルシート移植群と比較して骨が形成されていたが，計測することができないほどの差であった（図 4）。

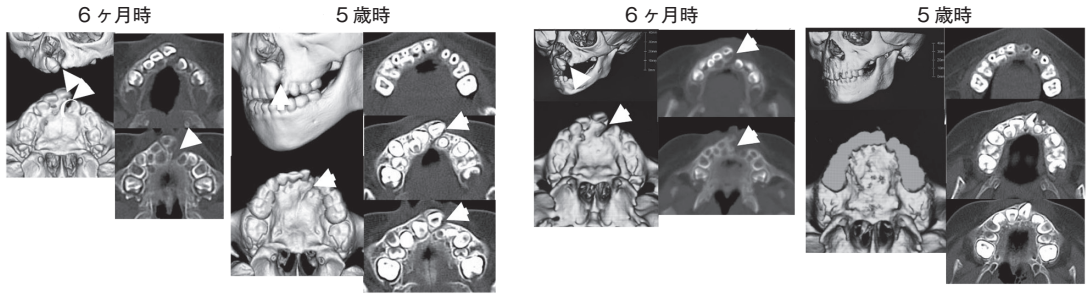


図3　移植前の生後6ヶ月時と5歳時のCT評価
PRP移植群では生後6ヶ月時に骨欠損を認め（白矢頭），5歳時にもやや骨欠損を認める（左図　白矢頭）。一方，PRF移植群では6ヶ月時に骨欠損を認めるが（右図　白矢頭），5歳時には骨形成を認める。

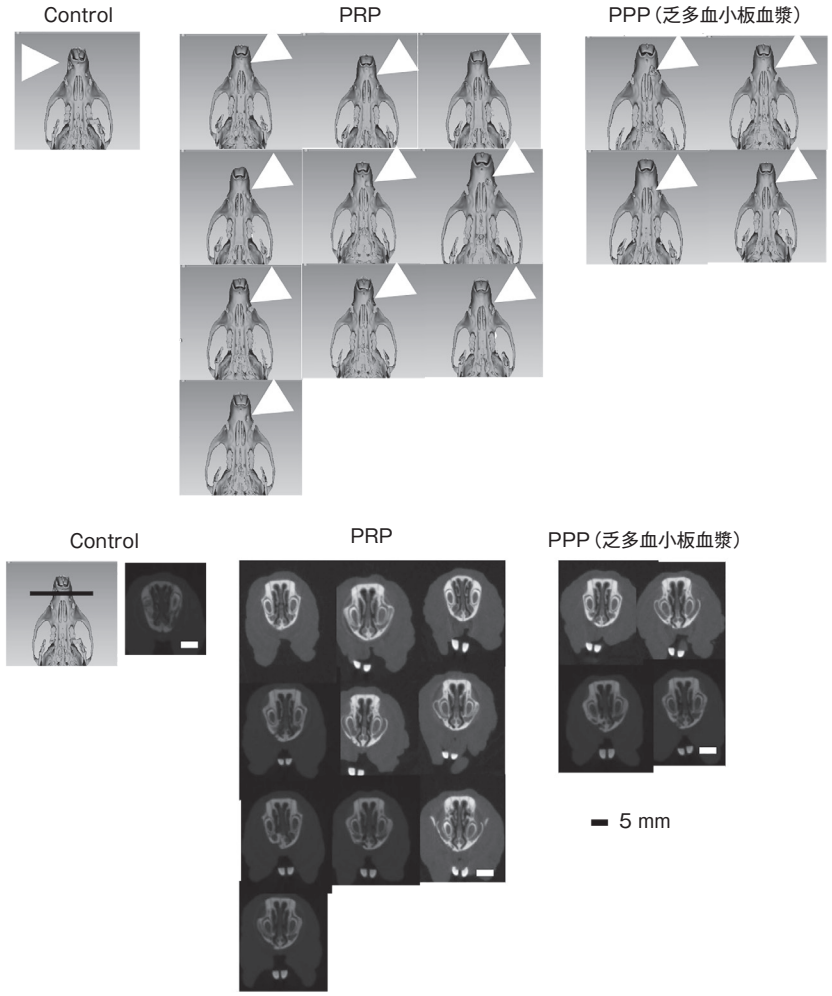


図4　PRP＋ゼラチンハイドロゲルシート移植後4ヶ月

考　察

統計学上有意にPRF移植群の方が高い骨形成率を示した原因は，フィブリンに囲まれたPRF中のサイトカインが徐放化され，ある程度の時間をかけて放出したからだと推測される。一方で，PRP移植群の骨形成率が低い原因は，移植したPRPが溶け出してしまい，長時間移植部位に留まらないためであると推測された。この問題を解決するためには，PRPを長期間徐放することができる新規の徐放化システムが必要であり，理想的には，PRFよりも長時間にわたって徐放化するシステムが望ましい。そこで京都大学ウイルス・再生医科学研究所生体材料学分野にて新たに開発された徐放化システムを用いたが，作製した骨欠損が小さく定量評価が困難であった。作製した骨欠損部が小さいことが原因であると考えられ，再度大きな骨欠損を作製したヌードラットの顎裂部へのPRP＋ゼラチンハイドロゲルシート移植を行う予定である。また，「PRP＋ゼラチンハイドロゲルシート移植」法を第3種再生医療等提供計画に基づいて認定再生医療等委員会へ申請する準備も並行して行う予定である。

頭部MRI arterial spin labeling（ASL）画像を用いた小児の画像診断の研究

藤田和俊[1)]，相田典子[1)]，野澤久美子[1)]
藤井裕太[1)]，森田有香[1)]，嶋貫勝則[2)]
草切考貴[2)]，林　浩史[2)]，丹羽　徹[3)]

研究の動機と必要性

脳血流灌流を計測する目的は多岐にわたり，臨床ではもやもや病を含む脳血管障害，脳腫瘍，てんかん，変成疾患などの画像診断に用いられる。灌流の計測は成人領域では以前より放射性薬品である組織拡散トレーサを用いたSPECTやPETで行われてきており，近年では造影剤を急速静注し，CTやMRIを用いたダイナミック計測も普及してきた。近年，MRIの検査技術の進歩から，造影剤を用いずに脳血流灌流を可視化する画像が注目をされている。ASLは動脈血のスピン（プロトン）を標識し，これを内因性トレーサとして利用することで脳血流の灌流像を得る。

神奈川県立こども医療センター放射線科は，1.5 Teslaおよび3 Tesla MRI装置の更新により，全脳をカバー可能な3Dのボリュームデータとして，ASLを用いた非造影のMR灌流画像撮像が撮像できるようになった。通常のMRI検査に引き続いて検査が可能であり，造影剤を用いないことから，繰り返し検査が可能である。しかし，小児領域でのデータの蓄積は少ない。よって，現在主流となっている放射性薬品を用いた脳血流の灌流画像と比較検討を行い，代換可能と評価されれば，患児への精神的・経済的負担も大きく軽減され，小児医療全体への貢献も期待される。

課題解決の目標

当センターでは小児専門病院という特性のため，健常な小児および小児神経疾患罹患児のデータを取得し，年齢や疾患によって分類されたデータベースを構築することが可能である。脳血流SPECT画像や造影MRIが必要とされる症例（脳腫瘍や脳炎など）で造影剤を用いた灌流画像撮像と既知の脳血流SPECTの報告との比較検討を順次行う。

1）神奈川県立こども医療センター　放射線科　　2）同　放射線技術科　　3）東海大学　画像診断科

現在までの進捗および今後の展望

MRI 3 Tesla 装置の更新により，複数の条件の非造影剤灌流画像を同時に取得可能となっている。現在，post labeling delay を 480 msec, 980 msec, 1,480 msec, 1,980 msec, 2,480 msec, 2,980 msec と複数設定し，症例の蓄積を行っている。また，上述したように造影剤を用いた灌流画像撮像と既知の脳血流 SPECT の報告との比較検討を順次行う。また，脳の形態には個人差があり，厳密な比較は難しい。しかし，この個人間の脳の形態の差異を解消し，脳血流 SPECT との対比のために形態の異なる各個人の脳機能情報（この研究では脳血流）を標準脳に合わせるように変形させる技法がある。現在，標準脳による統計学的解析を行えるように精査をしている。

新規技術を用いた小児躯幹部 MRI 画像診断に関する研究

藤　井　裕　太

研究の動機と必要性

現在小児の肺・腹部・骨盤といった部位の，いわゆる躯幹部検査の多くは CT が使われる。これは CT における良好な空間分解能，高速撮影といった利点に加え，MRI における空間分解能の低さ，撮影時間の長さや，動きへの弱さ，騒音といった旧来からの問題点が理由となる。これは特に小児においては，長い時間，安定した鎮静が必要な原因ともなり，安全性担保の面からも高いハードルとなる。しかし昨今，技術の進歩により MRI における撮像シーケンスは高速化し，画質の向上や撮像時間の短縮など被検者への検査負担を低減し，多くの情報を効率良く取得できるようになった。また深刻な騒音に対しても，静音性の高いシーケンスの開発が進められるなど，MRI 検査の問題点は日進月歩に改善されている。国内外において医療被ばくの観点から，CT を代用しうる MRI 検査への期待・ニーズは高まる中，新規技術が小児躯幹部 MRI 検査の環境を変化させ，検査適応をより柔軟に行える素地は整えられてきている。

しかし，こうした新しく開発された技術は，臨床現場，特に小児領域でのデータ蓄積はまだ少ない。よってこれらの新規技術が臨床現場において従来の MRI 撮像の問題点をどれだけ改善できるか，そして CT と代替が可能かどうか，その際に注意すべき点はどういったものがあるか，比較検討を行う必要があり，この研究成果を学会や論文などにより世界に発信することの意義は非常に大きい。

課題解決の目標

当センターでは小児専門病院という特性のため，健常な小児および小児神経疾患罹患児のデータを取得し，年齢や疾患によって分類されたデータベースを構築することが可能である。このような環境にあることから，小児領域における新規技術における躯幹部 MRI の有用性の検討を行うことは責務とも考えられる。胸部・腹部領域における新規シーケンスと従来シーケンスや CT との比較検討を行い，データの収集および蓄積により得られた知見は，学会や論文で発表し，小児医療の発展に貢献する。

発展性

新規に開発された（例えば StarVIBE や PETRA

神奈川県立こども医療センター　放射線科

など動きに強い高速撮影技術）は，小児において実用的な肺や腹部の MRI 撮影を可能としうるが，これらのシーケンスの利点を，別の有用なシーケンス（拡散強調画像や位相強調像など，より特化された検査シーケンス）にも応用し，より臨床で有用な技術へと，新たに繋げていくことも可能となる。

期待される成果および医療現場等への波及効果

小児期の CT 撮像とその医療被ばくによる発がんのエビデンスが報告されている昨今，CT 撮像の適応はこれまで以上に厳密に決定すべきであり，被ばくのない MRI 撮像のニーズが高まっている。新規技術による MRI が将来の小児画像診断における重要な位置を占めれば，医療被ばくの問題も回避でき，また鎮静の必要性も低くなると期待される。また騒音や息どめによる患児への精神的・身体的負担は軽減され，それにより再検査，再撮像の必要性がなくなれば医療現場における検査効率の向上や経済的負担の軽減も期待できる。

具体的な研究実施計画・方法

悪性腫瘍を指摘された患児において，本来の画像診断に対して必要な従来シーケンスに加え，PETRA の胸部撮像や，StarVIBE による腹部骨盤造影検査を行う。本来の診療業務に関しては十分に行われることを保証する。これらの検査を CT 等他の modality 画像との比較を行い，診断に堪えうるか評価を行う。

個人情報の漏洩の防止のため，解析からデータ蓄積までのさまざまなデータは院内読影端末および 1 台の PC で保存する。解析は基本的に当センター内で行い，解析前後のデータを外へ持ち出す場合は匿名化を行う。

これらのデータベースを構築し，研究成果を学会や論文などで世界に発信する。

研究成果

臨床的には，令和 2 年度には 145 件（84 人）を撮影した。

平成 29 年 4 月の日本医学放射線学会総会で発表した，「嚢胞性肺疾患の新生児 5 症例で撮影された PETRA の肺 T1 強調画像と，病状評価および術前評価のため撮影された肺 CT 画像を比較し，区域気管支までの気道や，病変の評価が可能で，診断に堪えうる」とした研究（“Proton-weighted Pointwize Encoding TimeReduction with Radial Acquisition（PETRA）for Assessing the Airway and Lungin Neoate and Infants”）を Magnetic Resonance in Medical Sciences 誌に投稿し，平成 31 年 10 月に publish された（“Imaging of Cystic Lung Lesions in Infants Using Pointwise Encoding Time Reduction with Radial Acquisition（PETRA）”）。

令和 3 年 4 月の日本医学放射線学会総会で「3D-USV シーケンスを用いた MRI による小児および若年成人の肺評価」を発表した。

参考文献

Grodzki DM, Jakob PM, Heismann B. Ultrashort echo time imaging using pointwise encoding time reduction with radial acquisition（PETRA）. Magn Reson Med 2012;67:510-518.

Ida M, Wakayama T, Nielsen ML, et al. Quiet T1-weighted imaging using PETRA: initial clinical evaluation in intracranial tumor patients. J Magn Reson Imaging 2015;41:447-453.

Dournes G, Grodzki D, Macey J, et al. Quiet Submillimeter MR Imaging of the Lung Is Feasible with a PETRA Sequence at 1.5 T. Radiology 2016;279:328.

Nozawa K, Niwa T, Aida N. Imaging of Cystic Lung Lesions in Infants Using Pointwise Encoding Time Reduction with Radial Acquisition（PETRA）. Magn Reson Med Sci 2019;18:299-300.

Fontan患者における肺動静脈瘻と免疫機能のメカニズムの解明

市　川　泰　広

目　的

先天性心疾患術後，とくに右室を介さずに直接静脈血が肺動脈に還流する血液循環であるFontan手術後の患者において，遠隔期の合併症が問題となっている。肺動静脈シャント，たんぱく漏出性胃腸症などの評価に使用可能な新規バイオマーカーを開発することと，同時に正常の血液循環と比較して低下するといわれる免疫機能に関して，分子的なメカニズムからの評価することで病態の解明を目的とする。臨床症状とこれらの解析結果を総合し，病態の解明やバイオマーカーの発見，新規治療法の確立を目指す。Fontan手術とは，上大静脈，下大静脈の両方を肺動脈とつなぐ手術のことであり，使える心室が1つしかない先天性心疾患に対して適応となる。Fontan手術を行うことでチアノーゼは改善するが，近年Fontan手術後の遠隔期の心内，心外の合併症の報告が目立つようになった[1]。心外の合併症として肺動静脈瘻，たんぱく漏出性胃腸症などが多く報告される。肺動静脈瘻に関しては冠静脈還流に含まれるHepatic Factor Xの少ない肺血管に生じやすいといわれる[2]。たんぱく漏出性胃腸症による免疫機能低下も重要な問題である[3]。これらの合併症のメカニズム，治療法に関しては十分にわからないことも多く，メカニズムの解明，合併症の活動性のバイオマーカーの開発が望まれる。

研究方法（図1）

神奈川県立こども医療センターで，外来通院中および入院中のFontan手術後の患者から選定する。同時に，対象群として二心室修復の手術を行い，血流動態が正常に修復された（心室中隔欠損

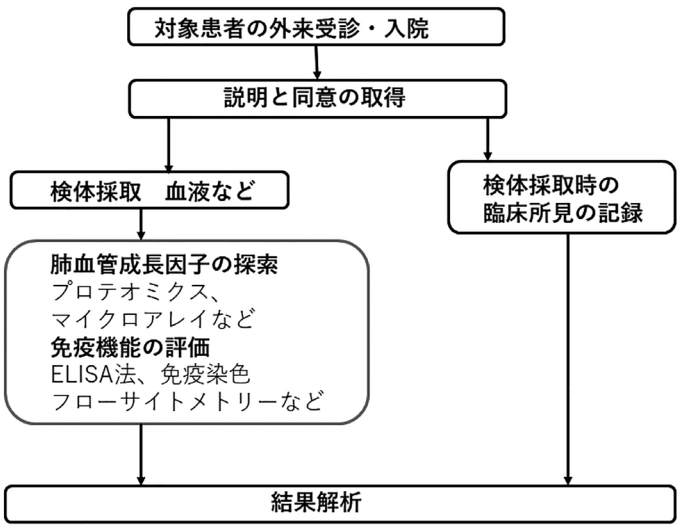


図1　本研究のシェーマ

神奈川県立こども医療センター　循環器内科

症，ファロー四徴症，房室中隔欠損症など）患者を選定する。

［観察・検査項目］

Fontan 循環患者，二心室修復術後の患者（対象群）ともに下記の項目を観察する

①現病歴，既往歴，家族歴，身体所見，検査結果，経過，合併症

②血液中の蛋白 / 小分子，血液中の免疫担当細胞（リンパ球や好中球など）の分画のプロファイルや活性化，細胞内蛋白の発現

［観察・検査方法］

当センターで採取した検体は，横浜市立大学医学研究科発生成育小児医療学の研究室で解析を行う。

・対象疾患の患者において，初発時を含む経過中，合併症発症時などに，血清，血漿中の蛋白および小分子の測定を ELISA，ウエスタンブロット，プロテオミクス，メタボロミクス等の手法を用いる。

・対象疾患の患者の血液中の免疫担当細胞（リンパ球や好中球など）の分画のプロファイルや活性化，細胞内蛋白の発現などをフローサイトメーターやマイクロアレイ，ウエスタンブロット等の手法で解析する。

・対象症例の臨床データを診療録から抽出する。抽出項目は，発症年齢，性別，検査データ，臨床経過などである。

［研究の進捗状況］

本研究は倫理委員会の承認を受けており，2021 年 2 月より検体採取を開始した。2021 年 4 月現在は検体サンプルを収集中であり，まだ論文化・成果の発表ができる時期ではない。2021 年夏ごろにはサンプルが集まると考えられ，検体の解析を開始する予定である。

文　献

1）Gewillig M, Brown SC. The Fontan circulation after 45 years: update in physiology. Heart 2016;102:1081-1086.

2）Imoto Y, Sese A, Joh K. Redirection of the hepatic venous flow for the treatment of pulmonary arteriovenous malformations after Fontan operation. Pediatr Cardiol 2006;27:490-492.

3）Pundi KN, Johnson JN, Dearani JA, et al. 40-Year Follow-Up After the Fontan Operation: Long-Term Outcomes of 1,052 Patients. J Am Coll Cardiol 2015;66:1700-1710.

早産児に対する十二指腸チューブ栄養の呼吸への急性効果

下風朋章，豊島勝昭，斎藤朋子
勝又　薫

はじめに

早産児の慢性肺疾患と胃食道逆流との関連の有無は報告によりさまざまである[1-5]。胃食道逆流による誤嚥は慢性肺疾患に悪影響を及ぼす可能性がある。

成人においては胃食道逆流に十二指腸栄養が有効であり，ガイドラインにも治療法の 1 つとして示される[6]。

胃食道逆流は早産児では珍しくない[7]。十二指腸栄養を行った小児患者を対象とした小規模な無作為化比較試験では，人工呼吸管理期間の短縮は認められなかった[8]。しかし，早産児における十二指腸栄養と慢性肺疾患の関係を調べた質の高い臨床試験はない[9]。

神奈川県立こども医療センター　新生児科

日本の新生児医療を行っている約 50 %の施設では，早産児の呼吸状態の悪化を防ぐために十二指腸栄養を行っている[10]。人工呼吸器管理をしている早産児の呼吸に対する十二指腸栄養の短期的な効果を評価するために，後方視的な観察研究を行った。

方　法

2014 年 1 月から 2019 年 12 月までに，在胎 30 週以前に出生し，生後 24 時間以内に入院した児を対象に，十二指腸栄養と呼吸状態との関係を検討した。多発奇形のある児や早期死亡の児は除外した。

人工呼吸器依存患者に対して，生後 1 週以降に目標飽和度（SpO_2）を 88–95 %に維持するために，酸素吸入濃度（FiO_2）が 0.3 以上に増加した場合に，十二指腸栄養を行った。十二指腸チューブの挿入は，新生児科医がベッドサイドでスタイレットや X 線透視を使わずに施行した。

パルスオキシメーターを用いて 15 分毎に SpO_2 値を取得した。十二指腸栄養の開始前 96 時間および開始後 120 時間の平均気道内圧，振幅圧，および pCO_2 を取得した。15 分毎の SpO_2/FiO_2 比を測定し，十二指腸栄養の酸素化への影響を，開始前 96 時間以内と開始後 48–120 時間の SpO_2/FiO_2 比の傾きを比較して評価した。開始前後の SpO_2/FiO_2 比の 1 時間あたりの変化率を傾きで示した。誤嚥を抑えて呼吸状態を改善するには少なくとも 2 日要すると推定したため，十二指腸栄養開始後 48–120 時間の傾きを介入後の傾向に選択した[11]。また，以下のデータ（在胎期間，出生体重，不当過小体重（標準体重の 10 %値との比較で定義），組織学的絨毛膜羊膜炎，脳室内出血，壊死性腸炎，敗血症，在宅酸素，嘔吐歴（十二指腸栄養チューブ挿入後 3 日以内））を収集した。

呼吸に影響を及ぼす他の主要な要因を排除するために，全身グルココルチコイド投与，呼吸モードの変更，X 線所見の変化を伴う肺炎，十二指腸栄養開始の 7 日前から 5 日後までに症候性の動脈管開存がみられる場合には除外した。

データは中央値（四分位範囲 [IQR]）または数（%）で表した。SpO_2/FiO_2 比が各患者の時間軸に沿って繰り返し測定されたことを考慮して，十二指腸栄養開始前 96 時間以内と開始後 48–120 時間以内の SpO_2/FiO_2 比の変化の傾きを，piecewise linear regression model により，robust variance-covariance 法を用いて比較した。検定はすべて両側で行い，p 値が 0.05 未満の場合は統計的に有意とみなした。統計解析は，SPSS バージョン 25（IBM, Armonk, NY, USA）および R バージョン 3.6.2（R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria）を用いて行った。

本研究は，神奈川県立こども医療センターの倫理委員会で承認された（No.1807-8）。

結　果

患者の特徴と急性期の管理（表 1）

対象となる 185 例（妊娠期間中央値 26.3 週，出生体重中央値 847 g）の内，8 例を除外した。残りの 177 例の内，58 例（33 %）に十二指腸栄養が行われた。十二指腸チューブは，日齢 18（IQR, 15–23）日，修正週数 28.1（IQR，27.0–29.7）週，

表 1　十二指腸栄養を施行した児の背景　N=33

背景	
在胎週数（週）	25.4（24.3–26.0）
体重（g）	656（572–758）
不当過小体重（例）	9（27）
組織学的絨毛膜羊膜炎（例）	17（52）
十二指腸栄養開始時	
脳室内出血，grades 3 and 4	2（6）
人工呼吸器の設定	
HFV	30（91）
SIMV	3（9）
FiO_2	0.25（0.23–0.27）
平均年齢，cmH_2O	14（13–15）
振幅圧，cmH_2O（n=8[a]）	15（13–16）
pCO_2，mmHg	48（46–53）
栄養量，mL/kg/day	137（115–151）
嘔吐歴（十二指腸栄養開始 3 日以内）	15（45）
十二指腸栄養開始後	
壊死性腸炎	0（0）
敗血症	3（9）
死亡	0（0）
在宅酸素	9（27）

HFV, high-frequency ventilation; SIMV, synchronized intermittent mandatory ventilation; FiO_2, fraction of inspired oxygen
値は中央値（四分位範囲）または n（%）で示す。
a　Dräger VN500 から得られたデータ。

体重 726 g（IQR，637–816 g）で開始された。呼吸に影響を及ぼす別の大きな要因がある 25 例を除外した 33 例を調べた。

十二指腸チューブ挿入に伴う，胃・十二指腸の穿孔や壊死性腸炎や気管への誤挿入はなかった。留置確認後すぐに栄養を開始したが，消化に問題はなかった。十二指腸栄養チューブの留置期間は 29 日（IQR，22–42 日）であった。

十二指腸栄養の開始前後の変化

十二指腸栄養開始後の平均 SpO_2/FiO_2 比の変化の傾きは，開始前と比較して有意に変化した（0.03 95 %信頼区間，−0.10–0.17）対 −0.29 95 %信頼区間，−0.47–−0.12））。p=0.007 であった（図 1）。

十二指腸栄養開始 4 日前（72–96 時間）と 1 日前（0–24 時間），開始 2 日後（48–72 時間）と 5 日後（96–120 時間）の呼吸パラメータはそれぞれ以下のとおりであった。平均 SpO_2/FiO_2 比（±SD）391（±49），371（±51），365（±56），366（±53），平均 MAP 13（±2），13（±2），13（±3）cmH_2O，平均振幅圧 14（±2），15（±2），15（±2）cmH_2O（n=8），平均 pCO_2 49（±7），48（±7），47（±8），48（±8）mmHg。

考　察

本研究では，十二指腸栄養の開始前と後の SpO_2/FiO_2 比の変化の傾きを比較した。その結果，十二指腸栄養の開始前は悪化傾向で，開始後は改善傾向がみられ，傾きの変化は有意であった。

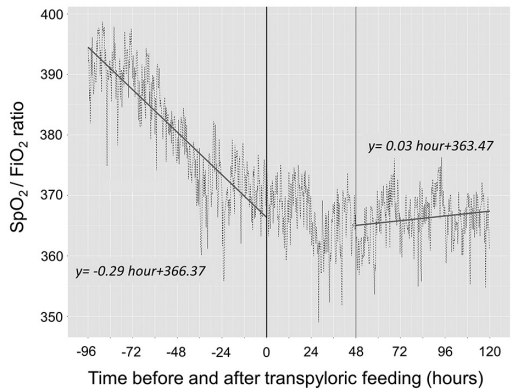


図 1　十二指腸栄養の開始前後の平均 SpO_2/FiO_2 比の変化
点線は，各乳児から 15 分ごとに得られた SpO_2/FiO_2 比の平均値。直線は，十二指腸栄養の開始前後の SpO_2/FiO_2 比の変化の傾き。

PaO_2/FiO_2 比と SpO_2/FiO_2 比の間には，特に SpO_2 が 100 %に満たない場合に良好な相関関係が示されているため，SpO_2/FiO_2 比を評価指標に用いた [12–13]。

観察期間中の平均気道内圧レベルは，ほぼ一定であった。さらに，振幅圧や pCO_2 レベルなどの換気パラメータも変化しなかった。酸素化に影響を与える他の要因が一定であったことを考えると，本研究で示された SpO_2/FiO_2 比の悪化傾向の停止は，十二指腸栄養の効果を反映していると考えられた。

早産児の無呼吸には十二指腸栄養が有効であることが報告されている。Malcolm らは，修正 34 週の早産児に十二指腸栄養を行うと，3 日後には無呼吸が減少したと報告している [14]。Misra らは，修正 32 週の早産児 15 人中 12 人が十二指腸栄養後 48 時間以内に無呼吸の減少を示した [15]。本研究では，人工呼吸器管理中に十二指腸栄養を行うことで，2 日後には酸素化の悪化が止まった。

挿入手技は特に難しいものではなく，小児と同様であった [16–17]。金属製のステントを使用しないことと，チューブの先端を十二指腸球部に位置させることが，消化管穿孔を起こさない要因と考えた。

本研究にはいくつかの限界がある。第 1 に，胃・十二指腸穿孔や壊死性腸炎は発生しなかったが，これらの稀な有害事象の評価には，より多くの症例を蓄積する必要がある。第 2 に，十二指腸栄養の短期的な効果を検討したが，慢性肺疾患に対する長期的な予防効果は不明である。呼吸増悪時に十二指腸栄養を開始したため，胃管栄養群との比較ができなかった。第 3 に，十二指腸栄養を継続する適切な期間を評価しなかった。最適な期間を明らかにするためには，さらなる研究が必要である。

結論として，人工呼吸管理中の早産児の呼吸器状態悪化の段階で，十二指腸栄養が酸素化の悪化を防ぐことが示唆された。

謝　辞

本稿は，Shimokaze T, Yamamoto K, Miyamoto Y, Toyoshima K, Katsumata K, Saito T. Acute respiratory effect of transpyloric feeding for respiratory exacerbation in preterm infants. J Perinat Med

2020;11:383-387. を改変しました。この研究は，横浜市立大学医学部，臨床統計学講座の山本紘司先生の統計解析のお陰で遂行することができました。また，麻酔科の宮本義久先生に，解析のアイデアと論文全体の推敲に有益な助言を頂きました。両先生に改めて心より感謝申し上げます。

文　献

1）Jolley SG, Herbst JJ, Johnson DG, et al. Esophageal pH monitoring during sleep identifies children with respiratory symptoms from gastroesophageal reflux. Gastroenterology 1981;80:1501-1506.

2）Farhath S, He Z, Nakhla T, et al. Pepsin, a marker of gastric contents, is increased in tracheal aspirates from preterm infants who develop bronchopulmonary dysplasia. Pediatrics 2008;121:e253-259.

3）Akinola E, Rosenkrantz TS, Pappagallo M, et al. Gastroesophageal reflux in infants < 32 weeks gestational age at birth: lack of relationship to chronic lung disease. Am J Perinatol 2004;21:57-62.

4）Omari TI, Barnett CP, Benninga MA, et al. Mechanisms of gastro-oesophageal reflux in preterm and term infants with reflux disease. Gut 2002;51:475-479.

5）Nobile S, Noviello C, Cobellis G, et al. Are Infants with Bronchopulmonary Dysplasia Prone to Gastroesophageal Reflux? A Prospective Observational Study with Esophageal pH-Impedance Monitoring. J Pediatr 2015;167:279-285.

6）Singer P, Blaser AR, Berger MM, et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in the intensive care unit. Clin Nutr 2019;38:48-79.

7）Eichenwald EC, COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN. Diagnosis and Management of Gastroesophageal Reflux in Preterm Infants. Pediatrics 2018;142:e20181061.

8）Meert KL, Daphtary KM, Metheny NA. Gastric vs small-bowel feeding in critically ill children receiving mechanical ventilation: a randomized controlled trial. Chest 2004;126:872-878.

9）Watson J, McGuire W. Transpyloric versus gastric tube feeding for preterm infants. Cochrane Database Syst Rev 2013;CD003487.

10）田中真也, 平野慎也, 藤村正哲. 新生児慢性肺疾患（CLD）に対する経十二指腸チューブ栄養法の全国アンケート調査.日本未熟児新生児学会雑誌 2007;19:604.

11）Mandell LA, Niederman MS. Aspiration Pneumonia. N Engl J Med 2019;380:651-663.

12）Khemani RG, Patel NR, Bart RD 3rd, et al. Comparison of the pulse oximetric saturation/fraction of inspired oxygen ratio and the PaO2/fraction of inspired oxygen ratio in children. Chest 2009;135:662-668.

13）Prieto CL, Colomer BF, Sastre JB. Prognostic factors of mortality in very low-birth-weight infants with neonatal sepsis of nosocomial origin. Am J Perinatol 2013;30:353-358.

14）Malcolm WF, Smith PB, Mears S, et al. Transpyloric tube feeding in very low birthweight infants with suspected gastroesophageal reflux: impact on apnea and bradycardia. J Perinatol 2009;29:372-375.

15）Misra S, Macwan K, Albert V. Transpyloric feeding in gastroesophageal-reflux-associated apnea in premature infants. Acta Paediatr 2007;96:1426-1429.

16）Chellis MJ, Sanders SV, Dean JM, et al. Bedside transpyloric tube placement in the pediatric intensive care unit. JPEN J Parenter Nutr 1996;20:88-90.

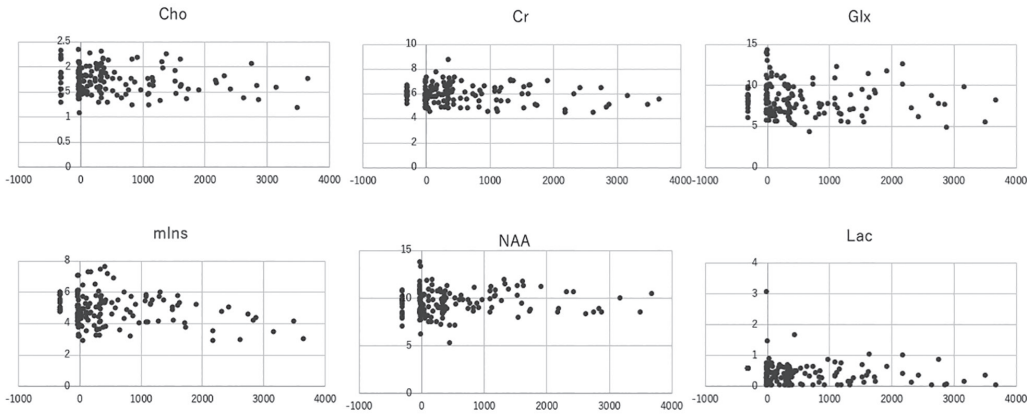
17）Phipps LM, Weber MD, Ginder BR, et al. A randomized controlled trial comparing three different techniques of nasojejunal feeding tube placement in critically ill children. JPEN J Parenter Nutr 2005;29:420-424.

小児における methotrexate（MTX）投与後の白質に関する magnetic resonance spectroscopy（MRS）の検討

広川大輔[1)]，富安もよこ[2,3)]，後藤裕明[4)]
山本哲哉[5)]，相田典子[2)]

概　要

小児における methotrexate（MTX）投与後の白質の MR スペクトルの特徴，代謝物濃度については不明な点が多い。神奈川県立こども医療センター（以下，当施設）においては代謝疾患や変性疾患，腫瘍性疾患において病変部および白質部の MRS データを蓄積している。当施設では LCModel ソフトウェアを用いた MRS データ解析により代謝物濃度を得ている。今研究においては，MTX 治療を行った小児血液がん患者の MRS において白質での代謝物変化についての詳細な解析を行い，白質脳症の発症予測や重症度，発達予後に関して新たな知見を得ることを目的とする。対象は 2009 年 1 月から 2017 年 12 月に当施設で MTX を用いた化学療法の前後で複数回の MRI/MRS を施行した症例。疾患としては小児急性リンパ性白血病（ALL）および悪性リンパ腫（ML）の 2 疾患を対象とする。当施設の血液・腫瘍科で保管している臨床データから MTX を使用した該当する 2 疾患の症例を抽出する。抽出したデータを匿名化の上でリスト化し，診療記録から年齢，性別，疾患名，治療経過，MRS 施行日，MTX 投与時期，期間，投与量，白質脳症の有無，臨床症状，発達予後，合併症をデータとして入力。当施設の放射線科で保存している過去の MRS データからリストにある該当症例を抽出，各症例の白質部（半卵円中心）の代謝物濃度を計測し，LCModel を使用して定量解析を行う。MRS は 3T MR 装置（Siemens 社）により 1H-MRS（半卵円中心 11.0－19.4 mL; TE/TR: 30/5000 ms）データを収集。LCModel により水濃度を 35.88 M として，N-アセチルアスパラギン酸（NAA），クレ



0：化学療法開始時　　−300：正常ボランティア群

図 1　各代謝物散布図（全 64 症例，135 検査）

1）神奈川県立こども医療センター　脳神経外科　　2）同　放射線科
3）量子科学技術研究開発機構　放射線医学総合研究所　　4）神奈川県立こども医療センター　血液・腫瘍科
5）横浜市立大学　脳神経外科

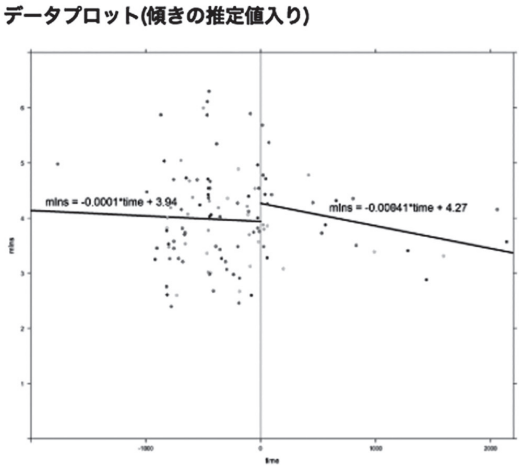


図２　mIns 経時的減少についての検討

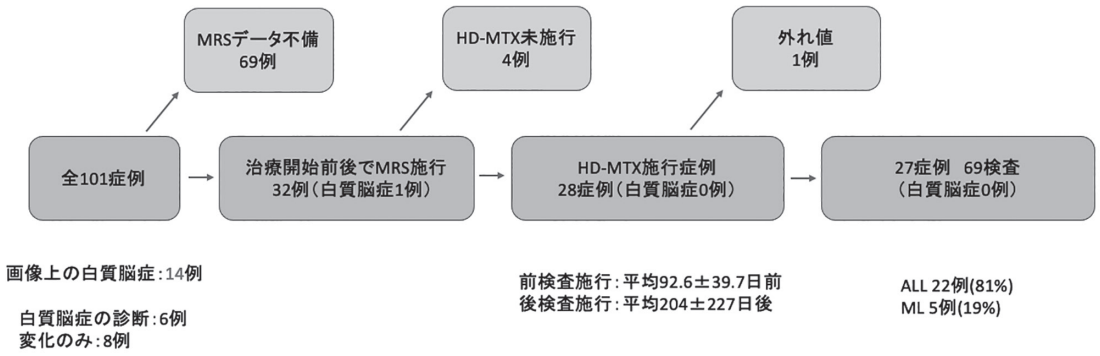
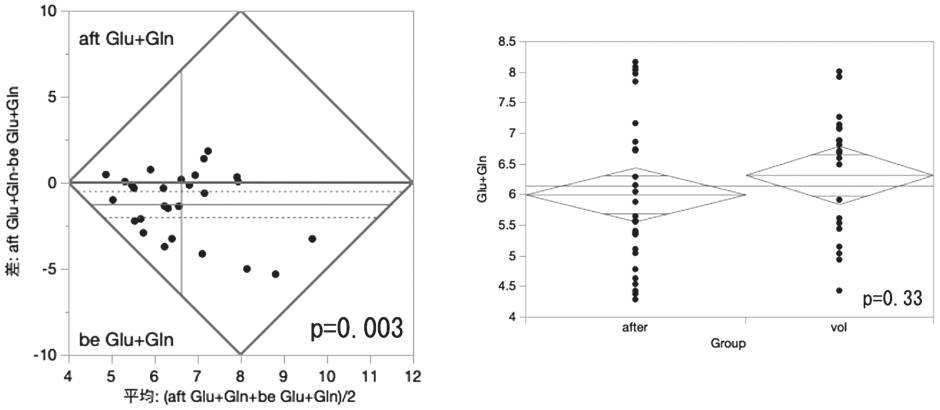


図３　HD-MTX 投与前後における MRS 施行症例のサンプリング

アチン（Cr），ミオ-イノシトール（Ins），グルタミン酸＋グルタミン（Glx），コリン（Cho），乳酸（Lac）の濃度を求めた。代謝物濃度を同一症例においての経時的変化，MTX 投与時期や投与量との関連を検討する。また，当施設で保管している健常児 MRS データとの比較も行う。得られた全 64 症例 135 検査の代謝物散布図（図 1）より，Ins の経時的減少傾向が示唆されたが，化学療法終了時点を基準とした統計学的解析では有意差は得られなかった（図 2）。同疾患の化学療法のプロトコールとして，初期，維持療法と長期にわたり MTX 髄腔内投与が行われているのに加え，短期間の大量 MTX 静脈投与（HD-MTX）の期間があり，HD-MTX 前後での検査を施行した症例の検討を行った。27 症例（白質脳症症例含まず，ALL 81 %，ML 19 %）の検討（図 3）では，前後で Glx の減少傾向を認めたが（p=0.003），HD-MTX 後と健常ボランティア群との比較では有意差を認めず，有意な変化とは言えないと判断した（図 4）。また検査施行期間を HD-MTX の前後 100 日間に絞った 7 症例の検討においても一貫して有意な変化と言える代謝物濃度の変化は認めなかった。



HD-MTX前後でのGlxの比較　　HD-MTX後と健常ボランティア群間のGlxの比較

図4　HD MTX 前後での Glx の比較と，HD-MTX 後の症例と献上ボランティア群での Glx の比較

今後の方向性

実際に白質脳症を呈した症例 14 症例において追加でのデータ抽出を行い，白質脳症群，非白質脳症群，健常ボランティア群の 3 群において代謝物濃度の比較検討を行う。また白質脳症群においては代謝物変化の推移についてのプロットを行い，傾向についての解析を加える。同様の内容が現時点において既に報告されていない知見であるか，また過去の報告と組みわせて得られる知見があるかどうかの文献検索をさらに進める。

二分脊椎症小児における腎尿路・排泄機能障害の早期発見・診断・治療・管理に関する研究（第11報）

山　崎　雄一郎[1)]，郷　原　絢　子[1)]，熊　野　曜　平[2)]
下木原　航　太[1)]，西　　盛　宏[1)]

研究背景

二分脊椎症は小児の下部尿路障害の原因疾患として頻度が高く，かつ他の小児尿路奇形と比較して腎障害および高度な排泄障害といった患児の生命，生活に多大な影響を与える重大な疾患である。神奈川県立こども医療センター泌尿器科では腎尿路・排泄機能障害に関するエビデンスの高い臨床研究を行うため 2010 年度より二分脊椎症患者に対する診察所見と各種検査結果の統合データベース作成を開始した。2010 年度はデータベース構築を目標として第 1 報を報告，以後 2020 年度まで継続して報告してきて今回が第 11 報となる。

概要は 2011 年度：開放性脊髄髄膜瘤患者における尿失禁リスクファクターの検討，CIC（清潔

1）神奈川県立こども医療センター　泌尿器科　　2）国家公務員共済組合連合会平塚共済病院　泌尿器科

間欠導尿）を行う二分脊椎患者に対するルーチンの尿培養検査の有用性の検討。2012 年度: エコースクリーニングで見られる水腎症が，VUR（膀胱尿管逆流）の予測因子となるかどうかの検討。2013 年度：二分脊椎患児にとって大きな問題となる便失禁，尿失禁に対する外科的治療法の成績報告。2014 年度：日常診療における膀胱壁厚エコー測定がウロダイナミクス結果を予測可能かどうか検討。2015 年度：神経因性膀胱患児に対する筋膜スリング手術 DOUBLE FASCIAL SLING による尿失禁制御の成績評価。2016 年度：腸管利用尿路再建術後の脳室腹腔シャント合併症の当科周術期管理を評価。2017 年度：成人移行期における DMSA による腎機能の評価方法の臨床的意義。2018 年度：潜在性二分脊椎に対する早期係留解除術による長期腎尿路予後の検討。2019 年度：終糸脂肪腫に対する係留解除術が小児尿失禁予防に有用かどうかを検討。2020 年度：脊髄髄膜瘤において膀胱造影所見による膀胱形態は膀胱機能を予測できるかどうかを検討。

目　的

脊髄髄膜瘤患児の尿路管理の要点は高圧膀胱，低コンプライアンス膀胱の早期診断である。そのため乳幼児期からのビデオウロダイナミクス検査（VUDS）が推奨されている。しかし対応できる施設は限られ，患児の協力が得にくいために結果の評価方法も施設間で一定していない。われわれは一般施設で可能な膀胱造影画像から新しい形態評価法を考案し，ウロダイナミクス検査のパラメーター予測につながるかどうかを検討した。

対象と方法

当施設で 2012 年 4 月～ 2017 年 7 月の間に 13 歳未満の脊髄髄膜瘤患児に施行した VUDS 検査を対象とし後方視的に検討した。啼泣，多動などでデータ評価・解析が困難と判断された症例は除いた。緩徐注入で患児が痛みを訴えた段階もしくは尿漏出を認めた段階を最大膀胱容量（MCC）とし，その時点の最大排尿筋圧（MDP）により膀胱コンプライアンスを算定するとともに膀胱 AP 像を撮影。膀胱形態評価は縦（height）横（width）の最長の長さを測定し縦横比（HWR）を算出するとともに ROC 曲線より VHR のカットオフ値を求め AUC を算定した。最大排尿筋圧 40 cmH_2O を高圧指標とし，低圧 / 高圧両群におけるウロダイナミクスパラメーターおよび HWR を比較した。

結　果

データの欠損，激しい啼泣や排尿筋過活動等に伴う明らかなデータ測定の不適がある症例を除いた 81 名で比較した。最大膀胱内圧でみた縦横比のカットオフ値は 1.42（縦 / 横）であった。低圧群，降圧群の 2 群での件数はそれぞれ 58 件，23 件，平均年齢は 72 ヶ月，84 ヶ月（P＝0.069），最大膀胱内圧（中央値）は 24cmH_2O，57cmH_2O（P<0.001），膀胱コンプライアンス（中央値）は 8.16，3.61（P<0.001），HWR は 1.37，1.50（P<0.004）であり最大膀胱内圧，膀胱コンプライアンス，HWR において 2 群間で有意な差を認めた。

結　語

少児脊髄髄膜瘤症例において膀胱充満像の縦横比は高圧膀胱，低コンプライアンス膀胱のスクリーニングに有用であると考えられる。

参考文献

Kumano Y, Hayashi C, Gohbara A, et al. A simple screening tool for an unfavorable bladder in children with myelomeningocele: Is the height to width ratio of the cystogram useful to predict high-pressure bladder? J Pediatr Urol 2020;16:839.e1-839.e5.

小児固形腫瘍における診断に有用な新規マーカーの開発と臨床応用

田中祐吉[1)]，田中水緒[1)]，梅本沙代子[1)]
永原則之[1,2)]

背　景

小児固形腫瘍においては，化学療法への感受性や予後は疾患ごとに大きく異なるため，正確な病理診断が特に重要である。さらに，細胞遺伝学的・分子生物学的知見の集積により，小児固形腫瘍・血液悪性疾患の疾患単位は細分化・再編成され，特に近年では標的治療を念頭にした診断も求められるようになった。こうした現状では，形態学的・組織化学的・免疫組織化学的検索に加えて，細胞遺伝学的・分子生物学的手法を取り入れた組織診断は症例によっては必須であり，その診断体制を整えるのは重要である。しかし，こうした腫瘍特異的診断法を up-to-date に導入することは容易ではなく，実際に施行している小児病院・施設・大学小児科は本邦でも限られる。小児がん拠点病院である当院としては，分子病理学的診断技術をリニューアルする努力が欠かせない。

われわれは従来，免疫組織化学的検索および polymerase chain reaction（PCR）法・reverse transcription-polymerase chain reaction（RT-PCR）法・間期核 fluorescence in situ hybridization（FISH）法を用いた分子生物学的診断法を開発・導入し，診断困難な小児固形腫瘍の病理診断・診療に役立ててきた[1-4)]。今後さらに検査の対象を拡げ，精度の高い診断を目指すことが求められる。さらに近年網羅的遺伝子解析の手法として次世代シーケンサーを用いた検討が積極的に取り入れられつつある。当科でも昨年度より取り組みを開始し，今年度も従来の検査方法では診断困難な症例に対して次世代シーケンサーを用いた RNA シーケンスによる検討を継続した。

本年度は，臨床検体の病理診断に際してさらに対象症例を広げ，積極的に分子生物学的解析を行った。さらに従来の方法で特異的な遺伝子異常が検出されなかった診断困難例に対して，次世代シーケンサーを用いた検討を行った。これらの検討結果は正確な診断と，治療に役立つ情報を臨床サイドに速やかに伝えることができることに加えて，新規の遺伝子異常の発見は検討対象腫瘍の疾患概念の確立にも寄与し得ると考える。

対　象

当科に組織診断目的で腫瘍組織が提出された症例を対象とする。また，他施設より組織診断の依頼があった症例で，分子病理学的手法を用いた症例も含めた。

方　法

1．PCR 法・RT-PCR 法

腫瘍の凍結検体もしくは formalin fixed paraffin embedded（FFPE）検体より genomic DNA を抽出し PCR 法を行った。また同様に total RNA を抽出し，逆転写反応により cDNA を得て RT-PCR 法を行った。各々の腫瘍の組織診断をもとにそれぞれに特異的な遺伝子変異もしくは融合遺伝子を標的としたプライマーを設計し，PCR 法にて遺伝子増幅を行った。得られた増幅産物をアガロースゲル中で電気泳動し，標的とする遺伝子の確認を行った。

2．塩基配列の確認

PCR 産物のダイレクトシーケンスを行い，塩基配列を明らかにした。

3．FISH 法

市販のプローブを用いて行った（SureFISH ALK BA probe, Agilent Technologies, Paulo Alto, CA）。FFPE 切片はプローブの浸透性を改善するために温熱処理して作成した。プローブを組織切片と反応させ，蛍光顕微鏡で観察して，1 切片につき 50

1）神奈川県立こども医療センター　病理診断科　　2）日本医科大学　共同実験センターアイソトープ教室

細胞確認したうえで，結果を判定した。

4．RNA シーケンス（次世代シーケンサーを用いた検討）

腫瘍の凍結検体もしくは FFPE 検体より total RNA を抽出し，逆転写反応により得た cDNA を用いて TruSight RNA Pan-Cancer Panel（Illumina 社）によるターゲットシーケンスを行った。

結　果

1．FISH 法，PCR 法，RT-PCR 法

本年度分子生物学的手法を用いて検討を行ったのは延 32 病変であった。内訳は，脳腫瘍が 12 例，神経芽腫群腫瘍 8 例，骨軟部腫瘍が 7 例，造血器腫瘍 3 例，肺と腎臓それぞれ 1 例であった。1 例が他施設からの依頼であった。

FISH 法を行ったのは 23 例で，6 例で遺伝子再構成，14 例で遺伝子増幅の有無，3 例で遺伝子欠失を検討した。PCR 法による遺伝子変異の検討および RT-PCR 法による融合遺伝子の検出はそれぞれ 4 例，10 例で行った。検討した遺伝子は表 1 のとおりである。

疾患特異的遺伝子異常が検出された症例は表 2 のとおりである。FISH 法では，pediatric-type high grade glioma の 1 例で 1q gain を認め，神経芽腫群腫瘍の 1 例で *MYCN* の増幅を認めた。PCR 法もしくは RT-PCR 法では，*BCOR* internal tandem duplication（腎臓，clear cell sarcoma of the kidney）が 1 例，融合遺伝子が *EWSR1-ERG* 2 例（脛骨，Ewing sarcoma/胸壁軟部，Ewing sarcoma）と *KIAA1549-BRAF* 1 例（小脳，pilocytic astrocytoma）が検出された。

2．RNA シーケンス

RNA シーケンスを行ったのは 8 例で，7 例は凍結検体を，1 例は FFPE 検体を用いて行った。いずれもシーケンシングに十分な品質の核酸が抽出された。

融合遺伝子が検出されたのは 6 例であり，それぞれ検出された遺伝子異常は表 3 のとおりである。6 例のうち 4 例で融合遺伝子が検出されることで最終診断に至ることができた。2 例は文献検索，それぞれ横紋筋肉腫および膠腫では報告のない融合遺伝子であった。

融合遺伝子が検出されなかった 2 例のうち 1 例では，同症例の他施設での検査結果と合わせて *BRAF* 遺伝子の点変異を確認した。

3．論文作成

昨年度 RNA シーケンスで同定した *VCL-ALK* を検出した腎細胞癌の 1 例の症例報告の執筆を開始した。

表 1　FISH 法，PCR 法，RT-PCR 法で検討した遺伝子異常（カッコ内は件数）

FISH 法（23）：
- 遺伝子再構成の検討
  - *EWSR1*（1），*KIAA1549-BRAF*（1），*MYC/BCL2/BCL6*（各 1），*USP6*（1）
- 遺伝子増幅の検討
  - *MYCN*（10），*MYC*（4）
- その他の遺伝子異常の検討
  - 11q deletion（2），1p/19q co-deletion（1）

PCR 法（4）：遺伝子変異などの検討
- *BRAF* V600E（1），*IDH1/2* mutation（1），*MyoD1* mutation（1），*BCOR*-ITD（1）

RT-PCR 法（10）：融合遺伝子の検出
- *PAX3/7-FOXO1*（2），*EWSR1-ERG*（1），*EWSR1-FLI1/ERG/ETV1/ETV4/ FEV/ WT1*（各 1），*KIAA1549-BRAF*（1）

FISH: fluorescence in situ hybridization, PCR: polymerase chain reaction, RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction, ITD: internal tandem duplication

表２　疾患特異的遺伝子異常が検出された症例

症例	病変部位	検査手法	検出された融合遺伝子	最終診断名
1	大脳	FISH	1q gain	Pediatric-type high grade glioma
2	後腹膜	FISH	*MYCN* amplification	Neuroblastoma
3	腎臓	PCR	*BCOR* internal tandem duplication	Clear cell sarcoma of the kidney
4	骨（頸椎）	RT-PCR	*ERSR1-ERG*	Ewing sarcoma
5	軟部（胸壁）	RT-PCR	*ERSR1-ERG*	Ewing sarcoma
6	小脳	RT-PCR	*KIAA1549-BRAF*	Pilocytic astrocytoma

FISH: fluorescence in situ hybridization, PCR: polymerase chain reaction, RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction

表３　次世代シーケンサーを用いた検討の結果

症例	病変部位	検出された融合遺伝子	最終診断名（括弧付きは暫定診断名）
1	膀胱	*FN1-ALK*	Inflammatory myofibroblastic tumor
2	軟部組織（臀部）	*TPM3-NTRK1*	Pediatric *NTRK* rearranged mesenchymal tumor
3	軟部組織（胸壁）	*SRF-CITED1*	*SRF*-rearranged myofibroma /myopericytoma
4	軟部組織（傍精巣）	*RPSAP52-HMGA2*	(Rhabdomyosarcoma, type unspecified)
5	軟部組織（頚部）	*MOZ-NCOA2*	Acute myeloid leukemia
6	軟部組織（臀部）	*BRAF* E501A mutation	(Inflammatory myofibroblastic tumor)
7	大脳	*EXT2-PDHX*	(High grade glioma, histologically)
8	副腎	none	(Neuroblastoma, histologically)

考　察

手術検体の検索では，本年度より検討を追加した遺伝子異常を含めて，安定して結果を出すことができた。特に，FISH 法での検討機会が増えている。近年脳腫瘍やリンパ腫，神経芽腫などでは，治療法決定のためリスク分類に利用するためなど遺伝子異常の結果を付加した診断を必要な腫瘍がみられ，また標的治療の適応の有無の確認のため，遺伝子異常の検出が求められることが増えた。

次世代シーケンサーを用いた RNA シーケンスでは 6 例から融合遺伝子を検出した。4 例は RNA シーケンスの結果から最終診断に至った。症例 2 の pediatric *NTRK* rearranged mesenchymal tumor[5] と症例 3 の *SRF*-rearranged myofibroma/ myopericytoma[6] は近年次世代シーケンサーにより急速に集積された症例で確立した疾患概念である。*SRF*-rearranged myofibroma/ myopericytoma の *CITIED1* は報告のない新規パートナー遺伝子である。

報告例のない 2 つの融合遺伝子は機能解析など腫瘍発生と遺伝子異常の関連についてさらに検討を行いたい。症例 6 の *BRAF* E501A も報告例のない遺伝子異常である。同病変についても病的意義について検討を加えたい。

昨年度 RNA シーケンスで検出された *VCL-ALK* 融合遺伝子は世界でも 6 例しか報告例がなく，しかも鎌状赤血球症を合併するアフリカ系アメリカ人のみに発症するとされていた。自験例は鎌状赤血球症の合併がないことが遺伝科の検討で明らか

にされ，珍しいアジア人症例であり報告価値があると考え，論文作成に取り掛かった。

今回の検討では *ALK* や *NTRK*，*BRAF* など，治療のターゲットとなり得る遺伝子異常が複数例から検出された。RNA シーケンスでは他の方法では検出が困難な遺伝子異常を見つけることがあるが，一部ではその病的意義についてさらに検討が必要なことが分かった。難治例を中心に今後も，標的治療を念頭に置いた診断を期待されることが予想され，対応可能な検査体制のアップデートに努める。

文　献

1）Kato K, Tanaka M, Toyoda Y, et al. A novel fluorescence in situ hybridization assay for synovial sarcoma. Pathol Res Pract 2013;209:309-313.
2）Tanaka M, Kato K, Gomi K, et al. Perivascular epithelioid cell tumor with SFPQ/PSF-TFE3 gene fusion in a patient with advanced neuroblastoma. Am J Surg Pathol 2009;33:1416-1420.
3）Tanaka M, Kato K, Gomi K, et al. NUT midline carcinoma: report of 2 cases suggestive of pulmonary origin. Am J Surg Pathol 2012;36:381-388.
4）Tanaka M, Kohashi K, Kushitani K, et al. Inflammatory myofibroblastic tumors of the lung carrying a chimeric A2M-ALK gene: report of 2 infantile cases and review of the differential diagnosis of infantile pulmonary lesions. Hum Pathol 2017;66:177-182.
5）Davis JL, Lockwood CM, Stohr B, et al. Expanding the Spectrum of Pediatric NTRK-rearranged Mesenchymal Tumors. Am J Surg Pathol 2019;43:435-445.
6）Antonescu CR, Sung YS, Zhang L, et al. Recurrent SRF-RELA Fusions Define a Novel Subset of Cellular Myofibroma/Myopericytoma: A Potential Diagnostic Pitfall With Sarcomas With Myogenic Differentiation. Am J Surg Pathol 2017;41:677-684.

甲状腺ホルモンの一斉解析法の確立
－ダウン症患者における甲状腺ホルモンの定量－

岩野麗子[1)]，室谷浩二[2)]，花川純子[2)]
朝倉由美[2)]

研究背景および目的

甲状腺機能低下症には先天性と後天性があり，その頻度は約 4,000 人に 1 人である。先天性甲状腺機能低下症 central hypothyroidism（CH）は永続的な治療が必要とされる疾患であり，早期発見・治療により予後を改善できるため，新生児マススクリーニングの対象疾患となっている。

最も頻度の高い染色体異常症であるダウン症の患者では，甲状腺疾患を高率に合併する（健常児で 1–2 %の頻度に対して，ダウン症患者で 4–19.5 %の頻度）。われわれはこれまでに，ダウン症患者約 800 名の横断的甲状腺機能検査から，ダウン症患者では同年齢の健常児に比して，①甲状腺刺激ホルモン thyroid-stimulating hormone（TSH）は高値，②遊離トリヨードサイロニン（FT3）は低値，③遊離サイロキシン（FT4）は有意差なし，との結果を明らかにした。そこで，本研究ではこの結果がどのようなメカニズムで生じているかを，ダウン症患者と健常者の甲状腺ホルモン濃度を比較することで解明しようと試みた。

昨年度までに主な甲状腺ホルモン 3 種類（総トリヨードサイロニン : TT3，リバーストリヨードサ

1）神奈川県立こども医療センター　臨床研究室　　2）同　内分泌代謝科

イロニン：rT3，総サイロキシン：TT4）を同時に測定する方法を確立した。次に確立した測定法の評価を行うため，測定法のバリデーションを行った。

本研究では昨年度までに行ったバリデーション項目（日内変動，日間変動）に加えて，マトリックス効果などの項目を評価し，測定系のバリデーションを完了したので報告する。

実験方法

1．サンプルの前処理

サンプルの前処理は，プレートを用いた固相抽出法で行った。サンプルとして血清 100 μL を用いた。固相抽出プレートは，EVOLUTE® EXPRESS ABN 30 mg SPE-fixed well plates（Biotage Japan, Tokyo, Japan）を用いた。プレートのコンディショニングを MeOH および H_2O で行い，その後希釈した血清全量を供した。次に 5 % MeOH で洗浄を行い，MeOH でサンプルを抽出した。

2．甲状腺ホルモンの測定法

分析には，高速液体クロマトグラフィー（HPLC）と，トリプル四重極型質量分析計 Triple Quad 4500（Sciex）から構成される，高速液体クロマトグラフィー－タンデムマス質量分析計（LC-MS/MS）を用いた。

分析は，LC の部分に逆相カラム（Unison UK C18,150 × 3 mm）を接続し，移動相 A: 0.1 %酢酸，移動相 B: 0.1 %酢酸を含むアセトニトリルを用いて，グラジエント溶出で行った。分析時間は 13 分間であった。

3．バリデーション

本研究では，サンプルのマトリックスは血清，検量線のマトリックスは，市販の LC-MS/MS 用ステロイド類フリー血漿（DDC Mass Spec Gold® : Golden West Biologicals, Temecula, CA）を用いている。そのため，マトリックスの違いが測定値に影響を与えるか評価した。

(1) マトリックスの評価

最初に，血清と血漿で甲状腺ホルモンの濃度に差が観察されるかどうか検討した。個別 6 検体分を血清と血漿で準備し，各々の甲状腺ホルモンの濃度を測定し統計処理を行った。

(2) マトリックス効果

マトリックス効果は，文献を参考にして評価した[1]。通常，マトリックス効果は測定対象物の標準品を用いて評価するが，甲状腺ホルモンは内因性の甲状腺ホルモンの量が多い（特に TT4）ため，本研究では甲状腺ホルモンの内部標準物質を用いて検討を行った。マトリックス効果 Matrix effect（ME），回収率 Recovery（RE）および回収効率 Process efficiency（PE）について評価を行った。上記の項目の評価は，下記に記した計算式で算出した。

ME（%）= Set 2/Set 1 × 100

RE（%）= Set 3/Set 2 × 100

PE（%）= Set 3/Set 1 × 100 =（ME × RE）/100

Set 1: MeOH に甲状腺ホルモンの内部標準物質を添加したもの

Set 2: マトリックスの前処理後に甲状腺ホルモンの内部標準物質を添加したもの

Set 3: マトリックスの前処理前に甲状腺ホルモンの内部標準物質を添加したもの

結　果

表 1 に，個別の血清および血漿中の甲状腺ホルモン濃度を示した。血清と血漿との間に有意な差は観察されず，マトリックスとして血清あるいは血漿を用いても測定値には影響を与えないことが示された。

マトリックス効果の結果を表 2 に示した。血清と血漿（DDC Mass Spec Gold®）の比較では，血漿の方が良好な値であった。特に TT4 に関しては，ME, RE および PE は血清での値が低く，マトリックスとして用いるには血漿の方が望ましいという結果が示された。

考　察

昨年度から，甲状腺機能低下症の早期発見・早期治療に活用できるような，甲状腺ホルモンプロファイルを作成することを目的として研究を行っている。その最初の段階として，血中の甲状腺ホルモンを一斉解析できる方法を確立し，昨年度と本年度の研究で測定法の評価を行った。本年度では主にマトリックス効果について評価したが，血清と血漿の比較では血漿の方が比較的良好な値であった。この理由としては，本研究で用いた血漿は市販のものであらかじめ甲状腺ホルモンが除去

表1　個別6検体の血清および血漿中の甲状腺ホルモン濃度

Analyte	No.	Concentration (ng/mL) 1	2	3	4	5	6	Mean ± SD	*p* value
TT3	Serum	1.3	1.1	1.0	1.0	1.0	1.4	1.2 ± 0.2	0.52
	Plasma	1.2	1.1	1.0	0.93	0.99	1.3	1.1 ± 0.1	
rT3	Serum	0.19	0.24	0.20	0.24	0.22	0.27	0.23 ± 0.03	0.24
	Plasma	0.18	0.20	0.20	0.21	0.24	0.22	0.21 ± 0.02	
TT4	Serum	65	48	48	58	48	50	53 ± 7	0.76
	Plasma	68	48	51	59	51	49	54 ± 7	

Data are expressed as the mean ± standard deviation.

表2　個別6検体の血清およびDDC血漿（DDC Mass Spec Gold®）におけるマトリックス効果（ME），回収率（RE）および回収効率（PE）の結果

Analyte	% ME		% RE		% PE	
	Serum	DDC plasma	Serum	DDC plasma	Serum	DDC plasma
TT3	103 (10)	97 (4)	87 (9)	100 (7)	90 (8)	97 (5)
rT3	97 (10)	94 (4)	91 (10)	101 (6)	88 (15)	95 (8)
TT4	79 (9)	76 (10)	70 (17)	114 (9)	55 (12)	86 (7)

Matrix effect（ME）is expressed as the ratio of the mean peak area of internal standards spiked post-extraction（set 2）to the mean peak area ofthe same internal standards（set 1）multiplied by 100.
Recovery efficiency（RE）is expressed as the ratio of the mean peak area of internal standards spiked pre-extraction（set 3）to the mean peakarea of internal standards spiked post-extraction（set 2）multiplied by 100.
Process efficiency（PE）is expressed as the ratio of the mean peak area of internal standards spiked pre-extraction（set 3）to the mean peak areaof the same internal standards（set 1）multiplied by 100.
（）: CV%
DDC plasma: DDC Mass Spect Gold® human plasma

されている。そのため，血清よりも市販の血漿の方が，甲状腺ホルモンの測定にマトリックスの影響が少なかったと考えられる。特に内因性の量が多いTT4では血清と血漿でマトリックス効果の値に差が観察された。したがって本研究のマトリックスとしては，血漿が望ましいことが示された。そのため濃度を算出するために必要な検量線の作成には，甲状腺ホルモンを除去した市販の血漿を用いることにした。以上，測定法の評価が完了したので今後はこの研究のメインであるダウン症患者における甲状腺ホルモンの定量を行う予定である。

文　献

1）Matuszewski BK, Constanzer ML, Chavez-Eng CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. Anal Chem 2003;75:3019-3030.

双方向性コミュニケーションツールを利用した NICU オンライン面会の検討

齋　藤　朋　子

背　景

我が国の早産児の出生率は増加している。100人に1人出生するとされる出生体重1,500 g未満の極低出生体重児は，NICU（新生児集中治療室）における新生児医療の向上で95％以上が救命されるようになった。一方，極低出生体重児の3人に1人は発達障害や発達遅滞を発症するなど長期的な問題が明らかになり，極低出生体重児とその家族が困難感を抱えながら生活しているのが現状である。これは早産の脳の発達への関与だけでなく，NICUという特殊な環境で長期間過ごしていることも影響すると考えられている[1)]。

親が児と感情的な結びつきを形成するプロセスは乳児の生存と発達に不可欠である。しかし親の絆は生得的ではなく，母親が児を育てることを遺伝的にプログラミングされているわけではない。早産は親にとってストレスの多い経験で，目に見える児の未熟さや医療的介入は，不安感やさらなる結びつきの低下を引き起こす[2)]。一方で，正期産児に比べ早産児の親子の関わり合いが増加することも示されており，入院中に受ける個別ケアが親子関係形成に有益である可能性がある。

われわれの施設では，NICUからの児と家族の結びつきが退院後の発達支援につながると考え患者家族中心の医療family-centered careを実践してきた。また24時間面会や兄弟姉妹（同胞）面会などのシステム構築，2019年には改築を行い家族滞在型個室病床やベッドサイドのスペースの拡大，児と家族，スタッフそれぞれにとって居心地の良い光音環境などにも配慮した家族が滞在しやすいような施設の工夫にも取り組んできた。

しかし，日本の医療制度や，遠方の自宅，兄弟姉妹（同胞）の存在などにより，家族は常にNICUに滞在できるとも限らない。そこで今回，遠隔通信技術を応用した「テレプレゼンス」といえるオンライン面会を計画した。テレプレゼンスとは，「仮想現実の領域において，遠隔地にいる者があたかも側にいるような実態感を与えるもの」，とされている。NICU入院児においても，そばにいたくてもいられない家族の罪悪感や不安感を少しでも軽減し，決められた時間ではなく，制限なく「会いたいときにいつでも会える」NICUを目指し，病院と自宅の垣根を取り払った仮想空間の実現を構想した。テレプレゼンスのニーズがあるのか，そしてNICUで実施可能かの検討が必要と考え，1ヶ月間試行して評価した。

目　的

IoTコミュニケーション手段（モバイルPhone等を用い，NICUに入院中の新生児の様子を院外の家族また家族から招待された人が遠隔から観察，声がけ等を行うことを可能にするコミュニケーションシステム）を活用したいつでも会えるオンライン面会，テレプレゼンスが，NICUにおいて実施可能か，また家族とスタッフが必要と考えるかを調査した。

方　法

【対象】

・NICU入院児の家族で面会を定期的にされている方の中で，研究に協力していただける方
　除外基準：児の状態が不安定，母の精神的不安定
・対象者に対応する医療スタッフ

【研究方法】

・株式会社フィリップス・ジャパン製SCREEN 2 SCREEN Philips（以下「本システム」）を1ヶ

神奈川県立こども医療センター　新生児科

月借入。
・当院の災害用 Wifi を用いたシステム稼働環境と，カメラ固定，PC 設置，iPad などデバイス環境の整備。
・NICU スタッフへ事前に数回にわたり本システムの使用方法を説明。
・同意を得られた患者のベッドに，小型カメラを常に児の映像が映るように設置。またベッドサイドに PC を設置し，家族がアクセスしたら家族の映像が映るように準備。本システムをインストールした操作用 iPad を準備。
・1 家族 1 週間ずつ試用。8–21 時の間はアクセス可能。1 回 30 分を目安に，1 日 3 回までアクセス。うち 1 日 1 回は面会時間を設定し，その際はスタッフと音声と画像で双方向にコミュニケーションをとる。スタッフは時間外にシステムのオンオフを行う。
・画像は双方向性，音声は必要時以外家族から児への一方通行。
・家族がアクセス中，iPad を介してスタッフ側もアクセスし，iPad に映った家族の映像を児に見せることも可能。
・時間内は家族はスタッフを介さずいつでもアクセスし児の様子を見ることは可能であるが，家族の映像を児に見せる場合，音声を双方向にする場合はスタッフの介入が必要。
・家族の登録は 1 人であるが，アクセス中は家族が選んだ 3 人まで招待可能。

【評価方法】

調査票「IoT コミュニケーション手段検証のための NICU ソリューション試用評価」（表 1）を通じて対象者から情報収集し分析した。

【個人情報の扱い】

本システムでは，それぞれのスマートフォン固有の PIN コードで登録すること，通信中の情報は総て暗号化されること，通信先を指定するのみでサーバーに情報が残らないことから，カメラと特定のスマートフォンの一対一で通信している同士以外から，画像，音声等の個人情報を確認できない仕組みを確認した。写真や動画データをシステムは院内から外に出ることはなく保存も行わず，調査用紙は無記名で行った。

表 1　調査票項目

＜調査票家族向け＞
Q1. 通常の面会頻度
Q2. 今回のツールを利用したい頻度
Q3. 通信状況
Q4. システムの使用感
Q5. システムを利用して行いたいこと
Q6. 改善点
Q7. 使用しての心境の変化
Q8. システムを使用したいと思うか
Q9. その他意見

＜調査票医療従事者向け＞
Q1. 今回のツールを使用する理想的な頻度
Q2. 通信状況
Q3. システムの使用感
Q4. システムの問題点
Q5. 改善点
Q6. システムを利用して行いたいこと
Q7. 業務負担
Q8. 家族からの声
Q9. 児と家族のコミュニケーション手段として使用できると思うか
Q10. システムが NICU にあると良いか
Q11. その他意見

結　果

【症例背景】

・症例 1　生後 1 歳女児　キアリ奇形Ⅱ型　家族背景：両親，4 歳姉
・症例 2　生後 1 ヶ月半女児　ELBW（26 週出生）家族背景：両親，5 歳兄
・症例 3　生後 1 週間男児　VLBW（31 週出生）家族背景：両親（父は中国），2 歳兄
・症例 4　症例 1 のデバイスを変更して再度施行　1 症例につき 1 週間ずつ，計 4 週間試行

【調査票結果】（表 2，図 1，図 2）

・家族 6 人（父 3 人，母 3 人）
・スタッフ 43 人

①テレプレゼンスの必要性

家族

使う頻度はほぼ全員が毎日，時間制限なしを希望された。またオンライン面会を利用して行いたいこととして，全員が「不安の軽減」や「児と家族のコミュニケーション」と回答した。「心境の変化があった」と回答したのが 6 人中 5 人。「今後も使用したい」と回答したのが 4 人，「どちらともいえない」が 2 人で，理由として通信の不安定さを挙げられた。

その他の自由意見を下記に挙げる。

・面会して長時間そばにいられない罪悪感や不安感を軽減。
・気になった時にいつでも様子を見られる安心感。
・触れられないことでより会いに行きたくなり愛情が深まる。
・長期入院の児が親の声や表情に反応し，家族であることの再認識。
・兄弟姉妹（同胞）が児を認識することで会えない中でも兄弟姉妹（同胞）としての自覚の芽生え。
・母乳分泌の向上。
・リラックスして面会でき自宅に一緒にいる感覚が得られる。

スタッフ

オンライン面会に期待することとして，95 %が「児と家族のコミュニケーション」，84 %が「不安の軽減」，60 %が「声かけ」，28 %が「医療者とのチャット」，14 %が「安全確認」と回答した。また実際に使用してみて，98 %が「児と家族のコミュニケーションに使える」，85 %が「NICU にあると良い」と感じたと回答した。

その他自由回答として下記意見があった。

・家族がより児を身近に感じられ，家族の関わりに効果的。
・普段会えない親戚や友人にも姿をみてもらっ

表２　家族調査票結果①

			オンライン面会使用希望			通信状態		オンライン面会でしたいこと			
	頻度/w	時間/d	頻度/w	時間/d	時間帯	通信状態	簡単か	不安の軽減	児と家族のコミュニケーション	声かけ	医療者とのチャット
1 母	5	2	21	0.5	朝夕夜	普通	良い	○	○	○	○
1 父	2	2	9	0.5	夜	普通	普通	○	○	○	○
2 母	7	0.5-3	たくさん	5	いつでも	普通	普通	○	○		○
2 父	7	1.5	14	0.25	朝夜	普通	普通	○	○	○	
3 母	4	4	7	0.5	夜	よくない	普通	○	○		
3 父	0	0	4	0.5	夜	よくない	普通	○	○	○	○

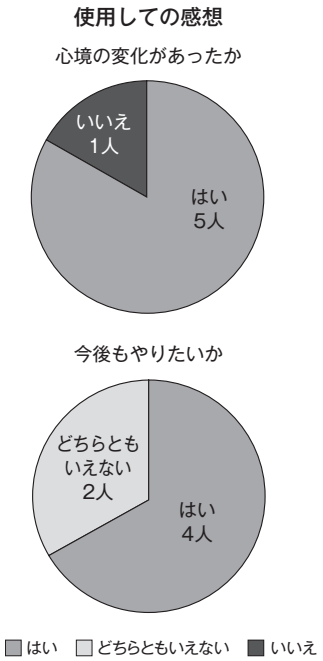


図１　家族調査票結果②

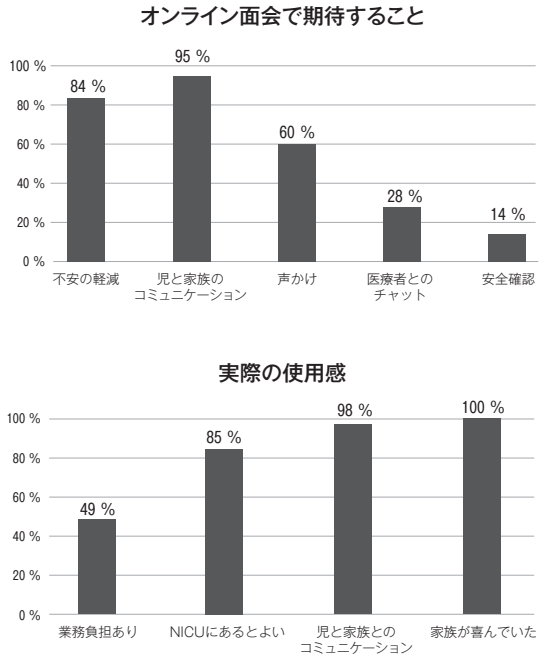


図２　医療者調査票結果

て家族の精神的サポートになる。
・児が家族の声に反応して手を伸ばしたり，表情が豊かになり，発達促進の可能性。
・児の病状の安定。
・面会以外でも児の様子を家族に伝えられる。
・家族がリラックスして過ごしている表情が印象的。
・家族と児の幸せそうな様子を見て看護の領域を超えた喜びを味わえる。

②テレプレゼンスの実施可能性

家族

通信の弱さの問題以外指摘なし。

スタッフ

「業務負担がある」と答えたのは 49 %，一方で大部分のスタッフが NICU に設置が良いと答えており，業務負担は感じつつも NICU で使用可能で有効活用できると考えるスタッフが多い。「児と家族とのコミュニケーション」が 98 %，「家族が喜んでいた」が 100 %であった。

同様にその他自由回答として下記意見があった。
・少数意見だが常に見られていて自分の気が張ると答えたスタッフも存在。
・PC の置き場所の確保，カメラ調整，家族がアクセスしたときの対応，電源のオンオフ，他家族や児への影響を考えた音量調整などの業務負担への対応は検討事項。

③要望・改善点

家族

・24 時間いつでも制限なくアクセス
・音声も双方向。ビデオに一方的に話しかけている気分になることがある
・医療者とのチャットや会話
・接続時の病院側の操作をなくす
・スムーズな通信

スタッフ

・家族がアクセスしたのがわかるような通知音
・カメラ調整やズームの簡便さ，ワイヤレスカメラなど
・児に見せる家族の映像をより大きく
・児の入眠中にアクセスし声をかけて起きてしまうことがある。「今寝ています」など児の様子をあらかじめメッセージで家族に伝えられるシステムやアクセス時間調整

考　察

ウェブカメラを用いた遠隔技術は，医療現場でスタッフ教育や他施設との連携，安全担保など，スタッフ業務に利用されるケースが多い。また 2020 年以降 COVID19 流行のため病院の厳しい面会制限が一般的になり，それに伴い遠隔技術を利用した病状説明や，オンライン面会が普及しつつある。

新生児医療では COVID19 流行以前から，NICU でスタッフが撮影した児のデジタル画像をインターネットを介して家族がみられるシステムが家族の満足度を上げたとの報告があり[3]，その後リアルタイムに家族が遠隔から児の様子を知ることができるウェブカメラシステムが世界的に広がっている。

ただこのようなシステムの多くは予約制で短時間に限られており，家族が病院側に「許可」を得てわが子に会わせてもらっている感覚はぬぐえない。NICU は集中治療を行いながらも児が日々成長していく場であり，家族が育児をする場でもある。本来生後一緒にいるべき家族が離れて暮らす状況は普通のことではなく，家族形成の妨げになり児の発達に悪影響を及ぼす可能性がある。NICU でも 24 時間家族がいつでも一緒にいられる環境や家族が児のケアの中心になれるような支援が必要で，オンライン面会では時間制限なくいつでも会えるシステムが重要と考える。

2021 年，Kubicka が 24 時間いつでもアクセスできる映像のみのウェブカメラシステムが家族とスタッフへどのような影響があるかを調査した[4]。7 割の家族が毎日カメラを利用し，家族のストレスは有意に低下した一方で，半数以上の看護師がストレスが増加すると感じ，また両親のストレスを増やす懸念があると回答しており，家族の必要性とスタッフの考えの乖離があることが示されている。

今回の研究により，いつでも会える，声をかけられる「テレプレゼンス」は家族の抱える罪悪感や不安感が軽減され，家族である実感を得られ，さらに母乳分泌の向上や，兄弟姉妹（同胞）の成長，児の発達や病態の安定にも効果的である可能性が示された。また看護師の半数は業務が増えると感じていたが，その上で大多数の看護師が

NICU で家族の不安軽減やコミュニケーションに有効利用できると回答し，ウェブカメラシステムを前向きにとらえる意見が多かった。

また，オンライン面会により実際の NICU 面会頻度が減るのではという懸念があるが，家族とスタッフを調査した研究では NICU の滞在時間は減らないと考える意見が多数を占め[5]，本研究でも「触れられないことでむしろ会いに行きたくなった」という家族の意見があった。

本研究は期間と対象を限定し，またアクセスできる時間帯を決め，音声は基本的に一方向で行った。このようなシステムのニーズがあることと NICU で実施可能であることが確認できたが，今後対象や時間帯を拡大していく際には，スタッフや家族の精神的な影響や面会時間への影響などを考慮しながら進めていく必要がある。

結　語

本研究で，NICU でウェブカメラシステムを用いたいつでも会えるオンライン面会は家族とスタッフのニーズがあり実施可能と確認した。ただし，オンライン面会は家族が実際にそばにいて時間を共有することと同一ではない。家族一緒に過ごせない物理的，精神的距離を少しでも埋められる支援の 1 つとして，導入を検討する価値はあると考える。

文　献

1）Woodward LJ, Bora S, Clark CA, et al. Very preterm birth: maternal experiences of the neonatal intensive care environment. J Perinatol 2014;34:555-561.

2）DeMier RL, Hynan MT, Hatfield RF, et al. A measurement model of perinatal stressors: identifying risk for postnatal emotional distress in mothers of high-risk infants. J Clin Psychol 2000;56:89-100.

3）Gray JE, Safran C, Davis RB, et al. Baby CareLink: using the internet and telemedicine to improve care for high-risk infants. Pediatrics 2000;106:1318-1324.

4）Kubicka Z, Zahr E, Clark P, et al. Use of an internet camera system in the neonatal intensive care unit: parental and nursing perspectives and its effects on stress. J Perinatol 2021;28:1-9.

5）Hawkes GA, Livingstone V, Ryan CA, et al. Perceptions of webcams in the neonatal intensive care unit: here's looking at you kid! Am J Perinatol 2015;30:131-136.

次世代シーケンスデータを用いた複雑構造変異検出手法の検討

榎　本　友　美

背景と目的

次世代シーケンス解析では，一塩基多型に加え，染色体上の大きな領域の欠失や重複といった構造多型の検出も可能である。先天性疾患患者には欠失や重複が連続してみられるような複雑な構造異常を示す患者が存在し，そのような複雑構造変異を検出するためのより高度な検出プログラムによる解析が求められている。現在複雑構造異常を検出するプログラムは複数考案されているが，使用する解析アルゴリズムの違いにより，処理速度や検出結果は必ずしも同一ではない。それぞれの方法にメリット・デメリットがあると考えられる。本研究では複雑構造異常を検出する解析プログラム Manta[1]（Chen, *et al.*（2016））と Pindel[2]（Ye, *et al.*（2009））を導入し，それぞれの解析結果について検討を行ったので報告する。

神奈川県立こども医療センター　臨床研究室

方　法

1．解析システムの構築

構造異常検出プログラムの Manta と Pindel を導入した。Intel Xeon 3.30 GHz 2processors 8cores, Memory 256 GB のマシンにて解析を実行した。

2．Manta と Pindel による構造変異の検出および結果の検討（表 1）

染色体 16 番に分散した 2 個の欠失をもつ症例の次世代シーケンスデータを用い，解析を実行した。データは全ゲノムシーケンスと全エクソームシーケンスデータの 2 種類を使用し，それぞれの解析プログラムによる解析結果および解析所要時間を検討した。

結　果

複雑な構造異常を検出する解析プログラムはいくつか存在するが，本研究では Manta と Pindel を導入した。Manta は short-read の全ゲノムデータを用いた解析結果が報告されている[3)]。結果，全ゲノムデータを用いた解析では両プログラム共に想定した 2 個の欠失は検出された。一方全エクソームデータを用いた解析では両プログラム共に欠失は検出されなかった。全エクソーム解析は遺伝子のエクソンを中心にシーケンスを行うため，エクソン部分のみのデータになり，イントロン部分のデータが存在しない。すなわち染色体全体のデータの繋がりがないため Manta と Pindel の解析アルゴリズムでは欠失の検出が困難であった可能性がある。今回解析対象とした 2 個の欠失はサイズが大きく両プログラムとも検出できなかったが，エクソン内の小さいサイズ（数十塩基程度）の欠失，挿入等は全エクソームデータでも検出されていた。両プログラム間で大きく異なったのは解析所要時間である。Manta を使用した場合全ゲノムシーケンスの構造異常解析は 26 時間で全染色体の解析が終了しているが，Pindel は 16 番染色体だけで約 13 時間の処理時間を要した。解析マシンのスペックにも依存すると思われるが，Manta は高速アルゴリズムを利点としており，実際の解析においてそのメリットは大きいと思われた。今後は Manta を用いて解析を進める予定である。

文　献

1）Chen X, Schulz-Trieglaff O, Shaw R, et al. Manta: rapid detection of structural variants and indels for germline and cancer sequencing applications. Bioinformatics 2016;32:1220-1222.

2）Ye K, Schulz MH, Long Q, et al. Pindel: a pattern growth approach to detect break points of large deletions and medium sized insertions from paired-end short reads. Bioinformatics 2009;25:2865-2871.

3）Sanchis-Juan A, Stephens J, French CE, et al. Complex structural variants in Mendelian disorders: identification and breakpoint resolution using short- and long-read genome sequencing. Genome Med 2018;10:95.

表 1　解析結果の比較

解析結果

	全ゲノムシーケンス	全エクソームシーケンス
Manta	2 つの欠失を検出	欠失を検出できず
Pindel	2 つの欠失を検出	欠失を検出できず

解析所要時間

	全ゲノムシーケンス	全エクソームシーケンス
Manta	全染色体　約 26 時間	45 分
Pindel	16 番染色体のみ　約 13 時間	21 時間

2 つの解析プログラムの解析所要時間は大きく異なっている

右室容量負荷による右室機能および右室心筋動態への影響

齊　藤　　央

はじめに

心エコーは非侵襲的に心臓の形態や機能を評価できるモダリティである。従来は左室評価が心エコー図検査のメインであったが，近年では3Dエコーやspeckle trackingといった技術を用いることで，右室形態や機能を評価できるようになってきた。右室機能評価のゴールドスタンダードである心臓MRIとの相関も良いとされ，比較的簡便に行える心エコー図検査は右室機能評価において実臨床での実用化が望まれる手法である。

右室心筋層は二層構造で比較的薄く，高いコンプライアンスを保持する[1]。そのため容量負荷（RVVO）に対しても右室心筋の収縮性は保たれており，圧−容量曲線も健常者と同じパターンであると報告されている[2-3]。一方で，右室容量負荷症例において，右室機能が低下した症例を経験する。過去の報告でもRVVOは右室心筋障害を合併するとの報告もあり，右室機能への影響は明確ではない。この右室機能低下は心筋線維化が一因とも考えられており，そのような右室は治療介入後もリバースリモデリングが認められないとされる報告もあることから，右室機能低下がRVVOにおけるひとつの注意点になるだろうと考えられる[4-5]。本研究の目的はRVVOが右室機能へ与える影響を心エコー図検査学的に評価することである。

方　法

2018年4月から2021年3月までの間に心エコー図検査を施行した心房中隔欠損症例114例の内，右室容量負荷を認めた62例を対象とした。除外基準として，有意な右室流出路狭窄，肺高血圧，心筋症（肥大型心筋症，拡張型心筋症，不整脈源性右室心筋症），慢性呼吸不全，心房粗動/細動を認めた症例，画質不良例を設定し，それに合致した右室流出路狭窄症例5例，画質不良例16例を除外した。最終的に41例を解析対象として後向きに評価した。

右室3Dデータセットを Epiq 7G（Philips社製）にて取得し，TomTec社製4D RV-Function ソフトウェアを用いて右室駆出率（RVEF），右室自由壁ストレイン（RVFWS），右室中隔壁ストレイン（RVSWS）をオフラインにて計測した。ふいご様運動の評価として，右室3Dデータから右室短軸像を再構築し，拡張末期径および収縮末期径から右室内径短縮率（RVFS）を算出した。長軸方向の動きであるRVSWSおよびRVFWSと，ふいご様運動の指標であるRVFSのそれぞれのRVEFへの影響を重回帰分析にて評価した。RVEF<45 %を右室収縮機能低下と定義し，RVFSおよびRVSWS，RVFWSの右室収縮機能低下の診断能をROC解析で評価した。

結　果

解析対象41例の平均年齢は5.5 ± 3.0歳（1−13歳），男性23例（56 %）であった（表1）。RVEFと各右室機能指標の関連を図1に示す。RVEFはRVFS（r^2=0.39，p<0.01），RVSWS（r^2=0.25，p<0.01），RVFWS（r^2=0.31，p<0.01），およびRVFAC（r^2=0.35，p<0.01）と有意な相関関係にあった。一方で，TAPSE（r^2=0.02，p=0.44），S’（r^2=0.08，p=0.10）はRVEFと有意な相関を示さなかった。またRVFWSはRVSWSよりも有意に亢進していた（−30.9 ± 3.6 % vs −18.0 ± 3.6 %）。長軸方向の動きであるRVSWSおよびRVFWSと，ふいご様運動の指標であるRVFSとRVEFの関連を表2に示す。単回帰分析ではすべてがRVEFの有意な規定因子であったが（RVFS: beta=0.70，p<0.01，RVSWS: beta=−0.76，

神奈川県立こども医療センター　検査科

p<0.01，RVFWS: beta=−0.85，p<0.01），重回帰分析ではRVFSのみがRVEFの独立した規定因子であった（beta=0.45，p<0.01）。

RVFSおよびRVSWS，RVFWSの右室収縮機能低下（RVEF<45 %）の検出能をROC解析で評価した結果を図2に示す。ROC曲線下面積（AUC）はRVFSで0.966と最も高く，cut-off値18.1 %としたとき，感度100 %，特異度92 %であった。

表1　患者背景

	解析対象	除外対象	P-value
年齢，歳	5.5 ± 3.0 (1–13)	5.0 ± 5.1 (0–16)	0.79
男性，n (%)	23 (56)	10 (48)	0.60
身長，cm	104.9 ± 19.1 (69.0–151.7)	97.8 ± 26.5 (65.3–161.6)	0.28
体重，kg	17.1 ± 7.3 (7.3–41.4)	16.2 ± 11.3 (7.2–48.6)	0.75
体表面積，cm^2	0.70 ± 0.21 (0.35–1.31)	0.65 ± 0.31 (0.34–1.49)	0.51

* Mean ± SD（最小値 – 最大値）

表2　右室駆出率と各収縮方向指標の関連

	Univariate analysis				Multivariate analysis			
	B	95 % CI	SE	P-value	B	SE	95 % CI	P-value
RVFS	0.70	0.42– 0.99	0.14	<0.01	0.45	0.11– 0.78	0.16	<0.01
RV FWS	−0.85	−1.26– −0.44	0.20	<0.01	−0.39	−0.84– 0.06	0.22	0.09
RV SWS	−0.76	−1.19– −0.34	0.21	<0.01	−0.31	−0.73– 0.12	0.21	0.15

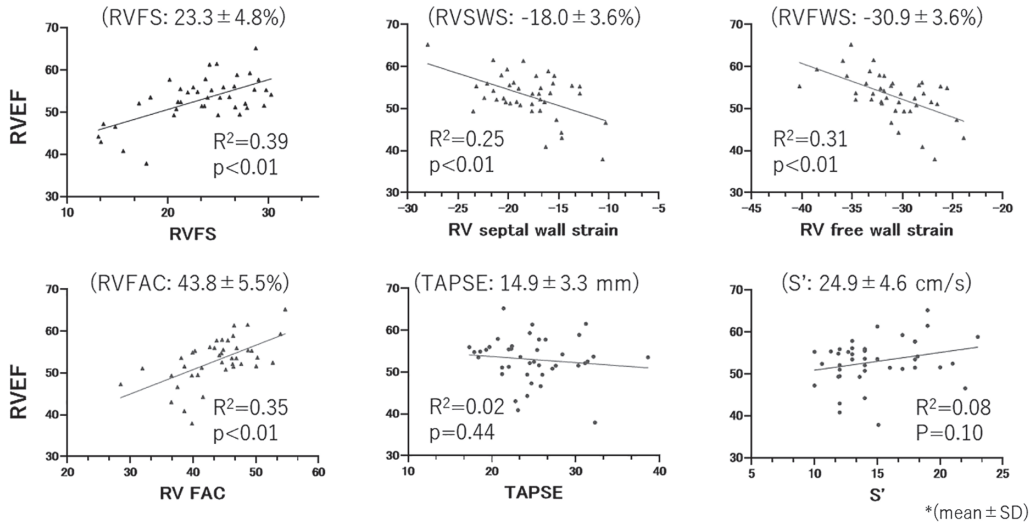
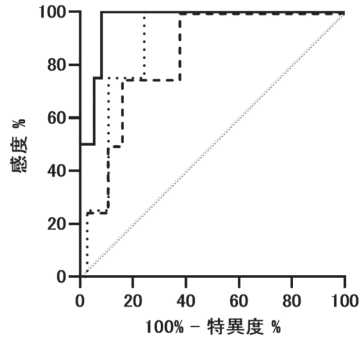


図1　RVEFと右室機能指標の関連

各右室機能指標のmean±SDと，RVEFとの関連性を示す。RVFS，RVSWS，RVFWS，およびRVFACはRVEFと有意に相関する。
RVFAC: 右室面積変化率，RVEF: 右室駆出率，RVFS: 右室内径短縮率，RVFWS: 右室自由壁収縮ピークストレイン，RVSWS: 中隔壁収縮ピークストレイン，S': 収縮期三尖弁輪移動速度，TAPSE: 三尖弁輪移動距離



	RVFS	RVSWS	RVFWS
AUC	0.966	0.838	0.878
Cut-off値	18.1	-30.5	-16.3
感度	100	100	100
特異度	92	62.2	75.7

図２　右室収縮機能低下例の検出能

各右室収縮指標の ROC カーブを示す。いずれも area under the ROC curve（AUC）は高値であるが，RVFS が AUC 0.966 と最も高値である。

RVFS: 右室内径短縮率，RVFWS: 右室自由壁収縮ピークストレイン，RVSWS: 中隔壁収縮ピークストレイン

考　察

本研究では心房中隔欠損症例において，RVVO が右室機能へ与える影響を評価した。主要な結果は以下のとおりである。1）長軸方向の収縮機能を表す RVSWS および RVFWS，ふいご様運動を表す RVFS はいずれも RVEF と相関した。2）その中でも RVFS は唯一の RVEF の独立規定因子であった。3）RVFS は右室機能低下の検出能が長軸方向ストレインよりも高かった。

右室では長軸方向の収縮が主体であるが，ふいご様運動の動きが 25 %程度の割合で収縮に影響するとされている。本研究の結果からも長軸方向の動きである右室ストレインや，ふいご様運動の動きを表す RVFS は，右室全体の動きを表す RVEF と有意な関連を示した。また右室自由壁は拡張末期から平均 −30.9 ± 3.6 %収縮し，ふいご方向へは，中間部限定的ではあるが，平均 −23.3 ± 4.8 %短縮していた。一般的に右室自由壁の収縮ストレインは −20 %以上が正常値とされており，今回の結果から右室自由壁ストレインは正常，むしろ亢進しており，過去の報告と矛盾しなかった。おそらくこれは右室容量負荷により elastic recoil が増大し長軸方向の収縮が増した結果であると考えられる。右室内膜の心筋走行は縦走しており，左室の中層心筋にあたる輪状筋は右室には存在しないため，長軸方向の動きが Frank-Starling 機序の影響を受けるのは理解しやすい。一方，RVFS は以前の検討により右室容量負荷がない症例では −30 %程度であることがわかっており，それと比較すると容量負荷症例では低下していた。ふいご様運動の詳細なメカニズムは明らかではないが，おそらく自由壁の収縮により，自由壁が中隔側へ偏位することが主体であると考えられる。右室拡大により右室自由壁の形態が変化することで，もしかすると自由壁の収縮様式も変化するのかもしれない。いずれにせよ RVFS は RVEF の低下を最もよく検出しており，右室機能を評価する上では重要なパラメータになり得る。

文　献

1）Redington AN, Rigby ML, Shinebourne EA, et al. Changes in the pressure-volume relation of the right ventricle when its loading conditions are modified. Br Heart J 1990;63:45-49.

2）Ishibashi Y, Rembert JC, Carabello BA, et al. Normal myocardial function in severe right ventricular volume overload hypertrophy. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001;280:H11-6.

3）Sanz J, Sánchez-Quintana D, Bossone E, et al. Anatomy, Function, and Dysfunction of the Right Ventricle:JACC State-of-the-Art Review. J Am Coll Cardiol 2019;73:1463-1482.

4）Ding J, Ma G, Huang Y, et al. Right ventricular remodeling after transcatheter closure of atrial septal defect. Echocardiography 2009;26:1146-1152.

5）Menting ME, van den Bosch AE, McGhie JS, et al. Ventricular myocardial deformation in adults after early surgical repair of atrial septal defect. Eur Heart J Cardiovasc Imaging 2015;16:549-557.

先天性リンパ性胸腹水症例の短期的予後予測の可能性：インドシアニングリーン蛍光リンパ管造影による重症度評価

林　　辰　司

背　景

先天性リンパ性胸腹水は，複数のリンパ管の異常やリンパ管の破壊により，リンパ液が胸腔または腹腔に漏れる疾患である。先天性リンパ性胸腹水は，時間の経過とともに治癒するものもあれば，呼吸不全，免疫不全，栄養障害などにより死亡するものもある。生存率は非常に多様であると報告されており[1]，病態を正しく評価し，適切な治療方法を確立するためには，先天性胸水および腹水のリンパ系を調査する画像検査が不可欠である。

先天性リンパ性胸腹水の病因を解明するために，いくつかの画像診断法が報告されているが[1]，これらリンパ系疾患の画像診断の標準的な方法は確立されていない。リンパ管造影やMRリンパ管造影は[2]，深部体幹リンパ系の解剖学的構造を詳細に描き出すことができるが，侵襲性が高く，リンパ管を穿刺する必要があるため，手技に熟練を要する。リンパ管シンチグラフィ[3]は，比較的簡単に実施でき，皮下または皮内に注射するだけで済むため侵襲性も低いが，放射性同位元素の取り扱いに問題があり，得られる画像も鮮明ではない。

インドシアニングリーン（ICG）リンパ管造影は，成人のリンパ浮腫における皮下のリンパ異常を可視化できる，簡単に行えて低侵襲な手法であるが[4]，先天性リンパ性胸腹水に関する報告は少ない[5]。

われわれは，ICGリンパ管造影によるリンパ異常の重症度を評価する客観的な診断法を開発し，より多くの先天性リンパ性胸腹水の児を対象に，短期的な臨床予後との関連を検討することを目的とした。

方　法

研究対象者

本研究は，神奈川県立こども医療センター倫理委員会で承認され，全保護者から書面によるインフォームドコンセントを得た。2012年1月から2020年12月までに，当院の新生児集中治療室に入院した先天性リンパ性胸腹水症例を対象とした。リンパ性胸水あるいは腹水は，出生前または出生後に行われた胸腔穿刺または腹腔穿刺で総細胞数が1,000細胞/mL以上，リンパ球分画が80％以上と定義した[5]。(i)ICGリンパ管造影を行わなかった児，(ii)検査画像が保存できなかった児，(iii)リンパ管形成異常以外の機序で先天性胸腹液貯留を引き起こす可能性のある疾患（免疫性胎児水腫，複雑先天性心疾患，肝不全，風疹ウイルス，トキソプラズマ，サイトメガロウイルス，パルボウイルスB19などの先天性ウイルス感染症）を併発している児は除外した。

ICGリンパ管造影と重症度分類

ICG（ジアグノグリーン0.25％；第一製薬，東京）を1部位あたり0.1–0.2 mL（0.25–0.5 mg）の量で手背または足背に皮下注射し，3–24時間後に近赤外カメラシステム（Photodynamic Eye Neo；浜松フォトニクス株式会社，浜松）を用いて注入したICGの体表での分布を観察した。検査の全工程はベッドサイドで行った。分類は，成人のリンパ浮腫および先天性リンパ性胸腹水症例のICGリンパ管造影に関する既報文献に基づき以下のように定義した。dermal backflow（DB）パターンあり：四肢の末端から流れてきたリンパが体幹表面のリンパ管を逆流し，体幹に蛍光像がみられる場合（図1a）。DBパターンなし：体幹表面にリンパ流の逆流が観察されなかった場合

神奈川県立こども医療センター　新生児科

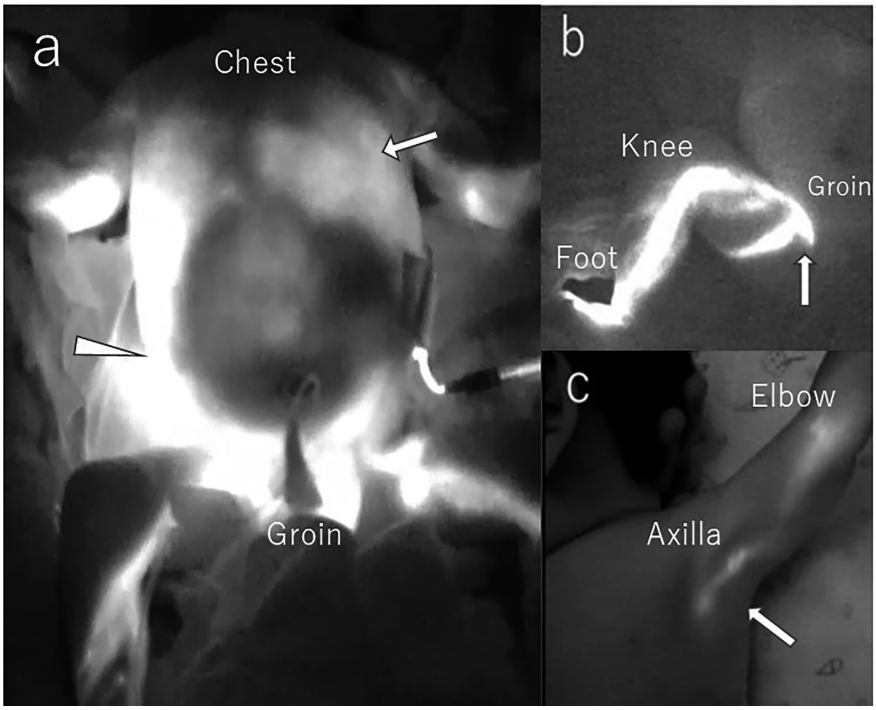


図1　DBパターンを認める児と認めない児のリンパ管造影所見
(a) 胸部と腹部のDBパターン。四肢末端に投与されたICGはリンパの流れに沿っているが，体幹の表面上で逆流し，胸部（矢印）と腹部（矢頭）の両方に蛍光像が生じている。(b) 腹部には真皮の逆流パターンはない。右足背から鼠径部に向かうリンパ流（矢印）は，体幹表面に逆流することなく深部リンパ管に流れている。(c) 胸部にはDBパターンはない。左手背に投与したICGは腋窩（矢印）から体幹表面に逆流しない。
DB＝dermal backflow; ICG＝インドシアニングリーン

（図1b, 1c）。上肢または下肢の少なくとも一方にリンパ液の逆流が観察された場合はDBパターンありとした。

現在までの進捗および今後の展望

観察期間中，29例の先天性リンパ性胸腹水症例のうち除外となった3例を除く26例のデータについて統計解析中であり，本年度中に雑誌投稿予定である。

文　献

1）Attar MA, Donn SM. Congenital chylothorax. Semin Fetal Neonatal Med 2017;22:234-239.
2）Dori Y. Novel Lymphatic Imaging Techniques. Tech Vasc Interv Radiol 2016;19:255-261.
3）Turpin S, Lambert R. Lymphoscintigraphy of Chylous Anomalies: Chylothorax, Chyloperitoneum, Chyluria, and Lymphangiomatosis − 15-Year Experience in a Pediatric Setting and Review of the Literature. J Nucl Med Technol 2018;46:123-128.
4）Kato M, Watanabe S, Iida T, et al. Flow Pattern Classification in Lymphatic Malformations by Indocyanine Green Lymphography. Plast Reconstr Surg 2019;143:558e-564e.
5）Shibasaki J, Hara H, Mihara M, et al. Evaluation of lymphatic dysplasia in patients with congenital pleural effusion and ascites using indocyanine green lymphography. J Pediatr 2014;164:1116-1120.

小児低血糖症における flash glucose monitoring（FGM）を用いた血糖動態の評価

花川純子，平野泰大，朝倉由美
水谷陽貴，滝崎菜穂，室谷浩二

背　景

脳は大量のブドウ糖を消費する臓器であるため，低血糖は脳機能に著しい影響（けいれん，意識障害など）を及ぼし，重症の場合は永続的な後遺症を残す。小児の低血糖は原因が多様で，低血糖時の症状も非特異的な場合があり，しばしば診断に難渋する。小児の低血糖の原因が複雑な理由は，血糖上昇のための機構と低下のための機構の先天性の異常や低年齢による未熟性による疾患が含まれているからとされる。

低血糖の再発を防ぐためには，低血糖を生じた原因の検索が必須である。ケトン性低血糖症のように空腹が持続した場合に生じるものであれば病歴から推測が可能であるが，血糖調節機構の未熟性による低血糖症やダンピング症候群による低血糖症の場合は，しばしば持続血糖モニタリングが有用となる。また，高インスリン血症に起因する低血糖症の場合は，治療効果判定にも持続血糖モニタリングが有用である。

血糖値と間質液のグルコース濃度はおおむね平衡関係にあると考えられており，適切に設計された機械を用いて測定した間質液のグルコース濃度からおおよその血糖値を計算できるというのが，contiuous glucose monitoring（CGM）の基本的な考え方である。CGM には，大別して，患者が常時携帯してリアルタイムに血糖値と変化傾向を表示するタイプと，医療機関において過去の血糖変動を振り返るタイプの 2 種類がある。これらの機械は，現在，1 型糖尿病の患者に対して保険適応となっている。前者は，現在 sensor augmented pump（SAP）療法とよばれるパーソナル CGM（持続血糖モニタリング）機能を搭載したインスリンポンプ療法として使用するか，スマートフォン等のモバイル機器を介してデータを表示させる必要がある。一方，flash glucose monitoring（FGM）とは間歇スキャン型 CGM で，reader をかざすことで測定データを読みとることが可能であり，使用中に従来型の血糖測定器による校正を必要としないという特徴・利点がある。

現在小児低血糖症には，自己血糖測定のみ認められており，CGM は保険適応がない。そのため，より詳細な血糖経過を知るためには，頻回の血糖測定が必要となり，穿刺回数や採血量が増えることで患児に対する侵襲が大きくなる。加えて間歇的血糖測定の場合，測定前後に生じる無症候性の低血糖を知ることは困難であり，血糖経過の把握や治療戦略が不完全なものとなる場合もある。持続血糖モニタリングの低血糖に対する有用性は近年新生児領域でも報告が散見されるようになり[1]，当院でも CGM を用いて持続血糖モニタリングを安全に行なった実績がある[2]。加えて FGM も有効例が報告され始めている[3]。

病院内で使用する場合，電波を発するモバイル機器を使用しないデバイスが望ましい場合がある。また，小児の場合，常に受信器を携帯する必要がないほうが活動に制限がかからず，本人・家族に加え医療従事者の負担も軽減できる。かざすだけでデータを読み取るデバイスであれば低年齢の小児でも操作が可能となり，学校等で医療従事者以外の成人スタッフとも血糖値を共有することができるため，患児の低血糖を回避できる可能性がより高まる。

今回，FGM を用いて低血糖を生じた既往のある小児において，原因検索や血糖動態の把握，治

神奈川県立こども医療センター　内分泌代謝科

療効果判定を行った。

対象と方法

＜対象＞

①すでに低血糖症と診断されている児

例：先天性高インスリン性血症，肝型糖原病，ケトン性低血糖症等

②原因不明の低血糖を生じた既往のある児

ただし，ペースメーカー等，他の埋め込み型医療機器を使用している児は併用禁忌のため除く

＜方法＞

インフォームドコンセントを得たのちFGMを装着する

機器はAbbot社のFreeStyleリブレ®を使用する

最低8時間に1回は厚さ4 cm以内の衣服の上から血糖を読みとる

装着期間は連続14日間以内

入浴や運動に制限はないが，X線・CT・MRI検査の際には，センサーをはずす

評価項目：血糖変動

テープかぶれや刺入部の発赤等の皮膚トラブルの有無

結　果

すでに低血糖症と診断されている2名の患者においてFGMによる血糖評価を行った。

患者①　5歳　女児

先天性高インスリン血症による低血糖に対して，内服および頻回食事摂取による栄養療法中であった。オクトレオチド酢酸塩が先天性高インスリン血症による低血糖症に対して保険適応となったため持続皮下注射を導入した。効果判定および用量調節目的に外来でFGM装着を行った。

自宅で通常どおりの生活を行ったところ，午前4–8時すぎまでの血糖が低値であることが判明した（図1）。

オクトレオチド酢酸塩の持続投与量を午前4–9時まで増量し，再度FGM装着を行った。

早朝の低血糖が改善した（図2）。

血糖値が安定した結果，期せず低血糖が出現した際，自覚症状はない状態で気が付くことができ（図3），原因検索を行うことが可能であった。その結果，持続皮下注射を行っている携帯型ポンプのチューブトラブルでオクトレオチド酢酸塩の投与が中断されていたことが判明した。チューブの固定方法を工夫して，その後はトラブルを生じることなく過ごせている。

患者②　3歳　男児

ダンピング症候群による低血糖症に対して，ミルクアレルギーがあるためミルフィーの頻回注入（1日4回　1回200 mLを2回にわけて注入）と注入90分後のブドウ糖投与，夜間持続注入で対応していた。注入時間の調整のため入院の上，FGM装着を行った。

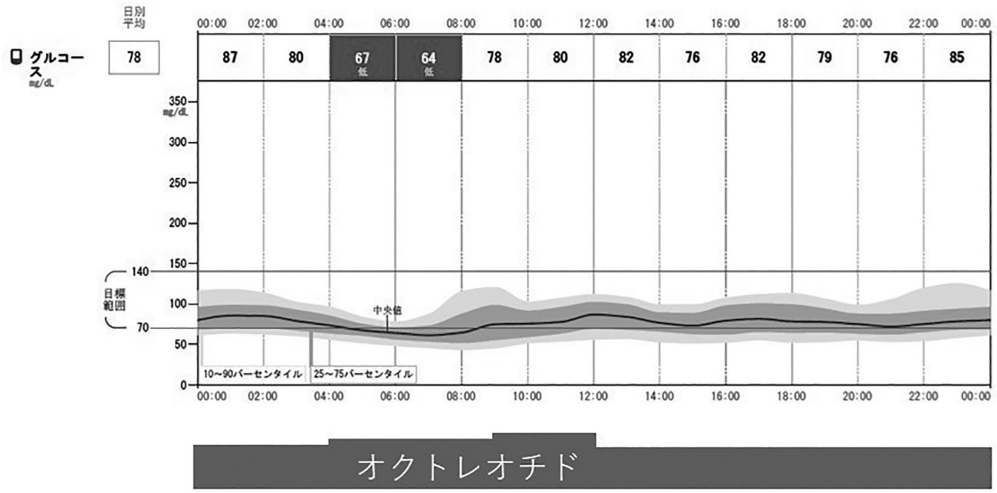


図1　血糖推移（患者① 持続皮下注射開始後　14日間の日内パターン）

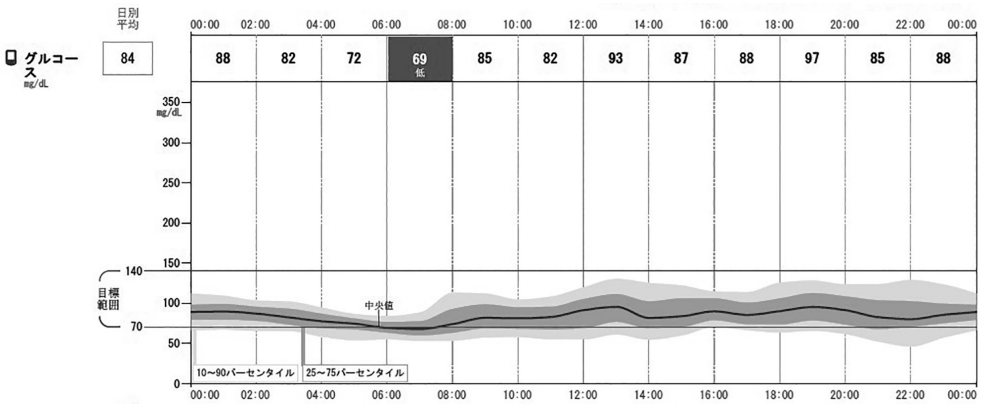


図2　血糖推移（患者① 用量調節後　14 日間の日内パターン）

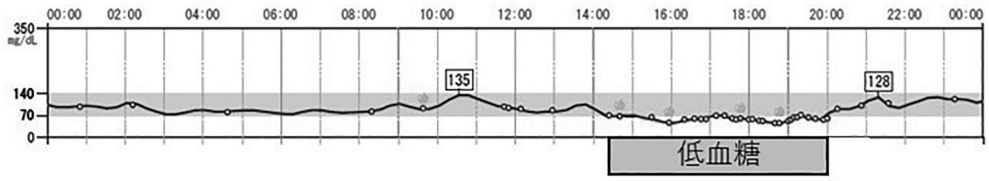


図3　血糖推移（患者①　低血糖が生じた日の日別記録）

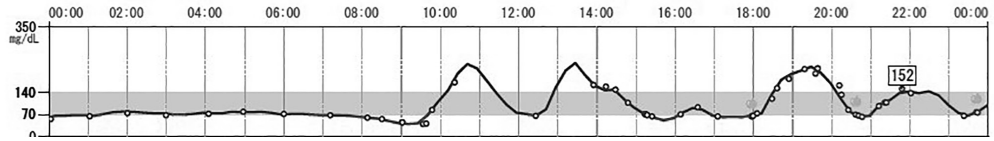


図4　血糖推移（患者②　間歇注入のみの日の日別記録）

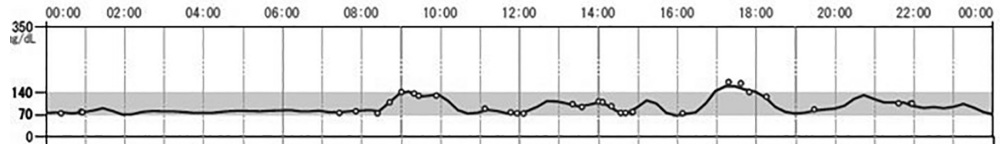


図5　血糖推移（患者②　注入時間・内容の調整後の日別記録）

ミルフィーの注入後，血糖値の急激な上昇と，その直後に起こる血糖値の急激な低下の状態が繰り返されており，ダンピング症候群に起因する低血糖であることが確認できた。また，夜間持続注入を中止すると早朝に低血糖を生じることが判明した（図 4）。

間歇注入を 1 回 250 mL を 3 回にわけて注入することに変更し，ブドウ糖投与と夜間持続注入を中止した。自宅で FGM 装着を継続したところ，注入後の高血糖，ダンピング症候群による低血糖が消失し，1 日を通じた血糖変動の安定化が確認された（図 5）。

両患者とも，皮膚トラブル等の合併症なく 14 日間 FGM 装着が可能であった。

考　察

2 患者とも，間歇的血糖測定ではわからなかった低血糖を含め血糖推移を安全に評価することが

可能であった。その結果，低血糖予防に効果的な対応をとることができ血糖変動が安定した。

自宅でFGM装着を継続することにより，普段の生活での血糖推移を評価することができ，本人・家族と正確な血糖情報の共有が可能となった。

穿刺による血糖測定回数を増やすことなく24時間持続的な血糖推移を評価できたため，本人・家族の負担を軽減できた。

今後の予定

有効性および安全性評価のため，さらなる症例の蓄積を目指す。

文　献

1）水本洋. NICUにおけるCGM（continuous glucose monitoring）の応用. 日本新生児成育医学会雑誌 2019;31:323-327.

2）友滝清一. リアルタイム持続血糖モニタリングを用いた新生児の血糖管理. こども医療センター医学誌 2017;46:139-140.

3）東條達也, 柘植智史, 谷口弘晃, 他. 新生児高インスリン性低血糖症に対するCGM（continuous glucose monitoring）の使用経験. 日本新生児成育医学会雑誌 2019;31:791.

先天性大脳白質形成不全症に関連する遺伝子のスプライシング異常の解明

新保裕子[1)]，後藤知英[2)]，黒澤健司[3)]

はじめに

遺伝子の選択的スプライシング制御の破綻が疾患の原因となり，その1つに深部イントロンの変異が挙げられる[1-2)]。

オリゴデンドロサイトに発現しているPLP1遺伝子は，7つのエクソンから成り，PLP1（277アミノ酸）とエクソン3の後半35アミノ酸が欠落したDM20（242アミノ酸）の2つのスプライシングバリアントが存在する。PLP1（277アミノ酸）は主に中枢神経のオリゴデンドロサイトで発現し，PLP1/DM20の比率低下が髄鞘化形成異常を惹き起こす。

PLP1遺伝子異常は，先天性大脳白質形成不全症 pelizaeus–merzbacher disease（PMD），spastic paraplegia 2（SPG2）の原因となり[3)]，重複，点変異，欠失，挿入，スプライシング異常が知られる。

最近，新たな病態 hypomyelination of early myelinating structures（HMES）を持つ患者群から，PLP1遺伝子の深部イントロンに変異が報告されている[4-6)]。

今年度は，当センターで解析した深部イントロンの新規変異について，スプライシングへの影響を細胞で評価した。図1にイントロン3の2次構造と変異報告を示す。さらに，レスキュー実験として，pre-mRNAを安定化させるために，変異部位と結合する相補的な部位に変異を入れたダブル

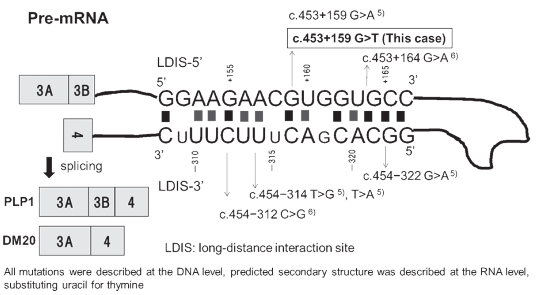


図1　*PLP1* イントロン3の2次構造（予測）と変異報告

1）神奈川県立こども医療センター　臨床研究室　　2）同　神経内科　　3）同　遺伝科

変異体（レスキュー）を作製し，スプライシングが正常化されるかどうかを検証した。

方　法

1．PLP1 発現細胞の培養

PLP1 の遺伝子発現があるオリゴデンドロサイト前駆細胞株（Oli-neu）を国立精神・神経医療研究センター 井上健先生より Dr. Jacqueline Trotter（University of Mainz, Germany）[7] の承諾を得て譲受した。Oli-neu 細胞は Poly-Lysine コートしたシャーレ，SATO medium+1 % horse serum を用いて培養した。

2．プラスミドベクター構築

RNA 転写産物の解析に用いるエクソントラップベクター（pET01, MoBiTec GmbH, Germany）に，エクソン 3–5 を含む野生型および変異型のインサート DNA を導入する。変異型に関しては部位特異的変異導入法（Mutagenesis kit, Toyobo, Japan）を用いて作製した。

3．mRNA 転写産物の解析

Oli-neu 細胞 1×10^4/ well（24 well plate）を播種し，3 日後にリポフェクタミン 2000（Invitrogen, USA）を用いて，野生型および変異型のプラスミドを導入し，2 日後に RNA を抽出（Isogen, Wako, Japan），逆転写反応により RNA から cDNA を合成し（PrimeScript RT Master Mix Takara, Japan），cDNA を鋳型として PCR を行った。

4．in silico 解析

Pre-mRNAの安定性は，mfold program（http://mfold.rna.albany.edu/?q=mfold/RNA-Folding-Form）を用いて検討した。

結　果

mRNA 転写産物の解析

Reverse Transcriptase PCR の結果，変異型では PLP1 の発現量が激減し，PLP1/DM20 の発現比率も低下したが，ダブル変異により PLP1 の発現量と PLP1/DM20 の発現比率が正常化した（図 2）。

Pre-mRNA の安定性

mfold program の解析結果，変異型（c.453+159 G>T）は野生型と比べて不安定な構造を持つが，ダブル変異（c.453+159 G>T＋c.454–316 C>A）では安定化することが示された（図 3）。

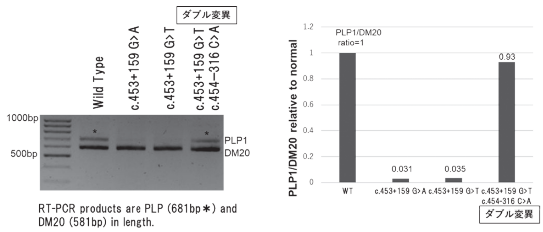


図２　mRNA 転写産物の解析結果

電気泳動写真（左），PLP1/DM20 の比率（右）コントロールの野生型を 1 とする 変異型では PLP1 の発現量が激減し，PLP1/DM20 の発現比率も低下する。ダブル変異では PLP1 の発現量と PLP1/DM20 の発現比率が正常化する。

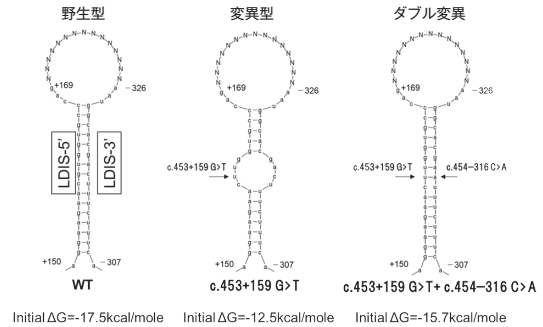


図３　*PLP1* イントロン３の pre-mRNAの２次構造の安定性（*in silico*）

野生型（左），症例（中央），ダブル変異（右）
LDIS: long-distance interaction site

考　察

PLP1 のイントロン 3 のスプライシングエンハンサー領域欠損による PLP1/DM20 の発現比率の低下と髄鞘化形成不全症との関連についてはマウスモデルを用いた研究において報告されている[8]。今回，当センターで解析した PLP1 イントロン 3 の一塩基変異（c.453+159 G>T）による PLP1/DM20 の発現比率の低下を細胞実験で証明した。c.435+159 の G（グアニン）は相補的な部位 c.454–316 の C（シトシン）は両方 3 つの水素結合を有するため安定した構造をとるが，c.435+159 が T（チミン）に置換することで，T は 2 つの水素結合のため不安定な構造になる。そこで，相補的な部位 c.454–316 を C から 2 つの水素結合をもつ A（アデニン）に置換して，2 つの変異体を導入したレスキューモデルを作製し，検証したところ PLP1/DM20 の発現が正常化された。この結果より，イントロン深部の long-

distance interaction site は，図 3 で示すような構造を持ち，相補的な構造を安定化させることで正常なスプライシングが起こることが示唆された。

文　献

1）Faustino NA, Cooper TA. Pre-mRNA splicing and human disease. Genes Dev 2003;17:419-437.

2）Vaz-Drago R, Custódio N, Carmo-Fonseca M. Deep intronic mutations and human disease. Hum Genet 2017;136:1093-1111.

3）Inoue K. PLP1-related inherited dysmyelinating disorders: Pelizaeus-Merzbacher disease and spastic paraplegia type 2. Neurogenetics 2005;6:1-16.

4）Steenweg ME, Wolf NI, Schieving JH, et al. Novel hypomyelinating leukoencephalopathy affecting early myelinating structures. Arch Neurol 2012;69:125-128.

5）Taube JR, Sperle K, Banser L, et al. PMD patient mutations reveal a long-distance intronic interaction that regulates PLP1/DM20 alternative splicing. Hum Mol Genet 2014;23:5464-5478.

6）Kevelam SH, Taube JR, van Spaendonk RM, et al. Altered PLP1 splicing causes hypomyelination of early myelinating structures. Ann Clin Transl Neurol 2015;2:648-661.

7）Trotter J. The development of myelin-forming glia: studies with primary cell cultures and immortalized cell lines. Perspect Dev Neurobiol 1993;1:149-154.

8）Wang E, Dimova N, Sperle K, et al. Deletion of a splicing enhancer disrupts PLP1/DM20 ratio and myelin stability. Exp Neurol 2008;214:322-330.

質量分析システム（LC-MS/MS）を用いた血中ステロイド一斉分析法の構築（最終報）

室谷浩二[1)]，岩野　麗[2)]，花川純子[1)]
朝倉由美[1)]，安達昌功[1)]

はじめに

ステロイドホルモンは，副腎および性腺（精巣，卵巣）において，コレステロールから多段階の酵素反応を経て生合成される（図 1）。従来，ELISA などの免疫学的測定法により目的とするステロイド成分を 1 つずつ個別に測定していたため，各成分あたり 0.5−1.0 mL の採血量が必要で，小児（特に，新生児や早産児）では，多数のステロイド成分を同時に測定することが，しばしば困難であった。加えて，測定に用いられる抗体の特異性が必ずしも高くなかったため，目的とするステロイド成分を正確に定量できず，偽高値や偽低値を呈する結果，誤診断の可能性すらあった。さらに，新生児や早産児は，胎児副腎皮質由来ステロイドの干渉に起因する 17-OHP やテストステロンの偽高値がしばしば問題となり，先天性副腎過形成の確定診断や，非典型的な外性器形態（ambiguous genitalia）を有する新生児における迅速かつ正確な性別決定が困難な場合があった。

本研究の目的は，質量分析システム（LC-MS/MS）を用いて，血中の各種ステロイド成分を高い感度と特異性で同時定量測定できる系を確立すること，である。新生児や早産児でしばしば認められる，胎児副腎皮質由来ステロイドの干渉に起因する 17-OHP やテストステロンの偽高値を回避することにより，新生児マススクリーニングで見いだされた 17-OHP 高値における正確な診断とその後の治療フォロー，非典型的な外性器形態

1）神奈川県立こども医療センター　内分泌代謝科　　2）同　臨床研究室

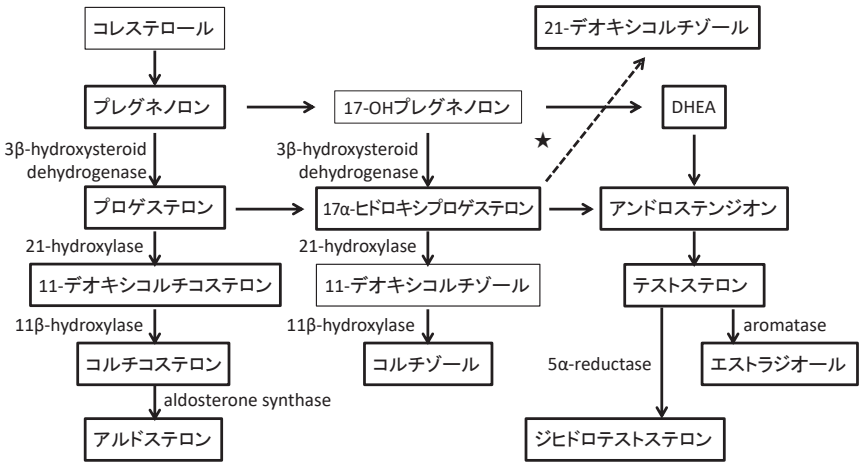


図1　ステロイドホルモン生合成

ステロイドホルモンは，副腎および性腺（精巣，卵巣）において，コレステロールから多段階の酵素反応を経て生合成される。★は，21 水酸化酵素欠損症など，17-OHP が上昇した時に起こる反応である。本研究で分析予定のステロイドを，太実線四角で囲んで示す。

（ambiguous genitalia）を有する新生児における迅速かつ正確な性別決定が可能となる。

研究成果の要約

（1）多重モニタリング（MRM）分析系の設定

当院が保有する質量分析システム“トリプル四重極型 LC-MS/MS 分析システム”Triple Quad 4500（Sciex）を用いて，13 種類のステロイドと 25 水酸化ビタミン D の多重モニタリング（MRM）分析の系を確立した。13 種類のステロイドとは，コルチゾール，アルドステロン，テストステロン，エストラジオール，ジヒドロテストステロン，プレグネノロン，プロゲステロン，11-デオキシコルチコステロン，コルチコステロン，17α-ヒドロキシプロゲステロン（以下17-OHP），21-デオキシコルチゾール，デヒドロエピアンドロステロン，アンドロステンジオンである（図 1）。

（2）患者検体の定量

21 水酸化酵素欠損症を含む患者の解析を行い，その成果を，日本マススクリーニング学会誌に論文投稿し，原著論文として受理された[1)]。当院で診療を継続している 21 水酸化酵素欠損症（21-OHD）の患者 12 名と副腎低形成性症（DAX1 異常症）の患者 2 名の残血清を用いて解析を行った。

21-OHD 患者では，ほとんどのステロイドホルモン成分が測定されたが，エストロンについては検出されない検体が多く観察された。同様に，DAX1 異常症の患者検体においてもエストロンは検出されなかった。

本法（LC-MS/MS 法）での測定値と従来法である ELISA 法での測定値を比較検討した結果，21-OHD 患者では，テストステロンの測定値は LC-MS/MS 法と ECLIA 法での測定値の間には差がほとんど観察されなかった。また，DAX1 異常症患者も同様に，LC-MS/MS 法と ECLIA 法での測定値には差がほとんど観察されなかった。

21-OHD 患者における 17-OHP の測定では，両者の測定値の間に大幅な乖離が観察され，どの検体においても ELISA 法での測定値の方が高値を示した。

ELISA 法と本法での測定値の相関を図 2 に示した。各ステロイドホルモン成分における相関係数は，17-OHP：0.69，コルチゾール：0.99，テストステロン：0.82 であった。相関係数の有意性を検定したところ，検定統計量（t）は，17-OHP：2.547，コルチゾール：24.248，テストステロン：3.770 であった。P 値は，17-OHP：0.038，コルチゾール：5.12×10^{-8}，テストステロン：0.007 で

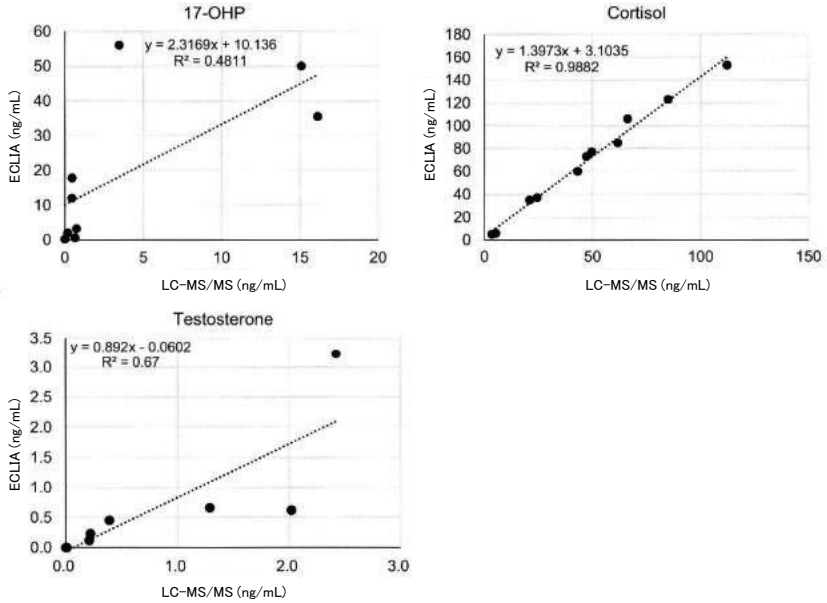


図２　ECLIA 法と LC-MS/MS 法での血中ステロイド測定値の相関
３種類の血中ステロイドホルモン（17-OHP，Cortisol，Testosterone）について，ECLIA 法と LC-MS/MS 法での測定値の相関を示す。

あった。この結果から，コルチゾールとテストステロンは，LC-MS/MS 法と ECLIA 法での測定値間の相関係数に 1 %の有意水準があり，17-OHP は，LC-MS/MS 法と ELISA 法での測定値間の相関係数に 5 %の有意水準があることが示された。

考　察

21-OHD の患者では，21-水酸化酵素が欠損しているため，17-OHP が 21-水酸化を受けられず高値を呈する。加えて，過剰な 17-OHP が 11-水酸化酵素により 11-水酸化を受けて 21-DOF が産生され，高値を呈する。このため，21-DOF は 21-OHD の新たな診断指標として有用であると考えられる。しかしながら，本検討では，17-OHP 高値かつ 21-DOF 高値であった検体は，2 例のみであった。他に 17-OHP 高値の症例は 6 例あったが，21-DOF は低値（コントロールと同じレベル）であった。この結果に対する明確な原因は不明であるが，治療による影響が考えられる。すなわち，17-OHP 値が低い場合，21-DOF への変換が起こらない可能性が考えられる。したがって，21-OHD を診断する際に，17-OHP の数値だけではなく，21-DOF も同時に定量することで診断がより確実となる可能性があること[2]，経過フォロー中のコントロール指標に 21-DOF 値が有用である可能性があること，が推測される。

本研究で検討した LC-MS/MS を用いた測定法を CAH スクリーニングの陽性例の精密検査受診時の確定診断に用いることにより，胎児副腎皮質由来ステロイド成分の干渉に起因する 17-OHP の偽高値を回避することが可能となり，21-OHD の診断精度が高まると考えられる。ただし，17-OHP の数値だけで 21-OHD を判断するのではなく他のステロイドホルモンを同時に測定することで，ステロイドホルモン比などを用いて判断することも必要である。また，21-OHD 以外のステロイドホルモン合成障害の鑑別診断もステロイドホルモンを同時に測定することでホルモン動態が明確となり，診断精度が高まると考えらえる。

今後の計画

21 水酸化酵素欠損症患者の検体をさらに集積し，各種ステロイド成分の測定，日内変動の検討を予定している。

加えて，エストロンやエストラジオールの測定感度に問題があることが判明したため，これらの測定感度を改善するための方法を検討する方針である。

文　献

1）岩野麗子, 花川純子, 朝倉由美, 他. 高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計を用いた血中ステロイドホルモン一斉分析法の構築. 日本マススクリーニング学会誌 2019;29:31-37.

2）Fiet J, Le Bouc Y, Guéchot J, et al. A Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectometry Profile of 16 Serum Steroids, Including 21-Deoxycortisol and 21-Deoxycorticosterone, for Management of Congenital Adrenal Hyperplasia. J Endocr Soc 2017;1:186-201.

重症心身障害児への働きかけと発達に関する研究

井合瑞江[1,2]，辻　恵[1,2]，柳川智志[3]
原　伸一[3]，山口恵美[4]，熊田直亮[4]

要　旨

表出表現の乏しい重症心身障害児への働きかけに対する反応を客観的にとらえて，療育へ反映させ発達につなげることが本研究の目標である。昨年度まで心拍変動解析による自律神経活動変動，ビデオ撮影による観察を指標とし音楽や音・匂いに対する変化を検討し反応性の乏しい症例も含めて本人なりの捉え方の違いを示唆する解析結果を得ている。個別性を踏まえた働きかけのため今年度は終日人工呼吸器依存幼児例において，心拍変動解析を用いて日中生活・療育活動中の変化について検討した。“手を触れて話しかける”働きかけ開始時の反応はLF／HF上昇・HF低下としてとらえられ，続けることや反復で反応は変化していた。具体的な働きかけを続けることによる反応の変化を詳細かつ継続的に検討する必要性が示された。

はじめに

重症心身障害児（者）（以下，重症児（者））の重度化・重複化は医療の進歩とともに進んでいる。知的・運動障害のみならず脳神経系・脳幹機能障害を伴い，人工呼吸器などの医療機器や医療的ケアが生活にかかせない状態となる子どもたちが増えている。表出機能の障害が重く，反応性の乏しい重症児（者）が含まれ，医療や安全が優先された制約の多い環境の中で過ごさざるをえないことが多く見受けられる。

施設で過ごす子どもたち１人１人に発達の可能性はあり，私たちは生理学的指標も取り入れた発達や働きかけの検討を続けている。本人はどう感じているのか，どのような働きかけや支援が良いのか，表出の乏しいケースにおけるコミュニケーションを念頭に日々の活動につなげたい。

今年度は昨年度から引き続き，表情や四肢・口の動きなどから反応や情動を判断することが難しい当院施設入所者１名（以下，対象者）に対し，心拍変動解析を中心として，１日の生活場面と療育活動中の変化について解析検討した経過を報告する。

対象・方法

１．対象

当施設入所中の溺水後遺症による重症心身障害

1）神奈川県立こども医療センター　神経内科　　2）同　重症心身障害児施設　　3）同　発達支援部
4）同　重心生活支援課

幼児 1 例。GMFCS-V，追固視なく，顔の表情変化なし，開閉眼不十分，開口・嚥下運動不可。終日人工呼吸管理，経管栄養。随意運動なし，流涙や一過性の不規則紅斑出現あり。頭部 MRI では大脳・深部灰白質のびまん性委縮と被殻の嚢胞性脳軟化症を認める。脳波は正常背景脳波はみられず頭頂後頭優位な棘波あり，臨床的発作は同定しにくいが脳波上の発作を認める。

2．方法

生活場面におけるさまざまな感覚刺激（聴覚，視覚，触覚等）や遊びに対する対象者の反応を心拍変動解析（Memcalc/Bonary light® GMS 社製）を用いて評価する。心拍変動解析は，心電図の RR 間隔の変動から算出される周波数解析で，周波数スペクトルの低周波数成分を low frequency（LF），高周波数成分を high frequency（HF）とし，自律神経機能評価に使用され[1)]，副交感神経指標が HF，交感神経指標が LF／HF とされる。心拍数（HR）も計測する。分析期間は 2020 年 4 月－2021 年 3 月とした。

3．検討課題

1）日中生活場面での記録
　吸引や注入，体交などの処置による変化

2）療育活動場面における変化
　手を触る：右または左，手背から指にかけてゆっくり触れる
　声かけ：「おはよう」「タッチタッチ」「呼名とお話」

“手を触れて話しかける”行為は記録の有無にかかわらず，呼名と肩動かし後のルーチンとして同一実施者により毎週 3 日以上は反復して行われた。心拍変動解析による評価時は上記の刺激を 1 分間，休憩を 1 分間で繰り返した。

なお対象者の保護者には研究の主旨を説明し，文書にて同意を得た。

結　果

2020 年 4－10 月までに 6 日間，日中記録を行った。うちデータ解析が可能であったのは 4 日間であった。

1．日中生活場面での記録

処置（おむつ交換・体交・吸引・ベッドからの移乗の組み合わせ）は 4 回とらえられた。LF／HF 上昇，HF 低下パターンとなり，HR は軽度上昇した。

昨年度の検討と同様の結果であった。

2．療育活動場面での心拍変動解析

日中に繰り返し実施された呼名と肩動かし後の“手を触れて話しかける”働きかけ時における心拍変動解析では（2020 年 7 月 30 日，1 回），呼名後の肩動かしで LF／HF 上昇，HR 上昇し，手の触れ始めに LF／HF 上昇，HF 一旦低下後，徐々に LF／HF は低下し，HF が上昇した。刺激がなくなると HF は低下した（図 1）。

1 分間“手を触れて話しかける”行為を 4－5 回反復する心拍変動解析は 2020 年 4 月と 10 月の 2 回評価となった。4 月施行結果では 1 回目の左手

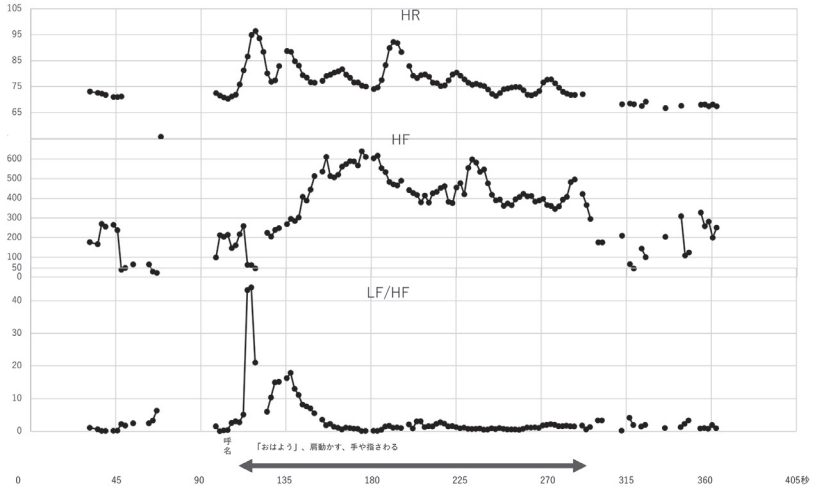


図 1　働きかけ（呼名から肩動かし，手・指に触れる）中の心拍変動解析

タッチ＋声かけ「タッチタッチ」で明確なHR，LF／HFは上昇，HFの一過性低下を認めた。その後の刺激反復中，LF／HFは小幅な上昇と休憩中の低下を反復し，HR変化はやや遅れて同様の動きを示した。HFは1回目刺激中に一過性低下後に上昇し，以後は刺激・休憩での動きは一定せず徐々に低下する経過を示した。10月施行結果では初回刺激でLF／HF上昇がわずかに認められたが，以後は刺激・休憩に伴う変化は一定せず，検査中全般にLF／HF低下傾向がうかがえた。HF，HRは一定の変化を示さなかった。

考　察

重症児（者）における心拍変動解析については交感神経系活動LF／HFが健常人のような日内変動がみられず，副交感神経系活動HFのみが自律神経機能の評価指標となりうるという報告[2]やや睡眠時自律神経活動でHFの低下とLF／HFの優位性が示された報告[3]などがあり，中枢神経系の異常に基づく病態の特異性を反映している。対象者は昨年度の検討から通常の日内パターンとは異なり，睡眠中LF／HFが高くHFは高値とならない交感神経活動が優位なパターンが明らかとなった。また，HRが高い時間帯ではHF低値，覚醒中のかかわりに反応してLF／HFが高値となる一定の反応を示し，心拍変動解析による評価により対象者がかかわりをしっかり受信していることが推測された。HFは肺伸展受容器が発する呼吸周期の揺らぎによるため呼吸異常とHF低値の関連が考えられているが対象者ではHFが一定して低値となることはなかった。

今回，処置時にはLF／HF上昇，HF低下，HR上昇のパターンが明らかとなった。このような反応は対象にとって不快・苦痛または驚きなど大きな感情の動きとしてとらえている可能性が示された。また，“手を触れて話しかける”ことについては評価回数が少なく結論とすることは難しいが，刺激の始まりはLF／HF高値が明らかであり，反復することで変動幅は低下した。また，4月検査と比して10月検査では刺激の始まり時のLF／HF上昇が少なくなり，“手を触れて話しかける”行為を日常的に行っていたことが何等かの影響をもたらした可能性がある。同じ働きかけでも捉え方の変化に影響を及ぼすさまざまな要因が考えられる。覚醒度や体調，周囲の環境，けいれん発作など，生理的なものから情緒的なものまで多くの要因が想定される。反復される働きかけへの学習が心拍変動解析の変化に関わる1つの要因となる可能性もあり，継続的かつ詳細な検討が必要である。

今までのわれわれの検討では，提示された刺激に対する反応には個別性があり，重症心身障害児とひとくくりにできないことが示される。また「大好き・喜び・笑い」でLF／HFが上昇し，「耳をすませて集中」「鎮静的曲」でHFが高くLF／HF低下も報告した。昨年度と同様に，働きかけの始まり時の反応が明確だったことは環境場面の変化に際し，何等かのサインを提示することが本人の理解を評価する上で有用である可能性を示唆している。また，刺激や環境設定を同じスケジュールで繰り返したことで受け止め方が変化していくのか，発達や学習という視点をもって，今後も個々への適切な働きかけについて継続的に評価・検討することが必要である。

まとめ

1．重症児（者）における感覚刺激・環境変化の受け止め方の客観的指標として，心拍変動解析による評価は有用である。
2．反応の乏しい重症児1例で心拍変動解析を行い，処置や“手を触れて話しかける”働きかけの始まり時にLF／HF上昇，HF低下が明確であった。刺激反復により反応は変化した。
3．個別性を配慮した対応と評価を確立するため，さらなる検討継続が必要である。

文　献

1）Montano N, Ruscone TG, Porta A, et al. Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. Circulation 1994;90:1826-1831.
2）北川かほる. 種子島幸男. 藤井誠, 他. 心拍変動解析を用いた重症心身障害児(者)の療育評価に関する検討. 日本重症心身障害学会誌 2011;36:509-515.
3）松井学洋, 中井靖, 高田哲. 重症心身障害児の睡眠時自律神経活動の特徴. 脳と発達 2017;49:260-266.

低出生体重児フォローアップにおける3歳時までの特徴

尾方　綾，大出幹子，蒲池和明
高橋未央，後藤　恵，佐久間麗
伊藤朱真理，藤重千聡，広瀬真紀子
高野則之

問　題

近年の新生児・周産期医療の進歩により，超低出生体重児の死亡退院率は改善しており，我が国の超低出生体重児の死亡率の低さは世界的にみてもトップレベルである[1)]。一方で，より未熟な児や重症例の生存が増加している。そのようなハイリスク児は，脳性麻痺や知的障害，視力障害および聴力障害などの神経学的合併症の頻度が高いとされ，神経学的合併症のない児であっても，出生体重の低い児では，身体発育，精神運動発達は正期産児とは異なる[2)]。

早産児低出生体重児，慢性疾患を合併した児，神経学的問題を合併した児，多胎児，先天異常を認める児などのハイリスク児を対象とし，フォローアップ健診が行われている[3)]。ハイリスク児フォローアップ研究会によってKey Ageが定められており，修正1歳6ヶ月，3歳，6歳（就学前健診），9歳（小学校3年生）で発達・知能検査の実施が必要とされている[3)]。

近年では，脳性麻痺，知的障害，聴力障害などの明らかな障害を残す率は著しく減少しているのに対し，早産児極低出生体重児の不器用さの問題，学業成績の不振，軽度発達障害の症状としてとらえられる行動の問題，高次脳機能障害などを持つ児の存在がより注目されるようになってきている[4)]。

長谷川らは，修正年齢5歳までのフォローで身体発育および運動発達の長期予後の予測はほぼ可能だが，学習障害などの微細神経障害を含む精神発達の評価には学童期までのフォローが必要であるとしている[5)]。

金澤らは，平均年齢8歳の超低出生体重児を対象に，認知発達や発達障害，さらに行動問題を中心に予後の特徴を明らかにし，予後に影響を与える周産期因子や環境因子を明らかにすることを目的として調査を行っている[6)]。それによると，学習障害（LD）の出現率は25.8％と比較的高い結果となった。また，Conners親用評定尺度で何らかの行動問題が見られた児の割合は，超低出生体重児で51.5％となり，対照群と比べて有意に高かった。予測因子としては，入院日数が短いほどIQが高く，年収が多い家庭，出生体重が重い児ほどIQが高いという関係が認められた。注意欠如／多動性障害（ADHD）に関しては，出生体重SDが低いほど中核症状である不注意，多動性，衝動性といった特徴が強く表れる傾向が示されたが，そうした行動問題が兄弟姉妹（同胞）の人数など家庭環境による刺激を受けて軽減しうる可能性も示された。

平澤らは，WISC-ⅢのFIQは出生時体重や出生在胎週数と有意な相関を示したことから，早産低体重は軽度の知的障害のリスクとしている[4)]。また，FIQが100を超える児ではVIQ（言語性IQ）がPIQ（動作性IQ）より優位に高い児を48.5％に認めており，児への対応において視覚認知力を補うために言語による解説をつけるなど特別な配慮も必要としている。また，軽度発達障害の症状は3，4歳ではわかりにくいことが多く，3歳時に発達検査の指数のみに注目していると問題なく順調と判断されてしまうことになるので，発達検査のみならず行動面の特徴の把握など詳細な評価を行い，それに基づいてその時期の児にどのよう

神奈川県立こども医療センター　臨床心理科

に対応していくのかなどの保護者への有効な支援策を検討提案するように留意すべきであるとしている。

発達障害が社会的に注目を浴びるようになってくるにつれ，軽度発達障害を持つ可能性を疑う児の保護者の不安を軽減し，児の問題に適切に介入，支援について方策を考えていくことが重要になってきている[4]。近年では発達障害の早期発見・早期療育が課題となっている。自閉症スペクトラム（ASD）のある子どもは早期療育を行うと，行動の改善や発達の促進に良い結果をもたらし，さらに家族の子どもに対する理解を深めるよう働きかけることで，支援は長く続き，生活の広い範囲に広がり，その結果，成人後の社会適応とQOLを高めるとされている[7]。また，早期発見の意義について，介入を早期から始める方が親の心理教育的支援の効果が上げやすいことでもあるとされる[8]。他の子どもとわが子を比べて気に病むことや，自分の育て方に自信を持てずにいることが長く続くことによって，親は慢性的なストレスにさらされるが，介入開始の時期が早くなることにより，そのような状態をより早く抜け出し，見通しと意欲を持って育児に当たることができるような支援が可能となるとされている[8]。一方で，発達の早期段階での障害の見極めは容易ではなく，保育所・幼稚園などでの集団生活においていわゆる“問題行動”が顕在化し，保育者が対応に苦慮する事例が報告されている[9]。

儀間は，極低出生体重児のフォローアップ健診で1歳6ヶ月・3歳時に実施した問診評価の結果と6歳時の発達の関連を検討しており，フォローアップ健診で用いる問診表はハイリスク児を適切にフォローアップし，その後の発達を支援する上で有用な情報を多く含んでいること，3歳時の問診にそれがより顕著であることを示している[10]。

当センターではハイリスク児のフォローアップ（以下フォローアップ）として，臨床心理科臨床心理士が発達・知能検査を実施し，結果を基に保護者と話し合いを行い，児の発達状況や発達特性など理解を深めたり，必要な対応や介入について検討を行っている。また，新生児科主治医とも結果を共有し，必要に応じて多職種と検討したり，療育機関を利用することを勧めている。また，フォローアップを行う中で早期に児の発達特性を把握し，必要な支援に繋げることができるよう，Key Ageの初回となる修正1歳6ヶ月での発達検査実施時に，新版K式発達検査2001（K式）に加えて，親記入式乳幼児自閉症チェックリストmodified checklist for autism in toddlers（M-CHAT）を併せて実施している。発達検査結果に加えM-CHAT結果から，気になる特性を有する児として挙げられた場合，Key Ageである3歳の発達評価を待たずに修正2歳頃に発達検査の再検査を行ってきた。その中で，発達検査結果とM-CHAT結果に乖離があり，Key Ageを待たずして発達フォローが必要と判断されるケースが一定数あることや[11]，修正1歳6ヶ月時にM-CHATが不通過であった児らは3歳時までにキャッチアップが難しい可能性があることが示された[12]。また，6歳時に実施したWISC-Ⅳ知能検査の結果を検討したところ，全検査IQの平均は同年齢集団の中で平均的な水準であった一方，ワーキングメモリーに落ち込みが見られる割合が目立つことが示された[13]。また，このような個人内差の大きい対象児たちの7割程度はM-CHATを通過しており，知的能力の個人内差の大きさは修正1歳6ヶ月時のM-CHATの結果からは予測がしきれないことが示唆された[13]。また，修正1歳6ヶ月の検査時に心理士が気になる要素と捉えた特性は，M-CHATの通過／不通過といった単純な振り分けのみならず，主に家族や心理士との交流の中で，時に関与しながら観察を行う中で把握可能であると考えられた[12]。

自閉症を含む発達障害をできる限り早期に発見し，適切な支援につなげていくためには，子どもの発達を多様な角度から確認できる1歳6ヶ月および3歳児を対象とした健康診査（乳幼児健診）の場等で早期発見し，早期支援につなげることが特に重要であるとされ，乳幼児健診における発達障害の早期発見については，発達障害者支援法第5条において，市町村は，乳幼児健診を行うに当たり，発達障害の早期発見に十分留意しなければならない旨定められている。2017年1月に，総務省より，「発達障害者支援に関する行政評価・監視結果に基づく勧告」が公表され，厚生労働省における乳幼児健康診査における発達障害の疑

われる児童の早期発見に資する取組の促進について勧告もあった。その中で効果的な取組事例として，“定期的な巡回等による子どもの状態の把握”，“継続的・長期的なフォロー”などの他に，自治体内部の体制や外部との連携の重要性についてあげられる[14]。高木らによると，横浜市では，平成26年度の療育センターにおける新規相談の紹介元の全体の40％は乳幼児健診による早期発見である[15]。1歳6ヶ月児健診，あるいは3歳児健診において，発達障害を疑う幼児に対して，非常勤心理士による幼児相談，地域療育センターの多職種スタッフ（医師，心理士，福祉士）による療育相談を経て，地域療育センターでの診療へつながっていく場合が多い。幼稚園・保育所による早期発見は18％，医療機関による早期発見は13％である。医療機関による早期発見では，妊娠中～出産直後からさまざまな医学的治療を要した児が，急性期治療後，あるいは退院後に療育目的で紹介されることが多く，そのような乳児期から療育センターを訪れる利用者の多くが，医療機関からの紹介である。

上記のように，発達障害の早期発見について，地域の乳幼児健診が大きな役割を果たすと考えられる。そのため，フォローアップにおいても，乳幼児健診を受けているか，地域とつながっている児や家族なのかといったことを確認することも重要なポイントであると言える。これまで当科では，M-CHATで不通過であった児および心理士が気になった児について，より丁寧にサポートを行うことを目的として修正2歳頃でも再検査を実施してきたが，地域での支援体制も確立されていく中，そのような面も考慮し，より多角的に判断し，フォローアップの時期などを決める必要がある。

目　的

これまでのようにフォローアップで検査を実施し，その結果を基に保護者と児についての理解を深め，対応について考えることも重要であるが，より継続した支援が可能である地域の療育機関などにどのように移行するのかということも重要である。これまでは修正1歳6ヶ月時のK式の結果だけ判断するのではなく，M-CHATの結果などから総合的に判断して修正2歳時にも再検査を行うなど，丁寧なフォローアップを行った。ただし，地域での支援体制が変化する中で，今後の当科でのフォローアップのやり方についても見直す必要がある。そのためには，これまでの当科の取組を振り返り，評価を行う必要がある。

そこで，これまでにフォローアップを実施した児を対象とし，修正2歳時での再検査が必要と考えられた児の特徴や，療育機関など地域の機関の利用などについて，カルテ記録を基に後方視的に検討する。それにより，今後のフォローアップについて，児や保護者にとってより有効に，負担なく実施できるように見直す。

方　法

対象者：当科でM-CHATでの評価を開始した2010年10月から，2020年3月までにK式およびM-CHATを実施した低出生体重児のうち，修正1歳6ヶ月の検査時にM-CHATが不通過であった児304名を対象とした。

方法：修正1歳6ヶ月の検査時にM-CHATが不通過であった児の中で，3歳時の検査結果に影響を及ぼす要因について検討した。特に修正2歳時の検査の有無によって，3歳時の検査結果や，療育へのつながりやすさに影響するのかについて検討した。

倫理的配慮：取り扱うデータは個人情報保護に留意し，対象者個人が特定できないように配慮した。なお，本研究は倫理審査委員会の承認を得た。

結　果

1．対象者について

対象者の記述統計量を表1に示した。

2．3歳時の検査結果に影響を及ぼす要因について

3歳時のK式の全領域DQを目的変数とし，在胎週数，出生体重，修正1歳6ヶ月時のK式の全領域DQの結果，2歳時のフォローアップの有無，3歳までの療育の利用の有無を説明変数として，回帰分析を行った結果，R^2=.572であった。モデルは$F(5,180)=48.149$，$p<.001$であり，0.1％水準で有意であった。各説明変数による影響は表2に示した。

3．修正2歳時のフォローアップの有無と3歳までの療育機関の利用の有無についての関連

表1　対象者の記述統計量

		平均値	SD
在胎週数		28.67	4.27
出生体重		1076.06	498.48
修正1歳半フォロー	月齢	20.36	1.60
	修正月齢	17.98	1.09
修正2歳フォロー	月齢	24.11	1.35
	修正月齢	26.72	1.92
3歳フォロー	月齢	36.56	2.34

表2　3歳フォロー全領域DQへの周産期因子・フォロー状況の影響：強制投入法

		標準化係数β	t値	有意確率
	在胎週数	.030	.329	n.s
	出生体重	.041	.445	n.s
修正1歳半フォロー	全領域DQ	.697	11.586	p<.001
	修正2歳フォローの有無	.006	.115	n.s
	3歳以前の療育利用の有無	-.087	-1.442	n.s

表3　修正2歳フォローの有無と3歳以前の療育利用の有無のクロス集計表

			3歳以前の療育利用		合計
			あり	なし	
修正2歳フォロー	あり	人数	103	88	191
		期待度数	99.1	91.9	
	なし	人数	35	40	75
		期待度数	38.9	36.1	
合計			138	128	266

修正2歳時のフォローアップの有無と3歳までの療育機関の利用の有無について，χ二乗検定を実施した結果，有意差は認められなかった。クロス集計表を表3に示した。

考　察

当科では修正1歳6ヶ月時のフォローアップでK式に加えてM-CHATを実施し，その結果や行動観察，保護者の希望などから，3歳時のフォローアップを待たずに修正2歳時に再検査を実施してきた。特にM-CHATが不通過であった場合はほとんどの場合で修正2歳での再検査を提案してきたため，M-CHATが不通過であった児を対象とし，3歳時のフォローアップでの結果を検討した。

回帰分析の結果，3歳時のK式の結果に関しては，修正1歳6ヶ月時のK式の結果の影響が有意に認められ，修正1歳6ヶ月時の結果が低いほど3歳時の結果も低いという関係が示された。在胎週数，出生体重，修正2歳時のフォローアップの有無，3歳までの療育機関の利用の有無に関しては有意な関連は認められなかった。修正1歳6ヶ月時にM-CHATが不通過であった児らは3歳時までにキャッチアップが難しい可能性があることが示されているが[12]，本研究でも同様の結果となったと考えられる。金澤らは，8歳の超低出生体重児を対象とし，出生体重が重い児ほどIQが高いという関係が認められたこと，ADHDに関しては出生体重SDが低いほど不注意，多動性，衝動性，といった特徴が強く表れる傾向があることを示している[6]。また平澤らは，WISC-ⅢのFIQは出生時体重や出生在胎週数と有意な相関を示したことから，早産低体重は軽度の知的障害のリスクとする[4]。しかし，本研究では出生体重は関連が認められなかった。対象者の年齢や検査の種類の違いもあるが，3歳までの発達検査の結果に関しては，修正1歳6ヶ月時の発達検査の結果である程度予測ができる。修正1歳6ヶ月時のフォローアップにおいて，アセスメントを十分に行う必要がある。

また，修正2歳時のフォローアップの有無と3歳までの療育機関の利用の有無の関係についても，有意な結果は認められなかった。つまり修正2歳時にフォローアップを行うことでより早期に療育につながるとは言えなかった。横浜市では，平成26年度の療育センターにおける新規相談の紹介元の全体の40％は乳幼児健診による早期発見となっており，1歳6ヶ月児健診，あるいは3歳児健診において，地域療育センターでの診療へつながる場合が多いとされる[15]。また，医療機関による早期発見では，妊娠中または出産直後からさまざまな医学的治療を要した児が，急性期治療後，あるいは退院後に療育目的で紹介されることが多く，そのような乳児期から療育センターを訪れる利用者の多くが，医療機関からの紹介である[15]。当センターでも，早期から療育的な介

入やリハビリテーションが必要な児は，フォローアップの結果や時期など関係なく療育機関をすでに利用していた。

早期に療育機関に繋げるためには，M-CHATの結果などで一律にフォローの回数を増やすよりも，修正1歳6ヶ月時のフォローアップの時点で十分にアセスメントを行い，必要に応じて療育機関などの地域資源についてアナウンスすることが重要である。また，検査結果を基に保護者と話し合う中で，地域の乳幼児健診の受診状況など，地域資源をどの程度活用しているか確認をする必要がある。金澤らは，検査結果に影響する要因について，年収や兄弟姉妹（同胞）の人数など家庭環境に関しても関連を示した[6]。Key Ageでのフォローアップ時に，発達検査による児の発達状況だけでなく，家族背景や保護者が適切なタイミングで主体的に必要な社会的資源を活用できそうなのかなど，育児を取り巻く環境についても注意を払う必要がある。

鈴木らは，発達障害に対する医学的支援においては，対象児本人への診断・治療にとどまらず，保護者自身を良好に適応させるような助言や支援がなされるべきであるとした[16]。近年，レジリエンスという概念が幅広い領域で注目されている。南らはレジリエンスを逆境やストレス，トラウマを体験しながらも，それを上手く対処し乗り越える過程，またはその過程を促進する力として，早産で子どもの誕生を迎えた父親の語りから，子どもの誕生時に体験した困難の回復過程におけるレジリエンスを明らかにした[17]。父親に内在されるレジリエンスとして【我が子や周りの人たちの力を信頼し委ねる】，【前向きに事象を捉え子どもの誕生を意味づける】，【状況を俯瞰的にみつめる】，【適度に心理的距離を保つ】という4つのテーマが抽出されており，【我が子や周りの人たちの力を信頼し委ねる】に関して，医療者からの良好な働きかけは，我が子への関心を寄せるエネルギーとなっており，やがては子どもの「生きようとするいのち」を信じる力に繋がっていたとしている[17]。また，小林らは，発達障害児の母親を対象に子育てのポイント，母親が自分に対して心がけていることや専門家と社会に求める点について検討をしている[18]。その中で，医療従事者が行う保護者支援として，子どもをまるごと受け入れ，良い点を伸ばしつつも，子どもが困っている時には子どもを助け，子ども自身に苦手な点を認識させ，助けを求めることを教えられるような養育態度を促すために専門家として発言することに加え，目先のことより，もっと先を見据えた子育てができるように母親に今後の見通しを話すことは重要であるとした[18]。また，母親の支援ニーズとして，医療機関や相談機関に対しては，「母親の気持ちに配慮する専門家の姿勢」，つまりこれまで頑張って育ててきたことを認める発言に加え，「正しい早期診断と適切な支援」を求めてた[18]。

発達の早期段階での障害の見極めは容易ではないが，修正1歳6ヶ月や3歳のフォローアップの時点で十分にアセスメントを行い，必要に応じて療育機関などの社会資源についてアナウンスすること，さらに先の見通しを伝えることがフォローアップで求められる。もちろん，早期の検査結果だけで断定することは避けなければならず，保護者とのコミュニケーションがより重要となる。また，カンファレンスなどで多職種と情報共有を行いながら，多面的にアセスメントを行うことも重要であろう。今後，M-CHATの結果などで一律に検査回数を増やすというのではなく，アセスメントや保護者とのコミュニケーションなど，その質を充実させることがより重要である。

当科では，心理検査時の情報収集を漏れなく円滑に行い保護者とのコミュニケーションの充実を図るために，2020年より問診票を作成，導入し，フォローアップに限らず初めて臨床心理科を受診する保護者に記載を求めている。問診票の中には，現状で心配なことに関する項目や児の特徴に関する項目だけでなく，家族背景や支援状況，通院や入院にあたって困っていることなど，児を取り巻く環境についての項目も盛り込んだ。今後，問診票を導入したことによる変化や意義などについても検討したい。

文　献

1）板橋家頭夫, 宮沢篤生, 和田和子, 他. 2010年に出生した超低出生体重児の死亡率. 日本小児科学会雑誌 2016;120:1254-1264.

2）三科潤. 早産低出生体重児の長期予後. 日本産科婦人科学会雑誌 2006;58:127-131.
3）河野由美. フォローアップの概念. 河野由美, 平澤恭子, 石井のぞみ他編, ハイリスク児のフォローアップマニュアル小さく生まれた子どもたちへの支援. 第2版, メジカルビュー社, 東京, 2018;2-5.
4）平澤恭子, 篁倫子, 竹下暁子, 他. 極低出生体重児の6歳時の発達とその支援. 東京女子医科大学雑誌 2013;83:137-143.
5）長谷川功, 村田美由紀, 松尾泰孝, 他. 当院における極低出生体重児の長期予後に関する検討. 日本小児科学会雑誌 2000;104:64-71.
6）金澤忠博, 安田純, 北村真知子, 他. Intact Survivalからみた極低出生体重児の予後 児童発達心理の立場から見た超低出生体重児の予後. 日本周産期・新生児医学会雑誌 2005;41:779-787.
7）神尾陽子. I. 自閉症スペクトラム（Autism Spectrum Disorders: ASD）とは. 神尾陽子, 市川宏伸, 他編, ライフステージに応じた自閉症スペクトラム者に対する支援のための手引き. 国立精神・神経センター精神保健研究所, 東京, 2010;1-3.
8）本田秀夫. Ⅲ-4. 幼児期の診断から療育へこどもの興味を伸ばす. 神尾陽子, 市川宏伸他編, ライフステージに応じた自閉症スペクトラム者に対する支援のための手引き. 国立精神・神経センター精神保健研究所, 東京, 2010;21-22.
9）渡辺顕一郎, 田中尚樹. 発達障害児に対する「気になる段階」からの支援ー就学前施設における対応困難な実態と対応策の検討ー. 日本福祉大学子ども発達学論集 2014;6:31-40.
10）儀間裕貴, 黒宮寛之, 渡辺はま, 他. 極低出生体重児における1歳6ヶ月・3歳時の問診評価と6歳時発達の関連. 理学療法学 2019;46:90-98.
11）高橋未央, 尾方綾, 小川舞, 他. 低出生体重児の発達支援について(1). 日本心理臨床学会第34回秋季大会発表論文集 2015;364.
12）尾方綾, 高橋未央, 小川舞, 他. 低出生体重児の発達支援について(2). 日本心理臨床学会第34回秋季大会発表論文集 2015;365.
13）高橋未央, 高橋明子, 原和載, 他. 低出生体重児フォローアップにおける6歳時の特徴. こども医療センター医学誌 2019;48:150-153.
14）株式会社政策基礎研究所. 乳幼児健康診査における発達障害の早期発見・早期支援のための取組事例に関する調査研究報告書;2019.
15）高木一江, 本田秀夫. 発達障害への早期介入ー横浜市における早期発見・支援体制と, 保護者のメンタルヘルス支援の在り方についてー. ストレス科学研究 2015;30:27-34.
16）鈴木浩太, 小林朋佳, 森山花鈴, 他. 自閉症スペクトラム児（者）をもつ母親の養育レジリエンスの構成要素に関する質的研究. 脳と発達 2015;47:283-288.
17）南香奈, 山崎智里. 早産で子どもの誕生を迎えた父親の困難な体験とレジリエンスーはじめて子どもをもつ父親の語りからー. Journal of Wellness and Heath Care 2020;44:71-79.
18）小林朋佳, 鈴木浩太, 森山花鈴, 他. 発達障がい診療における保護者支援のあり方ー母親が振り返る「子育て」の視点からー. 小児保健研究 2014;73:484-491.

※※※ 令和２年度かながわ県立病院小児医療基金研究助成による研究報告 ※※※※※※※※※

フォンタン術後患者における運動時静脈圧と脳組織酸素飽和度の関係

小　野　　晋

背　景

2017，2018 年度に行った先行研究「Fontan 術後患者における運動負荷時血行動態評価」において，われわれはフォンタン術後患者では運動時に末梢静脈圧が上昇し，さらに運動時末梢静脈圧と脳組織酸素飽和度の間には負の相関関係があることを証明した。運動時末梢静脈圧はフォンタン術後患者の血行動態を評価するうえで有用な指標になり，新たな治療ターゲットになり得ると考えた。しかしながら，運動時に末梢静脈圧を測定することは煩雑さを伴う。NIRO-200 は組織酸素飽和度をはじめ，その他の末梢組織の組織循環を表すいくつかの指標を簡便に測定することができるモニターであり，運動時の測定も可能である。本研究では，NIRO-200 により測定できる各種指標の中から，運動時末梢静脈圧と相関する指標を抽出することを目的とする。

対　象

神奈川県立こども医療センターでフォロー中のフォンタン術後患者 25 名。年齢は 7−19 歳で平均 13 歳であり，男性が 10 名であった。

方　法

対象者に末梢静脈ルートを確保し静脈圧［VP（mmHg）］が測定できる状態とし，さらに浜松ホトニクス社製の NIRO-200 を用い，前頭部の組織酸素飽和度［Tissue Oxygenation Index: TOI（%）］，酸素化 Hb 濃度［oHb（μmol/l）］，脱酸素化 Hb 濃度［dHb（μmol/l）］，総 Hb 濃度［cHb（μmol/l）］，組織 Hb 指標［nTHI］を測定できる状態とした。

この状態で心肺運動負荷試験を行い，上記指標を最大運動時に測定した（peak VP，peak TOI，peak oHb，peak dHb，peak cHb，peak nTHI）。

peak VP とその他 5 指標との間の相関関係を求めた。

結　果

peak VP と相関関係を示したのは peak nTHI のみで，負の相関であった（R2: 0.26 $p<0.01$）（図 1）。

考　察

Fontan 循環は機能的右心室を欠く特異な循環様式であり，静脈系のうっ血が特徴とされる。そのため，術後遠隔期には腹部臓器の慢性うっ血による合併症が近年問題視されている。これまでの診療では，カテーテル検査で得られる安静時の中心静脈圧を指標に遠隔期患者の病態評価が行われ，治療戦略が立てられてきた。しかしながら，多くの術後患者は日常生活の中である程度の運動負荷にさらされており，運動負荷時の血行動態評価も必要であると考えられる。先行研究「Fontan

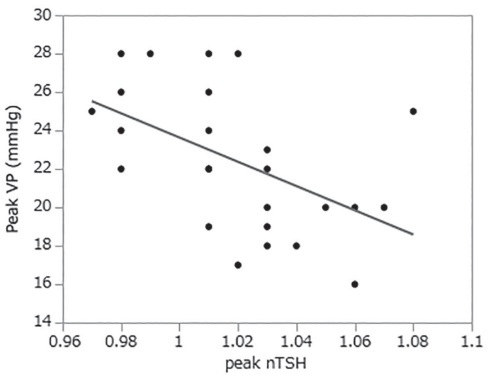


図１　peak VP と peak nTHI の相関関係

神奈川県立こども医療センター　循環器内科

術後患者における運動負荷時血行動態評価」では運動時末梢静脈圧上昇と運動耐容能の間に負の相関関係を認めた。運動時末梢静脈圧は患者の血行動態評価のための重要な指標となり，さらには治療ターゲットとなり得る可能性が示唆されたが，測定に煩雑さがあるという難点があった。一方，NIRO-200 は組織酸素飽和度をはじめ，その他の末梢組織の組織循環を表すいくつかの指標を測定することができる。

TOI は組織内の酸素飽和度を表し，対象組織の組織循環を反映する指標である。本研究では peak TOI と peak VP との間の相関関係を期待していたが，その結果は得られなかった。しかしながら，同時に測定した nTHI と peak VP の間に負の相関関係を認めた。nTHI は組織血液量を表す指標であり，安静時を 1 とした時の変化値を表す。本指標も対象組織の組織循環を表す指標である。健常人では，運動負荷により筋組織の nTHI が上昇することが知られているが，脳の nTHI については不明である。運動により心拍出量は上昇するため，脳 nTHI も運動により上昇することが予想される。今回の対象群では peak nTHI は 0.98 から 1.08 であり中央値 1.02（図 2）であった。多くの患者で安静時より，運動時の nTHI は上昇するものの，低下している患者も少数いた。さらに peak VP と peak nTHI との間に負の相関を認めたということは，運動時末梢静脈圧が高いほど，運動時の脳血液量の上昇が妨げられていることを意味し，興味深い結果となった。しかしながら，相関係数は R^2=0.26 と低く，peak nTHI が peak VP を代替する指標になり得るとは言い難い。

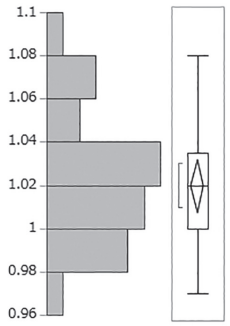


図2　対象患者における peak nTHI の分布

小児がん経験者（childhood cancer survivors）の晩期内分泌合併症に関する検討

花　川　純　子[1)]，室　谷　浩　二[1)]，朝　倉　由　美[1)]
後　藤　裕　明[2)]

背　景

小児の悪性疾患には，白血病，脳腫瘍，および神経芽細胞腫等の固形腫瘍等が含まれ「小児がん」と総称されている。治療成績の向上に伴い，長期寛解を維持し生存する患者が増加し，80 % 近い小児がん患者の長期生存が可能となってきた。小児がんからの長期生存者は，小児がん経験者 childhood cancer survivors（CCS）と呼ばれる[1)]。北米では，若年成人の 350–600 人に 1 人が CCS に該当するとの試算がある。CCS では，がん自体およびそれに対する治療により，多くの健康障害が併発し，晩期合併症として注目され，適切な対応が求められるようになった。とりわけ，内分泌・代謝関連の合併症が高頻度で，CCS の約 40 % に何らかの内分泌・代謝合併症を認めるとされる。

特に，視床下部・下垂体とその付近の脳腫瘍で

1）神奈川県立こども医療センター　内分泌代謝科　　2）同　血液・腫瘍科

は，脳腫瘍自体あるいは手術侵襲および放射線照射により高率に内分泌障害を起こす。また，造血幹細胞移植 hematopoietic stem cell transplantation（HSCT）では，全身放射線照射 total body irradiation（TBI）や強力な化学療法が行われ，さらに慢性 graft-versus-host disease（GVHD）を併発した場合，ステロイドホルモン等の免疫抑制剤が投与されるため，晩期合併症の発症はより高率となり，かつ程度が重篤であることが多い[2]。

「晩期」という字句どおり，CCS の健康障害は基本的に生涯にわたり，時間の経過とともに発生頻度が増加するため，長期にわたる医療体制の構築が求められている。原疾患とそれに対する治療内容から，晩期合併症の発症時期や頻度が予測できるようになっているが[3]，それらは国外での検討およびガイドラインに準じており，本邦ではいまだ十分に検討されていない[4]。

本研究では，単一の小児専門施設で治療を受けた CCS 患者における内分泌合併症の現状を分析することにより，早期診断・早期治療介入に向けた長期フォローアップ体制の確立を最終目標とする。

対象と方法

＜対象＞

神奈川県立こども医療センターで 2005 年 1 月から 2016 年 5 月まで小児がんに対して造血幹細胞移植を行った患者のうち，移植後 1 年時点で生存しており，抗がん剤および放射線による治療を終了している患者

＜評価日＞

①移植後 10 年　② 2018 年 1 月　③移植後 1 年以降に再発・死亡した日　のうちいずれか早く到来した日

＜評価項目＞

・性別
・基礎疾患
・治療内容：化学療法（使用薬剤および総投与量）
　放射線治療（照射部位および総線量）
　造血幹細胞移植（前処置の種類および TBI の照射量）
　手術（部位）
・体格：身長・体重・体格指数 body mass index（BMI）それぞれ性別・年齢に応じた SDS を算出
・性成熟度の評価：Tannerの性成熟度分類で評価
　男児はオーキドメーターを用いて精巣容量も測定
・ホルモン基礎値：甲状腺機能；TSH・fT_3・fT_4
　性腺機能；LH・FSH・T（男児）or E2（女児）
　副腎皮質機能；ACTH・コルチゾール・DHEA-S
　成長ホルモン；IGF-1
・骨密度測定：Dual energy X-ray absorptiometry（DEXA）法で測定Z-score を算出

上記項目を，診療録を元に後方視的に移植直後，1 年後，2 年後，5 年後，10 年後の時点で評価する

・内分泌合併症の定義

低身長；身長 <−2 SD または 2 年以上にわたって成長率 <−1.5 SD

成長ホルモン分泌不全；IGF-1 の低値および負荷試験での GH 頂値低値 *

（*インスリン・アルギニン・クロニジン・L-DOPA・グルカゴン負荷では 6 ng/mL 以下，GHRP2 負荷では 16 ng/mL 以下）

思春期早発；男児① 9 歳未満で，精巣・陰茎・陰嚢の発育
　② 10 歳未満で，陰毛発生
　③ 11 歳未満で，腋毛・髭の発生
　女児① 7 歳 6 ヶ月未満で，乳房発育
　② 8 歳未満で，陰毛発生または外陰部早熟，腋毛発生
　③ 10 歳 6 ヶ月未満で，初経発来

性腺機能低下；男児で 14 歳までに精巣容量の増大がない場合
　女児で 13 歳までに乳房腫大がない場合
　思春期進行の停止，早発閉経
　LH/FSH 低下を中枢性，LH/FSH 上昇を原発性と定義

肥満；標準体重の 20 %以上

尿崩症；デスモプレシン点鼻または舌下錠を使用

骨粗鬆症；Z-score < −2.5 または脆弱性骨折の既往

結　果

対象患者は 127 名（男児 75 名・女児 52 名）で評価時の年齢の中央値は 13 歳，移植時の年齢の中央値は 6 歳であった（表 1）。

基礎疾患の内訳は下記のとおりである。

造血器腫瘍；急性骨髄性白血病・急性リンパ球性白血病・骨髄異形成症候群・慢性骨髄白血病・びまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫

固形腫瘍；骨肉腫・横紋筋肉腫・Ewing 肉腫・神経芽腫 *

* 症例数が多いため固形腫瘍には含めずに検討

脳腫瘍（間脳下垂体腫瘍以外）

非腫瘍性疾患；再生不良性貧血・免疫不全・副腎白質ジストロフィー・赤血球形成異常等

移植前の治療は化学療法のみが多く（表 1），アルキル化剤は全例に使用されており，TBI は 66.9 %で施行されていた（表 1）。

79 例（62.2 %）の患者で，1 つ以上の内分泌合併症を認めた。

甲状腺機能異常は，LT4 補充を要する甲状腺機能低下症を 24 例（18.9 %）で認め（表 2），基礎疾患としては造血腫瘍・神経芽腫・脳腫瘍で多かった（表 3）。6 歳以下の低年齢での移植や TBI を含む放射線照射例，2 種類以上のアルキル化剤使用症例で多い傾向にあった。

表 1　患者背景

	n (%)　中央値 [range]		
	男児 (n=75)	女児 (n=52)	合計 (n=127)
評価時年齢	14.0 [3-28]	11.5 [3-25]	13.0 [3-28]
<6 歳	4 (5.3)	4 (7.7)	8 (6.3)
6-10 歳	21 (28.0)	15 (28.8)	36 (28.3)
>10 歳	50 (66.7)	33 (63.5)	83 (65.4)
移植時年齢	7.0 [0-21]	5.5 [1-17]	6.0 [0-21]
<6 歳	29 (38.6)	26 (50.0)	55 (43.3)
6-10 歳	23 (30.7)	12 (23.1)	35 (27.6)
>10 歳 n (%)	23 (30.7)	14 (26.9)	37 (29.1)
移植後年数（年）	5.0 [1-10]	5.5 [1-10]	5.0 [1-10]
基礎疾患			
造血器腫瘍	45 (60.0)	28 (53.9)	73 (57.5)
神経芽腫	9 (12.0)	10 (19.2)	19 (15.0)
その他固形腫瘍	2 (2.7)	2 (3.8)	4 (3.1)
脳腫瘍	7 (9.3)	3 (5.8)	10 (7.9)
非悪性疾患	12 (16.0)	9 (17.3)	21 (16.5)
移植前の治療			
化学療法のみ	44 (58.7)	31 (59.6)	75 (59.0)
化学療法＋放射線治療	10 (13.3)	5 (9.6)	15 (11.8)
化学療法＋骨髄移植	9 (12.0)	9 (17.3)	18 (14.2)
骨髄移植のみ	2 (2.7)	0 (0.0)	2 (1.6)
なし	10 (13.3)	7 (13.5)	17 (13.4)
TBI			
あり	51 (68.0)	34 (65.4)	85 (66.9)
なし	24 (32.0)	18 (34.6)	42 (33.1)

表 2　甲状腺機能異常

甲状腺機能低下症*	24/127例 (18.9 %)
甲状腺機能亢進症	1/127例　(0.8 %)
甲状腺結節	1/127例　(0.8 %)
甲状腺腫瘍	0/127例　(0.0 %)

表 3　甲状腺機能低下症

	n (%)　中央値 [range]		p value
	甲状腺機能正常 (n=103)	甲状腺機能低下症 (n=24)	
移植時年齢	8 [0-21]	3 [1-12]	<0.01
<6 歳	38 (36.8)	16 (66.6)	
6-10 歳	32 (31.0)	4 (16.7)	
>10 歳	33 (32.0)	4 (16.7)	
基礎疾患			<0.01
造血器腫瘍	63 (61.2)	10 (41.6)	
神経芽腫	10 (9.7)	9 (37.5)	
その他固形腫瘍	4 (3.9)	0 (0.0)	
脳腫瘍	5 (4.8)	5 (20.9)	
非悪性疾患	21 (20.4)	0 (0.0)	

考　察

内分泌合併症は，従来の報告に比して高率に認めた。本検討では，アルキル化剤が全例に使用されていたことと，従来の検討に比して TBI 施行例が多いことが関与した可能性がある。HSCT 後の甲状腺機能低下症に対しては，放射線照射・アルキル化剤の使用・低年齢での HSCT 施行がリスクであると報告されており，本検討でも同様の結果であった。

結　論

脳腫瘍・神経芽腫では甲状腺機能低下症を高率に合併するため，慎重にフォローを要す。

今後の方針

使用した化学療法の薬剤投与量や放射線照射量と内分泌合併症との関連を検討し，危険因子の同定を目指す。

文　献

1）石田也寸志. 北米Childhood Cancer Survivors Studyによる小児がん経験者の長期的な問題点－第 1 編. 日本小児科学会雑誌 2006;110:1513-1522.

2）Shalitin S, Phillip M, Stein J, et al. Endocrine dysfunction and parameters of the metabolic syndrome after bone marrow transplantation during childhood and adolescence. Bone Marrow Transplant 2006;37:1109-1117.

3）日本小児内分泌学会CCS委員会. 小児がん経験者（CCS）のための内分泌フォローアップガイド. Ver1.2 http://jspe.umin.jp/medical/files/guide161006.pdf

4）Chidren's Oncology Group. Long-term follow-up guidelines for survivors of childhood, adolescent, and young adult cancers. Ver 5.0 http://www.survivorshipguidelines.org

先天性心疾患患者における心臓手術と痙攣発作・てんかん発生の検討

池　川　　健

背　景

この研究は，先天性心疾患（CHD）の手術後の小児における周術期臨床発作（PCS）とてんかんの発生率と危険因子を調査するために実施された。

方　法

2013 年 1 月から 2016 年 12 月まで神奈川県立こども医療センターで心臓外科手術を受けた 777 人の小児を対象とした。周産期データ，周術期データ，およびフォローアップ医療データを収集し，エラスティックネット回帰分析および媒介分析を実行して，PCS およびてんかんの危険因子を調査した。解剖学的 CHD 分類は，術前の心エコー図に基づいて分類され，心臓外科手術は RACHS-1 を使用して評価された。

結　果

23 人の患者（3.0 %）が PCS を経験し，15 人の患者（1.9 %）がてんかんを経験した。てんかんを目的変数とした部分回帰係数は，解剖学的 CHD 分類で 0.367，RACHS-1 で 0.014，手術回数で 0.142 であった。 PCS を介したてんかんに対する間接的影響の割合は，解剖学的 CHD 分類で 22.0 %，RACHS-1 で 21.0 %，手術回数で 33.0 % であった。てんかん患者 15 例では，脳梗塞 8 例，脳出血 2 例，低酸素性虚血性脳症（HIE）3 例が認められ，白質損傷（WMI）は認められなかった。

結　語

PCS の発生率は 3.0 %で，てんかんの発生率は 1.9 %であった。CHD の解剖学的複雑さ，高リスクの心臓手術，および複数の心臓手術は，てんかんを発症する危険因子の可能性がある。これらは PCS を介した間接的な関与の割合が低く，PCS を介さない直接的な関与の割合が高いてんかんを発症する危険因子の可能性がある。脳卒中と HIE がてんかんを発症する要因である可能性が高く，WMI がてんかんを発症する要因である可能性は低い。

現在，本検討の詳細を英文誌である Pediatoric Cardiology に投稿中である。

神奈川県立こども医療センター　循環器内科

ピーナツ経口免疫療法の最適維持治療の探索

犬　尾　千　聡

はじめに

経口免疫療法 oral immunotherapy（OIT）は食物アレルギーの児にとって各種の食材で有効な治療法であるが，維持量に到達後もアレルゲンの継続摂取が必要である。ピーナッツは独特な味のため，味の嫌悪感や摂取量の多さなどが，ピーナツ

神奈川県立こども医療センター　アレルギー科

アレルギーに対する OIT の継続の困難につながると報告されている。

当院ではピーナッツアレルギーに対するピーナッツの急速経口免疫療法（rush OIT）後，連日摂取から徐々に摂取間隔を広げることや，摂取量を減量することで定期的な摂取を促しているが，rush OIT を行った患者にとって経口免疫寛容を維持する摂取量や摂取間隔は不明である。

今回，rush OIT で維持期に達したピーナッツアレルギー患者における摂取アレルゲン減量の影響を評価した。

方　法

2008 年 7 月～ 2017 年 1 月に当科でピーナッツ rush OIT を開始し，維持期に到達した患者を対象とし，維持期に達したピーナツアレルギー患者のピーナツ摂取量と摂取間隔，ピーナツ特異的 IgE 値を後方視的に検討した。対象患者は 33 人で，男児が 25 人（76 %），平均年齢は 9.6 歳，到達量中央値は 5 個，維持治療期間中央値は 50 ヶ月であった。

結　果

開始前と維持期のピーナツ特異的 IgE 中央値は 34.7 IU/mL（rush OIT 前），15 IU/mL（維持期）と低下した。摂取量別では 52.6 IU/mL から 15 IU/mL（同量摂取群；13 人），27.4 IU/mL から 6.8 IU/mL（減量群；15 人），29 IU/mL から 17. 2IU/mL（中断群；5 人）と低下した（図 1）。摂取間隔別でも 64.75 IU/mL から 29.4 IU/mL（連日群；4 人），

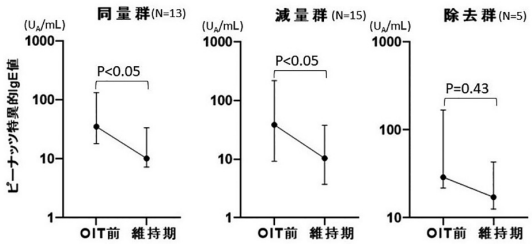


図１　摂取量別のピーナッツ特異的 IgE 値の変化

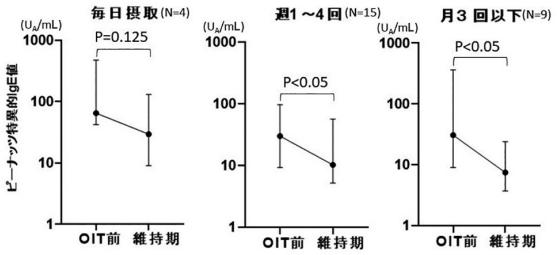


図２　摂取間隔別のピーナッツ特異的 IgE 値の変化

25.4 IU/mL から 10.4 IU/mL（週 1−4 回群；15 人），28.65 IU/mL から 7.6 IU/mL（月 3 回以下；9 人）と低下した（図 2）。

まとめ

今回の検討では，ピーナッツの rush OIT 後の維持期において，ピーナッツの摂取量の減量や摂取間隔の開大でも，ピーナツ抗原特異的 IgE 値が低下することが示唆された。

ピーナッツ OIT の維持期において，高用量群（3,000 mg）と低用量群（1,200 mg）の比較では，治療を中断した割合は高用量群は 31.4 %，低用量群は 3.9 %であったと報告されている [1)]。ピーナッツ OIT の維持期において，低用量であるほうが治療を継続しやすいと考えられる。

本検討で示された摂取量減量，摂取間隔の開大による抗原特異的 IgE 値に低下は，摂取量減量，摂取間隔の開大によっても治療効果は低下せずに，OIT の継続率が向上することが期待され，新たな維持治療方法の探索につながることが期待される。

今後は，症状出現に関与するピーナツアレルゲンコンポーネントの検索を行う予定である。

文　献

1）Nachsho L, Goldberg MR, Katz Y, et al. Long-term outcome of peanut oral immunotherapy-Real-life experience. Pediatr Allergy Immunol 2018;29:519-526.

末梢血幹細胞採取術の標準化のための研究

岩　崎　史　記

緒　言

自家末梢血幹細胞移植・超大量化学療法は神経芽腫等小児難治性固形腫瘍に対する治療戦略の1つとして確立している[1]。超大量化学療法を施行する準備としての末梢血幹細胞採取を行う上で重要なのは効率のよい採取と安全性である。

しかしながら一部の患者においてはpoor mobilizerと言われる必要十分量の採取を行うのが困難な患者が知られている。それらに対する治療薬としてplerixafor（商品名：モゾビル）という薬剤を使用することで克服可能な症例があるとされるが[2]，薬剤は非常に高価である。くわえて，特に小児においてどの患者に使用するのが適切であるかの知見は少なく，適切な投与基準があるとは言えない。

現在当院で使用している血球分離装置Spectra optia®を用いた末梢血幹細胞採取は，標準的な末梢血幹細胞採取に用いられる機材と考えられる[3]。採取プロトコルは原則的には成人ないしは年長児に対しては自動採取モードが確立しているが，低体重の児の場合，回路プライミングの問題やACD-A投与量など種々の面で調整が必要とされる場合が多く，安全性の面でも完全にプロトコルとして確立しているとは言えない。

採取プロトコル確立の上で問題となるのは，血球採取効率，plerixaforの適応，血管確保である。

血球採取効率に関しては，当日の末梢血CD34陽性細胞数に基づく当院独自のCD34陽性細胞採取に関する予測式が回帰分析により得られている。これはあくまで当日の採取量予測に用いることはできるものの，採取前日に投与すべきplerixaforが必要なものの抽出にはふさわしいとは言えない。十分量の採取を建前とした不適切なplerixaforの投与による医療コスト押し上げの可能性を内包している。

採取に用いるルートに関して言えば，一般には静脈ルートを用いるとされるが[4]，当院では年少児の場合安定した血流確保のため，多くが動脈ラインの確保が行われている。したがって，年少児の場合，血管確保時およびその後も含めて安全な採取を行うために長時間の鎮静を要する。

これらの諸問題に対して，末梢血幹細胞採取術の標準化を行うことにより，安全かつ効率のよい末梢血幹細胞採取が可能となれば，患者の安全面，医療の効率面，費用対効果のいずれの面においても恩恵がもたらされると考える。今回，われわれは標準化を前提とした研究を行った。

末梢血幹細胞採取の現状

現在当院における末梢血幹細胞採取術の状況を以下に述べる。

使用機材：Spectra Optia®（テルモBCT社）

2017年7−12月実績：12件（うち健常0名）

2018年採取実績：14件（うち健常ドナー3名）

2019年1−5月実績：4件（うちドナー1件）

以上より，2017年7月−2019年5月の23ヶ月において延30件，月1.2件の採取が行われている。採取患者の年齢中央値は4歳6ヶ月，採取時の体重中央値は16 kgであった。なお本機材では循環血液量TBVを元に血液処理回数を決定する。それには身長，体重，性別を元にして自動算出されるが，25 kg以下に関しては直接入力が必要で，現時点で過半数が直接入力データでTBVが規定されている。これらのデータは効率的な採取を行うための基礎データとして用いられる。手技は抗凝固剤としてACD-Aを用いた体外循環で行われる。停滞中の患者に対しては赤血球液200 mL以上を用いてカイロプライミングを行い，単核球採取モード（MNCモード）を用いて血液処理を行う。血液処理量の中央値はTBV3.0で，おおよそ

神奈川県立こども医療センター　血液・腫瘍科

の運転時間は 4 時間程度となる。低年齢の患者はこの間静脈麻酔で維持されることが多い。採血のために動脈ルート確保が行われたのは 26 例で，返血ルートとして末梢静脈の確保が行われたのは 23 例であった。

以上のことから当院での末梢血幹細胞採取は，5 歳未満の児が半数以上を占め，多くが動脈ルートを確保の上，4 時間程度をかけて静脈麻酔下で行われているという現状が浮かび上がる。また，自家移植のみならず同種移植のソースとしても末梢血幹細胞は用いられる頻度が上昇しており，健常者からの採取を行う場合があることも特徴であると言える。

目　的

本研究の目的は当院で行われている末梢血幹細胞採取術の手技的標準化を目的とするものである。採取手技の標準化の上で必要と考えられる，1）小児・低体重患者での採取プロトコルの確定，2）ブラッドアクセスに関する検討，3）採取前日時点での採取量予測，4）plerixafor 投与基準の確定を行う。

方　法

末梢血幹細胞採取の必要がある患者に対して，G-CSF 開始後 4 日目の時点での末梢血を採取し，白血球数および CD34 陽性細胞数を測定する。5 日目の G-CSF 製剤の投与ののち，採取直前時点での白血球数および CD34 陽性細胞数を測定する。採取にあたってはヘパリン 2000 単位を添加した ACD-A 液を用い，初期設定 AC 比 12：1 で患者血液ないしは赤血球製剤を用いて充填したのち，AC 比 17:1 を基本設定として採取を行う。採取は標準手技である MNC モードに従い自動モードで行う。運転開始後 30 分の時点で APTT 値を確認し，ヘパリン添加の必要性に関し検討する。その後も必要に応じて APTT 値を再検し，成書にある AC 比 22:1 での採取が可能かどうか検討する。

採取量は血液処理量 TBV2.0 以上かつ最低採取量 40 mL 以上の採取とし，TBV5.0 未満，運転時間 5 時間未満の範囲で最低必要細胞数が確保される（患者体重あたりの CD34＋細胞数 2.0×10^6/kg）よう血液処理を行う。TBV2.0 の時点で採取バッグ内の細胞数，CD34 陽性細胞数を測定し，必要十分量が確保されていれば採取終了とする。また，その時点で CD34 陽性細胞数が極めて少なく，今後血球分離を行っても明確に必要量が採取できないと判断した場合は，採取を中止し，plerixafor の投与を行い，あらためて翌日に採取を行う。健常ドナーの場合は TBV3.0 までの運転とし，翌日の採取ないしは骨髄採取を検討する。

採取終了後の細胞数，CD34 陽性細胞数を測定し，実際の採取量と前日の CD34 陽性細胞数との相関，plerixafor 投与の有無を含めて解析を行う。

また，合わせて採血ルートの検討として以下の順での採取の可能性を検討する。1）中心静脈 Brobiac/Hicman カテーテル（脱血／返血），2）末梢静脈ルート（20 GA/18 GA）（脱血／返血），3）動脈ルート（24 GA/22 GA）（脱血）カイロ充填・初期インターフェース形成までに，血球分離装置の採血／返血圧モニターを用いてアラームの有無，最大流量，採取効率（CE2 %），および実効性を検討する。採取中の有害事象，薬物鎮静状況を合わせて評価する。

統計解析は統計ソフト R を用い，各パラメータの解析と前日の検査値を用いた回帰分析を行う。また，plerixafor の有無を指標として比較検討を行う。

結　果

報告時点で 4 例の研究参加があり，該当症例の解析を行った。結果を表 1 に示す。

登録症例の年齢中央値 8 歳（6–13 歳），体重中央値 27.5 kg（15–44 kg），総血液処理量中央値 4.3 ℓ（2.6–8.2 ℓ）で，採取に伴う有害事象を認めなかった。CV カテーテルから脱血を行ったのは 1 例のみで鎮静剤を使用せず処理が可能であった。また，2 例で動脈からの脱血が行われ，鎮静を要した。採取された体重当たりの CD34 陽性細胞数の中央値は 31.2×10^6/ kg でいずれも充分量の細胞が確保された。plerixafor の投与を行った症例はいなかった。過去症例も合わせての検討では，CE2（%）の中央値 49.2（13.4–491.5），CR 中央値 0.11（0.05–0.86）で，既報と同等と考えられた。また採取当日末梢血 CD34 陽性細胞数（/μL）と体重当たりの採取 CD34 陽性細胞数は正の相関

を認めた（図1b）が（相関係数 0.438, 95 %信頼区間 0.0921－0.689，P 値＝0.0155），前日の末梢血 CD34 陽性細胞数との相関は統計学的に有意であると言えなかった（相関係数＝0.267，95 %信頼区間 －0.0969－0.567，P 値＝0.147）（図1a）。また機材操作においては CV カテーテル留置例以外は処理時間短縮のため採血流量を上昇させたが血小板凝集などの問題により AC 比を低下させる症例を認めなかった。

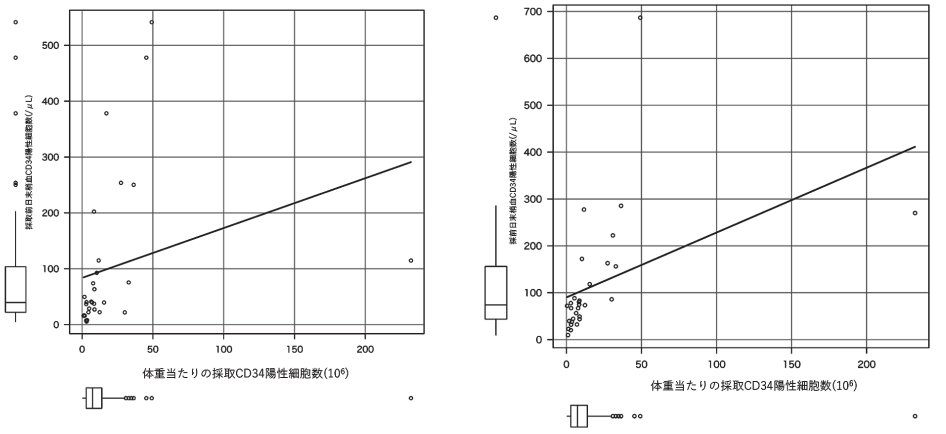
表1　患者背景と採取結果

	中央値	範囲
年齢	8 歳	(6－13 歳)
体重中央値	27.5 kg	(15－44 kg)
総血液処理量	4.3 ℓ	(2.6－8.2 ℓ)
白血球数		
採取前	30,800 /μL	(18,500－57,080)
前日	18,940 /μL	(3,200－30,150)
末梢血 CD34 陽性細胞数		
採取前	281.45 /μL	(277.5－285.4)
前日	314.24 /μL	(114.88－477.9)
体重当たり CD34 陽性細胞採取量（10^6/ kg）		
	26.8	(11.7－45.3)
CE2 (%)	46.2	(22.4－70.0)
CR	0.08	(0.04－0.12)
過去症例を合わせた採取効率評価		
CE2 (%)	49.2	(13.5－491.5)
CR	0.11	(0.05－0.86)

CE2 (%) ＝採取 CD34＋cells/kg×体重 /（採取前 CD34＋細胞×（処理量－ACD 量）
CR ＝（採取 CD34＋cells/kg）/ 採取前 CD34＋cells/L）

考　案

今回，4 例の末梢血幹細胞採取適応症例の検討では採取効率等の評価をするには不十分であった。過去の症例と合わせての検討では採取当日の採取量と採取量の相関が認められた。また既報と同様に CV カテーテルからの採血はトラブルもなく安全に施行できたが，1 例のみの経験であり今後の検討が必要である[5]。本研究により標準的採取手順の確立が行うことができれば，ブラッドアクセスを含めた本邦小児での標準的採取手順確立に繋がる可能性があり少なくとも当院においてはオペレーターの煩わしい調整作業から解放される可能性がある。また，今回検討例いずれも最低採取目標細胞数の 5 倍程度の採取が可能であった。前日の値を基に最終採取量を予測することができれば採取のタイミングや実際の時間の短縮が可能となる可能性がある。加えて，高価な薬剤である plerixafor 投与の適正化が行われることで，必要十分量の採取が必要最低限の薬剤使用で可能となることで医療費の軽減が可能となる可能性がある。また，採取ルートとして留置型中心静脈カテーテルないしは末梢静脈ルートの利用が可能であると判断されれば，動脈穿刺のための鎮静や抑制から解放され結果として年少児の負担軽減と手技を行う上での安全性がさらに担保できる可能性がある。過去症例も合わせれば十分な採取が行える本法は安全で患者および操作者に利益のある方



相関係数 = 0.267, 95%信頼区間 -0.0969-0.567, P値 = 0.14
a 採取前 CD34 陽性細胞数

相関係数 = 0.438, 95%信頼区間 0.0921-0.689, P値 = 0.0155
b 採取当日 CD34 陽性細胞数

図1　末梢血 CD34 陽性細胞数と採取結果

法となりうる。研究期間を延長し症例の蓄積を行い，評価を行いたい。

文　献

1）Yalçin B, Kremer LC, Caron HN, et al. High-dose chemotherapy and autologous haematopoietic stem cell rescue for children with high-risk neuroblastoma. Cochrane Database Syst Rev 2010;12:CD006301.
2）Karres D, Ali S, van Hennik PB, et al. EMA Recommendation for the Pediatric Indications of Plerixafor（Mozobil）to Enhance Mobilization of Hematopoietic Stem Cells for Collection and Subsequent Autologous Transplantation in Children with Lymphoma or Malignant Solid Tumors. Oncologist 2020;25:e976-e981.
3）Sörensen J, Jarisch A, Smorta C, et al. Pediatric apheresis with a novel apheresis device with electronic interface control. Transfusion 2013;53:761-765.
4）尾形隆, 大戸斉. 小児のアフェレーシス. 大戸斉, 遠山博 編, 小児輸血学, 中外医学社, 東京, 2006;261-269.
5）Doberschuetz N, Soerensen J, Bonig H, et al. Mobilized peripheral blood stem cell apheresis via Hickman catheter in pediatric patients. Transfusion 2019;59:1061-1068.

化学療法中の発熱に対する抗菌薬開始に関する業務改善の評価
－業務改善前との比較－

岡　部　卓　也[1)]，横須賀　とも子[2)]

背　景

近年，化学療法や造血細胞移植による治療法により，小児がん患者の生命予後は改善してきた[1)]。化学療法により生じる薬物有害反応の1つに骨髄抑制がある。骨髄抑制による生体防御機能の破綻は，重症感染症のリスクが増大し，感染症に対する適切な対策を講じなければ治療成績に多大な影響を及ぼす。

小児白血病・リンパ腫診療ガイドラインでは，発熱性好中球減少症 febrile neutropenia（FN）の定義を，末梢血好中球絶対数が 500 /μL 未満もしくは今後 48 時間以内に 500 /μL 未満に減少することが予測される状態で，かつ腋窩温測定値で 38.0 ℃以上に発熱した状態としている。小児がん患者においては，化学療法を1サイクル以上受けた場合，固形腫瘍では 10－50 %，血液腫瘍では 80 % 以上の患者で FN が認められる[2)]。FN において原因が特定できる割合は全体の 2－4 割程度であり，それ以外の多くが原因不明である[3)]。FN の診療における重要な点は，oncologic emergency であるとの認識のもと，直ちに患者の状態の把握と発熱の原因検索を行うとともに，経験的な感染症治療を開始することである[4)]。

海外の敗血症患者において，抗菌薬の迅速投与が死亡率に関与するとの報告が近年相次いでいる。患者が救急部門に到着後に 3 時間以内に抗菌薬投与を終了させることは，院内死亡率の減少と関連し，抗菌薬投与が 60 分遅れるごとに 4 %死亡率が増加するという報告や[5)]，敗血症性ショックの成人患者を対象とした研究では，発症からの抗菌薬投与開始の遅れは死亡率に影響し，適切な抗菌薬投与が 60 分遅れると，死亡率が 7.6 % 上昇するという報告もある[6)]。

海外の単一施設における FN 入院を対象とした報告では，60 分以内に抗菌薬が開始された群では 60 分以上経過した群と比較して有害事象が有

1）神奈川県立こども医療センター　看護局クリーン病棟看護科　　2）同　血液・腫瘍科

意に少なく，予後の改善が得られている[7]。FNを発症した患者が時として重篤な転帰をとることを念頭に置き，発熱の認知から抗菌薬を開始までの時間を短縮することで，患者の有害事象を最小限に抑えることが可能となる。

海外では，救急外来において抗菌薬投与開始までの時間を短縮する取り組みが行われている。その研究によれば，FNに対応する際の手順を詳細に理解することが抗菌薬投与開始までの時間の短縮に役立つとされている[8]。

今回の研究では，小児がん患者のうちFNを発症した患者を対象に，現在の抗菌薬投与手順の問題点を抽出し，発熱を確認後に抗菌薬投与開始までの時間を短縮することを目的とした。

本報では，前報に引き続き収集したデータを基に，対象症例を改善策開始前後の2群間に分け，後方視的に有効性について報告する。

方　法

2016年4月1日から2020年5月31日の期間に，当院で化学療法を受け，抗菌薬が投与された小児がん患者を対象とし調査した。調査対象の入院病棟は4病棟（学童・思春期内科外科混合，乳幼児内科系，幼児・学童内科系，骨髄移植系）とした。発熱を腋窩体温38℃以上と定義し，発熱の認知時刻と初回抗菌薬投与開始時刻を後方視的に診療録から抽出し，その間の時間を経過時間と定義した。また，観察集団をFN初期対応改善策施行前後で2群に大別し，施行前は第1集団（2016年4月1日以降），施行後（2019年6月以降）を第2集団とし，単純集計し評価した。

倫理的配慮

本研究は，倫理委員会で承認を得て研究公開はオプトアウトとした。

結　果

2019年6月17日よりFN対応の改善策を全対象病棟で施行開始した。4病棟で対象となった患者は，第1集団が188患者544発熱エピソード，第2集団が78患者164発熱エピソードであった。表1に患者背景を示す。

第1集団では，抗菌薬投与までの経過時間は，中央値（IQR）が47（33–75）分であり，平均値（SD）は63.9（48.6）分であった。経過時間が60分以上の群は191（35 %）例，60分以内は353（65 %）例であった。そのうち，感染症性ショックによるカテコラミンを使用した6例が存在したものの，死亡例はなかった。

改善策施行後の第2集団では，中央値（IQR）は33（22–53）分であり，平均値（SD）は40.3（26.8）分であった。経過時間が60分以上の群は27（16.5 %）例，60分以内は137（83.5 %）例であった。カテコラミン使用例は1例あったが，死亡例はなかった。表2に施行前後の経過時間の比較を示す。各時間帯における経過時間を施行前後で示すと，全体平均時間を上回る時間帯は，勤務開始前後や食事時間，看護師の休憩時間であっ

表1　患者背景

	全患者	第1集団	第2集団
患者数	266	188	78
発熱エピソード(数)	708	544	164
年齢(歳)			
中央値［IQR］	5［3–11］	5［2–11］	5［2–9］
女性(患者数)(%)	119 (45)	87 (46)	32 (41)
疾患(患者数)(%)			
白血病	120 (45)	81 (43)	39 (50)
骨髄異形成症候群	4 (2)	3 (2)	1 (1)
リンパ腫	25 (8)	14 (7)	11 (14)
組織球症	1 (1)	0 (0)	1 (1)
固形腫瘍	72 (27)	58 (31)	14 (18)
中枢神経腫瘍	44 (17)	32 (17)	12 (16)

表2　施行前後の経過時間の比較

	第1集団	第2集団
経過時間(分)		
中央値［IQR］	47［33–75］	33［22–53］
平均(SD)	63.9(48.6)	40.3(26.8)
60＞(例)(%)	353(64.9)	137(83.5)
60≦(例)(%)	191(35.1)	27 (16.5)
カテコラミン使用例	6	1
死亡例	0	0

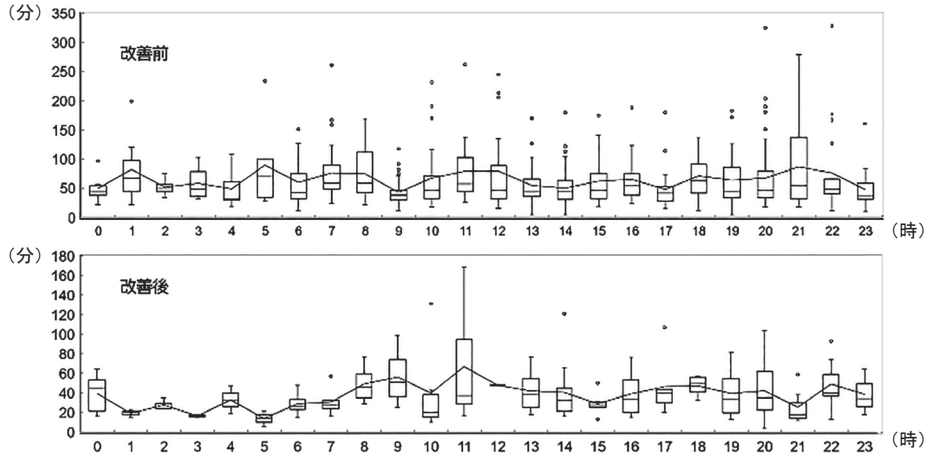


図1　各時間帯における経過時間

た。図1に各時間帯における経過時間を示す。

考　察

改善策施行前では，FN患者に対して抗菌薬を投与開始する手順に改善の余地があると示唆された。抗菌薬投与開始までの時間を短縮するために，対象病棟に介入し改善策を実施した。

その前後で比較すると，経過時間が短縮されており，看護師のFNに対する意識改革やドクターコール内容の検討，フローシートの作成，病棟定置薬の充足を含む改善策を実施したことが要因として考えられる。また，各発熱時間帯での経過時間の傾向では，看護師の業務や患者の日課が影響している可能性があることが推測された。

研究対象期間において，カテコラミン使用率も低下していることからFNに対する意識改革と対応手順の見直しにより，重症化予防に一定の効果があったと推察される。

結　論

抗菌薬の初回投与までの経過時間から，FNに対するoncologic emergencyという認識に関して，以前までの認識を改める必要性があった。そこで，初期対応フローを含めた教育システムの構築が必要であり，FNに対する看護としての改善策を実施した。その結果，施行前後で有意に改善したことから，改善策に一定の効果が認められた。詳細の結果は，統計解析中である。

文　献

1）菅秀, 庵原俊昭. 発熱性好中球減少症のマネージメント. 小児内科 2012;44:1122-1127.

2）下澤克宜, 関屋由子,小島勢二. 発熱性好中球減少症. 小児内科 2015;47:552-557.

3）宮入烈. 小児がん治療における感染症とその管理 最近の進歩 小児がん患者における感染症診療～小児感染症医の視点から～. 日本小児血液・がん学会雑誌 2014;51:362-370.

4）菊田敦. 発熱性好中球減少症の標準的治療は何か. 太田節雄, 梶原道子, 加藤陽子, 他編, 小児白血病・リンパ腫の診療ガイドライン. 第3版, 金原出版, 東京, 2016;133-134.

5）Seymour CW, Gesten F, Prescott HC, et al. Time to Treatment and Mortality during Mandated Emergency Care for Sepsis. N Engl J Med 2017;376:2235-2244.

6）Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. Crit Care Med 2006;34:1589-1596.

7）Fletcher M, Hodgkiss H, Zhang S, et al. Prompt administration of antibiotics is associated with improved outcomes in febrile neutropenia in children with cancer. Pediatr Blood Cancer 2013;60:1299-1306.

8）Monroe K, Cohen CT, Whelan K, et al. Quality Initiative to Improve time to Antibiotics for Febrile Pediatric Patients with Potential Neutropenia. Pediatr Qual Saf 2018;3:e095.

エクソーム解析では診断困難な症例に対するRNA-seq 解析による診断の試み

村 上 博 昭[1)]，榎 本 友 美[2)]，黒 澤 健 司[1)]

研究背景

次世代シーケンサーの普及により，先天異常症の診断率は大幅に上昇した。特に whole exome sequencing（WES）による全遺伝子のエクソン領域の網羅的解析が果たしている役割は非常に大きい。しかし，WES による先天異常症の診断率は，依然として全世界で概ね 50 %弱であり，未診断例が課題である。WES で未診断となる原因はさまざま指摘されているが，主なものとして，原因変異がエクソン外，つまりイントロンや遺伝子領域外の転写調節領域などに存在することが考えられている。現在，この問題点を解決する解析方法の 1 つとして，遺伝子転写産物である RNA の配列解析（RNA-seq）が世界中で臨床応用され始めている[1)]。RNA-seq は，転写産物の量的異常（発現量の減少もしくは増加），質的異常（スプライシング異常や染色体構造異常による異常転写産物）を検出することが可能であり，それらは共に，従来の WES では検出ができない。

研究目的

本研究は，当院の先天異常症の未診断例について，RNA-seq 解析の臨床的な有用性を評価することを目的とした。

症例①

自閉症と精神発達遅滞に加えて，眼間解離，眼裂斜下，濃い眉，目立つ耳などの顔貌特徴を有する女児。WES で明らかな疾患関連変異を特定できなかったが，1 番染色体全長の片親アイソダイソミー［iUPD（1）］を検出し，SNP アレイで確認した。1 番染色体上に，iUPD（1）により転写の量的異常を来す領域が存在する可能性が高く，RNA-seq 解析の適応症例と判断した。

症例②

重度の精神運動発達遅滞を示す男児。眼間解離，眼裂斜下などの顔貌特徴と先細りの手指を有しており，臨床的に Coffin-Lowry 症候群が強く疑われた。しかし，原因遺伝子である RPS6KA3 のターゲットシーケンスで明らかな疾患関連変異は検出できなかった。本症例は，イントロン領域の変異や染色体構造異常により RPS6KA3 の転写産物に質的異常が生じている可能性が高く，RNA-seq 解析の良い適応と判断した。

研究方法

患者と両親に研究の概要を説明し書面で同意を取得した。患者末梢血リンパ球から RNA を抽出し，品質チェックを行った上で，ライブラリの作製，次世代シーケンサによる解析を経て FASTQ ファイルを取得した。その後，量的異常と質的異常を検出する特異的な解析パイプラインを用いて，解析を行った。

解析結果

症例①，②それぞれ 9.9 Gb/6.5 × 10^7 reads，8.1 Gb/5.3 × 10^7 reads と十分なデータ収量が得られた。症例①については，解析対象を 1 番染色体に限定し，得られたシーケンスリード量より遺伝子ごとに正規化転写量 fragments per kilobase of exon per million mapped fragments（FPKM）を算出し，症例②と比較した。今回の研究では，有意な転写量減少は 1/4 未満，有意な転写量増加は 4 倍以上と定義した。症例①と②の FPKM を比較し，症例①において転写量低下した 1 番染色体遺伝子は計 56 遺伝子，増加したのは計 19 遺伝子であった。転写量低下を示した遺伝子

1）神奈川県立こども医療センター　遺伝科　　2）同　臨床研究室

が，ハプロ不全によりヒトの疾患原因となる可能性があるかどうかは，pLI（probability of being loss-of-function intolerant）スコアにより評価した。56個の遺伝子の中でpLI>0.95を示したのは，AKT3，ARID4B，CEP350，PKN2の4遺伝子のみであった。転写量増加を示した遺伝子19個の中でClinGen dosage sensitivity map（https://dosage.clinicalgenome.org/）でtriplosensitivity scoreが高いものは1つも存在せず，また疾患関連として知られている遺伝子も認めなかった。症例②については，解析対象遺伝子をRPS6KA3のみに絞り，RNAのシーケンスリードをintegrative genomics viewer（IGV）ブラウザを用いて可視化し異常転写産物を示すリードの有無を目視で確認した。相同組み換えによって生じたRPS6KA3遺伝子内の部分重複を示すunmatched readを検出した。

考　察

本研究は，WESで診断困難であった症例に対するRNA-seq解析の有用性を評価することを目的とした。RNA-seq解析の強みである転写産物の量的異常と質的異常の検出を活かして，未診断症例2例を解析対象とした。まず，患者末梢血からのRNA抽出からシーケンスデータ取得までが臨床的に問題なく施行できることを確認できた。解析した2症例中，1症例で遺伝学的確定診断が得られる見通しが付いた。

量的異常の検出を目的とした症例①では，RNA-seqによって診断を確定することはできなかった。iUPD(1)という非常に稀な染色体異常を持つ症例であり，1番染色体に解析対象領域を限定できると考えた。有意な発現量低下遺伝子は計56個，増加遺伝子は19個検出した。1番染色体には約3,000の遺伝子が存在するため，それぞれ1.8％，0.6％に相当する。これらの中で疾患関連遺伝子として唯一候補に残ったのはAKT3であるが，AKT3のハプロ不全は小頭症や脳奇形であり，本症例とは臨床像が一致するとは言えなかった[2)]。診断に至らなかった最大の原因は，症例数の不足であると思われた。量的異常は症例間での発現量比較が不可欠である。症例①のように，1番染色体のみに解析対象領域を限定できる場合であっても2例では不十分であった。今後，RNA-seq症例数を蓄積することができれば，診断確定に至ることが可能かもしれない。なお，1番染色体には，15q11q13のPrader-Willi/Angelman症候群領域のように由来する親によって転写が明らかに調節されているimprinting領域は知られていない。そのため，本症例ではiUPD(1)がどちらの親由来であるかまでは特定しなかった。

症例②は，臨床診断からターゲットとなる原因遺伝子が十分に絞り込めている症例であり，質的異常の検出を目的とした。原因となる染色体構造異常を検出することができた。2ヶ所のイントロンに共通して存在する，わずか15塩基の配列が相同組み換えの原因となり，遺伝子内でエクソンの重複が生じていることが分かった。重複領域の詳細について，現在quantitative PCR（qPCR）で最終確認中である。

以上のように，未診断例の診断確定にRNA-seqは非常に有用なツールであることが分かった。特に，症例数が十分でない段階では，ターゲット遺伝子を絞って質的異常を検出を目的とする症例に対して，効果が高いと思われた。

文　献

1）Wai HA, Lord J, Lyon M, et al. Blood RNA analysis can increase clinical diagnostic rate and resolve variants of uncertain significance. Genet Med 2020;22:1005-1014.

2）Boland E, Clayton-Smith J, Woo VG, et al. Mapping of deletion and translocation breakpoints in 1q44 implicates the serine/threonine kinase AKT3 in postnatal microcephaly and agenesis of the corpus callosum. Am J Hum Genet 2007;81:292-303.

組織学的・細胞遺伝学的検討による先天性嚢胞性肺疾患の病因に基づく分類の試み

田中水緒[1)]，梅本沙代子[1)]，永原則之[1,2)]
田中祐吉[1)]

背　景

先天性肺気道奇形 congenital pulmonary airway malformation（CPAM）に代表される先天性嚢胞性肺疾患は，小児科領域では少なからず経験される。近年一部の CPAM を母地として胸膜肺芽腫 pleuropulmonary blastoma（PPB）や肺癌が発症することが報告されてきている。例えば，CPAM type4 と PPB type1（purely cystic PPB）とは肉眼的／組織学的所見ともに重複する部分があり，双方の背景として *DICER1* 遺伝子の異常が指摘されている[1)]。また，長期経過を経た CPAM type1 に発症した腺癌に，*KRAS* 遺伝子[2)] や *EGFR* 遺伝子[3)] の変異が確認された報告がある。さらに，新生児・乳児にみられる肺腫瘍性病変である fetal lung interstitial tumor（FLIT）の一部では *ALK* 融合遺伝子が検出され[4-5)]，inflammatory myofibroblastic tumor（IMT）との疾患概念の重複が検討されている。

このように CPAM の各型もそれぞれ病因が異なる可能性が議論されており，中には悪性腫瘍発症のポテンシャルを持つものもある。適切な治療法の選択のためには，従来の形態学的・組織化学的・免疫組織化学的検索に加えて，細胞遺伝学的・分子生物学的手法を取り入れた診断基準の確立が求められている。

本研究では，病因に基づく先天性嚢胞性肺疾患の分類の構築を目指して，組織学的および細胞遺伝学的に検討を行う。この研究から得られた知見は，先天性嚢胞性肺疾患に生じる腫瘍発生のメカニズムの解明への手がかりともなり，その診断および治療に貢献できると考える。

本年度は肺 IMT 自験例における融合遺伝子の検索を，次世代シーケンサーを用いて行った。IMT は小児原発性肺腫瘍で比較的頻度が高い。一部の IMT では *ALK* 遺伝子の転座があり，さら近年では *ROS1* 遺伝子や *RET* 遺伝子の転座も報告されている[6)]。免疫染色や FISH 法で融合遺伝子の存在は示唆しうるが，それぞれの転座のパートナーが多岐にわたるため，RT-PCR 法での同定は容易ではないことが多い。頻度の高い融合遺伝子を RT-PCR 法では検出しえなかった小児肺 IMT 4 例について RNA シーケンスでの融合遺伝子の検出を試みた。

対　象

当科に組織診断目的で提出された肺腫瘍性病変のうち，組織学的に IMT と診断された症例を対象とする。

方　法

1．RNA シーケンス

腫瘍の凍結検体もしくは FFPE 検体より total RNA を抽出し，逆転写反応により得た cDNA を用いて TruSight RNA Pan-Cancer Panel（Illumina 社）によるターゲットシーケンスを行った。

2．PCR 法・RT-PCR 法

腫瘍の凍結検体もしくは formalin fixed paraffin embedded（FFPE）検体より genomic DNA を抽出し PCR 法を行った。また同様に total RNA を抽出し，逆転写反応により cDNA を得て RT-PCR 法を行った。各々の腫瘍の組織診断をもとにそれぞれに特異的な遺伝子変異もしくは融合遺伝子を標的としたプライマーを設計し，PCR 法にて遺伝子増幅を行った。得られた増幅産物をアガロースゲル中で電気泳動し，標的とする遺伝子の確認を行った。

1）神奈川県立こども医療センター　病理診断科　　2）日本医科大学　共同実験センターアイソトープ教室

表1　次世代シーケンサーを用いて検討を行った肺 inflammatory myofibroblastic tumor の概要と結果

症例	年齢・性別	検出された融合遺伝子	最終診断名（括弧付きは暫定診断名）
1	13・女	*HMBOX1-ALK*	Inflammatory myofibroblastic tumor
2	16・男	*FN1-ROS1*	Inflammatory myofibroblastic tumor
3	8・男	検出されず	（Inflammatory myofibroblastic tumor, histologically）
4	14・女	検討不可能	（Inflammatory myofibroblastic tumor-like lesion, histologically）

3．塩基配列の確認

PCR 産物のダイレクトシーケンスを行い，塩基配列を明らかにした。

4．FISH 法

市販のプローブを用いて行った（SureFISH ALK BA probe, Agilent Technologies, Paulo Alto, CA）。FFPE 切片はプローブの浸透性を改善するために温熱処理して作成した。プローブを組織切片と反応させ，蛍光顕微鏡で観察して，1 切片につき 50 細胞確認したうえで，結果を判定した。

結　果

当科アーカイブより *ALK* 融合遺伝子が検出されていない肺 IMT は 4 例抽出された。1 例（症例 2）は脳腫瘍治療後に二次がんとして発生した肺腫瘍である。いずれも IMT に合致する組織所見を示し ALK の免疫染色でさまざまな割合で陽性所見がみられたが，従来の方法では *ALK* 融合遺伝子の検出には至らなかった。

RNA シーケンスにより症例 1 から *HMBOX1-ALK* が，症例 2 からは *FN1-ROS1* が検出された。症例 3 からは有意な融合遺伝子は検出されなかった。症例 4 は検査に必要な核酸の抽出が困難であった。

HMBOX1-ALK についてさらに検討を行った。FISH 法にて *ALK* 遺伝子の再構成を検討したが，明らかな異常は検出しえなかった。そこで RNA シーケンスの結果を参考にプライマーを設定して RT-PCR 法を施行したところ *HMBOX1-ALK* が同定された。

さらに今年度は今までの研究結果も踏まえて，先天性嚢胞性肺疾患の病理組織学的所見について執筆を 2 件行った（Pathological characters of congenital cystic lung disease in *Congenital cystic lung disease*, Springer，および小児嚢胞性肺疾患の臨床病理，病理と臨床，文光堂）。

考　察

RNA シーケンスの結果，4 例の肺 IMT のうち 2 例に融合遺伝子を有する可能性が示唆された。

HMBOX1-ALK は IMT 以外の腫瘍でも報告のない融合遺伝子である。昨年度より継続課題となっていた同融合遺伝子の検出に至った。今後論文化を検討する。

FN1-ROS1 は IMT で 2 例（肺と顎下腺）[7-8]，atypical tenosynovial giant cell tumor で 1 例報告 [9] を認める。今後 RT-PCR 法で確認予定である。同症例は骨肉腫治療後の二次がんとして発症している。*ROS1* 融合遺伝子は標的治療の対象であり，今回の融合遺伝子検出は臨床対応において有用な情報となりうると考える。また，融合遺伝子が検出されなかった 1 例については，融合遺伝子以外の遺伝子異常の検索を RNA シーケンスで得られたデータからさらに検討する予定である。

来年度は IMT 以外の小児肺腫瘍および先天性肺疾患をターゲットに次世代シーケンサーを加えて検討を継続する予定である。

文　献

1）Messinger YH, Stewart DR, Priest JR, et al. Pleuropulmonary blastoma: a report on 350 central pathology-confirmed pleuropulmonary blastoma cases by the International Pleuropulmonary Blastoma Registry. Cancer 2015;121:276-285.

2）Lantuejoul S, Nicholson AG, Sartori G, et al. Mucinous cells in type 1 pulmonary congenital cystic adenomatoid malformation as mucinous bronchioloalveolar carcinoma precursors. Am J Surg Pathol 2007;31:961-969.

3）Guo H, Cajaiba MM, Borys D, et al. Expression of epidermal growth factor receptor, but not K-RAS mutations, is present in congenital cystic airway malformation/congenital pulmonary airway malformation.

Hum Pathol 2007;38:1772-1778.
4）Onoda T, Kanno M, Sato H, et al. Identification of novel ALK rearrangement A2M-ALK in a neonate with fetal lung interstitial tumor. Genes Chromosomes Cancer 2014;53:865-874.
5）Tanaka M, Kohashi K, Kushitani K, et al. Inflammatory myofibroblastic tumors of the lung carrying a chimeric A2M-ALK gene: report of 2 infantile cases and review of the differential diagnosis of infantile pulmonary lesions. Hum Pathol 2017;66:177-182.
6）Antonescu CR, Suurmeijer AJ, Zhang L, et al. Molecular characterization of inflammatory myofibroblastic tumors with frequent ALK and ROS1 gene fusions and rare novel RET rearrangement. Am J Surg Pathol 2015;39:957-967.
7）Kurihara T, Suehara Y, Akaike K, et al. Nanostring-based screening for tyrosine kinase fusions in inflammatory myofibroblastic tumors. Sci Rep 2020;10:18724.
8）Lopez-Nunez O, John I, Panasiti RN, et al. Infantile inflammatory myofibroblastic tumors: clinicopathological and molecular characterization of 12 cases. Mod Pathol 2020;33:576-590.
9）Vougiouklakis T, Shen G, Feng X, et al. Molecular Profiling of Atypical Tenosynovial Giant Cell Tumors Reveals Novel Non-CSF1 Fusions. Cancers（Basel）2019;12:100.

中学生を対象とした病名・病状告知と治療の自己決定に関する意識調査

辻　　恵[1,2)]，竹之内　直　子[1,3)]，庄　　紀　子[1,4)]
永　渕　弘　之[1,5)]

緒　言

神奈川県立こども医療センターでは2015年12月に倫理コンサルテーションチームが発足し，医療現場の倫理的葛藤を各種ガイドラインや指針に基づき調整し助言を行うことを主たる業務として活動している。小児専門医療機関として，中でも子どもへの病名・病状説明や意思決定支援に際して生じる倫理的問題は当チームでも注力すべき重要課題として位置づけている。日本の小児医療現場においてインフォームド・アセントは十分に浸透しているとはいえず，さらに子どもがどの程度自身の病名・病状を知りたいか，治療について自己決定したいかについて子どもの意見を調査した研究は国内にはない。当院での15歳未満の患者への対応を検討するための基礎データを得る目的で，中学生を対象に意識調査を行った。

対象と方法

2018年4月1日から2019年3月31日に当センターを初めて受診する中学生（1-3年生，12-15歳）の患者のうち，本人・保護者ともに調査研究参加に同意した者を対象とした。緊急対応を要する初診患者は事前の書類郵送が困難のため調査対象外とした。

調査項目と集計

質問票の回答は患者の属性年齢，性別，受診科などと連結して解析するため記名式とし，項目別に集計を行った。

1）神奈川県立こども医療センター　倫理コンサルテーションチーム　　2）同　神経内科
3）同　小児がん相談支援室　　4）同　児童思春期精神科　　5）同　集中治療科

結　果

1．患者背景（受診者数，受診科）（表 1）

当センターを初診した中学生 369 名うち 185 名（男 79 名，女 106 名）から有効回答を得た（回収率 50.1 %）。受診科は 17 診療科，児童思春期精神科が最多で 52 名（28.0 %），整形外科 40 名（21.5 %），総合診療科 26 名（13.9 %）と続いた。

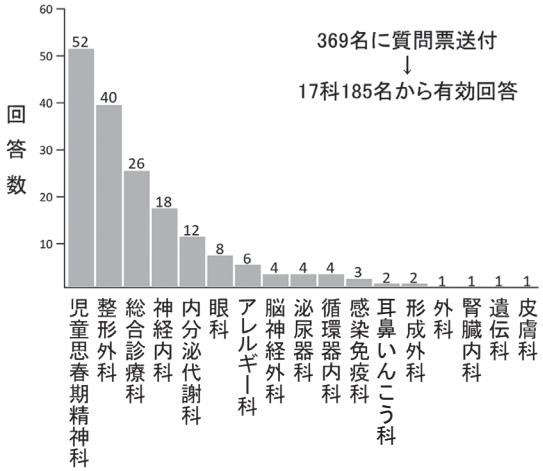


表 1　対象者の内訳

2．調査結果（図 1）

149 名（80.5 %）が病名を「知りたい」と回答し，次いで「どちらでもない」31 名（16.8 %），「知りたくない」5 名（2.7 %）と続いた。病状と予後については「全て知りたい」が最多で 106 名（57.3 %），次いで「ある程度は知りたい」61 名（33.0 %），「どちらでもない」13 名（7.0 %）であり，「何も知りたくない」と回答した者はいなかった。治療方針の選択の意思については「どちらでもよい」が 79 名（42.5 %）と最多，次いで「だいたい自分で決めたい」65 名（34.9 %），「絶対に自分で決めたい」20 名（10.8 %）と続いた。医師と 1 対 1 の面談希望について「あった方がいい」と答えた割合は年齢が上がるにつれて増加し，15 歳では半数近くが家族同伴ではない個別対応の希望があった。

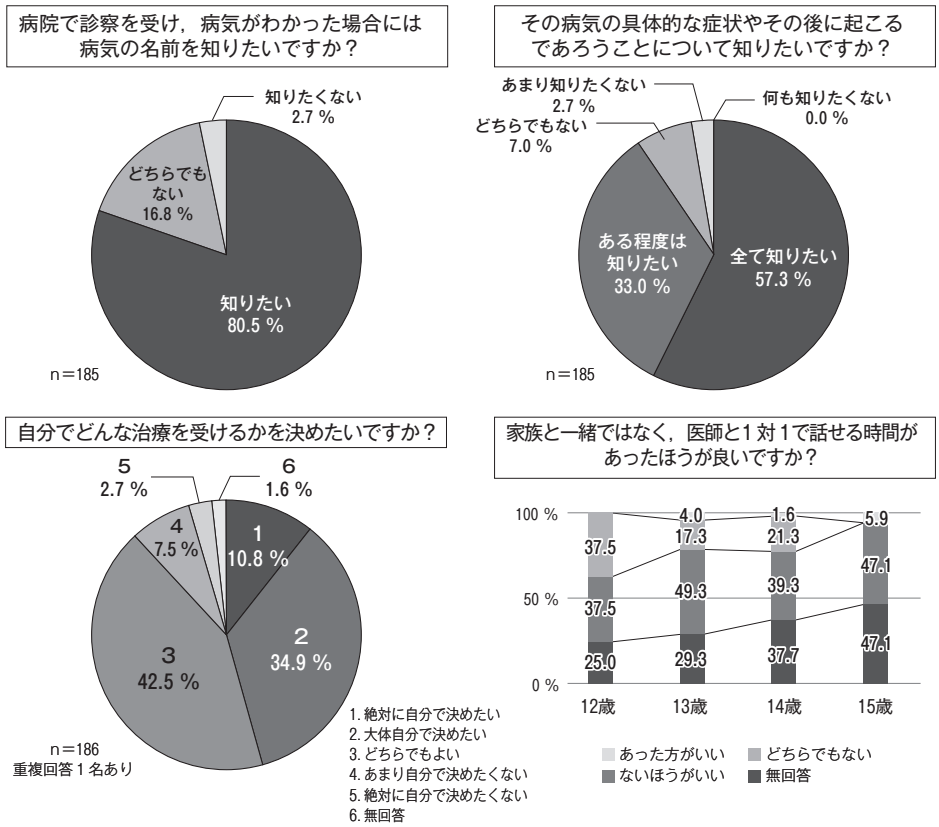


図 1　集計結果

考　察

今回の研究対象者の 80 %以上で病名告知の希望があり，病状説明の希望に関する質問でも 90 %以上で病状説明を受けたいと希望があったことから，中学生であっても原則，病名・病状説明を必ず行うことをわれわれ医療者は期待されていることが明らかとなった。中学生・高校生の患者に行われた過去の意識調査では，年齢的にも診療内容に関する理解力は問題ないと結論付けているが[1]，病態のより複雑な悪性疾患や慢性疾患への正しい理解を促すためには，患者の理解度を常に確認しながら支援を行う必要がある。

思春期は日常生活のほとんどの面を親に依存し，一般的には医学的な意思決定を下す経験は限られているため，治療選択の意思決定を希望する回答が半数以下にとどまったことは予想された結果といえる。また，思春期の意思決定は成人とは異なったプロセスにより行われることも指摘されている[2]。必ずしも患者本人の意思が医学的最善と一致していない可能性を検証する必要があり，保護者と医療チームが協力して患者の意思決定をサポートすることが不可欠である。

12 歳から 15 歳に年齢が上がるに従い単独面接の希望割合が増えていることは注目すべき結果である。思春期患者では，よりよい関係性の構築と患者の積極的な治療参加のためには守秘義務に関して事前に医師と患者で確認する機会を持つことが推奨されており[3]，たとえ保護者であっても本人の同意がない部分の情報開示には慎重になるべきである。

結　語

15 歳以下でも病名告知や病状説明を希望している割合が高く，自己の健康問題に関心があることが明らかとなった。思春期患者が自身の治療方針決定に関われるような取り組みが，われわれ小児科医療者に期待される。

文　献

1）細野恵子, 片岡恵理. 小児科外来で医療者が行う病気説明に対する思春期の子どものとらえ. 旭川大学保健福祉学部研究紀要 2014;6:1-7.

2）Steinberg L. Neuroscience perspctive on adolescent risk taking. Dev Rev 2008;28:1-27.

3）Cottrell LA, Nield LS, Perkins KC. Effective interviewing and counseling of the adolescent patient. Psychiatr Ann 2006;36:674-681.

リンパ管奇形（リンパ管腫）に対する病態解明および新たな治療法確立のための研究

臼井秀仁[1)]，新開真人[1)]，新保裕子[2)]
北河徳彦[1)]，望月響子[1)]，益田宗孝[3)]

はじめに

リンパ管腫は，リンパ管奇形 lymphatic malformations（LM）とも呼ばれる疾患で，出生時より存在する先天性腫瘤性疾患である[1)]。ヒトの発生段階において形成されるリンパ嚢が，全身のリンパ系へと分化する過程での異常から生じるリンパ管の奇形とされる。浸潤転移しない良性疾患ながら，特に好発する頸部症例においてさまざ

1）神奈川県立こども医療センター　外科　　2）同　臨床研究室
3）横浜市立大学　外科治療学（現福岡和白病院）

まな弊害を引き起こす。嚥下障害から胃瘻が不可避となる症例や，気道閉塞から気管切開を余儀なくされる症例も少なくない。また LM は感染や内部への出血に伴い突発的に増大することがある。このため，呼吸状態が安定しており気管切開等を要しない児であっても，急激に気道閉塞が進行し，致死的になりうる危険性に常にさらされる。

現在日本で一般的に選択しうる治療法は，手術か OK432（ピシバニール）硬化療法が主体である[1]。前者は完全切除ができれば速やかな減量効果を期待できるが，部分切除に留めると高率で再発することが知られる。特に頸部などでは神経障害などが合併するリスクがあるため，部分切除に留めざるを得ないことも多い。後者は 1 cm 以上の嚢胞を主体とする macrocystic type には 70–80 % と高率で硬化が期待できる。反復施行も可能なため，現在第一選択になりやすい。一方で術後の反応性腫脹が強く長期にわたり出現するため，気道周囲の LM に対しての施行は危険を伴い，予防的気管切開などを要することも多い。また 1 cm 未満の嚢胞が主体である microcystic type への効果は乏しいことが知られる。このため，気道周囲病変や頸部の microcytic type のびまん性病変などは現在でも有効な治療法がなく，世界的に病態解明・新しい治療薬の開発が望まれる。

われわれはこれまでに，リンパ管腫内皮細胞 lymphatic malformations-lymphatic endothelialcells（LM-LEC）の分離培養に成功し，この細胞を使用しての PIK3CA 変異の同定など基礎的研究を行ってきた[2]。また，日本ではまだ保険適応外であるブレオマイシンによる硬化療法を行い，気道周囲の病変や OK432 抵抗例において良好な結果を報告した[3]。

対象と方法

2020 年 4 月から 2021 年 3 月の期間に当科で LM と診断し，ブレオマイシンによる硬化療法を行った患者を対象とした。

気道狭窄例に対しては過去に報告した超音波検査およびバルーンを用いた硬化療法 ultrasound-guided balloon-assisted sclerotherapy（UBAS）を行った[3]。手順を簡潔に示すと，①全身麻酔下に喉頭鏡で気道評価を行った後に気管挿管を行う。②再度気道を観察しながら気道狭窄部にバルーンカテーテルを挿入し，バルーンを拡張させ固定留置する。バルーンは LM のうち気道狭窄の責任となっている病変部分を超音波で可視化させるためのものであり，適切な位置に適度な拡張具合で固定する必要がある。③体表より超音波をあて，バルーンを描出することで，気道周囲の病変全体を良好に描出することが可能である。エコーガイドで穿刺を行い，気道狭窄の責任病変部にブレオマイシンを局注する。この際，内容液の吸引を可及的に行い，置き換えるように局注を行う。microcystic type などこの投与が困難な場合は病変内に硬化剤を散布する形で投与する。④術後は腫脹対策に，気管挿管のまま最低 48 時間は経過を観察する。⑤その後気道評価を行い，抜管可能であれば，抜管を試みる。

気道狭窄例以外では超音波ガイド下に穿刺を行い，一般的な硬化療法を行った。

表在型に対しては表在型病変に対する硬化療法と合わせて，深部の嚢胞部分に対しても硬化療法を行った。

本治療に際しては神奈川県立こども医療センター倫理委員会専門部会の承認を得た。診療録，手術記録から治療時年齢，症状，病変部位，硬化療法回数，術後管理，治療効果などを後方視的に検討した。

結　果

対象症例は男児 2 例女児 6 例の 8 例であった。年齢は中央値で 4.5（0–18）歳であった。病変部位は頸部 4 例，表在型 2 例，舌 1 例，腹壁 1 例であった。頸部および舌の 5 例のうち 4 例を気道狭例またはそのリスク例として扱い，1 例は気道周囲ではあるが気道狭窄またはリスク例としては扱わなかった。表在型と腹壁は OK432 抵抗例として本治療の適応とした。硬化療法は中央値で 2（1–6）回施行した。患者詳細を表 1 に示す。

症例①（図 1）

出生前診断例。両側顎～両側頸部，縦隔へと広範に分布する病変例。超音波では気道全周が病変に覆われていた。換気不全のために日齢 0 に挿管管理を要した。UBAS 治療を合計 6 コース行った。1 コースで抜管を達成でき，4 コースで自然気道を

達成した。ただし夜間に限定した呼吸不安定さが残存し，最終的にHOT0.25L夜間を持って退院とした。

症例②

出生前診断例。頸部～左腋下のLM例。出生時に換気不安定さがあり，日齢0よりnasal high flow管理を要した。UBAS治療を計3コース行った。1コースで自然気道を確保できた。3コースで気道周囲病変は解消し，退院した。1年後に腋窩病変に4回目のブレオ硬化療法を行った。

症例③，④

いずれも腫脹時に気道緊急を生じうる気道狭窄リスク例。それぞれUBAS治療を1回，2回を行い，そのリスクが解消された。

症例⑤

他院でOK432治療を行ったが改善なく，当院紹介となった児。気道周囲ではあるが，気道狭窄リスクとまでは判断しなかった。通常のブレオ硬化療法を1回行い，軽快した。

症例⑥

右側腹部例。当院で2例のOK432硬化療法を行ったが，効果は限定的であった。OK432抵抗例としてブレオ硬化療法を2回施行。軽快した。

症例⑦（図2），症例⑧

表在型LMの2例。症例⑦は他院で表在型LMに対する切除術を受けたが，その後再発したものであった。表在型に関してはOK432の効果は期待できず，OK432抵抗例としてブレオ硬化療法を行った。2例とも2コースの治療を行い，局面型は縮小し満足いく結果を得られた。当初色素沈着が目立ったが，時間と共に軽快した。

表1　症例の概略

症例	年齢（歳）	性別	部位	本治療適応	術前呼吸状態	治療	治療回数	抜管獲得	自然気道獲得	補足	結果
①	0	F	頸部～縦隔	気道狭窄	挿管	UBAS	6	1	4		解消
②	0	M	頸部～左腋窩	気道狭窄	NHF	UBAS	3	－	1	腋窩に1回追加治療	解消
③	2	F	頸部	気道狭窄リスク	自然気道	UBAS	2	－	－		解消
④	10	M	舌	気道狭窄リスク	自然気道	UBAS	1	－	－		解消
⑤	7	F	頸部	気道周囲	－	－	1	－	－	前医OK432	解消
⑥	2	F	腹壁	OK432抵抗	－	－	2	－	－	過去にOK432治療2回	解消
⑦	13	F	表在型	OK433抵抗		－	2	－	－	前医手術歴	解消
⑧	18	F	表在型	OK434抵抗		－	2	－	－		解消

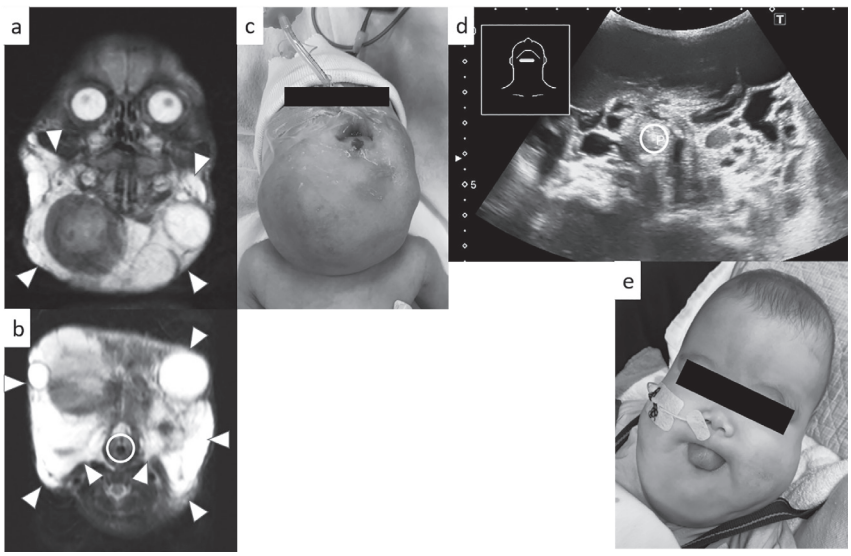


図1　症例①

頸部LM。日齢0で挿管管理を要したが，6回の治療で自然気道退院できる。
a：出生時MRI T2強調像，冠状断，b：出生時MRI T2強調像，軸位断，c：出生時肉眼所見，
d：出生時超音波所見，e：退院時肉眼所見。白矢頭：病変，白円：気道。

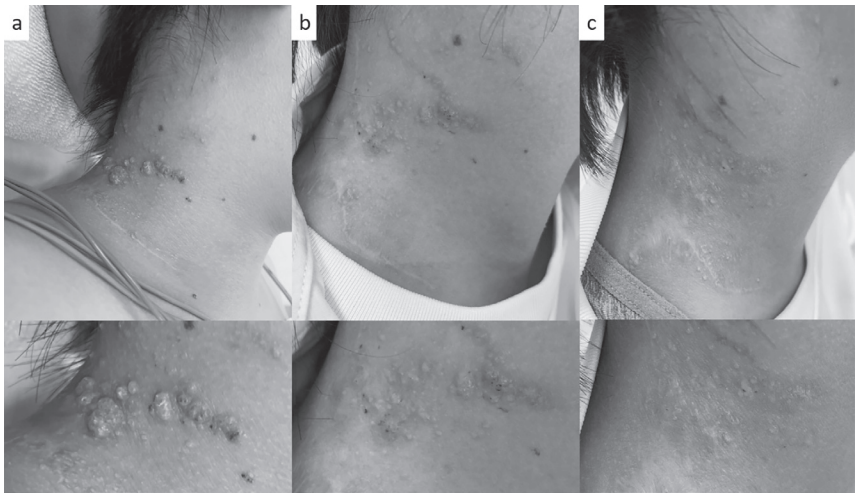


図2　症例⑦
表在型 LM。2回の治療で満足できる改善を認める。
a: 当院初診時，b:1回目治療後，c:2回目治療後。上段：遠景，下段：拡大。

考　察

呼吸器・消化器系に接する頸部 LM は致命的な気道閉塞，経口摂取障害，発声障害などを引き起こしうる[4-5]。このうち気道狭窄を伴う LM に対する治療には確立されたものがなく，内服治療，硬化療法，外科手術を組み合わせて行われている。頸部 LM の治療は一般に，合併症が少なく，反復施行が可能な硬化療法を第一選択として行うことが多い。しかし気道狭窄を伴う LM では硬化療法後の反応性腫脹による窒息のリスクがあり[6]，長期挿管や気管切開などを要することが多い[7]。日本で唯一保険収載されているピシバニールは特に腫脹が強く，この傾向が顕著である。このため LM が気道に半周以上接する場合は気管切開を検討すべきとする報告もある[8]。気管切開は上気道狭窄に対する気道確保の有効な手段であるがさまざまな生活の制約を必要とし，発声・構音機能の獲得遅延や障害の原因になったり[9]，発達全体に悪影響を及ぼしたりするとの報告もある[10]。さらに気道周囲の巨大 LM 症例では気管切開手術自体も容易ではない。したがって，気管切開は必要時に躊躇してはいけないが，可能であれば回避したい処置である。このような合併症のリスクを考慮し，気道狭窄をきたす LM には手術を優先すべきとする報告もある[6]。しかし重要な神経や血管が集中する頸部病変への手術は，血管・神経・筋肉損傷による合併症が高率に報告されており，全摘は困難で再発率も高いという問題点がある[11]。以上より，気管切開を必要としない硬化療法が可能であれば理想的な治療といえる。

われわれはそこで，これまでの LM に対する硬化療法の方法を見直し，より効果的で安全な方法を考案した。LM の治療目標を病変の完全消退ではなく症状の軽減・消失に設定し，気道狭窄の責任病巣に絞った硬化療法を行うことで，副作用を最小限に抑えながら気道への効果を期待する方法である。このような硬化療法を実現する方法として UBAS を報告した[3]。UBAS では狭窄した気道と狭窄の原因となっている LM 病巣を同時にリアルタイムに描出するために，狭窄した上気道内にバルーンを留置しながら頸部超音波検査を行う。通常超音波ビームは気道内の空気で反射されるため気道の描出はできず狭窄部の同定は困難である。これに対し気道狭窄部にバルーンを留置することで超音波によって狭窄した気道とその周囲の責任病変の同定が可能となる。また，バルーンは

アコースティック・ウインドウとしても役立つ。LM が上咽頭・中咽頭の背側に存在する場合，周囲は下顎骨・頸椎・頭蓋骨などに囲まれるため，超音波検査では頸部前方からアプローチせざるを得ない。気道にバルーンを留置すると有効なアコースティック・ウインドウとなる。この UBAS の確立によって，気道狭窄責任部位にピンポイントで硬化療法が可能となった。

本治療に使用する硬化療法剤はブレオマイシンを採用した。ブレオマイシンは，ピシバニールと異なり硬化療法後の腫脹が軽微であることが知られ，本治療の趣旨に合致する。一方でブレオマイシンは保険収載が無い点，抗癌剤である点，累積投与量に依存して発症リスクが上昇する間質性肺炎・肺線維症という重大な副作用がある点など，デメリットもある。特に肺に対する副作用の観点から，ブレオマイシンは使用量を最小限に抑える必要がある。われわれの硬化療法は部位を絞って行う方法であるため，硬化剤の使用量を最小限に抑えることができ，ブレオマイシンの安全な使用にも寄与している。

われわれはこの方法を活用することで，気道狭窄を伴う LM9 例に対し気管切開なしで治療完遂し，既に気管切開されていた 2 例に対し気管切開からの離脱に成功したと報告した[3)]。今回新たに治療介入を行った症例①−④は UBAS 施行例であり，今回も気管切開を回避しての治療完遂が可能であった。特に症例①はこれまでで最も重症例であったが，気管切開を回避しての退院を実現できた。今後，さらなる症例蓄積によって，より確立した治療としたい。

表在型に対する治療もこれまで確立したものが無く，昨年度報告した 2 例は問題となる表在型病変自体への硬化療法と同時に，深部にある病変へも同時に硬化療法を行うものであった。2 例とも効果は十分あったものの 1 例で色素沈着が残り経過観察を続けていた。この色素沈着は時間と共に軽快し，2 例ともさらなる効果を期待して 2 回目の治療を希望された。そしてさらに満足いく結果を得られた。今後さらに症例を蓄積し，治療として確立させたい。

文　献

1）臼井秀仁, 新開真人, 北河徳彦, 他. めずらしい腫瘍に対するアプローチ 治療法がめずらしい 頸部リンパ管腫. JOHNS 2020;36:1524-1528.

2）Usui H, Tsurusaki Y, Shimbo H, et al. A novel method for isolating lymphatic endothelial cells from lymphatic malformations and detecting PIK3CA somatic mutation in these isolated cells. Surg Today 2021;51:439-446.

3）Usui H, Shinkai M, Kitagawa N, et al. Lymphatic malformations compromising the upper airway in children: ultrasound-guided intralesional focal sclerotherapy with bleomycin targeting culprit lesions. Pediatr Surg Int 2020;36:1047-1054.

4）Bajaj Y, Hewitt R, Ifeacho S, et al. Surgical excision as primary treatment modality for extensive cervicofacial lymphatic malformations in children. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2011;75:673-677.

5）Berg EE, Sobol SE, Jacobs I. Laryngeal obstruction by cervical and endolaryngeal lymphatic malformations in children: proposed staging system and review of treatment. Ann Otol Rhinol Laryngol 2013;122:575-581.

6）Defnet AM, Bagrodia N, Hernandez SL, et al. Pediatric lymphatic malformations: evolving understanding and therapeutic options. Pediatr Surg Int 2016;32:425-433.

7）Manning SC, Perkins J. Lymphatic malformations. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 2013;21:571-575.

8）Ueno S, Fujino A, Morikawa Y ,et al. Indications for tracheostomy in children with head and neck lymphatic malformation: analysis of a nationwide survey in Japan. Surg Today 2019;49:410-419.

9）Simon BM, Fowler SM, Handler SD. Communication Development in Young Children with Long-Term Tracheostomies: Preliminary Report. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 1983;6:37-50.

10）DeMauro SB, D'Agostino JA, Bann C, et al. Developmental outcomes of very preterm infants with tracheostomies. J Pediatr 2014;164:1303-1310.

11）Gaffuri M, Torretta S, Iofrida E, et al. Multidisciplinary Management of Congenital Giant Head and Neck Masses: Our Experience and Review of the Literature. J Pediatr Surg 2019;54:733-739.

ターナー症候群のより良い内科的治療の検討（最終報）

室谷浩二，新田祐佳，花川純子
朝倉由美，安達昌功

はじめに

ターナー症候群は，45,X に代表される X 染色体短腕の欠失を特徴とする性染色体異常症である。低身長，原発性性腺機能低下症，特徴的奇形徴候が代表的な症状である。低身長に対する成長ホルモン注射，卵巣機能不全に対する女性ホルモン補充が必要となる。

本研究では，ターナー症候群のより良い内科的治療を提示することを目的とする。そのために，神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科に通院歴のあるターナー症候群患者に対する診療録の後方視的な検討や，承諾の得られた患者に対する血中のステロイド一斉分析，欠失 X 染色体の欠失範囲や親由来の検討，を予定した。

昨年度，成長ホルモン治療を行った既往のあるターナー症候群患者について，「染色体核型と診断時の年齢・体格との関連性，および GH 開始時期による治療反応性の検討」を実施した。また，その成績を日本小児内分泌学会で発表した。

研究成果の要約

1987 年 4 月から 2018 年 5 月に神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科で診療され，1 歳以降に診断確定したターナー症候群の女児 85 症例を対象として検討した。

ターナー症候群の診断のきっかけとなった主訴は，低身長でみつかった患者が 85 例中 78 例（84.1 %）と大多数を占めていた。患者の核型は，45,X 核型（非モザイク）が最多で，45,X とのモザイク核型が続いた。核型と診断時の身長，体重，および target height に有意差を認めなかった。

GH 治療効果を GH 開始後 1 年間の身長改善（ΔHt（cm），ΔHtSDS の増加）で評価し，核型別に検討した結果を表 1 に示す。GH 治療開始時年齢，ΔHtcm，ΔHtSDS においては有意差を認めなかった。次に，核型で区別せず，GH 治療の開始年齢，性腺補充療法の有無で分類して（5 歳未満，5 歳以上～10 歳未満，10 歳以上で GH 単独，10 歳以上で性腺補充療法あり）検討した結果を表 2 に示す。Kruskal-Wallis 検定で有意差が存在したため，各群間を Bonferroni 法を用いて多重比較した。その結果，10 歳で性腺補充療法なし群と 5 歳未満群で有意差を認めた（データ非表示）。以上の結果から，GH 治療の短期的効果は，核型よりも GH 開始年齢の影響が大きいと推測された。

表 1　核型と GH 治療効果

核型	N	GH開始年齢 median	ΔHtSDS	ΔHt（cm）
All	64	8.65	0.43±0.45	7.2±2.4
45,X	12	7.02	0.42±0.39	7.8±1.3
45,X/46,X, i（Xq）	9	7.78	0.55±0.46	7.6±1.9
45,X/46,XX	5	9.96	0.42±0.51	7.9±3.5
46,X, i（Xq）	6	9.20	0.28±0.28	7.2±1.5
45,X/47,XXX	6	8.32	0.69±0.75	7.0±4.9
その他	26	9.53	0.38±0.44	6.8±2.3
Kruskal Wallis 検定（P）	－	0.798	0.758	0.707

（mean±SE or SD）

表 2　GH 治療開始年齢別の GH 治療効果

	Estrogen	N	ΔHtSDS	ΔHt（cm）
All	+/－	64	0.43±0.45	7.2±2.4
<5y	－	13	0.81±0.44	9.1±1.9
5-10y	－	29	0.45±0.26	7.5±1.7
≧10y	－	19	0.10±0.42	5.5±2.7
	＋	3	0.76±0.79	8.0±1.7
Kruskal Wallis 検定（P）		－	0.001	0.001

（mean±SE or SD）

神奈川県立こども医療センター　内分泌代謝科

考　察

本研究の結果を過去の報告[1-5]と比較し，表3に示す。本研究の結果，45,X 核型（非モザイク）では，他の核型に比較して診断時年齢が有意に低く，これは先行研究の結果と合致した。一方，ターナー症候群の診断時の年齢は，海外の報告と比較して，本研究で明らかに低年齢であった。

これまでの報告では，ターナー症候群においてGH 治療の最適な開始年齢は確立していない。しかし，思春期開始前に 4 年間以上 GH 治療を行った症例，治療開始が若年である症例は GH 治療効果が期待できると報告されている[6]。本研究は，短期的な治療効果しか検討していないが，5 歳以前に GH 治療を開始した群で最も治療効果が期待できると考えられた。また，本来二次性徴が開始している 10 歳以降で GH 治療を開始する場合，低容量のエストロゲン補充を併用することにより，短期的ではあるが，ΔHt（cm）とΔHtSDS が改善されると推測された。

ターナー症候群における身長予後の改善には，早期診断，GH 治療の早期開始，エストロゲン補充の開始時期や補充方法が重要と考えられる。今後，治療の最適化に向け，中・長期期的な治療経過を評価していくことが有用と考える。

今後の計画

今後数年間をかけて，全ての検討を完了させ，その結果を総合的に解析することにより，ターナー症候群患者の成長パターン，および，治療経過が成長パターンに及ぼす影響，遺伝的要因の関与について明らかにする方針であった。残念ながら，今回，研究費の継続が得られなかったため，一旦研究を終了とした。今後，改めて研究費の習得を目指し，ターナー症候群患者の身長予後を改善するための因子を明らかとし，内科的治療の最適化に繋げたいと考えている。

文　献

1）Stochholm K, Juul S, Juel K, et al. Prevalence, incidence, diagnostic delay, and mortality inn Turner syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2006;91:3897-3902.

2）Schoemaker MJ, Swerdlow AJ, Higgins CD, et al. Mortality inn womem with turner syndrome in Great Britain: a national cohort study. J Clin Endocrinol Metab 2008;93:4735-4742.

3）Yesielkaya E, Bereket A, Darendeliler F, et al. Turner syndrome and associated problems in Turkish children: a multicenter study. J Clin Res Pediatr Endocrinol 2015;7:27-36.

4）Fiot E, Zenaty D, Boizeau P, et al. X-chromosome gene dosage as a determinant of impaired pre and postnatal growth and adultnheight in Turner syndrome. Eur J Endocrinol 2016;174:281-288.

5）Cameron-Pimblett A, La Rosa C, King TFJ, et al. The Turner syndrome life course project: Karyotype-phenotype analyses across the lifespan. Clin Endocrinol（oxf）2017;87:532-538.

6）Gravholt CH, Andersen NH, Conway GS, et al. Clinical practice guidelines for the care of girls and women with Turner syandrome: proceedings from the 2016 Cincinnati International Turner Syndrome Meeting. Eur J Endocrinol 2017;177:1-70.

表3　過去の報告との比較

文献	コホート時期	人数（人）	国	診断時の平均 / 中央年齢 All	45,X 核型
Stochholm, et al.[1]	1968－2001	781	デンマーク	15.1	13.3
Schoemaker, et al.[2]	1959－2002	3,439	イギリス	14.5	12.4
Yesielkaya, et al.[3]	2013－2014	842	トルコ	10.5	－
Fiot E, et al.[4]	unknown－2013	1,038	フランス	10.0	－
Cameron-Pimblett A, et al.[5]	unknown	611	イギリス	10.1	8.0
本研究	1987－2018	85	日本	7.6	5.3

膀胱尿管逆流症に対する 気膀胱下膀胱尿管新吻合術（non-cross trigonal 法）の実施

西　　盛　宏，　下木原　航　太，　郷　原　絢　子
山　崎　雄一郎

研究背景

膀胱尿管逆流症（VUR）は蓄尿時・排尿時に膀胱尿が尿管・腎へ逆流することにより，発熱，血尿，背部痛などの尿路感染症状を呈し，放置すると慢性腎盂腎炎から患側腎機能悪化をもたらす疾患である。外科的治療法として開腹による膀胱尿管新吻合術 Open-UCN は長く標準術式として施行されてきたが，現在気膀胱下した膀胱内でこの手術を行う腹腔鏡下膀胱内手術 Lap-UCN が保険適用として施行されている。この Lap-UCN は開腹手術の Cohen 法に準じて施行されている。しかしながら Cohen 法は膀胱内に尿管を牽引し，膀胱内で尿管を交差させる方法であるため，余剰尿管長が短い症例においては十分な粘膜下トンネル長が確保できない可能性があり，また尿道を介して尿管に内視鏡を挿入することができないため，将来的な結石，腫瘍の治療の際に難渋することが予想される。これに対する治療選択肢として，Open-UCN では尿管口をさらに末梢側に移動させる Glenn-Anderson 法が施行されているが，長い粘膜下トンネル長が取れず，VUR が残存し Cohen 法に比べて治療成績が劣るとされる。このためか Lap-UCN における Glenn-Anderson 法はいまだ施行された報告がないが，尿管膀胱接合部を頭側に移動したのち Glenn-Anderson 法を行うことにより，治療成績の向上を得ることが可能であると考える。今回，この Glenn-Anderson 法変法による Lap-UCN を新たな術式として確立させるべく小児医療基金として提案し，すでに 6 名に対して施行したので報告する。

目　的

Glenn-Anderson 変法による Lap-UCN の治療成績，周術期合併症を検討し，本術式の有用性と安全性について評価した。

対象と方法

当施設で 2020 年 3 月～ 2021 年 3 月の間に本術式を施行した VUR を有する患者を後方視的に検討した。対象の患者背景（月齢，性別，体重，患側，VUR の grade），周術期所見（手術時間，術中出血量，術後入院期間，周術期合併症），術後 3 ヶ月後の VUR 消失率について検討した。

結　果

対象は 6 名，うち 1 名は術中術者判断で Glenn-Anderson 変法から Cohen 法に術式変更を行っていたため除外した。残り 5 名の患者背景は平均月例 88 ヶ月（63－115 ヶ月，中央値 87 ヶ月），男児 3 人女児 2 人，平均体重 20.9 kg（16.2－24.1，中央値 21.8 kg），患側は左側 2 人，両側 3 人，最大 VUR grade は grade Ⅴ：1 人，grade Ⅳ：3 人，grade Ⅲ：1 人であった。平均手術時間は左側例が 144 分（133－155，中央値 144 分），両側例が 205 分（173－242，中央値 202 分），術後入院期間は全例 2 日，周術期合併症は全例認めなかった。術後 3 ヶ月で施行した排尿時膀胱尿道造影検査では全例 VUR の消失を得た。

結　語

Glenn-Anderson 変法による Lap-UCN は有用で安全性の高い術式であった。今後新たな術式として確立させるために，症例数を増やした詳細な検討が必要と考えられた。

神奈川県立こども医療センター　泌尿器科

神経筋性側彎症手術における術創感染リスクの因子調査

－手術室内での術前準備時間の過剰遅延は，術後深部感染の予測因子となり得るかもしれない－

中　村　直　行

背　景

神経筋性側弯症に対するインプラントを利用した脊椎矯正固定術の有益性は明らかであり，推奨治療として多くの治療ガイドラインに採用されている。その一方で，高い合併症率が常に問題であり，中でも手術部深部感染は最も重篤な合併症の1つである。胃瘻，VP シャント，気管切開，低体重などが予測因子として報告されている。しかし，われわれの患者はその全ての予測因子を有していることが少なくない。今回われわれは，術前因子として，手術室入室から腹臥位ポジショニングまでの手術室内準備時間も検討因子に含めた。

方法と対象

術中洗浄法や抗菌薬投与を統一化した 2017 年 2 月から 2019 年 8 月までに，当院で単一術者により脊柱後方矯正固定術を施行された小児神経筋性側弯症患者 67 例（女児 40，男児 27）を対象とした。手術時年齢は中央値 13.9 歳（10.7－19.7）であった。結果，術後 2 ヶ月以内に術創深部感染を発症したのは 3 例であった。この深部感染発生に関して，手術時年齢，術前 BMI，主 Cobb 角，SPO，てんかん，胃瘻，気切，VP シャント，術前検査時のヘモグロビン値と総たんぱく，GMFCS，手術時のプリパレーション時間，骨盤固定の有無，術中低体温（＜ 35.5 度の持続時間），手術時間，術中出血量，術後の主 Cobb 角，SPO，およびそれらの矯正率の関与を，単変量ロジスティック回帰分析を用いて評価した。

結　果

これらの因子の中で，術後深部感染に対して，統計学的有意差をもって関与を示したのは，術前準備時間だけであった。術前準備時間の中央値は 44 分であり，感染例の 3 例は各々 224 分，108 分，60 分であった。術前準備時間の 10 分延長につき，オッズ比が 1.54（95 %信頼区間 1.06－2.23，P＝0.022）であった。

まとめ

神経筋性側彎症手術において，麻酔導入時に末梢血管点滴ルートが極めて取りづらいという事象は患児の重篤性を示す 1 つのサインかも知れない。自施設の標準的術前準備時間より過剰に逸脱する症例は，術後感染リスクが高い症例として留意した方が良いかもしれない。

本研究は，母集団に対するイベント（感染）発生数が少なく，統計家によりもう少し症例数を増やすことを勧められたため，昨年度は発表せず，症例の蓄積を行った。研究は今年度に継続し，症例数も増えたため，今後も発表する予定である。

神奈川県立こども医療センター　整形外科

鼓膜換気チューブ留置術を施行した症例における乳突蜂巣の発育の検討

井　上　真　規

はじめに

滲出性中耳炎の反復例や遷延例では乳突蜂巣の発育が不良のことが多いが，鼓膜換気チューブは乳突蜂巣の発育を促すと考えられている[1)]。今回，1歳時に鼓膜換気チューブ留置術を施行した症例において3歳時の乳突蜂巣の発育と滲出性中耳炎予後の検討を行ったので報告する。

対象と方法

2009年1月～2015年12月に1歳時に鼓膜換気チューブ留置術を施行された126例のうち，先天性頭蓋顔面異常や症候群の40例を除外し，最長6歳時時点で経過観察を行っていた66例，127耳を対象とした（図1）。

鼓膜換気チューブ再留置術の有無で滲出性中耳炎の予後を判定した。予後因子として，初回鼓膜換気チューブ留置術施行前の1歳時と，3歳時の乳突蜂巣面積，またアデノイド切除術の有無で検討した。

滲出性中耳炎の診療プロトコール

滲出性中耳炎の診断はpneumatic otoscopeを用いて行った。3ヶ月以上の保存的治療で改善がない症例に対して全身麻酔下での鼓膜換気チューブ留置術を施行した。睡眠時無呼吸を伴うアデノイド増殖症症例ではアデノイド切除術も同時に行った。チューブは脱落がなければ3歳時に抜去予定とした。チューブ脱落または抜去後の滲出性中耳炎再発例では，3ヶ月以上の保存的治療で改善がなければ再留置を行った。1年以上滲出性中耳炎

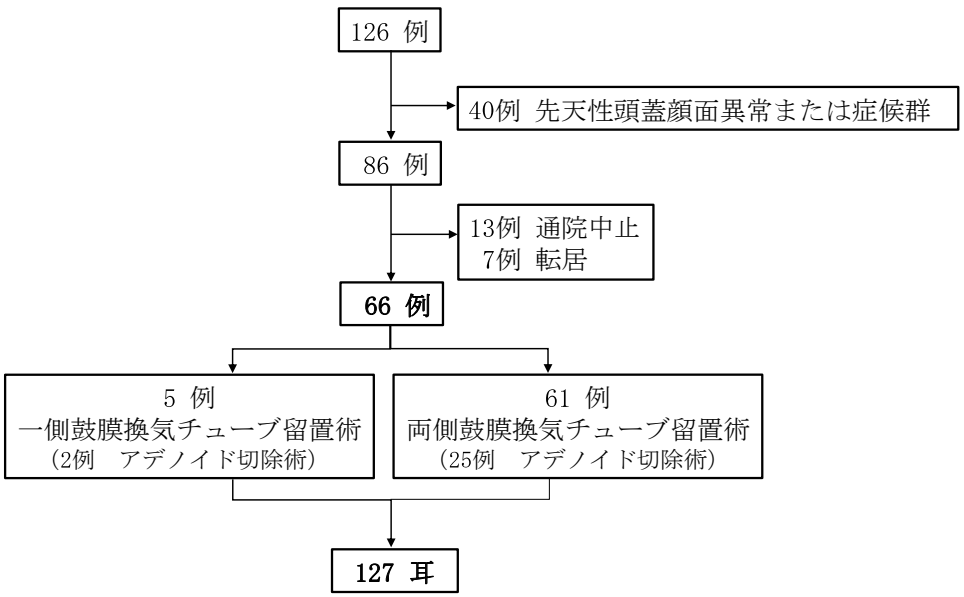


図1　対象症例

神奈川県立こども医療センター　耳鼻いんこう科

の再発がなく，鼓膜穿孔もなければ滲出性中耳炎治癒と定義し経過観察を終了した。

側頭骨単純X線検査は，初回の鼓膜換気チューブ留置術施行前と，3 歳時の耳漏のない診察時に施行した。

対象症例の内訳（表 1）

中央値で初回鼓膜換気チューブ留置術は 1.6 歳時に施行され，側頭骨単純X線検査は 1 歳時では 1.3 歳，3 歳時では 3.3 歳時に施行された。アデノイド切除術は 1.5 歳時に施行された。観察期間中央値は 5.2 年であった。

結　果

①鼓膜換気チューブ再留置術

再留置は 25 耳に施行され，5 耳に再留置が 2 回施行された。再留置の施行年齢中央値は 1 回目は 4.2 歳，2 回目の再留置は 5.7 歳であった。

②乳突蜂巣面積

（1）1 歳時の乳突蜂巣面積

中央値は再留置ありでは 178 mm^2（70−413 mm^2），再留置なしでは 190 mm^2（62−364 mm^2）であった。

（2）3 歳時の乳突蜂巣面積

中央値は再留置ありでは 314 mm^2（161−641 mm^2），再留置なしでは 439 mm^2（112−799 mm^2）であった。

（3）アデノイド切除術の有無

再留置を施行された 25 耳のうち，アデノイド切除術を施行されたのは 10 耳であった。

統計解析（表 2）

再留置の確率について，ロジスティック回帰分析にて検討を行った。1 歳時の乳突蜂巣面積とアデノイド切除術では再留置との関連はみられなかった。しかし 3 歳時の乳突蜂巣面積では，オッズ比が 0.37 となり 3 歳時の乳突蜂巣面積が大きくなると再留置の確率は減っていた。また P 値（$p<0.05$ で有意差ありとした）も 0.004 であり 3 歳時の乳突蜂巣面積と再留置は有意な関連がみられた。

表 1　対象症例の内訳

男：女(アデノイド切除術施行)	43(17)：23(10)
施行年齢中央値	
初回鼓膜換気チューブ留置術	1.6(1.1-1.9)
側頭骨単純 X 線検査	
1 歳時	1.3(1-1.8)
3 歳時	3.3(3-3.9)
アデノイド切除術	1.5(1.1-1.9)
観察年数中央値	5.2(1.9-5.9)

表 2　再留置の確率

Variables	OR	95 % CI	P-value
1 歳時乳突蜂巣面積	1.27	0.59−2.74	0.54
3 歳時乳突蜂巣面積	0.37	0.19−0.73	0.004
アデノイド切除術	0.96	0.38−2.42	0.93

OR＝odds ratio CI＝95 % confidence interval

考　察

乳突蜂巣は滲出性中耳炎により発育が抑制され，また発育不良の滲出性中耳炎の予後は不良である[2)]。鼓膜換気チューブ留置術は中耳腔の圧を正常化し乳突蜂巣の発育速度を増加させることで滲出性中耳炎の予後に貢献するといわれている[1)]。本検討では，鼓膜換気チューブ留置術施行前の 1 歳時の乳突蜂巣面積とアデノイド切除術では再留置との関連はみられなかった。しかし 3 歳時の乳突蜂巣面積において面積が大きい程再留置の確率は低く，有意な関連がみられた。以上より，1 歳時に鼓膜換気チューブ留置術を施行された滲出性中耳炎症例において，3 歳時乳突蜂巣面積が滲出性中耳炎の予後因子となると考えられた。

まとめ

1 歳時に鼓膜換気チューブ留置術を施行した症例において予後因子の検討を行った。鼓膜換気チューブ再留置術の有無で滲出性中耳炎の予後を判定し，予後因子として，1 歳時乳突蜂巣面積，3 歳時乳突蜂巣面積，アデノイド切除術の有無で検討した。1 歳時乳突蜂巣面積とアデノイド切除術では再留置との関連はみられなかった。3 歳時乳突蜂巣面積が大きいほど再留置の確率が低く，3 歳時乳突蜂巣面積が滲出性中耳炎の予後因子となると考えられた。

文　献

1）Valtonen HJ, Dietz A, Qvarnberg YH, et al. Development of mastoid air cell system in children treated with ventilation tubes for early-onset otitis media: A prospective radiographic 5-year follow-up study. Laryngoscope 2005;115:268-273.

2）Andréasson L. Correlation of tubal function and volume of mastoid and middle earspace as related to otitis medi. Acta Otolaryngol 1977;83:29-33.

^{1}H-MRS 法を用いた脳内代謝物の測定に関する研究

相田典子[1)]，野澤久美子[1)]，藤田和俊[1)]
藤井裕太[1)]，富安もよこ[1)]，嶋貫勝則[2)]
草切孝貴[2)]，村本安武[2)]，北川　藍[2)]
伍　成文[2)]

研究動機

多くの医療機関において画像診断に用いられているMRイメージング（MRI）は画像化法であるのに対し，MRスペクトロスコピー（MRS）は選択した立体体積（ボクセル：volume element）内のスペクトルから局所的な分子情報を得る手法である。^{1}H-MRSで観測可能な脳内代謝物は30数種類におよび，それぞれ異なる化学シフト値をもつ。その信号強度は^{1}Hの数に比例するため，代謝物の相対または絶対濃度を求めることが可能である。

中枢神経系に異常を来す疾患の多くで，特定の脳内代謝物（例：乳酸，クレアチン，コリンなど）の濃度変化が起こっていることが報告されている。MR装置を用いて測定することができる^{1}H-MRS法により，非侵襲的にこれらの濃度を測定することができ，臨床的な有用性が示されてきた。小児の脳内代謝物濃度に関しては，1）小児の成長に従って複数の脳内代謝物濃度が変化する，2）小児疾患によって代謝物濃度の変化が起こる，などが知られているが，これらの詳細な報告はほとんど無い状況である。健常な小児および小児神経疾患罹患者の脳内^{1}H-MRSデータを取得し，年齢や疾患／症状によって分類された脳内代謝物濃度のデータベースを構築することにより，1）健常な小児の年齢ごとの脳内代謝物濃度，および2）代謝疾患／症状ごとの^{1}H-MRS信号パターンなどが明らかになってくる。これら1，2）の情報を併せることで，疾患に対してより詳細な診断をすることが可能になると考えられる。また，診断名や治療方針がより早く特定／決定できたり，現在髄液検査で行っている測定を一部減らすことができる可能性がある。さらに小児に関する報告例は健常者および疾患患者ともにほとんど無く，この研究成果を論文や学会などにより世界に発信することの意義は非常に大きい。

こども医療センター放射線科で施行されているMRI検査では，すでに必要に応じて^{1}H-MRS測定が付加されていたが，その評価法は定性的であった。データベースの構築や詳細な臨床研究を行うには，定量的な質の高い解析技術と専門的な知識が必要となる。量子研の放射線医学研究所（以下，放医研）は，MRSの定量的解析に実績があり，MRSを専門に行う多くの研究者を有しており，密接に協力して研究を進めている。

平成20年よりの先行研究から，神経疾患の疑

1）神奈川県立こども医療センター　放射線科　　2）同　放射線技術科

われる患児に関しては ^{1}H-MRS 法による代謝物測定を行い実績を上げてきたが，平成 21 年 10 月より 3 テスラ（T）MRI が稼働したことにより，さらに微量代謝物測定の精度が上がることが期待され実現されており，測定数も増加している。

目　的

健常な小児および小児神経疾患罹患者の脳内 ^{1}H-MRS データを取得し，脳内代謝物濃度を解析によって得る。年齢や疾患／症状などの情報も加えられた脳内代謝物濃度（^{1}H-MRS）のデータベースを構築し，1）健常な小児の年齢ごとの代謝物濃度，および 2）代謝疾患／症状ごとの ^{1}H-MRS 信号パターンなどをまとめる。また，得られた ^{1}H-MRS 信号パターンを，蓄積したデータベースや脳内代謝物に関する文献の ^{1}H-MRS 信号パターンと比較し，疾患／症状の診断の一助とする。

研究方法

対象は脳 MR 画像を撮像する患児とする。脳 MRI 検査時に必要に応じて ^{1}H-MRS 測定を行う。測定は脳内の数部位（例：基底核，半卵円中心，小脳の 3 ヶ所が原則）について行う。1 部位について得られるデータは ^{1}H-MRS データ：数 100 KB 程度，および位置確認用 MRI データ：3 MB 程度である。^{1}H-MRS データから脳内代謝物の定量解析を行うため，パソコン（PC）上で動作する LCModel ソフトウェアを用いる。LCModel は basis-set というモデルスペクトルをソフトウェアに内蔵しており，線形解析を行うことにより，別の代謝物とピークの重なりがある代謝物についてもその絶対濃度推定が可能なソフトウェアである。In vivo 脳代謝物の濃度推定に世界で広く用いられている。データ転送は MR コンソールと PC を LAN ケーブルによって直接つないで行う。得られた代謝物濃度について，疾患や症状との関連性，個人間における比較，個人における経時変化，論文検索による他施設における同疾患／症状の ^{1}H-MRS 信号パターンの比較など，さまざまな事象の記録や情報収集を行い，それらも含めたデータベースの構築を行う。

個人情報の漏洩防止に関しては，1）LCModel は Linux 上で動作し，データベースは Windows に保存するが，前述の PC に Linux および Windows の 2 つの環境を整備するため，^{1}H-MRS データや LCModel 解析結果データ，画像，疾患／病状／年齢の情報など，解析からデータ蓄積までに使用されるさまざまなデータを 1 台の PC に集約する。2）使用する PC は ^{1}H-MRS データ転送以外は LAN ケーブルをつながず，転送元はネットワークから隔離されている。3）データベースは匿名化を行う。4）解析は基本的には当センター内で行う。5）^{1}H-MRS データをより詳細に解析するために当センターから研究分担者が在籍している放医研へ持ち出す場合などは当センターで匿名化を行う，などの対策をとった。

研究成果

臨床的には，平成 20 年からの先行研究と併せて，令和 2 年度末には解析症例患者（1 症例で複数回，5 回以上解析例も含む）番号は 5,111 に達し，今年度の新たな解析症例だけで 396 症例（昨年度 456 症例，これには昨年度以前から継続して経過観察で MRS を施行した症例は含まない），実患者数は 526 人（昨年度 604 人），延解析人数は 585 例（同 712 例）であった。COVID-19 流行の影響による検査数減少の影響を受け解析数も減少したが，1 検査に付き 3 ヶ所の MRS 取得と解析を標準とし有所見例では 5–6 ヶ所を計測することから，全解析数は 2,500 を超える。その全例に MRS の解析報告を作成し担当医に送付した（電子カルテ体制となってからは PACS 上で配信）。9 年前からは従来の神経内科系の全例解析に加えて，新生児の全例解析を継続、未だ報告のない修正 40 週以前の早産児での代謝物の変遷を追うことに力を注ぎ，解析したデータを検討し平成 25 年に論文発表したが [1]，その正常データをもとに新生児例の異常の検出，病態解析を行った。その中には周産期脳障害（新生児仮死）による低酸素性虚血性脳症の治療方針の決定，早産児の退院前の脳の状態評価などが含まれる。新生児を含む低酸素性虚血性脳症と感染などに続発する急性脳症では，代謝物のうち嫌気性解糖の指標である乳酸の検出と，神経細胞活動の指標とされる NAA（N-アセチルアスパラギン酸）低下

により神経予後の予想がより正確になると考えられているが，これらの変遷と患児の予後との関連を追っている。発症時には低体温療法など集中治療の適応の判断に付加情報として用いられており，現時点では臨床判断に不可欠な検査となっており，夜間休日でも急患対応を行っている。満期に近い新生児の低酸素性虚血性脳症における新生児期早期（2 日から 2 週間）の MRS による代謝物の絶対値濃度と予後の関係を解明した研究成果は，国際 MRI 学会等（Aida N, et al, ISMRM 2016 Singapore，柴崎淳他，第 52 回日本周産期・新生児医学会学術集会）で発表を行っていたが，Radiology 誌に一昨年度 2018 年に掲載された [2]。

代謝変性疾患確定例，疑い例でも，緊急，準緊急を含め検査を施行，MRS 解析を行った。代謝疾患が疑われる症例あるいは否定が必要な症例では，神経内科・新生児科以外でも解析を施行するとともに，治療モニタリングとして脳内代謝物の変動を MRS にて解析した。

今年度は COVID-19 感染の広がりにより，発表予定の学術集会の中止や日程変更，開催様式変更により発表機会が大幅に減少したが，成果発表としては，国際学会としては，国際 MRI 学会で富安が Brain glycine quantification in an infant with non-ketotic hyperglycemia: a serial proton MRS study [3] を，共同研究者の新生児科，柴崎がアメリカ小児科学会で，MRS データと拡散強調像の ADC 値の変遷を比較した Changes in Apparent Diffusion Coefficient Values and Brain Metabolite Levels after Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy（Shibasaki J, Niwa T, Tomiyasu M, Morisaki N, Fujii Y, Aida N. Pediatric Academic Societies（PAS）Meeting 2020, Web 2020, 4-5）を発表，国内学会では日本神経放射線学会で脳外科の広川が「小児における Methotrexate（MTX）投与後の白質に関する magnetic resonance spectroscopy（MRS）の検討」をデータをまとめて Web 発表した（広川大輔，富安もよこ，後藤裕明，他，小児における Methotrexate（MTX）投与後の白質に関する magnetic resonance spectroscopy（MRS）の検討. 第 49 回日本神経放射線学会，Web 2020, 4）。また，相田は久留米での放射線科医向けと，名古屋の新生児科医向けの研究会・研修会で本研究の成果を含む MRS の有用性に関する講演（相田典子，小児脳の画像診断：Pediatric Neuroradiology を楽しもう　第 188 回筑後 CT・MRI 研究会　久留米　2020.11.27）（相田典子，新生児の画像診断の見逃しを防ぐために「新生児の頭部 MRI の読影」第 2 回愛知県新生児医療スキルアップ研修会 Web 2020.1.17）を行った。

将来展望

当初は共同研究者である放医研に生データをメディアで送付して定量解析を行っていたため，匿名化はするものの患者データの外部持ち出しと言うことで，倫理委員会の承認を得て書面で同意をとった上での解析を行っていたが，放医研の MRS を専門とする研究者が隔週ごとに来所して解析を行う体制となったため，平成 22 年 4 月より通常 MRI データと同様の扱いとして解析を行うようになった。これにより解析症例数が増加するとともに，正常あるいは正常に準ずる MRS データの蓄積への展望が大きく開けた。また，現在は 1 日勤務の当科非常勤として臨床解析・研究に従事している。解析が迅速に行われるため主治医への情報提供が早くなり，早期診断，治療方針の決定により貢献できる体制となった。当院ではすでに臨床の一部として欠かせない ^{1}H-MRS の定量解析であるが，小児領域では解明しなければならない未知のことが多く，今後もさらに多くの症例 、分野で脳内代謝物の定量解析ができるように，研究費を有効活用して研究者のサポート体制を整え，放射線科・放射線技術科スタッフと神経内科・新生児科をはじめとする臨床各科，放医研の共同研究者と連携し，現体制の臨床研究を継続して小児医療へのさらなる貢献を目指す。今後は蓄積された数年来の膨大な解析データを臨床症状や予後との関連を進めるとともに，早産児の高次機能との関連や自閉症スペクトラムなどの代表される発達障害などとの MRS データの関連を調べ，それらの原因に迫れる可能性はないかについても研究を広げて行きたい。

文　献

1）Tomiyasu M, Aida N, Endo M, et al. Neonatal brain metabolite concentrations: an in vivo magnetic resonance

spectroscopy study with a clinical MR system at 3 Tesla. PLoS One 2013;28;8:e82746.
2）Shibasaki J, Aida N, Morisaki N, et al. Changes in brain metabolite concentrations after neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. Radiology 2018;288:840-848.
3）Tomiyasu M, Shibasaki J, Kawai Y, et al. Quantification of brain glycine in an infant with non-ketotic hyperglycemia: a serial proton magnetic resonance spectroscopy study. ISMRM 2020, Web 2020.8

小児涙道疾患に対する涙道内視鏡を用いた診断と治療

松　村　　望

研究目的と背景

先天鼻涙管閉塞は，涙液の排出路である涙道（鼻涙管）の先天的な閉塞により，乳幼児に目やに，流涙，感染による炎症，などをきたす。新生児の約1割が罹患し，頻度が高い疾患である。自然治癒がみられる一方で，外科的治療を必要とする場合も少なくない。当科においては，毎年150名程度の患児が涙道閉塞症の外科的治療を希望して受診し，このうち9割以上が先天鼻涙管閉塞である。

先天鼻涙管閉塞の外科的治療の第1選択はプロービングと呼ばれ，細長い針金のような道具（ブジー）を涙点から涙道内に挿入し，手探りの感触で閉塞部位をあける治療が歴史的に行われてきた（図1）。この治療は比較的よく奏功する一方で，いつまでも治らず手術治療に抵抗する難治な場合もあり，その違いの原因はいまだ解明されていない。プロービングが奏功しない場合，過去においては，就学頃まで待ってから，顔面の皮切や骨切除を伴う涙嚢鼻腔吻合術を施行していたが，侵襲が大きく，小児に適した手術ではないという問題があった。このようなプロービングが難しい症例に，涙嚢鼻腔吻合術より低侵襲で治療成績のよい治療はないのか，これは患者と眼科医にとって長年の課題であった。また，局所麻酔下でのブジーは，暴れて泣き騒ぐ小児を押さえつけて行うことから，術者にも患者にもストレスの大きい治療であった。ブジーは小児を大泣きさせて行う侵襲的な治療であり，また，涙嚢鼻腔吻合術は全身麻酔下だが手術そのものの侵襲が大きく，どちらの治療にも問題があった。筆者は当科に赴任した直後から，「どちらの治療であっても患児がかわいそうに思えるので，涙道手術だけはやりたくない」と思って，長らく避けていた。このことが結果として，自分が内視鏡を使った涙道手術の専門家になる道につながったことは，皮肉な結果なのかもしれない。まさに必要は発明の母，これが本研究を開始した背景であり，動機である。

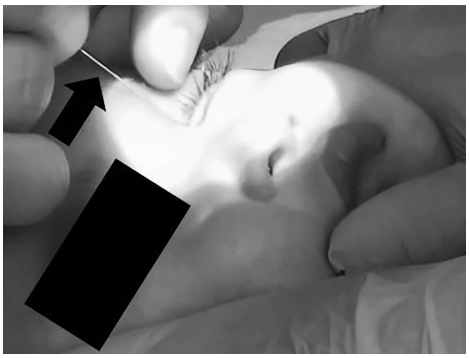


図1　先天鼻涙管閉塞のブジー治療。
矢印がブジー（針金）。近年当科では催眠鎮静下で施行している。

神奈川県立こども医療センター　眼科

研究成果

本研究では，院内倫理委員会の承認を得て，2012 年より涙道内視鏡を用いた小児の涙道閉塞症に対する治療を開始した。2021 年 3 月までに，延 154 例の涙道内視鏡手術を全身麻酔下で行った。

1）治療成績

涙道内視鏡を用いた涙道閉塞症の治療を行った延 154 例のうち，先天奇形症候群および顔面奇形を伴わなかった 131 例に関しては，全例で治癒もしくは点眼などの加療を必要としない軽快が得られた。先天鼻涙管閉塞に関しては治癒（無症状で終診となった症例）率 100 %であり，再発率はこれまで 0 %である。後天性涙道閉塞は，流行性角結膜炎後の涙小管閉塞の 2 例に軽度の症状が残存しているが，それ以外は全例治癒となった。このように，先天鼻涙管閉塞の治療としては画期的と呼べるほどの著効を示している。

一方で，先天奇形症候群および顔面奇形をともなう症例に関しては，約半数の症例でなんらかの症状が残り，完治には至らないケースが多いことがわかった。もっとも多い症候群はダウン症候群であるが，先天的に涙小管が低形成であったり，欠損していたり，涙道そのものが狭小であったりすることが治癒率を悪化させていることが本研究の結果として明らかになった。また，ダウン症候群の場合，生来狭小な涙道に，早期から後天性涙道閉塞を合併しやすいことも本研究で明らかになった[1)]。先天奇形症候群に伴う涙道閉塞の治療に関しては，今後の課題である。

2）涙道内視鏡で得られた観察所見

これまで手探りの感触だけで「想像」していた涙道内を「みる」ことができるようになったことで，さまざまな発見があった。この結果をもとに，われわれは先天鼻涙管閉塞の涙道内視鏡所見を分類し，2019 年に Transcanalicular endoscopic primary dacryoplasty for congenital nasolacrimal duct obstruction. として国際誌に発表した[2)]。主な内容としては

- 先天鼻涙管閉塞は，鼻涙管下端の 1 ヶ所のみが閉塞部位である
- 単純型（膜状閉塞，切れ込み型）と複雑型（瘢痕型，狭窄型）に分類
  単純型 73 %，複雑型 27 %
- 9 %に涙道内結石を合併していた

本報告においてはすべての症例で涙管チューブを挿入したが，実際には複雑型に対して涙管チューブ挿入が有効と考えられる。このような所見による治療方針の違いについては，今後の研究課題である。

また，小児の涙道閉塞症の 9 %もの症例に涙石内結石がみられたことは，本研究において明らかになった新たな発見であった。

複雑型の中の瘢痕型に関しては，われわれの涙液中サイトカイン濃度測定の研究によって，先天鼻涙管閉塞の涙液中には炎症性サイトカインの IL-6 が多く含まれていることがわかった[3)]。このことから，遷延する先天鼻涙管閉塞においては，涙道内に瘢痕化が起こることの一因が解明され，治療時期の議論にも一石を投じることとなった。

3）涙道内視鏡の画質の向上と周辺機器の進歩

本研究を開始した 2012 年に使用していたプローブは6,000画素（もしくは3,000画素）であった。その後，機器の進歩によって 10,000 画素のプローブが発売され，さらに，2018 年にはデジタルハイビジョンの発売，2020 年には画像鮮明化装置の開発によって，画質は格段に進歩がみられる（図 2）。画像鮮明化装置はまだ当科では導入できていないが，これらを導入し，鮮明な画質を生かしてより多くの情報を蓄積し，涙道内視鏡のカラーアトラスの作成などを検討したい。

さらにわれわれは，昨年，涙道内視鏡手術に役立つ涙点拡張針（松村・大高式涙道手術用涙点拡張針／イナミ社）を開発した（図 3）。これは，涙道内視鏡を挿入するのに必要な直径 1.0 mm の涙点拡張（挿入口の拡張）を正確に行うためのゲージ付きの拡張針である。正確なサイズ測定に加え，先端がやや鈍になっており，涙道内を傷つけにくい設計である。また，フットポンプと呼ばれる足踏み式の通水機器が開発されたことで，助手に通水してもらわなくても術者が通水量をコントロールできるようになった。このような周辺機器の開発などによって手術はより早く，正確に行えるようになり，涙道内視鏡手術がより一般的に普及しやすくなった。

図 3 写真下段が新しい拡張針，上段は従来品である。新しい拡張針は涙点拡張の際に涙道内視鏡を

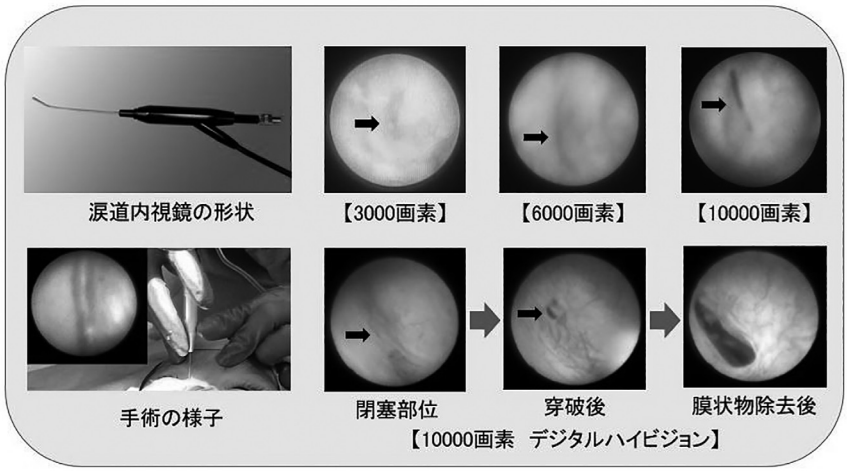


図２　涙道内視鏡の進歩と画質の向上（先天鼻涙管閉塞の観察）

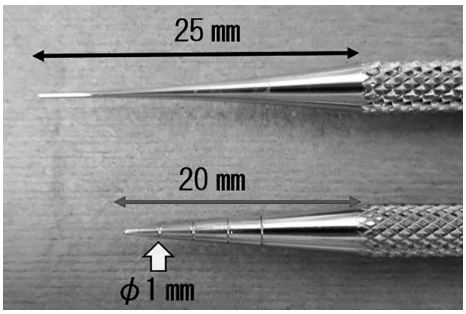


図３　松村・大高式涙道手術用涙点拡張針（イナミ社）2020 年発売

挿入するのに必要な至適サイズの拡張（直径 1 mm）ができるようにゲージが記されている。また先端を鈍にしてあり，涙道内を傷つけにくい設計になっている。

今後の課題と目標

以上をまとめると，これまでわれわれの研究をもとに，小児の涙道閉塞の病態を観察することでさまざまな知見を見出し，世界的に議論のある「先天鼻涙管閉塞の治療」にあらたな一石を投じることとなった。これらの研究成果では海外でも高く評価され，国際学会での発表，国際誌への発表などを機に，海外からの見学の医師が来院される機会なども増えた。2020 年 6 月には国際学会で新しいデジタルハイビジョン高画質の涙道内視鏡をもちいた小児の涙道手術の発表を予定していたが（ロンドン），新型コロナのパンデミックの影響によって国際学会は中止となった。この後は別の形での開催になると思われるが，それまでにさらに実績を積んで高画質の動画や新しい知見をまとめたい。

また，小児への導入はわれわれの施設が世界で最も早く，かつ症例数も多いと言える状況にあるが，近年ではほかの施設でも小児に対する涙道内視鏡手術が実施されるようになってきた。これに伴い，技術の伝承や，未熟な技術での手術による予想外のトラブルなども考慮すべき段階となってきた。このような背景の中で，先天鼻涙管閉塞の治療方法のひとつとして「涙道内視鏡を用いた手術」という選択肢をどのように加え，より安全で正確な治療を行うべきか，なんらかの指針が必要となった。このような背景のなか，現在日本涙道・涙液学会において，「先天鼻涙管閉塞治療ガイドライン」を Minds 形式に準拠して作成を予定しており，この統括を担当し，現在システマティックレビューを行っている段階である。（https://minds.jcqhc.or.jp/registry_guideline/guideline_summary?registry_id=42）

涙道内視鏡を用いた小児の涙道手術を発展させる一方で，一般に普及する手術としてどのような位置づけとするか，今後の課題として検討したい。

文　献
1）Matsumura N, Goto S, Yamane S, et al. High-resolution dacryoendoscopy for observation for pediatric lacrimal duct obstruction. Am J Ophthalmol Case Rep 2016;1:23-25.
2）Matsumura N, Suzuki T, Goto S, et al. Transcanalicular endoscopic primary dacryoplasty for congenital nasolacrimal duct obstruction. Eye（Lond）2019;33:1008-1013.
3）Matsumura N, Goto S, Uchio E, et al. Cytokine profiles of tear fluid from patients with pediatric lacrimal duct obstruction. Invest Ophthalmol Vis Sci 2017;58:252-256.

小児胚細胞腫瘍における細胞遺伝学的異常と発症部位・年齢・予後との関連の検討

梅　本　沙代子[1)]，田　中　水　緒[1)]，永　原　則　之[1,2)]
田　中　祐　吉[1)]

要　旨

現在までに詳細な分子細胞遺伝学的な検討に乏しかった小児胚細胞腫瘍の病態解明を目指して，組織学的および分子細胞遺伝学的に継続して検討を行っている。一昨年度は当院で外科的に切除された仙尾部胚細胞腫瘍症例を抽出し，臨床および組織学的検討およびFISH法の構築に取り組んだ。昨年度は仙尾部胚細胞腫瘍の中で，特に奇形腫と卵黄嚢腫瘍が混在する症例について組織学的検討を行った。

背　景

胚細胞腫瘍 germ cell tumor（GCT）は，臓器と年齢によって好発する腫瘍が異なり，異なる分子遺伝学的特徴を示すと言われており，精巣や卵巣の GCT，思春期以降の GCT などではその病因がかなり明らかにされている。例えば精巣のセミノーマ，胎児性癌，思春期以降に発生する卵黄嚢腫瘍 yolk sac tumor（YST）や奇形腫などは isochromosome 12p（i（12p）），あるいは 12p 増幅が特徴である。

一方，小児の GCT は成人発症に比してその数が圧倒的に少ないため，研究が十分進んでいない。その中で仙尾部 GCT は乳幼児に好発する特異な腫瘍で，多くは出生時よりみられ，巨大であることも少なくなく，しばしば治療に難渋する。ときに切除後数年以内に同部位に悪性腫瘍（主に YST）が発生することが知られており，かつ，初回の奇形腫標本では明らかな悪性成分を認めず，もしくは切除断端陰性であったにも関わらず悪性腫瘍が発生することも経験され，臨床的問題も大きい。仙尾部 GCT の分子細胞遺伝学的背景を明らかにすることで，的確な診断と治療方針の決定に有用な所見が得られることが期待される。

方　法

当院開院時から 2018 年までに外科的切除された仙尾部 GCT 症例のうち複数回外科的切除された症例を抽出し，臨床病理学的検討を行った。

結　果

当院開院時から 2018 年までに外科的切除され仙尾部 GCT として報告された 77 例中，12 例が複数回外科的に切除されていた。うち 3 例が初回切除時に奇形腫と診断され，8 例が YST と診断されていた。初回奇形腫と診断された 3 例いずれも後発検体内に YST を認めており，うち 2 例は奇形腫を合併していた。この 2 例の初回奇形腫検

1）神奈川県立こども医療センター　病理診断科　　2）日本医科大学　共同実験センターアイソトープ教室

体内には明らかなYSTおよびその他悪性所見は認められなかった。初回YSTと診断された8例は，全員術前化学療法（もしくは放射線治療も追加）を施行され，うち6例は治療後標本内に奇形腫とYSTを合併していた（図1）。初発年齢はいずれも6歳未満で，初発奇形腫群およびYST群の発症年齢はそれぞれ，1歳未満が3例／1例，1歳から6歳未満が0例／7例（うち6例が2歳未満）であった。残る1例は，胎児期より仙尾部腫瘤を認めており，大きさが変わらず経過観察されていたが，5歳時に思春期早発症状が出現したため生検した結果，成熟奇形腫とsteroidogenic tumorを合併していた[1]。化学療法後に摘出された検体には奇形腫のみを認めた。

考　察

抽出の結果，複数回切除された12例中8例（67 %）で，後発切除検体内に奇形腫，YSTの混在を認めた。仙尾部GCTにおいて，奇形腫とYSTが混在して認められることは知られており，仙尾部GCTの約10 %，悪性仙尾部GCTの30–40 %を占めることが報告されている。今回われわれが調べた結果は，一般的に報告されている割合よりも高い数値を示した。考えられる理由として，特にYSTにおいてはその成分の有無が予後を左右するため，奇形腫の混在についてはよほど面積が大きくない限り，あまり注意深く検討されていない可能性が考えられる。また，初発奇形腫群の後発検体内にYSTが認められたが，一般的に奇形腫がYSTに転化することはないとされており，当該症例にも両成分の明瞭な移行像は認められなかった。かつ，外科的完全切除後に発生していることから，奇形腫切除後のYSTは「再発」ではなく，奇形腫と同時 / 異時多発性に発生 / 存在していた可能性が示唆され，われわれの過去の報告を裏付ける結果となった[2]。

先に述べたように，仙尾部GCTでは奇形腫＋YSTの混在が知られているが，概念としてまだ明確に規定されていない。一方精巣では，現行のWHO（2016）で奇形腫＋YSTの概念が思春期前型（pre-pubertal type）として明記されており，精巣の思春期後型（post-pubertal type）のYSTや奇形腫でみられるisochromosome 12p（i(12p)），あるいは12p増幅を欠くとされている。同様に，精巣でteratoma with somatic-type malignancyとして規定されている概念が，仙尾部GCTでは未だ確立していない。teratoma with somatic-type malignancyは精巣GCTの3–6 %を占め，思

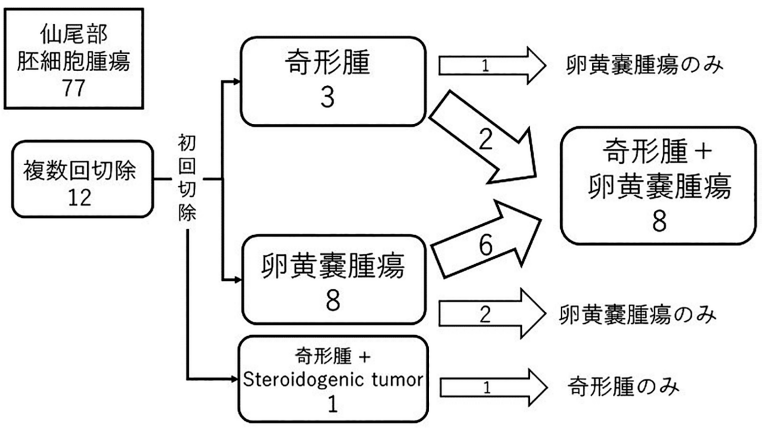


図1　当院開院時から2018年までに外科的切除された仙尾部胚細胞腫瘍のうち，複数回切除された症例の組織型とその内訳

春期以降にしか発生しないとされており，post-pubertal type の YST や奇形腫同様，12p 増幅（その多くが isochromosome 12p（i(12p)）の関与が多いことが報告されている。今回 1 例に認められた teratoma with steroidogenic tumor を含む仙尾部 GCT でも，精巣の teratoma with somatic-type malignancy を含む GCT と同様の組織学的および分子遺伝学的特徴があるのかどうか，昨年度確立した FISH 法等を用いての検討を続ける予定である。

文　献

1）Yoshida M, Tanaka M, Gomi K, et al. Malignant steroidogenic tumor arising from sacrococcygeal mature teratoma. Hum Pathol 2011;42:1568-1572.
2）Yoshida M, Matsuoka K, Nakazawa A, et al. Sacrococcygeal yolk sac tumor developing after teratoma: A clinicopathological study of pediatric sacrococcygeal germ cell tumors and a proposal of the pathogenesis of sacrococcygeal yolk sac tumors. J Pediatr Surg 2013;48:776-781.

唇顎口蓋裂に対する自己多血小板血漿 / フィブリンの臨床応用
－再生医療等安全性確保法下での実施と基礎研究－

小林眞司[1)]，安村和則[1)]，杉山　円[1)]
福井厚子[1)]，平川　崇[1)]，新保裕子[2)]
田中祐吉[3)]

目　的

唇顎口蓋裂患児に対する乳幼児期の歯肉粘骨膜形成術は，顎裂部に骨を形成させる手技である。しかし，狭い顎裂部では良好な骨形成を得られるが，広い顎裂部では十分に骨形成ができないために，顎裂部への骨形成を促進する移植材料の必要性が高まってきた。移植材料の中でも多血小板血漿 / フィブリン platelet rich plasma/fibrin（PRP/F）は，血小板のα顆粒に含まれているサイトカインを脱顆粒させることで皮膚や骨組織に関して治癒促進効果を期待するものであり，骨欠損部に移植すると骨形成が促進されることが報告されている。臨床的には，平成 26 年 11 月 25 日より施行された「再生医療等の安全性の確保等に関する法律（平成 25 年法律第 85 号）」（再生医療等安全性確保法）下の第 3 種細胞群として「PRP/F による再生医療」を行っており，全症例で安全に施行できている。一方，基礎的には in vivo において T 細胞機能欠如ラット（F344/NJcl-rnu/rnu : ヌードラット）の顎裂部へ PRP の移植を行うとともに新規のゼラチンハイドロゲルシートに含有させて移植を行い，骨形成能の機序を解明することを目的とする。

対象と方法

臨床：再生医療等安全性確保法下に「口唇顎裂」患児に対して「PRP/F による再生医療」を行った後に PRP 移植群，PRF 移植群に分類して 5 歳時の CT にて骨形成評価を行った（図 1）。基礎：ヌードラット（n=16）の上顎の門歯－犬歯間に直径 1.5 mm の骨欠損を作製し，5 % PRP および 5 % PPP（乏多血小板血漿）を新規のゼラチンハイドロゲルシートに含浸させて移植した。ゼラチンハイドロゲルシートは，京都大学ウイルス・再生医科学研究所で開発されたものを供与され使用した（図 2）。

1）神奈川県立こども医療センター　形成外科　　2）同　臨床研究室　　3）同　病理診断科

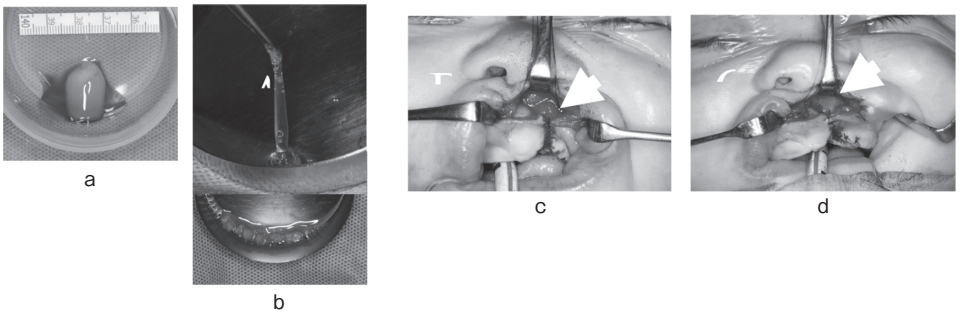


図1　PEP/F 移植方法
PRP と PRF（a, b），顎裂部へ移植された PRP（c）と PRF（d）

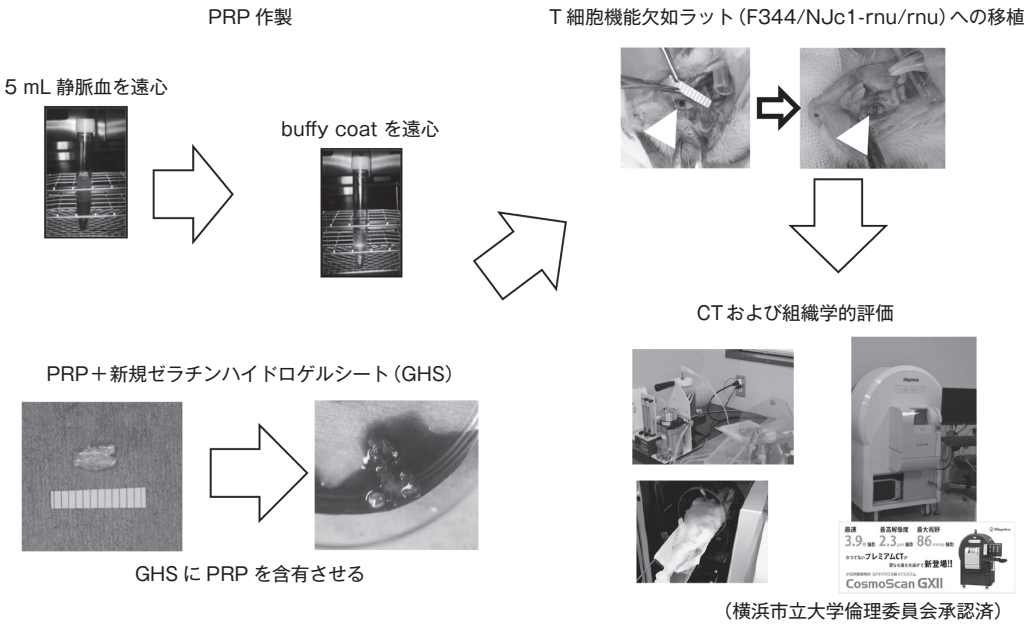


図2　ヌードラット（F344/NJcl-rnu/rnu）の顎裂部へ PRP＋ゼラチンハイドロゲルシート移植

結　果

臨床的には，「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」下に「PRP/F による再生医療」を行い，全 57 症例で手術直前に自己血液を採取することができ，術中の不具合はなく安全に施行することができた。また，感染などの術後合併症もなかった。5 歳時の CT による顎裂部骨形成の定量的解析を行った結果，骨欠損部の体積は，PRP移植群：302.2 ± 67.4 mm^3，PRF移植群：197.6 ± 88.8 mm^3 であり，統計学上有意に PRF 移植群の骨欠損体積が少なかった（図 3）。したがって PRF 移植群は，PRP 移植群よりも統計学上有意に骨形成率は高かったことが明らかとなった。基礎的には，in vivo において移植後 4 ヶ月の組織学的検討では，PRP＋ゼラチンハイドロゲルシート移植群は，乏血小板血漿（PPP）＋ゼラチンハイドロゲルシート移植群と比較して骨が形成されていたが，計測することができないほどの差であった（図 4）。

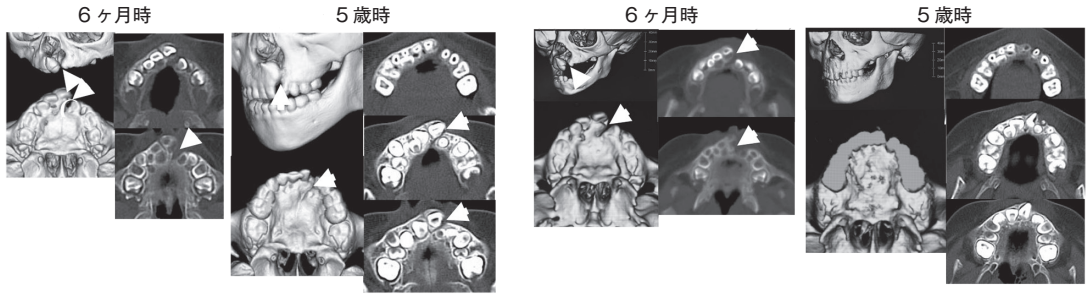


図3　移植前の生後6ヶ月時と5歳時のCT評価
PRP移植群では生後6ヶ月時に骨欠損を認め（白矢頭），5歳時にもやや骨欠損を認める（左図　白矢頭）。一方，PRF移植群では6ヶ月時に骨欠損を認めるが（右図　白矢頭），5歳時には骨形成を認める。

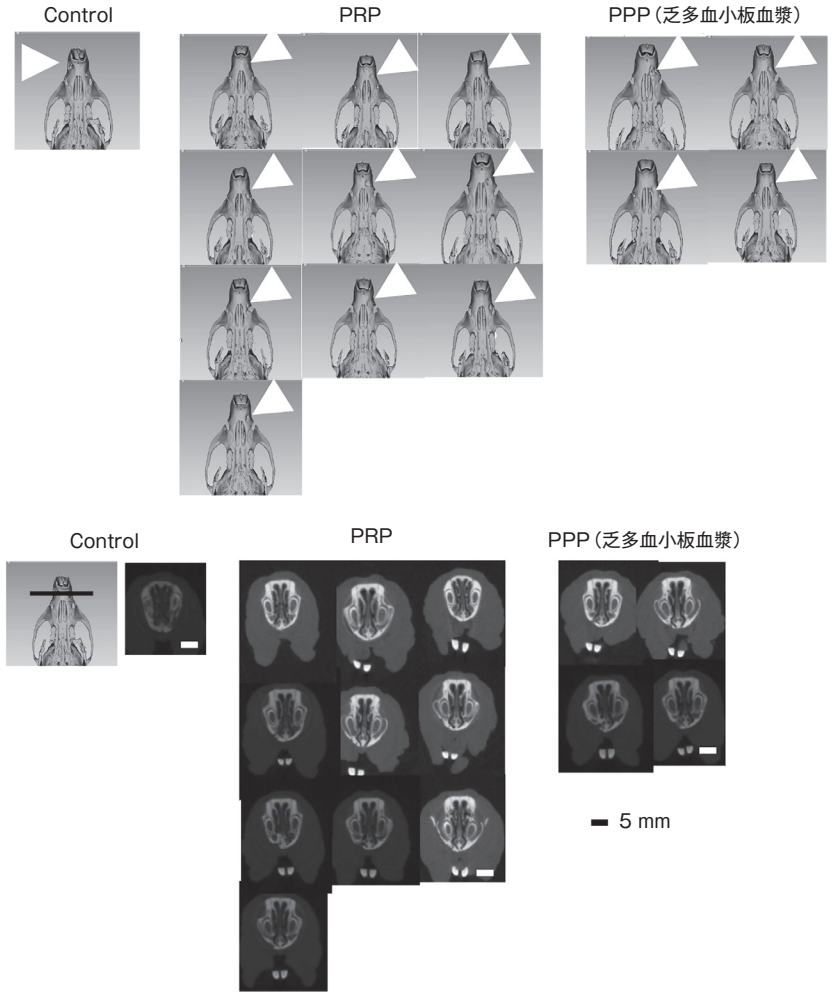


図4　PRP＋ゼラチンハイドロゲルシート移植後4ヶ月

考　察

統計学上有意にPRF移植群の方が高い骨形成率を示した原因は，フィブリンに囲まれたPRF中のサイトカインが徐放化され，ある程度の時間をかけて放出したからだと推測される。一方で，PRP移植群の骨形成率が低い原因は，移植したPRPが溶け出してしまい，長時間移植部位に留まらないためであると推測された。この問題を解決するためには，PRPを長期間徐放することができる新規の徐放化システムが必要であり，理想的には，PRFよりも長時間にわたって徐放化するシステムが望ましい。そこで京都大学ウイルス・再生医科学研究所生体材料学分野にて新たに開発された徐放化システムを用いたが，作製した骨欠損が小さく定量評価が困難であった。作製した骨欠損部が小さいことが原因であると考えられ，再度大きな骨欠損を作製したヌードラットの顎裂部へのPRP＋ゼラチンハイドロゲルシート移植を行う予定である。また，「PRP＋ゼラチンハイドロゲルシート移植」法を第3種再生医療等提供計画に基づいて認定再生医療等委員会へ申請する準備も並行して行う予定である。

頭部MRI arterial spin labeling（ASL）画像を用いた小児の画像診断の研究

藤田和俊[1)]，相田典子[1)]，野澤久美子[1)]
藤井裕太[1)]，森田有香[1)]，嶋貫勝則[2)]
草切考貴[2)]，林　浩史[2)]，丹羽　徹[3)]

研究の動機と必要性

脳血流灌流を計測する目的は多岐にわたり，臨床ではもやもや病を含む脳血管障害，脳腫瘍，てんかん，変成疾患などの画像診断に用いられる。灌流の計測は成人領域では以前より放射性薬品である組織拡散トレーサを用いたSPECTやPETで行われてきており，近年では造影剤を急速静注し，CTやMRIを用いたダイナミック計測も普及してきた。近年，MRIの検査技術の進歩から，造影剤を用いずに脳血流灌流を可視化する画像が注目をされている。ASLは動脈血のスピン（プロトン）を標識し，これを内因性トレーサとして利用することで脳血流の灌流像を得る。

神奈川県立こども医療センター放射線科は，1.5 Teslaおよび3 Tesla MRI装置の更新により，全脳をカバー可能な3Dのボリュームデータとして，ASLを用いた非造影のMR灌流画像撮像が撮像できるようになった。通常のMRI検査に引き続いて検査が可能であり，造影剤を用いないことから，繰り返し検査が可能である。しかし，小児領域でのデータの蓄積は少ない。よって，現在主流となっている放射性薬品を用いた脳血流の灌流画像と比較検討を行い，代換可能と評価されれば，患児への精神的・経済的負担も大きく軽減され，小児医療全体への貢献も期待される。

課題解決の目標

当センターでは小児専門病院という特性のため，健常な小児および小児神経疾患罹患児のデータを取得し，年齢や疾患によって分類されたデータベースを構築することが可能である。脳血流SPECT画像や造影MRIが必要とされる症例（脳腫瘍や脳炎など）で造影剤を用いた灌流画像撮像と既知の脳血流SPECTの報告との比較検討を順次行う。

1）神奈川県立こども医療センター　放射線科　　2）同　放射線技術科　　3）東海大学　画像診断科

現在までの進捗および今後の展望

MRI 3 Tesla 装置の更新により，複数の条件の非造影剤灌流画像を同時に取得可能となっている。現在，post labeling delay を 480 msec, 980 msec, 1,480 msec, 1,980 msec, 2,480 msec, 2,980 msec と複数設定し，症例の蓄積を行っている。また，上述したように造影剤を用いた灌流画像撮像と既知の脳血流 SPECT の報告との比較検討を順次行う。また，脳の形態には個人差があり，厳密な比較は難しい。しかし，この個人間の脳の形態の差異を解消し，脳血流 SPECT との対比のために形態の異なる各個人の脳機能情報（この研究では脳血流）を標準脳に合わせるように変形させる技法がある。現在，標準脳による統計学的解析を行えるように精査をしている。

新規技術を用いた小児躯幹部 MRI 画像診断に関する研究

藤　井　裕　太

研究の動機と必要性

現在小児の肺・腹部・骨盤といった部位の，いわゆる躯幹部検査の多くは CT が使われる。これは CT における良好な空間分解能，高速撮影といった利点に加え，MRI における空間分解能の低さ，撮影時間の長さや，動きへの弱さ，騒音といった旧来からの問題点が理由となる。これは特に小児においては，長い時間，安定した鎮静が必要な原因ともなり，安全性担保の面からも高いハードルとなる。しかし昨今，技術の進歩により MRI における撮像シーケンスは高速化し，画質の向上や撮像時間の短縮など被検者への検査負担を低減し，多くの情報を効率良く取得できるようになった。また深刻な騒音に対しても，静音性の高いシーケンスの開発が進められるなど，MRI 検査の問題点は日進月歩に改善されている。国内外において医療被ばくの観点から，CT を代用しうる MRI 検査への期待・ニーズは高まる中，新規技術が小児躯幹部 MRI 検査の環境を変化させ，検査適応をより柔軟に行える素地は整えられてきている。

しかし，こうした新しく開発された技術は，臨床現場，特に小児領域でのデータ蓄積はまだ少ない。よってこれらの新規技術が臨床現場において従来の MRI 撮像の問題点をどれだけ改善できるか，そして CT と代替が可能かどうか，その際に注意すべき点はどういったものがあるか，比較検討を行う必要があり，この研究成果を学会や論文などにより世界に発信することの意義は非常に大きい。

課題解決の目標

当センターでは小児専門病院という特性のため，健常な小児および小児神経疾患罹患児のデータを取得し，年齢や疾患によって分類されたデータベースを構築することが可能である。このような環境にあることから，小児領域における新規技術における躯幹部 MRI の有用性の検討を行うことは責務とも考えられる。胸部・腹部領域における新規シーケンスと従来シーケンスや CT との比較検討を行い，データの収集および蓄積により得られた知見は，学会や論文で発表し，小児医療の発展に貢献する。

発展性

新規に開発された（例えば StarVIBE や PETRA

神奈川県立こども医療センター　放射線科

など動きに強い高速撮影技術）は，小児において実用的な肺や腹部の MRI 撮影を可能としうるが，これらのシーケンスの利点を，別の有用なシーケンス（拡散強調画像や位相強調像など，より特化された検査シーケンス）にも応用し，より臨床で有用な技術へと，新たに繋げていくことも可能となる。

期待される成果および医療現場等への波及効果

小児期の CT 撮像とその医療被ばくによる発がんのエビデンスが報告されている昨今，CT 撮像の適応はこれまで以上に厳密に決定すべきであり，被ばくのない MRI 撮像のニーズが高まっている。新規技術による MRI が将来の小児画像診断における重要な位置を占めれば，医療被ばくの問題も回避でき，また鎮静の必要性も低くなると期待される。また騒音や息どめによる患児への精神的・身体的負担は軽減され，それにより再検査，再撮像の必要性がなくなれば医療現場における検査効率の向上や経済的負担の軽減も期待できる。

具体的な研究実施計画・方法

悪性腫瘍を指摘された患児において，本来の画像診断に対して必要な従来シーケンスに加え，PETRA の胸部撮像や，StarVIBE による腹部骨盤造影検査を行う。本来の診療業務に関しては十分に行われることを保証する。これらの検査を CT 等他の modality 画像との比較を行い，診断に堪えうるか評価を行う。

個人情報の漏洩の防止のため，解析からデータ蓄積までのさまざまなデータは院内読影端末および 1 台の PC で保存する。解析は基本的に当センター内で行い，解析前後のデータを外へ持ち出す場合は匿名化を行う。

これらのデータベースを構築し，研究成果を学会や論文などで世界に発信する。

研究成果

臨床的には，令和 2 年度には 145 件（84 人）を撮影した。

平成 29 年 4 月の日本医学放射線学会総会で発表した，「嚢胞性肺疾患の新生児 5 症例で撮影された PETRA の肺 T1 強調画像と，病状評価および術前評価のため撮影された肺 CT 画像を比較し，区域気管支までの気道や，病変の評価が可能で，診断に堪えうる」とした研究（“Proton-weighted Pointwize Encoding TimeReduction with Radial Acquisition（PETRA）for Assessing the Airway and Lungin Neoate and Infants”）を Magnetic Resonance in Medical Sciences 誌に投稿し，平成 31 年 10 月に publish された（“Imaging of Cystic Lung Lesions in Infants Using Pointwise Encoding Time Reduction with Radial Acquisition（PETRA）”）。

令和 3 年 4 月の日本医学放射線学会総会で「3D-USV シーケンスを用いた MRI による小児および若年成人の肺評価」を発表した。

参考文献

Grodzki DM, Jakob PM, Heismann B. Ultrashort echo time imaging using pointwise encoding time reduction with radial acquisition（PETRA）. Magn Reson Med 2012;67:510-518.

Ida M, Wakayama T, Nielsen ML, et al. Quiet T1-weighted imaging using PETRA: initial clinical evaluation in intracranial tumor patients. J Magn Reson Imaging 2015;41:447-453.

Dournes G, Grodzki D, Macey J, et al. Quiet Submillimeter MR Imaging of the Lung Is Feasible with a PETRA Sequence at 1.5 T. Radiology 2016;279:328.

Nozawa K, Niwa T, Aida N. Imaging of Cystic Lung Lesions in Infants Using Pointwise Encoding Time Reduction with Radial Acquisition（PETRA）. Magn Reson Med Sci 2019;18:299-300.

Fontan患者における肺動静脈瘻と免疫機能のメカニズムの解明

市　川　泰　広

目　的

先天性心疾患術後，とくに右室を介さずに直接静脈血が肺動脈に還流する血液循環であるFontan手術後の患者において，遠隔期の合併症が問題となっている。肺動静脈シャント，たんぱく漏出性胃腸症などの評価に使用可能な新規バイオマーカーを開発することと，同時に正常の血液循環と比較して低下するといわれる免疫機能に関して，分子的なメカニズムからの評価することで病態の解明を目的とする。臨床症状とこれらの解析結果を総合し，病態の解明やバイオマーカーの発見，新規治療法の確立を目指す。Fontan手術とは，上大静脈，下大静脈の両方を肺動脈とつなぐ手術のことであり，使える心室が1つしかない先天性心疾患に対して適応となる。Fontan手術を行うことでチアノーゼは改善するが，近年Fontan手術後の遠隔期の心内，心外の合併症の報告が目立つようになった[1]。心外の合併症として肺動静脈瘻，たんぱく漏出性胃腸症などが多く報告される。肺動静脈瘻に関しては冠静脈還流に含まれるHepatic Factor Xの少ない肺血管に生じやすいといわれる[2]。たんぱく漏出性胃腸症による免疫機能低下も重要な問題である[3]。これらの合併症のメカニズム，治療法に関しては十分にわからないことも多く，メカニズムの解明，合併症の活動性のバイオマーカーの開発が望まれる。

研究方法（図1）

神奈川県立こども医療センターで，外来通院中および入院中のFontan手術後の患者から選定する。同時に，対象群として二心室修復の手術を行い，血流動態が正常に修復された（心室中隔欠損

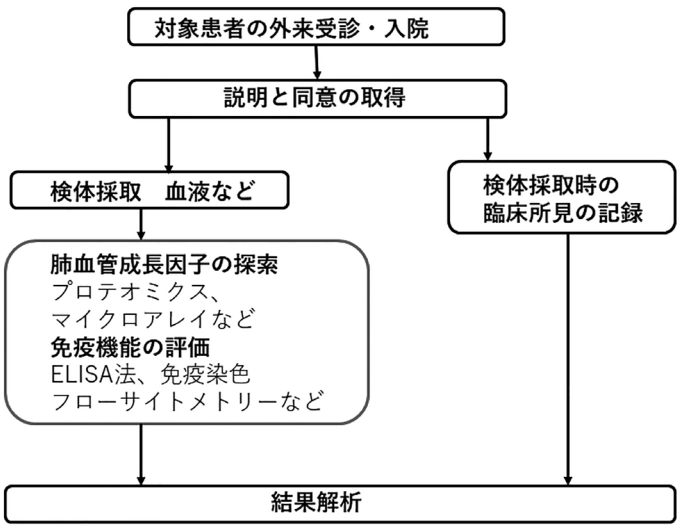


図1　本研究のシェーマ

神奈川県立こども医療センター　循環器内科

症，ファロー四徴症，房室中隔欠損症など）患者を選定する。

［観察・検査項目］

Fontan 循環患者，二心室修復術後の患者（対象群）ともに下記の項目を観察する

①現病歴，既往歴，家族歴，身体所見，検査結果，経過，合併症

②血液中の蛋白 / 小分子，血液中の免疫担当細胞（リンパ球や好中球など）の分画のプロファイルや活性化，細胞内蛋白の発現

［観察・検査方法］

当センターで採取した検体は，横浜市立大学医学研究科発生成育小児医療学の研究室で解析を行う。

・対象疾患の患者において，初発時を含む経過中，合併症発症時などに，血清，血漿中の蛋白および小分子の測定を ELISA，ウエスタンブロット，プロテオミクス，メタボロミクス等の手法を用いる。

・対象疾患の患者の血液中の免疫担当細胞（リンパ球や好中球など）の分画のプロファイルや活性化，細胞内蛋白の発現などをフローサイトメーターやマイクロアレイ，ウエスタンブロット等の手法で解析する。

・対象症例の臨床データを診療録から抽出する。抽出項目は，発症年齢，性別，検査データ，臨床経過などである。

［研究の進捗状況］

本研究は倫理委員会の承認を受けており，2021 年 2 月より検体採取を開始した。2021 年 4 月現在は検体サンプルを収集中であり，まだ論文化・成果の発表ができる時期ではない。2021 年夏ごろにはサンプルが集まると考えられ，検体の解析を開始する予定である。

文　献

1）Gewillig M, Brown SC. The Fontan circulation after 45 years: update in physiology. Heart 2016;102:1081-1086.

2）Imoto Y, Sese A, Joh K. Redirection of the hepatic venous flow for the treatment of pulmonary arteriovenous malformations after Fontan operation. Pediatr Cardiol 2006;27:490-492.

3）Pundi KN, Johnson JN, Dearani JA, et al. 40-Year Follow-Up After the Fontan Operation: Long-Term Outcomes of 1,052 Patients. J Am Coll Cardiol 2015;66:1700-1710.

早産児に対する十二指腸チューブ栄養の呼吸への急性効果

下風朋章，豊島勝昭，斎藤朋子
勝又　薫

はじめに

早産児の慢性肺疾患と胃食道逆流との関連の有無は報告によりさまざまである[1-5]。胃食道逆流による誤嚥は慢性肺疾患に悪影響を及ぼす可能性がある。

成人においては胃食道逆流に十二指腸栄養が有効であり，ガイドラインにも治療法の 1 つとして示される[6]。

胃食道逆流は早産児では珍しくない[7]。十二指腸栄養を行った小児患者を対象とした小規模な無作為化比較試験では，人工呼吸管理期間の短縮は認められなかった[8]。しかし，早産児における十二指腸栄養と慢性肺疾患の関係を調べた質の高い臨床試験はない[9]。

神奈川県立こども医療センター　新生児科

日本の新生児医療を行っている約 50 %の施設では，早産児の呼吸状態の悪化を防ぐために十二指腸栄養を行っている[10]。人工呼吸器管理をしている早産児の呼吸に対する十二指腸栄養の短期的な効果を評価するために，後方視的な観察研究を行った。

方　法

2014 年 1 月から 2019 年 12 月までに，在胎 30 週以前に出生し，生後 24 時間以内に入院した児を対象に，十二指腸栄養と呼吸状態との関係を検討した。多発奇形のある児や早期死亡の児は除外した。

人工呼吸器依存患者に対して，生後 1 週以降に目標飽和度（SpO_2）を 88–95 %に維持するために，酸素吸入濃度（FiO_2）が 0.3 以上に増加した場合に，十二指腸栄養を行った。十二指腸チューブの挿入は，新生児科医がベッドサイドでスタイレットや X 線透視を使わずに施行した。

パルスオキシメーターを用いて 15 分毎に SpO_2 値を取得した。十二指腸栄養の開始前 96 時間および開始後 120 時間の平均気道内圧，振幅圧，および pCO_2 を取得した。15 分毎の SpO_2/FiO_2 比を測定し，十二指腸栄養の酸素化への影響を，開始前 96 時間以内と開始後 48–120 時間の SpO_2/FiO_2 比の傾きを比較して評価した。開始前後の SpO_2/FiO_2 比の 1 時間あたりの変化率を傾きで示した。誤嚥を抑えて呼吸状態を改善するには少なくとも 2 日要すると推定したため，十二指腸栄養開始後 48–120 時間の傾きを介入後の傾向に選択した[11]。また，以下のデータ（在胎期間，出生体重，不当過小体重（標準体重の 10 %値との比較で定義），組織学的絨毛膜羊膜炎，脳室内出血，壊死性腸炎，敗血症，在宅酸素，嘔吐歴（十二指腸栄養チューブ挿入後 3 日以内））を収集した。

呼吸に影響を及ぼす他の主要な要因を排除するために，全身グルココルチコイド投与，呼吸モードの変更，X 線所見の変化を伴う肺炎，十二指腸栄養開始の 7 日前から 5 日後までに症候性の動脈管開存がみられる場合には除外した。

データは中央値（四分位範囲 [IQR]）または数（%）で表した。SpO_2/FiO_2 比が各患者の時間軸に沿って繰り返し測定されたことを考慮して，十二指腸栄養開始前 96 時間以内と開始後 48–120 時間以内の SpO_2/FiO_2 比の変化の傾きを，piecewise linear regression model により，robust variance-covariance 法を用いて比較した。検定はすべて両側で行い，p 値が 0.05 未満の場合は統計的に有意とみなした。統計解析は，SPSS バージョン 25（IBM, Armonk, NY, USA）および R バージョン 3.6.2（R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria）を用いて行った。

本研究は，神奈川県立こども医療センターの倫理委員会で承認された（No.1807-8）。

結　果

患者の特徴と急性期の管理（表 1）

対象となる 185 例（妊娠期間中央値 26.3 週，出生体重中央値 847 g）の内，8 例を除外した。残りの 177 例の内，58 例（33 %）に十二指腸栄養が行われた。十二指腸チューブは，日齢 18（IQR, 15–23）日，修正週数 28.1（IQR，27.0–29.7）週，

表 1　十二指腸栄養を施行した児の背景　N=33

背景	
在胎週数（週）	25.4（24.3–26.0）
体重（g）	656（572–758）
不当過小体重（例）	9（27）
組織学的絨毛膜羊膜炎（例）	17（52）
十二指腸栄養開始時	
脳室内出血，grades 3 and 4	2（6）
人工呼吸器の設定	
HFV	30（91）
SIMV	3（9）
FiO_2	0.25（0.23–0.27）
平均年齢，cmH_2O	14（13–15）
振幅圧，cmH_2O（n=8[a]）	15（13–16）
pCO_2，mmHg	48（46–53）
栄養量，mL/kg/day	137（115–151）
嘔吐歴（十二指腸栄養開始 3 日以内）	15（45）
十二指腸栄養開始後	
壊死性腸炎	0（0）
敗血症	3（9）
死亡	0（0）
在宅酸素	9（27）

HFV, high-frequency ventilation; SIMV, synchronized intermittent mandatory ventilation; FiO_2, fraction of inspired oxygen
値は中央値（四分位範囲）または n（%）で示す。
a　Dräger VN500 から得られたデータ。

体重 726 g（IQR，637–816 g）で開始された。呼吸に影響を及ぼす別の大きな要因がある 25 例を除外した 33 例を調べた。

十二指腸チューブ挿入に伴う，胃・十二指腸の穿孔や壊死性腸炎や気管への誤挿入はなかった。留置確認後すぐに栄養を開始したが，消化に問題はなかった。十二指腸栄養チューブの留置期間は 29 日（IQR，22–42 日）であった。

十二指腸栄養の開始前後の変化

十二指腸栄養開始後の平均 SpO_2/FiO_2 比の変化の傾きは，開始前と比較して有意に変化した（0.03 95 %信頼区間，−0.10–0.17）対 −0.29 95 %信頼区間，−0.47–−0.12））。p=0.007 であった（図 1）。

十二指腸栄養開始 4 日前（72–96 時間）と 1 日前（0–24 時間），開始 2 日後（48–72 時間）と 5 日後（96–120 時間）の呼吸パラメータはそれぞれ以下のとおりであった。平均 SpO_2/FiO_2 比（±SD）391（±49），371（±51），365（±56），366（±53），平均 MAP 13（±2），13（±2），13（±3）cmH_2O，平均振幅圧 14（±2），15（±2），15（±2）cmH_2O（n=8），平均 pCO_2 49（±7），48（±7），47（±8），48（±8）mmHg。

考　察

本研究では，十二指腸栄養の開始前と後の SpO_2/FiO_2 比の変化の傾きを比較した。その結果，十二指腸栄養の開始前は悪化傾向で，開始後は改善傾向がみられ，傾きの変化は有意であった。

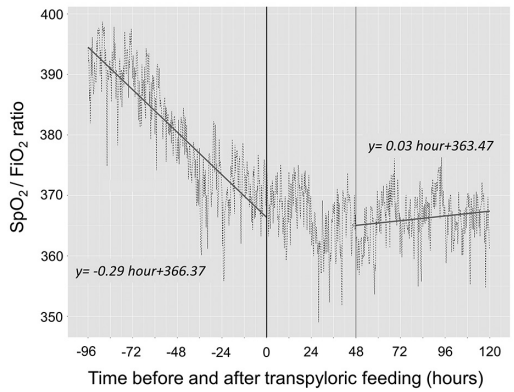


図 1　十二指腸栄養の開始前後の平均 SpO_2/FiO_2 比の変化
点線は，各乳児から 15 分ごとに得られた SpO_2/FiO_2 比の平均値。直線は，十二指腸栄養の開始前後の SpO_2/FiO_2 比の変化の傾き。

PaO_2/FiO_2 比と SpO_2/FiO_2 比の間には，特に SpO_2 が 100 %に満たない場合に良好な相関関係が示されているため，SpO_2/FiO_2 比を評価指標に用いた [12–13]。

観察期間中の平均気道内圧レベルは，ほぼ一定であった。さらに，振幅圧や pCO_2 レベルなどの換気パラメータも変化しなかった。酸素化に影響を与える他の要因が一定であったことを考えると，本研究で示された SpO_2/FiO_2 比の悪化傾向の停止は，十二指腸栄養の効果を反映していると考えられた。

早産児の無呼吸には十二指腸栄養が有効であることが報告されている。Malcolm らは，修正 34 週の早産児に十二指腸栄養を行うと，3 日後には無呼吸が減少したと報告している [14]。Misra らは，修正 32 週の早産児 15 人中 12 人が十二指腸栄養後 48 時間以内に無呼吸の減少を示した [15]。本研究では，人工呼吸器管理中に十二指腸栄養を行うことで，2 日後には酸素化の悪化が止まった。

挿入手技は特に難しいものではなく，小児と同様であった [16–17]。金属製のステントを使用しないことと，チューブの先端を十二指腸球部に位置させることが，消化管穿孔を起こさない要因と考えた。

本研究にはいくつかの限界がある。第 1 に，胃・十二指腸穿孔や壊死性腸炎は発生しなかったが，これらの稀な有害事象の評価には，より多くの症例を蓄積する必要がある。第 2 に，十二指腸栄養の短期的な効果を検討したが，慢性肺疾患に対する長期的な予防効果は不明である。呼吸増悪時に十二指腸栄養を開始したため，胃管栄養群との比較ができなかった。第 3 に，十二指腸栄養を継続する適切な期間を評価しなかった。最適な期間を明らかにするためには，さらなる研究が必要である。

結論として，人工呼吸管理中の早産児の呼吸器状態悪化の段階で，十二指腸栄養が酸素化の悪化を防ぐことが示唆された。

謝　辞

本稿は，Shimokaze T, Yamamoto K, Miyamoto Y, Toyoshima K, Katsumata K, Saito T. Acute respiratory effect of transpyloric feeding for respiratory exacerbation in preterm infants. J Perinat Med

2020;11:383-387. を改変しました。この研究は，横浜市立大学医学部，臨床統計学講座の山本紘司先生の統計解析のお陰で遂行することができました。また，麻酔科の宮本義久先生に，解析のアイデアと論文全体の推敲に有益な助言を頂きました。両先生に改めて心より感謝申し上げます。

文　献

1）Jolley SG, Herbst JJ, Johnson DG, et al. Esophageal pH monitoring during sleep identifies children with respiratory symptoms from gastroesophageal reflux. Gastroenterology 1981;80:1501-1506.

2）Farhath S, He Z, Nakhla T, et al. Pepsin, a marker of gastric contents, is increased in tracheal aspirates from preterm infants who develop bronchopulmonary dysplasia. Pediatrics 2008;121:e253-259.

3）Akinola E, Rosenkrantz TS, Pappagallo M, et al. Gastroesophageal reflux in infants < 32 weeks gestational age at birth: lack of relationship to chronic lung disease. Am J Perinatol 2004;21:57-62.

4）Omari TI, Barnett CP, Benninga MA, et al. Mechanisms of gastro-oesophageal reflux in preterm and term infants with reflux disease. Gut 2002;51:475-479.

5）Nobile S, Noviello C, Cobellis G, et al. Are Infants with Bronchopulmonary Dysplasia Prone to Gastroesophageal Reflux? A Prospective Observational Study with Esophageal pH-Impedance Monitoring. J Pediatr 2015;167:279-285.

6）Singer P, Blaser AR, Berger MM, et al. ESPEN guideline on clinical nutrition in the intensive care unit. Clin Nutr 2019;38:48-79.

7）Eichenwald EC, COMMITTEE ON FETUS AND NEWBORN. Diagnosis and Management of Gastroesophageal Reflux in Preterm Infants. Pediatrics 2018;142:e20181061.

8）Meert KL, Daphtary KM, Metheny NA. Gastric vs small-bowel feeding in critically ill children receiving mechanical ventilation: a randomized controlled trial. Chest 2004;126:872-878.

9）Watson J, McGuire W. Transpyloric versus gastric tube feeding for preterm infants. Cochrane Database Syst Rev 2013;CD003487.

10）田中真也, 平野慎也, 藤村正哲. 新生児慢性肺疾患（CLD）に対する経十二指腸チューブ栄養法の全国アンケート調査.日本未熟児新生児学会雑誌 2007;19:604.

11）Mandell LA, Niederman MS. Aspiration Pneumonia. N Engl J Med 2019;380:651-663.

12）Khemani RG, Patel NR, Bart RD 3rd, et al. Comparison of the pulse oximetric saturation/fraction of inspired oxygen ratio and the PaO2/fraction of inspired oxygen ratio in children. Chest 2009;135:662-668.

13）Prieto CL, Colomer BF, Sastre JB. Prognostic factors of mortality in very low-birth-weight infants with neonatal sepsis of nosocomial origin. Am J Perinatol 2013;30:353-358.

14）Malcolm WF, Smith PB, Mears S, et al. Transpyloric tube feeding in very low birthweight infants with suspected gastroesophageal reflux: impact on apnea and bradycardia. J Perinatol 2009;29:372-375.

15）Misra S, Macwan K, Albert V. Transpyloric feeding in gastroesophageal-reflux-associated apnea in premature infants. Acta Paediatr 2007;96:1426-1429.

16）Chellis MJ, Sanders SV, Dean JM, et al. Bedside transpyloric tube placement in the pediatric intensive care unit. JPEN J Parenter Nutr 1996;20:88-90.

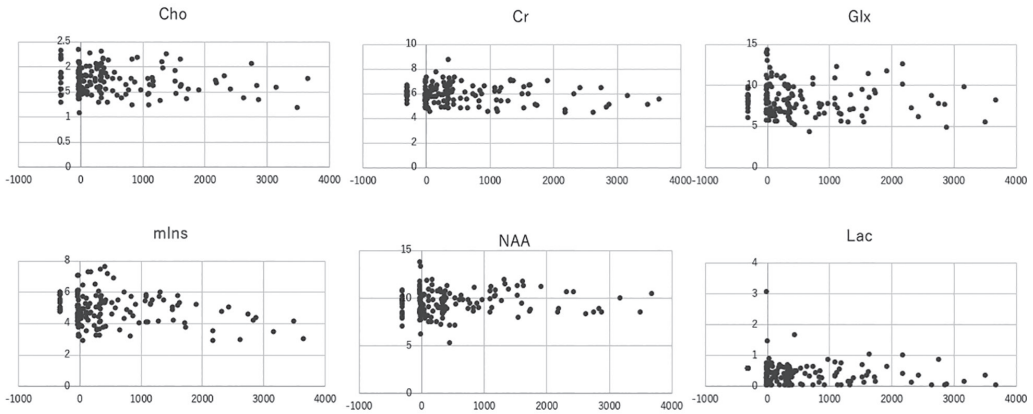
17）Phipps LM, Weber MD, Ginder BR, et al. A randomized controlled trial comparing three different techniques of nasojejunal feeding tube placement in critically ill children. JPEN J Parenter Nutr 2005;29:420-424.

小児における methotrexate（MTX）投与後の白質に関する magnetic resonance spectroscopy（MRS）の検討

広川大輔[1)]，富安もよこ[2,3)]，後藤裕明[4)]
山本哲哉[5)]，相田典子[2)]

概　要

小児における methotrexate（MTX）投与後の白質の MR スペクトルの特徴，代謝物濃度については不明な点が多い。神奈川県立こども医療センター（以下，当施設）においては代謝疾患や変性疾患，腫瘍性疾患において病変部および白質部の MRS データを蓄積している。当施設では LCModel ソフトウェアを用いた MRS データ解析により代謝物濃度を得ている。今研究においては，MTX 治療を行った小児血液がん患者の MRS において白質での代謝物変化についての詳細な解析を行い，白質脳症の発症予測や重症度，発達予後に関して新たな知見を得ることを目的とする。対象は 2009 年 1 月から 2017 年 12 月に当施設で MTX を用いた化学療法の前後で複数回の MRI/MRS を施行した症例。疾患としては小児急性リンパ性白血病（ALL）および悪性リンパ腫（ML）の 2 疾患を対象とする。当施設の血液・腫瘍科で保管している臨床データから MTX を使用した該当する 2 疾患の症例を抽出する。抽出したデータを匿名化の上でリスト化し，診療記録から年齢，性別，疾患名，治療経過，MRS 施行日，MTX 投与時期，期間，投与量，白質脳症の有無，臨床症状，発達予後，合併症をデータとして入力。当施設の放射線科で保存している過去の MRS データからリストにある該当症例を抽出，各症例の白質部（半卵円中心）の代謝物濃度を計測し，LCModel を使用して定量解析を行う。MRS は 3T MR 装置（Siemens 社）により 1H-MRS（半卵円中心 11.0－19.4 mL; TE/TR: 30/5000 ms）データを収集。LCModel により水濃度を 35.88 M として，N-アセチルアスパラギン酸（NAA），クレ



0：化学療法開始時　　−300：正常ボランティア群

図 1　各代謝物散布図（全 64 症例，135 検査）

1）神奈川県立こども医療センター　脳神経外科　　2）同　放射線科
3）量子科学技術研究開発機構　放射線医学総合研究所　　4）神奈川県立こども医療センター　血液・腫瘍科
5）横浜市立大学　脳神経外科

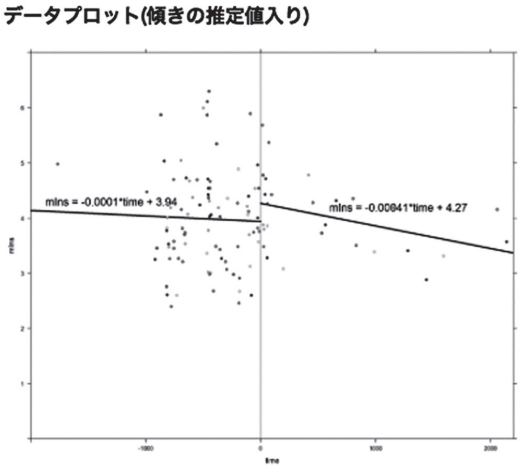


図２　mIns 経時的減少についての検討

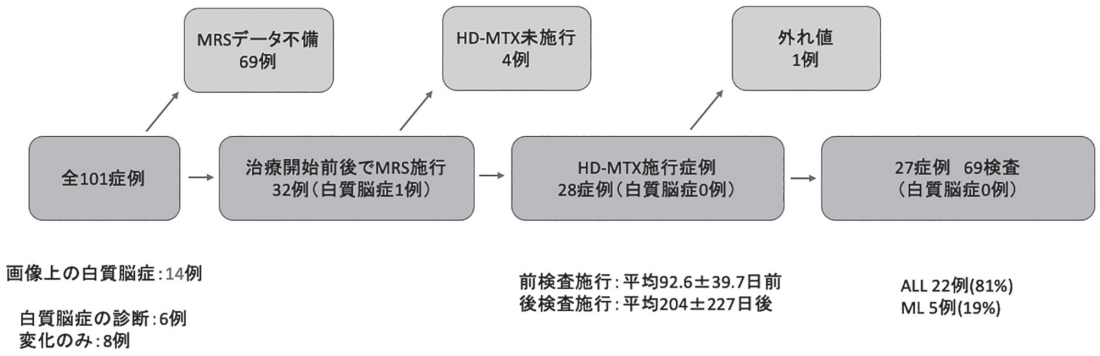
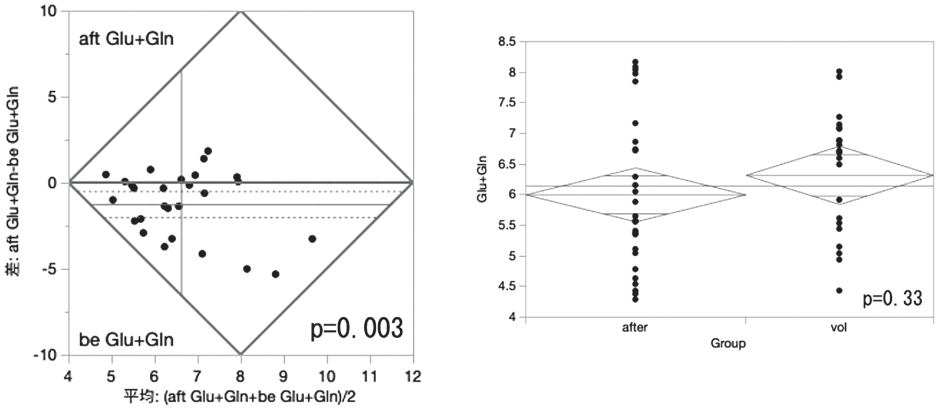


図３　HD-MTX 投与前後における MRS 施行症例のサンプリング

アチン（Cr），ミオ-イノシトール（Ins），グルタミン酸＋グルタミン（Glx），コリン（Cho），乳酸（Lac）の濃度を求めた。代謝物濃度を同一症例においての経時的変化，MTX 投与時期や投与量との関連を検討する。また，当施設で保管している健常児 MRS データとの比較も行う。得られた全 64 症例 135 検査の代謝物散布図（図 1）より，Ins の経時的減少傾向が示唆されたが，化学療法終了時点を基準とした統計学的解析では有意差は得られなかった（図 2）。同疾患の化学療法のプロトコールとして，初期，維持療法と長期にわたり MTX 髄腔内投与が行われているのに加え，短期間の大量 MTX 静脈投与（HD-MTX）の期間があり，HD-MTX 前後での検査を施行した症例の検討を行った。27 症例（白質脳症症例含まず，ALL 81 %，ML 19 %）の検討（図 3）では，前後で Glx の減少傾向を認めたが（p=0.003），HD-MTX 後と健常ボランティア群との比較では有意差を認めず，有意な変化とは言えないと判断した（図 4）。また検査施行期間を HD-MTX の前後 100 日間に絞った 7 症例の検討においても一貫して有意な変化と言える代謝物濃度の変化は認めなかった。



HD-MTX前後でのGlxの比較　　HD-MTX後と健常ボランティア群間のGlxの比較

図4　HD MTX 前後での Glx の比較と，HD-MTX 後の症例と献上ボランティア群での Glx の比較

今後の方向性

実際に白質脳症を呈した症例 14 症例において追加でのデータ抽出を行い，白質脳症群，非白質脳症群，健常ボランティア群の 3 群において代謝物濃度の比較検討を行う。また白質脳症群においては代謝物変化の推移についてのプロットを行い，傾向についての解析を加える。同様の内容が現時点において既に報告されていない知見であるか，また過去の報告と組みわせて得られる知見があるかどうかの文献検索をさらに進める。

二分脊椎症小児における腎尿路・排泄機能障害の早期発見・診断・治療・管理に関する研究（第11報）

山　崎　雄一郎[1)]，郷　原　絢　子[1)]，熊　野　曜　平[2)]
下木原　航　太[1)]，西　　盛　宏[1)]

研究背景

二分脊椎症は小児の下部尿路障害の原因疾患として頻度が高く，かつ他の小児尿路奇形と比較して腎障害および高度な排泄障害といった患児の生命，生活に多大な影響を与える重大な疾患である。神奈川県立こども医療センター泌尿器科では腎尿路・排泄機能障害に関するエビデンスの高い臨床研究を行うため 2010 年度より二分脊椎症患者に対する診察所見と各種検査結果の統合データベース作成を開始した。2010 年度はデータベース構築を目標として第 1 報を報告，以後 2020 年度まで継続して報告してきて今回が第 11 報となる。

概要は 2011 年度：開放性脊髄髄膜瘤患者における尿失禁リスクファクターの検討，CIC（清潔

1）神奈川県立こども医療センター　泌尿器科　　2）国家公務員共済組合連合会平塚共済病院　泌尿器科

間欠導尿）を行う二分脊椎患者に対するルーチンの尿培養検査の有用性の検討。2012 年度: エコースクリーニングで見られる水腎症が，VUR（膀胱尿管逆流）の予測因子となるかどうかの検討。2013 年度：二分脊椎患児にとって大きな問題となる便失禁，尿失禁に対する外科的治療法の成績報告。2014 年度：日常診療における膀胱壁厚エコー測定がウロダイナミクス結果を予測可能かどうか検討。2015 年度：神経因性膀胱患児に対する筋膜スリング手術 DOUBLE FASCIAL SLING による尿失禁制御の成績評価。2016 年度：腸管利用尿路再建術後の脳室腹腔シャント合併症の当科周術期管理を評価。2017 年度：成人移行期における DMSA による腎機能の評価方法の臨床的意義。2018 年度：潜在性二分脊椎に対する早期係留解除術による長期腎尿路予後の検討。2019 年度：終糸脂肪腫に対する係留解除術が小児尿失禁予防に有用かどうかを検討。2020 年度：脊髄髄膜瘤において膀胱造影所見による膀胱形態は膀胱機能を予測できるかどうかを検討。

目　的

脊髄髄膜瘤患児の尿路管理の要点は高圧膀胱，低コンプライアンス膀胱の早期診断である。そのため乳幼児期からのビデオウロダイナミクス検査（VUDS）が推奨されている。しかし対応できる施設は限られ，患児の協力が得にくいために結果の評価方法も施設間で一定していない。われわれは一般施設で可能な膀胱造影画像から新しい形態評価法を考案し，ウロダイナミクス検査のパラメーター予測につながるかどうかを検討した。

対象と方法

当施設で 2012 年 4 月～ 2017 年 7 月の間に 13 歳未満の脊髄髄膜瘤患児に施行した VUDS 検査を対象とし後方視的に検討した。啼泣，多動などでデータ評価・解析が困難と判断された症例は除いた。緩徐注入で患児が痛みを訴えた段階もしくは尿漏出を認めた段階を最大膀胱容量（MCC）とし，その時点の最大排尿筋圧（MDP）により膀胱コンプライアンスを算定するとともに膀胱 AP 像を撮影。膀胱形態評価は縦（height）横（width）の最長の長さを測定し縦横比（HWR）を算出するとともに ROC 曲線より VHR のカットオフ値を求め AUC を算定した。最大排尿筋圧 40 cmH_2O を高圧指標とし，低圧 / 高圧両群におけるウロダイナミクスパラメーターおよび HWR を比較した。

結　果

データの欠損，激しい啼泣や排尿筋過活動等に伴う明らかなデータ測定の不適がある症例を除いた 81 名で比較した。最大膀胱内圧でみた縦横比のカットオフ値は 1.42（縦 / 横）であった。低圧群，降圧群の 2 群での件数はそれぞれ 58 件，23 件，平均年齢は 72 ヶ月，84 ヶ月（P＝0.069），最大膀胱内圧（中央値）は 24cmH_2O，57cmH_2O（P<0.001），膀胱コンプライアンス（中央値）は 8.16，3.61（P<0.001），HWR は 1.37，1.50（P<0.004）であり最大膀胱内圧，膀胱コンプライアンス，HWR において 2 群間で有意な差を認めた。

結　語

少児脊髄髄膜瘤症例において膀胱充満像の縦横比は高圧膀胱，低コンプライアンス膀胱のスクリーニングに有用であると考えられる。

参考文献

Kumano Y, Hayashi C, Gohbara A, et al. A simple screening tool for an unfavorable bladder in children with myelomeningocele: Is the height to width ratio of the cystogram useful to predict high-pressure bladder? J Pediatr Urol 2020;16:839.e1-839.e5.

小児固形腫瘍における診断に有用な新規マーカーの開発と臨床応用

田中祐吉[1)]，田中水緒[1)]，梅本沙代子[1)]
永原則之[1,2)]

背　景

小児固形腫瘍においては，化学療法への感受性や予後は疾患ごとに大きく異なるため，正確な病理診断が特に重要である。さらに，細胞遺伝学的・分子生物学的知見の集積により，小児固形腫瘍・血液悪性疾患の疾患単位は細分化・再編成され，特に近年では標的治療を念頭にした診断も求められるようになった。こうした現状では，形態学的・組織化学的・免疫組織化学的検索に加えて，細胞遺伝学的・分子生物学的手法を取り入れた組織診断は症例によっては必須であり，その診断体制を整えるのは重要である。しかし，こうした腫瘍特異的診断法を up-to-date に導入することは容易ではなく，実際に施行している小児病院・施設・大学小児科は本邦でも限られる。小児がん拠点病院である当院としては，分子病理学的診断技術をリニューアルする努力が欠かせない。

われわれは従来，免疫組織化学的検索および polymerase chain reaction（PCR）法・reverse transcription-polymerase chain reaction（RT-PCR）法・間期核 fluorescence in situ hybridization（FISH）法を用いた分子生物学的診断法を開発・導入し，診断困難な小児固形腫瘍の病理診断・診療に役立ててきた[1-4)]。今後さらに検査の対象を拡げ，精度の高い診断を目指すことが求められる。さらに近年網羅的遺伝子解析の手法として次世代シーケンサーを用いた検討が積極的に取り入れられつつある。当科でも昨年度より取り組みを開始し，今年度も従来の検査方法では診断困難な症例に対して次世代シーケンサーを用いた RNA シーケンスによる検討を継続した。

本年度は，臨床検体の病理診断に際してさらに対象症例を広げ，積極的に分子生物学的解析を行った。さらに従来の方法で特異的な遺伝子異常が検出されなかった診断困難例に対して，次世代シーケンサーを用いた検討を行った。これらの検討結果は正確な診断と，治療に役立つ情報を臨床サイドに速やかに伝えることができることに加えて，新規の遺伝子異常の発見は検討対象腫瘍の疾患概念の確立にも寄与し得ると考える。

対　象

当科に組織診断目的で腫瘍組織が提出された症例を対象とする。また，他施設より組織診断の依頼があった症例で，分子病理学的手法を用いた症例も含めた。

方　法

1．PCR 法・RT-PCR 法

腫瘍の凍結検体もしくは formalin fixed paraffin embedded（FFPE）検体より genomic DNA を抽出し PCR 法を行った。また同様に total RNA を抽出し，逆転写反応により cDNA を得て RT-PCR 法を行った。各々の腫瘍の組織診断をもとにそれぞれに特異的な遺伝子変異もしくは融合遺伝子を標的としたプライマーを設計し，PCR 法にて遺伝子増幅を行った。得られた増幅産物をアガロースゲル中で電気泳動し，標的とする遺伝子の確認を行った。

2．塩基配列の確認

PCR 産物のダイレクトシーケンスを行い，塩基配列を明らかにした。

3．FISH 法

市販のプローブを用いて行った（SureFISH ALK BA probe, Agilent Technologies, Paulo Alto, CA）。FFPE 切片はプローブの浸透性を改善するために温熱処理して作成した。プローブを組織切片と反応させ，蛍光顕微鏡で観察して，1 切片につき 50

1）神奈川県立こども医療センター　病理診断科　　2）日本医科大学　共同実験センターアイソトープ教室

細胞確認したうえで，結果を判定した。

4．RNA シーケンス（次世代シーケンサーを用いた検討）

腫瘍の凍結検体もしくは FFPE 検体より total RNA を抽出し，逆転写反応により得た cDNA を用いて TruSight RNA Pan-Cancer Panel（Illumina 社）によるターゲットシーケンスを行った。

結　果

1．FISH 法，PCR 法，RT-PCR 法

本年度分子生物学的手法を用いて検討を行ったのは延 32 病変であった。内訳は，脳腫瘍が 12 例，神経芽腫群腫瘍 8 例，骨軟部腫瘍が 7 例，造血器腫瘍 3 例，肺と腎臓それぞれ 1 例であった。1 例が他施設からの依頼であった。

FISH 法を行ったのは 23 例で，6 例で遺伝子再構成，14 例で遺伝子増幅の有無，3 例で遺伝子欠失を検討した。PCR 法による遺伝子変異の検討および RT-PCR 法による融合遺伝子の検出はそれぞれ 4 例，10 例で行った。検討した遺伝子は表 1 のとおりである。

疾患特異的遺伝子異常が検出された症例は表 2 のとおりである。FISH 法では，pediatric-type high grade glioma の 1 例で 1q gain を認め，神経芽腫群腫瘍の 1 例で *MYCN* の増幅を認めた。PCR 法もしくは RT-PCR 法では，*BCOR* internal tandem duplication（腎臓，clear cell sarcoma of the kidney）が 1 例，融合遺伝子が *EWSR1-ERG* 2 例（脛骨，Ewing sarcoma/胸壁軟部，Ewing sarcoma）と *KIAA1549-BRAF* 1 例（小脳，pilocytic astrocytoma）が検出された。

2．RNA シーケンス

RNA シーケンスを行ったのは 8 例で，7 例は凍結検体を，1 例は FFPE 検体を用いて行った。いずれもシーケンシングに十分な品質の核酸が抽出された。

融合遺伝子が検出されたのは 6 例であり，それぞれ検出された遺伝子異常は表 3 のとおりである。6 例のうち 4 例で融合遺伝子が検出されることで最終診断に至ることができた。2 例は文献検索，それぞれ横紋筋肉腫および膠腫では報告のない融合遺伝子であった。

融合遺伝子が検出されなかった 2 例のうち 1 例では，同症例の他施設での検査結果と合わせて *BRAF* 遺伝子の点変異を確認した。

3．論文作成

昨年度 RNA シーケンスで同定した *VCL-ALK* を検出した腎細胞癌の 1 例の症例報告の執筆を開始した。

表 1　FISH 法，PCR 法，RT-PCR 法で検討した遺伝子異常（カッコ内は件数）

FISH 法（23）：
- 遺伝子再構成の検討
  - *EWSR1*（1），*KIAA1549-BRAF*（1），*MYC/BCL2/BCL6*（各 1），*USP6*（1）
- 遺伝子増幅の検討
  - *MYCN*（10），*MYC*（4）
- その他の遺伝子異常の検討
  - 11q deletion（2），1p/19q co-deletion（1）

PCR 法（4）：遺伝子変異などの検討
- *BRAF* V600E（1），*IDH1/2* mutation（1），*MyoD1* mutation（1），*BCOR*-ITD（1）

RT-PCR 法（10）：融合遺伝子の検出
- *PAX3/7-FOXO1*（2），*EWSR1-ERG*（1），*EWSR1-FLI1/ERG/ETV1/ETV4/ FEV/ WT1*（各 1），*KIAA1549-BRAF*（1）

FISH: fluorescence in situ hybridization, PCR: polymerase chain reaction, RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction, ITD: internal tandem duplication

表２　疾患特異的遺伝子異常が検出された症例

症例	病変部位	検査手法	検出された融合遺伝子	最終診断名
1	大脳	FISH	1q gain	Pediatric-type high grade glioma
2	後腹膜	FISH	*MYCN* amplification	Neuroblastoma
3	腎臓	PCR	*BCOR* internal tandem duplication	Clear cell sarcoma of the kidney
4	骨（頸椎）	RT-PCR	*ERSR1-ERG*	Ewing sarcoma
5	軟部（胸壁）	RT-PCR	*ERSR1-ERG*	Ewing sarcoma
6	小脳	RT-PCR	*KIAA1549-BRAF*	Pilocytic astrocytoma

FISH: fluorescence in situ hybridization, PCR: polymerase chain reaction, RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction

表３　次世代シーケンサーを用いた検討の結果

症例	病変部位	検出された融合遺伝子	最終診断名（括弧付きは暫定診断名）
1	膀胱	*FN1-ALK*	Inflammatory myofibroblastic tumor
2	軟部組織（臀部）	*TPM3-NTRK1*	Pediatric *NTRK* rearranged mesenchymal tumor
3	軟部組織（胸壁）	*SRF-CITED1*	*SRF*-rearranged myofibroma /myopericytoma
4	軟部組織（傍精巣）	*RPSAP52-HMGA2*	(Rhabdomyosarcoma, type unspecified)
5	軟部組織（頚部）	*MOZ-NCOA2*	Acute myeloid leukemia
6	軟部組織（臀部）	*BRAF* E501A mutation	(Inflammatory myofibroblastic tumor)
7	大脳	*EXT2-PDHX*	(High grade glioma, histologically)
8	副腎	none	(Neuroblastoma, histologically)

考　察

手術検体の検索では，本年度より検討を追加した遺伝子異常を含めて，安定して結果を出すことができた。特に，FISH 法での検討機会が増えている。近年脳腫瘍やリンパ腫，神経芽腫などでは，治療法決定のためリスク分類に利用するためなど遺伝子異常の結果を付加した診断を必要な腫瘍がみられ，また標的治療の適応の有無の確認のため，遺伝子異常の検出が求められることが増えた。

次世代シーケンサーを用いた RNA シーケンスでは 6 例から融合遺伝子を検出した。4 例は RNA シーケンスの結果から最終診断に至った。症例 2 の pediatric *NTRK* rearranged mesenchymal tumor[5] と症例 3 の *SRF*-rearranged myofibroma/ myopericytoma[6] は近年次世代シーケンサーにより急速に集積された症例で確立した疾患概念である。*SRF*-rearranged myofibroma/ myopericytoma の *CITIED1* は報告のない新規パートナー遺伝子である。

報告例のない 2 つの融合遺伝子は機能解析など腫瘍発生と遺伝子異常の関連についてさらに検討を行いたい。症例 6 の *BRAF* E501A も報告例のない遺伝子異常である。同病変についても病的意義について検討を加えたい。

昨年度 RNA シーケンスで検出された *VCL-ALK* 融合遺伝子は世界でも 6 例しか報告例がなく，しかも鎌状赤血球症を合併するアフリカ系アメリカ人のみに発症するとされていた。自験例は鎌状赤血球症の合併がないことが遺伝科の検討で明らか

にされ，珍しいアジア人症例であり報告価値があると考え，論文作成に取り掛かった。

今回の検討では *ALK* や *NTRK*，*BRAF* など，治療のターゲットとなり得る遺伝子異常が複数例から検出された。RNA シーケンスでは他の方法では検出が困難な遺伝子異常を見つけることがあるが，一部ではその病的意義についてさらに検討が必要なことが分かった。難治例を中心に今後も，標的治療を念頭に置いた診断を期待されることが予想され，対応可能な検査体制のアップデートに努める。

文　献

1）Kato K, Tanaka M, Toyoda Y, et al. A novel fluorescence in situ hybridization assay for synovial sarcoma. Pathol Res Pract 2013;209:309-313.
2）Tanaka M, Kato K, Gomi K, et al. Perivascular epithelioid cell tumor with SFPQ/PSF-TFE3 gene fusion in a patient with advanced neuroblastoma. Am J Surg Pathol 2009;33:1416-1420.
3）Tanaka M, Kato K, Gomi K, et al. NUT midline carcinoma: report of 2 cases suggestive of pulmonary origin. Am J Surg Pathol 2012;36:381-388.
4）Tanaka M, Kohashi K, Kushitani K, et al. Inflammatory myofibroblastic tumors of the lung carrying a chimeric A2M-ALK gene: report of 2 infantile cases and review of the differential diagnosis of infantile pulmonary lesions. Hum Pathol 2017;66:177-182.
5）Davis JL, Lockwood CM, Stohr B, et al. Expanding the Spectrum of Pediatric NTRK-rearranged Mesenchymal Tumors. Am J Surg Pathol 2019;43:435-445.
6）Antonescu CR, Sung YS, Zhang L, et al. Recurrent SRF-RELA Fusions Define a Novel Subset of Cellular Myofibroma/Myopericytoma: A Potential Diagnostic Pitfall With Sarcomas With Myogenic Differentiation. Am J Surg Pathol 2017;41:677-684.

甲状腺ホルモンの一斉解析法の確立
－ダウン症患者における甲状腺ホルモンの定量－

岩野麗子[1)]，室谷浩二[2)]，花川純子[2)]
朝倉由美[2)]

研究背景および目的

甲状腺機能低下症には先天性と後天性があり，その頻度は約 4,000 人に 1 人である。先天性甲状腺機能低下症 central hypothyroidism（CH）は永続的な治療が必要とされる疾患であり，早期発見・治療により予後を改善できるため，新生児マススクリーニングの対象疾患となっている。

最も頻度の高い染色体異常症であるダウン症の患者では，甲状腺疾患を高率に合併する（健常児で 1–2 %の頻度に対して，ダウン症患者で 4–19.5 %の頻度）。われわれはこれまでに，ダウン症患者約 800 名の横断的甲状腺機能検査から，ダウン症患者では同年齢の健常児に比して，①甲状腺刺激ホルモン thyroid-stimulating hormone（TSH）は高値，②遊離トリヨードサイロニン（FT3）は低値，③遊離サイロキシン（FT4）は有意差なし，との結果を明らかにした。そこで，本研究ではこの結果がどのようなメカニズムで生じているかを，ダウン症患者と健常者の甲状腺ホルモン濃度を比較することで解明しようと試みた。

昨年度までに主な甲状腺ホルモン 3 種類（総トリヨードサイロニン : TT3，リバーストリヨードサ

1）神奈川県立こども医療センター　臨床研究室　　2）同　内分泌代謝科

イロニン：rT3，総サイロキシン：TT4）を同時に測定する方法を確立した。次に確立した測定法の評価を行うため，測定法のバリデーションを行った。

本研究では昨年度までに行ったバリデーション項目（日内変動，日間変動）に加えて，マトリックス効果などの項目を評価し，測定系のバリデーションを完了したので報告する。

実験方法

1．サンプルの前処理

サンプルの前処理は，プレートを用いた固相抽出法で行った。サンプルとして血清 100 μL を用いた。固相抽出プレートは，EVOLUTE® EXPRESS ABN 30 mg SPE-fixed well plates（Biotage Japan, Tokyo, Japan）を用いた。プレートのコンディショニングを MeOH および H_2O で行い，その後希釈した血清全量を供した。次に 5 % MeOH で洗浄を行い，MeOH でサンプルを抽出した。

2．甲状腺ホルモンの測定法

分析には，高速液体クロマトグラフィー（HPLC）と，トリプル四重極型質量分析計 Triple Quad 4500（Sciex）から構成される，高速液体クロマトグラフィー－タンデムマス質量分析計（LC-MS/MS）を用いた。

分析は，LC の部分に逆相カラム（Unison UK C18,150 × 3 mm）を接続し，移動相 A: 0.1 %酢酸，移動相 B: 0.1 %酢酸を含むアセトニトリルを用いて，グラジエント溶出で行った。分析時間は 13 分間であった。

3．バリデーション

本研究では，サンプルのマトリックスは血清，検量線のマトリックスは，市販の LC-MS/MS 用ステロイド類フリー血漿（DDC Mass Spec Gold® : Golden West Biologicals, Temecula, CA）を用いている。そのため，マトリックスの違いが測定値に影響を与えるか評価した。

(1) マトリックスの評価

最初に，血清と血漿で甲状腺ホルモンの濃度に差が観察されるかどうか検討した。個別 6 検体分を血清と血漿で準備し，各々の甲状腺ホルモンの濃度を測定し統計処理を行った。

(2) マトリックス効果

マトリックス効果は，文献を参考にして評価した[1]。通常，マトリックス効果は測定対象物の標準品を用いて評価するが，甲状腺ホルモンは内因性の甲状腺ホルモンの量が多い（特に TT4）ため，本研究では甲状腺ホルモンの内部標準物質を用いて検討を行った。マトリックス効果 Matrix effect（ME），回収率 Recovery（RE）および回収効率 Process efficiency（PE）について評価を行った。上記の項目の評価は，下記に記した計算式で算出した。

ME（%）= Set 2/Set 1 × 100

RE（%）= Set 3/Set 2 × 100

PE（%）= Set 3/Set 1 × 100 =（ME × RE）/100

Set 1: MeOH に甲状腺ホルモンの内部標準物質を添加したもの

Set 2: マトリックスの前処理後に甲状腺ホルモンの内部標準物質を添加したもの

Set 3: マトリックスの前処理前に甲状腺ホルモンの内部標準物質を添加したもの

結　果

表 1 に，個別の血清および血漿中の甲状腺ホルモン濃度を示した。血清と血漿との間に有意な差は観察されず，マトリックスとして血清あるいは血漿を用いても測定値には影響を与えないことが示された。

マトリックス効果の結果を表 2 に示した。血清と血漿（DDC Mass Spec Gold®）の比較では，血漿の方が良好な値であった。特に TT4 に関しては，ME, RE および PE は血清での値が低く，マトリックスとして用いるには血漿の方が望ましいという結果が示された。

考　察

昨年度から，甲状腺機能低下症の早期発見・早期治療に活用できるような，甲状腺ホルモンプロファイルを作成することを目的として研究を行っている。その最初の段階として，血中の甲状腺ホルモンを一斉解析できる方法を確立し，昨年度と本年度の研究で測定法の評価を行った。本年度では主にマトリックス効果について評価したが，血清と血漿の比較では血漿の方が比較的良好な値であった。この理由としては，本研究で用いた血漿は市販のものであらかじめ甲状腺ホルモンが除去

表1　個別6検体の血清および血漿中の甲状腺ホルモン濃度

Analyte	No.	Concentration (ng/mL) 1	2	3	4	5	6	Mean ± SD	*p* value
TT3	Serum	1.3	1.1	1.0	1.0	1.0	1.4	1.2 ± 0.2	0.52
	Plasma	1.2	1.1	1.0	0.93	0.99	1.3	1.1 ± 0.1	
rT3	Serum	0.19	0.24	0.20	0.24	0.22	0.27	0.23 ± 0.03	0.24
	Plasma	0.18	0.20	0.20	0.21	0.24	0.22	0.21 ± 0.02	
TT4	Serum	65	48	48	58	48	50	53 ± 7	0.76
	Plasma	68	48	51	59	51	49	54 ± 7	

Data are expressed as the mean ± standard deviation.

表2　個別6検体の血清およびDDC血漿（DDC Mass Spec Gold®）におけるマトリックス効果（ME），回収率（RE）および回収効率（PE）の結果

Analyte	% ME		% RE		% PE	
	Serum	DDC plasma	Serum	DDC plasma	Serum	DDC plasma
TT3	103 (10)	97 (4)	87 (9)	100 (7)	90 (8)	97 (5)
rT3	97 (10)	94 (4)	91 (10)	101 (6)	88 (15)	95 (8)
TT4	79 (9)	76 (10)	70 (17)	114 (9)	55 (12)	86 (7)

Matrix effect（ME）is expressed as the ratio of the mean peak area of internal standards spiked post-extraction（set 2）to the mean peak area ofthe same internal standards（set 1）multiplied by 100.
Recovery efficiency（RE）is expressed as the ratio of the mean peak area of internal standards spiked pre-extraction（set 3）to the mean peakarea of internal standards spiked post-extraction（set 2）multiplied by 100.
Process efficiency（PE）is expressed as the ratio of the mean peak area of internal standards spiked pre-extraction（set 3）to the mean peak areaof the same internal standards（set 1）multiplied by 100.
（）: CV%
DDC plasma: DDC Mass Spect Gold® human plasma

されている。そのため，血清よりも市販の血漿の方が，甲状腺ホルモンの測定にマトリックスの影響が少なかったと考えられる。特に内因性の量が多いTT4では血清と血漿でマトリックス効果の値に差が観察された。したがって本研究のマトリックスとしては，血漿が望ましいことが示された。そのため濃度を算出するために必要な検量線の作成には，甲状腺ホルモンを除去した市販の血漿を用いることにした。以上，測定法の評価が完了したので今後はこの研究のメインであるダウン症患者における甲状腺ホルモンの定量を行う予定である。

文　献

1）Matuszewski BK, Constanzer ML, Chavez-Eng CM. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. Anal Chem 2003;75:3019-3030.

双方向性コミュニケーションツールを利用した NICU オンライン面会の検討

齋　藤　朋　子

背　景

我が国の早産児の出生率は増加している。100人に1人出生するとされる出生体重1,500 g未満の極低出生体重児は，NICU（新生児集中治療室）における新生児医療の向上で95％以上が救命されるようになった。一方，極低出生体重児の3人に1人は発達障害や発達遅滞を発症するなど長期的な問題が明らかになり，極低出生体重児とその家族が困難感を抱えながら生活しているのが現状である。これは早産の脳の発達への関与だけでなく，NICUという特殊な環境で長期間過ごしていることも影響すると考えられている[1)]。

親が児と感情的な結びつきを形成するプロセスは乳児の生存と発達に不可欠である。しかし親の絆は生得的ではなく，母親が児を育てることを遺伝的にプログラミングされているわけではない。早産は親にとってストレスの多い経験で，目に見える児の未熟さや医療的介入は，不安感やさらなる結びつきの低下を引き起こす[2)]。一方で，正期産児に比べ早産児の親子の関わり合いが増加することも示されており，入院中に受ける個別ケアが親子関係形成に有益である可能性がある。

われわれの施設では，NICUからの児と家族の結びつきが退院後の発達支援につながると考え患者家族中心の医療family-centered careを実践してきた。また24時間面会や兄弟姉妹（同胞）面会などのシステム構築，2019年には改築を行い家族滞在型個室病床やベッドサイドのスペースの拡大，児と家族，スタッフそれぞれにとって居心地の良い光音環境などにも配慮した家族が滞在しやすいような施設の工夫にも取り組んできた。

しかし，日本の医療制度や，遠方の自宅，兄弟姉妹（同胞）の存在などにより，家族は常にNICUに滞在できるとも限らない。そこで今回，遠隔通信技術を応用した「テレプレゼンス」といえるオンライン面会を計画した。テレプレゼンスとは，「仮想現実の領域において，遠隔地にいる者があたかも側にいるような実態感を与えるもの」，とされている。NICU入院児においても，そばにいたくてもいられない家族の罪悪感や不安感を少しでも軽減し，決められた時間ではなく，制限なく「会いたいときにいつでも会える」NICUを目指し，病院と自宅の垣根を取り払った仮想空間の実現を構想した。テレプレゼンスのニーズがあるのか，そしてNICUで実施可能かの検討が必要と考え，1ヶ月間試行して評価した。

目　的

IoTコミュニケーション手段（モバイルPhone等を用い，NICUに入院中の新生児の様子を院外の家族また家族から招待された人が遠隔から観察，声がけ等を行うことを可能にするコミュニケーションシステム）を活用したいつでも会えるオンライン面会，テレプレゼンスが，NICUにおいて実施可能か，また家族とスタッフが必要と考えるかを調査した。

方　法

【対象】

・NICU入院児の家族で面会を定期的にされている方の中で，研究に協力していただける方
　除外基準：児の状態が不安定，母の精神的不安定
・対象者に対応する医療スタッフ

【研究方法】

・株式会社フィリップス・ジャパン製SCREEN 2 SCREEN Philips（以下「本システム」）を1ヶ

神奈川県立こども医療センター　新生児科

月借入。
・当院の災害用 Wifi を用いたシステム稼働環境と，カメラ固定，PC 設置，iPad などデバイス環境の整備。
・NICU スタッフへ事前に数回にわたり本システムの使用方法を説明。
・同意を得られた患者のベッドに，小型カメラを常に児の映像が映るように設置。またベッドサイドに PC を設置し，家族がアクセスしたら家族の映像が映るように準備。本システムをインストールした操作用 iPad を準備。
・1 家族 1 週間ずつ試用。8–21 時の間はアクセス可能。1 回 30 分を目安に，1 日 3 回までアクセス。うち 1 日 1 回は面会時間を設定し，その際はスタッフと音声と画像で双方向にコミュニケーションをとる。スタッフは時間外にシステムのオンオフを行う。
・画像は双方向性，音声は必要時以外家族から児への一方通行。
・家族がアクセス中，iPad を介してスタッフ側もアクセスし，iPad に映った家族の映像を児に見せることも可能。
・時間内は家族はスタッフを介さずいつでもアクセスし児の様子を見ることは可能であるが，家族の映像を児に見せる場合，音声を双方向にする場合はスタッフの介入が必要。
・家族の登録は 1 人であるが，アクセス中は家族が選んだ 3 人まで招待可能。

【評価方法】

調査票「IoT コミュニケーション手段検証のための NICU ソリューション試用評価」（表 1）を通じて対象者から情報収集し分析した。

【個人情報の扱い】

本システムでは，それぞれのスマートフォン固有の PIN コードで登録すること，通信中の情報は総て暗号化されること，通信先を指定するのみでサーバーに情報が残らないことから，カメラと特定のスマートフォンの一対一で通信している同士以外から，画像，音声等の個人情報を確認できない仕組みを確認した。写真や動画データをシステムは院内から外に出ることはなく保存も行わず，調査用紙は無記名で行った。

表 1　調査票項目

＜調査票家族向け＞
Q1. 通常の面会頻度
Q2. 今回のツールを利用したい頻度
Q3. 通信状況
Q4. システムの使用感
Q5. システムを利用して行いたいこと
Q6. 改善点
Q7. 使用しての心境の変化
Q8. システムを使用したいと思うか
Q9. その他意見

＜調査票医療従事者向け＞
Q1. 今回のツールを使用する理想的な頻度
Q2. 通信状況
Q3. システムの使用感
Q4. システムの問題点
Q5. 改善点
Q6. システムを利用して行いたいこと
Q7. 業務負担
Q8. 家族からの声
Q9. 児と家族のコミュニケーション手段として使用できると思うか
Q10. システムが NICU にあると良いか
Q11. その他意見

結　果

【症例背景】

・症例 1　生後 1 歳女児　キアリ奇形Ⅱ型　家族背景：両親，4 歳姉
・症例 2　生後 1 ヶ月半女児　ELBW（26 週出生）家族背景：両親，5 歳兄
・症例 3　生後 1 週間男児　VLBW（31 週出生）家族背景：両親（父は中国），2 歳兄
・症例 4　症例 1 のデバイスを変更して再度施行　1 症例につき 1 週間ずつ，計 4 週間試行

【調査票結果】（表 2，図 1，図 2）

・家族 6 人（父 3 人，母 3 人）
・スタッフ 43 人

①テレプレゼンスの必要性

家族

使う頻度はほぼ全員が毎日，時間制限なしを希望された。またオンライン面会を利用して行いたいこととして，全員が「不安の軽減」や「児と家族のコミュニケーション」と回答した。「心境の変化があった」と回答したのが 6 人中 5 人。「今後も使用したい」と回答したのが 4 人，「どちらともいえない」が 2 人で，理由として通信の不安定さを挙げられた。

その他の自由意見を下記に挙げる。

・面会して長時間そばにいられない罪悪感や不安感を軽減。
・気になった時にいつでも様子を見られる安心感。
・触れられないことでより会いに行きたくなり愛情が深まる。
・長期入院の児が親の声や表情に反応し，家族であることの再認識。
・兄弟姉妹（同胞）が児を認識することで会えない中でも兄弟姉妹（同胞）としての自覚の芽生え。
・母乳分泌の向上。
・リラックスして面会でき自宅に一緒にいる感覚が得られる。

スタッフ

オンライン面会に期待することとして，95 %が「児と家族のコミュニケーション」，84 %が「不安の軽減」，60 %が「声かけ」，28 %が「医療者とのチャット」，14 %が「安全確認」と回答した。また実際に使用してみて，98 %が「児と家族のコミュニケーションに使える」，85 %が「NICU にあると良い」と感じたと回答した。

その他自由回答として下記意見があった。

・家族がより児を身近に感じられ，家族の関わりに効果的。
・普段会えない親戚や友人にも姿をみてもらっ

表２　家族調査票結果①

			オンライン面会使用希望			通信状態		オンライン面会でしたいこと			
	頻度/w	時間/d	頻度/w	時間/d	時間帯	通信状態	簡単か	不安の軽減	児と家族のコミュニケーション	声かけ	医療者とのチャット
1 母	5	2	21	0.5	朝夕夜	普通	良い	○	○	○	○
1 父	2	2	9	0.5	夜	普通	普通	○	○	○	○
2 母	7	0.5-3	たくさん	5	いつでも	普通	普通	○	○		○
2 父	7	1.5	14	0.25	朝夜	普通	普通	○	○	○	
3 母	4	4	7	0.5	夜	よくない	普通	○	○		
3 父	0	0	4	0.5	夜	よくない	普通	○	○	○	○

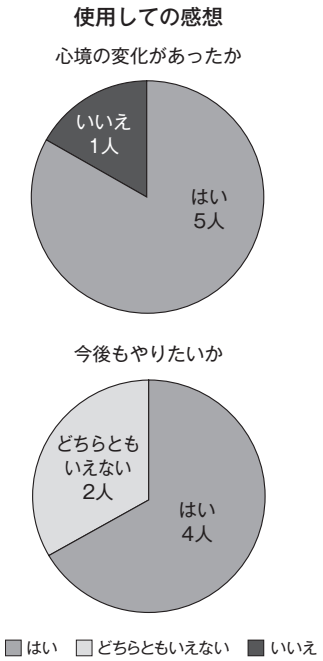


図１　家族調査票結果②

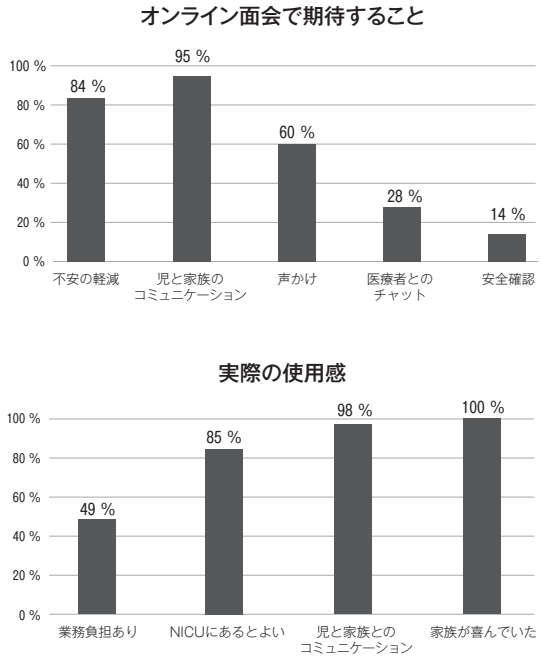


図２　医療者調査票結果

て家族の精神的サポートになる。
・児が家族の声に反応して手を伸ばしたり，表情が豊かになり，発達促進の可能性。
・児の病状の安定。
・面会以外でも児の様子を家族に伝えられる。
・家族がリラックスして過ごしている表情が印象的。
・家族と児の幸せそうな様子を見て看護の領域を超えた喜びを味わえる。

②テレプレゼンスの実施可能性

家族

通信の弱さの問題以外指摘なし。

スタッフ

「業務負担がある」と答えたのは 49 %，一方で大部分のスタッフが NICU に設置が良いと答えており，業務負担は感じつつも NICU で使用可能で有効活用できると考えるスタッフが多い。「児と家族とのコミュニケーション」が 98 %，「家族が喜んでいた」が 100 %であった。

同様にその他自由回答として下記意見があった。
・少数意見だが常に見られていて自分の気が張ると答えたスタッフも存在。
・PC の置き場所の確保，カメラ調整，家族がアクセスしたときの対応，電源のオンオフ，他家族や児への影響を考えた音量調整などの業務負担への対応は検討事項。

③要望・改善点

家族

・24 時間いつでも制限なくアクセス
・音声も双方向。ビデオに一方的に話しかけている気分になることがある
・医療者とのチャットや会話
・接続時の病院側の操作をなくす
・スムーズな通信

スタッフ

・家族がアクセスしたのがわかるような通知音
・カメラ調整やズームの簡便さ，ワイヤレスカメラなど
・児に見せる家族の映像をより大きく
・児の入眠中にアクセスし声をかけて起きてしまうことがある。「今寝ています」など児の様子をあらかじめメッセージで家族に伝えられるシステムやアクセス時間調整

考　察

ウェブカメラを用いた遠隔技術は，医療現場でスタッフ教育や他施設との連携，安全担保など，スタッフ業務に利用されるケースが多い。また 2020 年以降 COVID19 流行のため病院の厳しい面会制限が一般的になり，それに伴い遠隔技術を利用した病状説明や，オンライン面会が普及しつつある。

新生児医療では COVID19 流行以前から，NICU でスタッフが撮影した児のデジタル画像をインターネットを介して家族がみられるシステムが家族の満足度を上げたとの報告があり[3]，その後リアルタイムに家族が遠隔から児の様子を知ることができるウェブカメラシステムが世界的に広がっている。

ただこのようなシステムの多くは予約制で短時間に限られており，家族が病院側に「許可」を得てわが子に会わせてもらっている感覚はぬぐえない。NICU は集中治療を行いながらも児が日々成長していく場であり，家族が育児をする場でもある。本来生後一緒にいるべき家族が離れて暮らす状況は普通のことではなく，家族形成の妨げになり児の発達に悪影響を及ぼす可能性がある。NICU でも 24 時間家族がいつでも一緒にいられる環境や家族が児のケアの中心になれるような支援が必要で，オンライン面会では時間制限なくいつでも会えるシステムが重要と考える。

2021 年，Kubicka が 24 時間いつでもアクセスできる映像のみのウェブカメラシステムが家族とスタッフへどのような影響があるかを調査した[4]。7 割の家族が毎日カメラを利用し，家族のストレスは有意に低下した一方で，半数以上の看護師がストレスが増加すると感じ，また両親のストレスを増やす懸念があると回答しており，家族の必要性とスタッフの考えの乖離があることが示されている。

今回の研究により，いつでも会える，声をかけられる「テレプレゼンス」は家族の抱える罪悪感や不安感が軽減され，家族である実感を得られ，さらに母乳分泌の向上や，兄弟姉妹（同胞）の成長，児の発達や病態の安定にも効果的である可能性が示された。また看護師の半数は業務が増えると感じていたが，その上で大多数の看護師が

NICU で家族の不安軽減やコミュニケーションに有効利用できると回答し，ウェブカメラシステムを前向きにとらえる意見が多かった。

また，オンライン面会により実際の NICU 面会頻度が減るのではという懸念があるが，家族とスタッフを調査した研究では NICU の滞在時間は減らないと考える意見が多数を占め[5]，本研究でも「触れられないことでむしろ会いに行きたくなった」という家族の意見があった。

本研究は期間と対象を限定し，またアクセスできる時間帯を決め，音声は基本的に一方向で行った。このようなシステムのニーズがあることと NICU で実施可能であることが確認できたが，今後対象や時間帯を拡大していく際には，スタッフや家族の精神的な影響や面会時間への影響などを考慮しながら進めていく必要がある。

結　語

本研究で，NICU でウェブカメラシステムを用いたいつでも会えるオンライン面会は家族とスタッフのニーズがあり実施可能と確認した。ただし，オンライン面会は家族が実際にそばにいて時間を共有することと同一ではない。家族一緒に過ごせない物理的，精神的距離を少しでも埋められる支援の 1 つとして，導入を検討する価値はあると考える。

文　献

1）Woodward LJ, Bora S, Clark CA, et al. Very preterm birth: maternal experiences of the neonatal intensive care environment. J Perinatol 2014;34:555-561.

2）DeMier RL, Hynan MT, Hatfield RF, et al. A measurement model of perinatal stressors: identifying risk for postnatal emotional distress in mothers of high-risk infants. J Clin Psychol 2000;56:89-100.

3）Gray JE, Safran C, Davis RB, et al. Baby CareLink: using the internet and telemedicine to improve care for high-risk infants. Pediatrics 2000;106:1318-1324.

4）Kubicka Z, Zahr E, Clark P, et al. Use of an internet camera system in the neonatal intensive care unit: parental and nursing perspectives and its effects on stress. J Perinatol 2021;28:1-9.

5）Hawkes GA, Livingstone V, Ryan CA, et al. Perceptions of webcams in the neonatal intensive care unit: here's looking at you kid! Am J Perinatol 2015;30:131-136.

次世代シーケンスデータを用いた複雑構造変異検出手法の検討

榎　本　友　美

背景と目的

次世代シーケンス解析では，一塩基多型に加え，染色体上の大きな領域の欠失や重複といった構造多型の検出も可能である。先天性疾患患者には欠失や重複が連続してみられるような複雑な構造異常を示す患者が存在し，そのような複雑構造変異を検出するためのより高度な検出プログラムによる解析が求められている。現在複雑構造異常を検出するプログラムは複数考案されているが，使用する解析アルゴリズムの違いにより，処理速度や検出結果は必ずしも同一ではない。それぞれの方法にメリット・デメリットがあると考えられる。本研究では複雑構造異常を検出する解析プログラム Manta[1]（Chen, *et al.*（2016））と Pindel[2]（Ye, *et al.*（2009））を導入し，それぞれの解析結果について検討を行ったので報告する。

神奈川県立こども医療センター　臨床研究室

方　法

1．解析システムの構築

構造異常検出プログラムの Manta と Pindel を導入した。Intel Xeon 3.30 GHz 2processors 8cores, Memory 256 GB のマシンにて解析を実行した。

2．Manta と Pindel による構造変異の検出および結果の検討（表 1）

染色体 16 番に分散した 2 個の欠失をもつ症例の次世代シーケンスデータを用い，解析を実行した。データは全ゲノムシーケンスと全エクソームシーケンスデータの 2 種類を使用し，それぞれの解析プログラムによる解析結果および解析所要時間を検討した。

結　果

複雑な構造異常を検出する解析プログラムはいくつか存在するが，本研究では Manta と Pindel を導入した。Manta は short-read の全ゲノムデータを用いた解析結果が報告されている[3)]。結果，全ゲノムデータを用いた解析では両プログラム共に想定した 2 個の欠失は検出された。一方全エクソームデータを用いた解析では両プログラム共に欠失は検出されなかった。全エクソーム解析は遺伝子のエクソンを中心にシーケンスを行うため，エクソン部分のみのデータになり，イントロン部分のデータが存在しない。すなわち染色体全体のデータの繋がりがないため Manta と Pindel の解析アルゴリズムでは欠失の検出が困難であった可能性がある。今回解析対象とした 2 個の欠失はサイズが大きく両プログラムとも検出できなかったが，エクソン内の小さいサイズ（数十塩基程度）の欠失，挿入等は全エクソームデータでも検出されていた。両プログラム間で大きく異なったのは解析所要時間である。Manta を使用した場合全ゲノムシーケンスの構造異常解析は 26 時間で全染色体の解析が終了しているが，Pindel は 16 番染色体だけで約 13 時間の処理時間を要した。解析マシンのスペックにも依存すると思われるが，Manta は高速アルゴリズムを利点としており，実際の解析においてそのメリットは大きいと思われた。今後は Manta を用いて解析を進める予定である。

文　献

1）Chen X, Schulz-Trieglaff O, Shaw R, et al. Manta: rapid detection of structural variants and indels for germline and cancer sequencing applications. Bioinformatics 2016;32:1220-1222.

2）Ye K, Schulz MH, Long Q, et al. Pindel: a pattern growth approach to detect break points of large deletions and medium sized insertions from paired-end short reads. Bioinformatics 2009;25:2865-2871.

3）Sanchis-Juan A, Stephens J, French CE, et al. Complex structural variants in Mendelian disorders: identification and breakpoint resolution using short- and long-read genome sequencing. Genome Med 2018;10:95.

表 1　解析結果の比較

解析結果

	全ゲノムシーケンス	全エクソームシーケンス
Manta	2 つの欠失を検出	欠失を検出できず
Pindel	2 つの欠失を検出	欠失を検出できず

解析所要時間

	全ゲノムシーケンス	全エクソームシーケンス
Manta	全染色体　約 26 時間	45 分
Pindel	16 番染色体のみ　約 13 時間	21 時間

2 つの解析プログラムの解析所要時間は大きく異なっている

右室容量負荷による右室機能および右室心筋動態への影響

齊　藤　　央

はじめに

心エコーは非侵襲的に心臓の形態や機能を評価できるモダリティである。従来は左室評価が心エコー図検査のメインであったが，近年では3Dエコーやspeckle trackingといった技術を用いることで，右室形態や機能を評価できるようになってきた。右室機能評価のゴールドスタンダードである心臓MRIとの相関も良いとされ，比較的簡便に行える心エコー図検査は右室機能評価において実臨床での実用化が望まれる手法である。

右室心筋層は二層構造で比較的薄く，高いコンプライアンスを保持する[1]。そのため容量負荷（RVVO）に対しても右室心筋の収縮性は保たれており，圧−容量曲線も健常者と同じパターンであると報告されている[2-3]。一方で，右室容量負荷症例において，右室機能が低下した症例を経験する。過去の報告でもRVVOは右室心筋障害を合併するとの報告もあり，右室機能への影響は明確ではない。この右室機能低下は心筋線維化が一因とも考えられており，そのような右室は治療介入後もリバースリモデリングが認められないとされる報告もあることから，右室機能低下がRVVOにおけるひとつの注意点になるだろうと考えられる[4-5]。本研究の目的はRVVOが右室機能へ与える影響を心エコー図検査学的に評価することである。

方　法

2018年4月から2021年3月までの間に心エコー図検査を施行した心房中隔欠損症例114例の内，右室容量負荷を認めた62例を対象とした。除外基準として，有意な右室流出路狭窄，肺高血圧，心筋症（肥大型心筋症，拡張型心筋症，不整脈源性右室心筋症），慢性呼吸不全，心房粗動/細動を認めた症例，画質不良例を設定し，それに合致した右室流出路狭窄症例5例，画質不良例16例を除外した。最終的に41例を解析対象として後向きに評価した。

右室3Dデータセットを Epiq 7G（Philips社製）にて取得し，TomTec社製4D RV-Function ソフトウェアを用いて右室駆出率（RVEF），右室自由壁ストレイン（RVFWS），右室中隔壁ストレイン（RVSWS）をオフラインにて計測した。ふいご様運動の評価として，右室3Dデータから右室短軸像を再構築し，拡張末期径および収縮末期径から右室内径短縮率（RVFS）を算出した。長軸方向の動きであるRVSWSおよびRVFWSと，ふいご様運動の指標であるRVFSのそれぞれのRVEFへの影響を重回帰分析にて評価した。RVEF<45 %を右室収縮機能低下と定義し，RVFSおよびRVSWS，RVFWSの右室収縮機能低下の診断能をROC解析で評価した。

結　果

解析対象41例の平均年齢は5.5 ± 3.0歳（1−13歳），男性23例（56 %）であった（表1）。RVEFと各右室機能指標の関連を図1に示す。RVEFはRVFS（r^2=0.39，p<0.01），RVSWS（r^2=0.25，p<0.01），RVFWS（r^2=0.31，p<0.01），およびRVFAC（r^2=0.35，p<0.01）と有意な相関関係にあった。一方で，TAPSE（r^2=0.02，p=0.44），S’（r^2=0.08，p=0.10）はRVEFと有意な相関を示さなかった。またRVFWSはRVSWSよりも有意に亢進していた（−30.9 ± 3.6 % vs −18.0 ± 3.6 %）。長軸方向の動きであるRVSWSおよびRVFWSと，ふいご様運動の指標であるRVFSとRVEFの関連を表2に示す。単回帰分析ではすべてがRVEFの有意な規定因子であったが（RVFS: beta=0.70，p<0.01，RVSWS: beta=−0.76，

神奈川県立こども医療センター　検査科

p<0.01，RVFWS: beta=−0.85，p<0.01），重回帰分析ではRVFSのみがRVEFの独立した規定因子であった（beta=0.45，p<0.01）。

RVFSおよびRVSWS，RVFWSの右室収縮機能低下（RVEF<45 %）の検出能をROC解析で評価した結果を図2に示す。ROC曲線下面積（AUC）はRVFSで0.966と最も高く，cut-off値18.1 %としたとき，感度100 %，特異度92 %であった。

表1　患者背景

	解析対象	除外対象	P-value
年齢，歳	5.5 ± 3.0 (1–13)	5.0 ± 5.1 (0–16)	0.79
男性，n (%)	23 (56)	10 (48)	0.60
身長，cm	104.9 ± 19.1 (69.0–151.7)	97.8 ± 26.5 (65.3–161.6)	0.28
体重，kg	17.1 ± 7.3 (7.3–41.4)	16.2 ± 11.3 (7.2–48.6)	0.75
体表面積，cm^2	0.70 ± 0.21 (0.35–1.31)	0.65 ± 0.31 (0.34–1.49)	0.51

* Mean ± SD（最小値 – 最大値）

表2　右室駆出率と各収縮方向指標の関連

	Univariate analysis				Multivariate analysis			
	B	95 % CI	SE	P-value	B	SE	95 % CI	P-value
RVFS	0.70	0.42– 0.99	0.14	<0.01	0.45	0.11– 0.78	0.16	<0.01
RV FWS	−0.85	−1.26– −0.44	0.20	<0.01	−0.39	−0.84– 0.06	0.22	0.09
RV SWS	−0.76	−1.19– −0.34	0.21	<0.01	−0.31	−0.73– 0.12	0.21	0.15

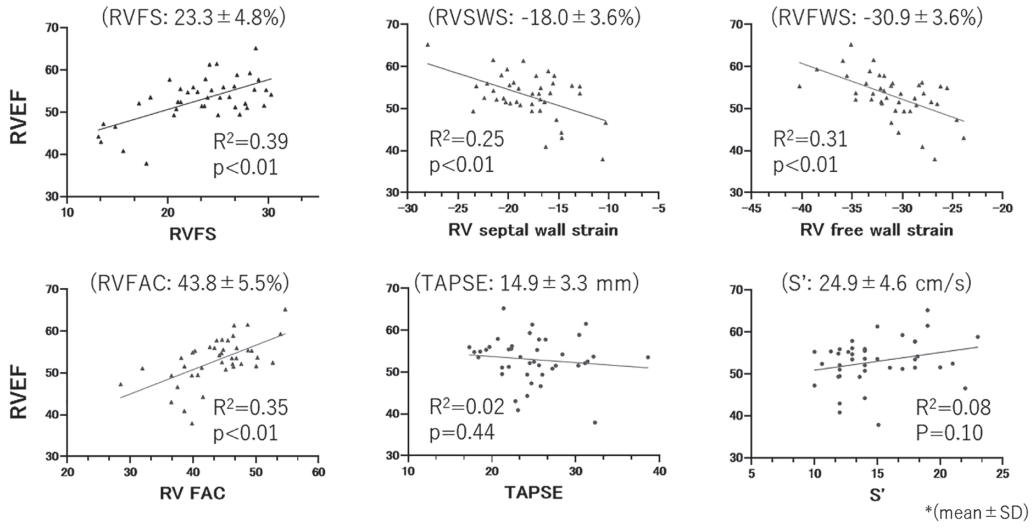
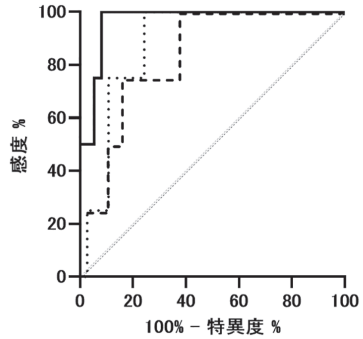


図1　RVEFと右室機能指標の関連

各右室機能指標のmean±SDと，RVEFとの関連性を示す。RVFS，RVSWS，RVFWS，およびRVFACはRVEFと有意に相関する。
RVFAC: 右室面積変化率，RVEF: 右室駆出率，RVFS: 右室内径短縮率，RVFWS: 右室自由壁収縮ピークストレイン，RVSWS: 中隔壁収縮ピークストレイン，S': 収縮期三尖弁輪移動速度，TAPSE: 三尖弁輪移動距離



	RVFS	RVSWS	RVFWS
AUC	0.966	0.838	0.878
Cut-off値	18.1	-30.5	-16.3
感度	100	100	100
特異度	92	62.2	75.7

図２　右室収縮機能低下例の検出能

各右室収縮指標の ROC カーブを示す。いずれも area under the ROC curve（AUC）は高値であるが，RVFS が AUC 0.966 と最も高値である。

RVFS: 右室内径短縮率，RVFWS: 右室自由壁収縮ピークストレイン，RVSWS: 中隔壁収縮ピークストレイン

考　察

本研究では心房中隔欠損症例において，RVVO が右室機能へ与える影響を評価した。主要な結果は以下のとおりである。1）長軸方向の収縮機能を表す RVSWS および RVFWS，ふいご様運動を表す RVFS はいずれも RVEF と相関した。2）その中でも RVFS は唯一の RVEF の独立規定因子であった。3）RVFS は右室機能低下の検出能が長軸方向ストレインよりも高かった。

右室では長軸方向の収縮が主体であるが，ふいご様運動の動きが 25 %程度の割合で収縮に影響するとされている。本研究の結果からも長軸方向の動きである右室ストレインや，ふいご様運動の動きを表す RVFS は，右室全体の動きを表す RVEF と有意な関連を示した。また右室自由壁は拡張末期から平均 −30.9 ± 3.6 %収縮し，ふいご方向へは，中間部限定的ではあるが，平均 −23.3 ± 4.8 %短縮していた。一般的に右室自由壁の収縮ストレインは −20 %以上が正常値とされており，今回の結果から右室自由壁ストレインは正常，むしろ亢進しており，過去の報告と矛盾しなかった。おそらくこれは右室容量負荷により elastic recoil が増大し長軸方向の収縮が増した結果であると考えられる。右室内膜の心筋走行は縦走しており，左室の中層心筋にあたる輪状筋は右室には存在しないため，長軸方向の動きが Frank-Starling 機序の影響を受けるのは理解しやすい。一方，RVFS は以前の検討により右室容量負荷がない症例では −30 %程度であることがわかっており，それと比較すると容量負荷症例では低下していた。ふいご様運動の詳細なメカニズムは明らかではないが，おそらく自由壁の収縮により，自由壁が中隔側へ偏位することが主体であると考えられる。右室拡大により右室自由壁の形態が変化することで，もしかすると自由壁の収縮様式も変化するのかもしれない。いずれにせよ RVFS は RVEF の低下を最もよく検出しており，右室機能を評価する上では重要なパラメータになり得る。

文　献

1）Redington AN, Rigby ML, Shinebourne EA, et al. Changes in the pressure-volume relation of the right ventricle when its loading conditions are modified. Br Heart J 1990;63:45-49.

2）Ishibashi Y, Rembert JC, Carabello BA, et al. Normal myocardial function in severe right ventricular volume overload hypertrophy. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001;280:H11-6.

3）Sanz J, Sánchez-Quintana D, Bossone E, et al. Anatomy, Function, and Dysfunction of the Right Ventricle:JACC State-of-the-Art Review. J Am Coll Cardiol 2019;73:1463-1482.

4）Ding J, Ma G, Huang Y, et al. Right ventricular remodeling after transcatheter closure of atrial septal defect. Echocardiography 2009;26:1146-1152.

5）Menting ME, van den Bosch AE, McGhie JS, et al. Ventricular myocardial deformation in adults after early surgical repair of atrial septal defect. Eur Heart J Cardiovasc Imaging 2015;16:549-557.

先天性リンパ性胸腹水症例の短期的予後予測の可能性：インドシアニングリーン蛍光リンパ管造影による重症度評価

林　　辰　司

背　景

先天性リンパ性胸腹水は，複数のリンパ管の異常やリンパ管の破壊により，リンパ液が胸腔または腹腔に漏れる疾患である。先天性リンパ性胸腹水は，時間の経過とともに治癒するものもあれば，呼吸不全，免疫不全，栄養障害などにより死亡するものもある。生存率は非常に多様であると報告されており[1]，病態を正しく評価し，適切な治療方法を確立するためには，先天性胸水および腹水のリンパ系を調査する画像検査が不可欠である。

先天性リンパ性胸腹水の病因を解明するために，いくつかの画像診断法が報告されているが[1]，これらリンパ系疾患の画像診断の標準的な方法は確立されていない。リンパ管造影やMRリンパ管造影は[2]，深部体幹リンパ系の解剖学的構造を詳細に描き出すことができるが，侵襲性が高く，リンパ管を穿刺する必要があるため，手技に熟練を要する。リンパ管シンチグラフィ[3]は，比較的簡単に実施でき，皮下または皮内に注射するだけで済むため侵襲性も低いが，放射性同位元素の取り扱いに問題があり，得られる画像も鮮明ではない。

インドシアニングリーン（ICG）リンパ管造影は，成人のリンパ浮腫における皮下のリンパ異常を可視化できる，簡単に行えて低侵襲な手法であるが[4]，先天性リンパ性胸腹水に関する報告は少ない[5]。

われわれは，ICGリンパ管造影によるリンパ異常の重症度を評価する客観的な診断法を開発し，より多くの先天性リンパ性胸腹水の児を対象に，短期的な臨床予後との関連を検討することを目的とした。

方　法

研究対象者

本研究は，神奈川県立こども医療センター倫理委員会で承認され，全保護者から書面によるインフォームドコンセントを得た。2012年1月から2020年12月までに，当院の新生児集中治療室に入院した先天性リンパ性胸腹水症例を対象とした。リンパ性胸水あるいは腹水は，出生前または出生後に行われた胸腔穿刺または腹腔穿刺で総細胞数が1,000細胞/mL以上，リンパ球分画が80％以上と定義した[5]。(i)ICGリンパ管造影を行わなかった児，(ii)検査画像が保存できなかった児，(iii)リンパ管形成異常以外の機序で先天性胸腹液貯留を引き起こす可能性のある疾患（免疫性胎児水腫，複雑先天性心疾患，肝不全，風疹ウイルス，トキソプラズマ，サイトメガロウイルス，パルボウイルスB19などの先天性ウイルス感染症）を併発している児は除外した。

ICGリンパ管造影と重症度分類

ICG（ジアグノグリーン0.25％；第一製薬，東京）を1部位あたり0.1–0.2 mL（0.25–0.5 mg）の量で手背または足背に皮下注射し，3–24時間後に近赤外カメラシステム（Photodynamic Eye Neo；浜松フォトニクス株式会社，浜松）を用いて注入したICGの体表での分布を観察した。検査の全工程はベッドサイドで行った。分類は，成人のリンパ浮腫および先天性リンパ性胸腹水症例のICGリンパ管造影に関する既報文献に基づき以下のように定義した。dermal backflow（DB）パターンあり：四肢の末端から流れてきたリンパが体幹表面のリンパ管を逆流し，体幹に蛍光像がみられる場合（図1a）。DBパターンなし：体幹表面にリンパ流の逆流が観察されなかった場合

神奈川県立こども医療センター　新生児科

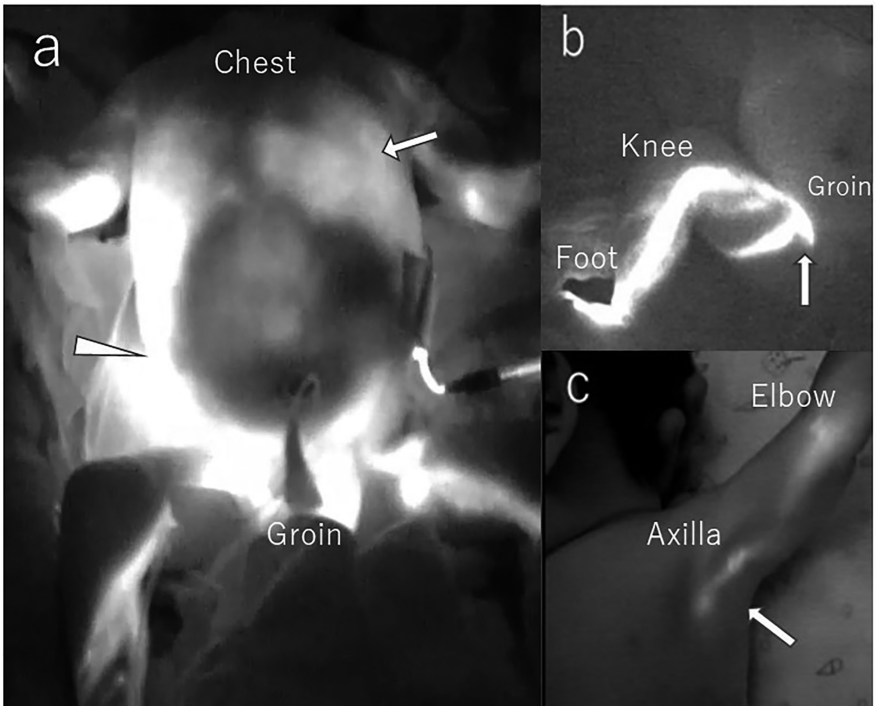


図1　DBパターンを認める児と認めない児のリンパ管造影所見
(a) 胸部と腹部のDBパターン。四肢末端に投与されたICGはリンパの流れに沿っているが，体幹の表面上で逆流し，胸部（矢印）と腹部（矢頭）の両方に蛍光像が生じている。(b) 腹部には真皮の逆流パターンはない。右足背から鼠径部に向かうリンパ流（矢印）は，体幹表面に逆流することなく深部リンパ管に流れている。(c) 胸部にはDBパターンはない。左手背に投与したICGは腋窩（矢印）から体幹表面に逆流しない。
DB＝dermal backflow; ICG＝インドシアニングリーン

（図1b, 1c）。上肢または下肢の少なくとも一方にリンパ液の逆流が観察された場合はDBパターンありとした。

現在までの進捗および今後の展望

観察期間中，29例の先天性リンパ性胸腹水症例のうち除外となった3例を除く26例のデータについて統計解析中であり，本年度中に雑誌投稿予定である。

文　献

1）Attar MA, Donn SM. Congenital chylothorax. Semin Fetal Neonatal Med 2017;22:234-239.
2）Dori Y. Novel Lymphatic Imaging Techniques. Tech Vasc Interv Radiol 2016;19:255-261.
3）Turpin S, Lambert R. Lymphoscintigraphy of Chylous Anomalies: Chylothorax, Chyloperitoneum, Chyluria, and Lymphangiomatosis − 15-Year Experience in a Pediatric Setting and Review of the Literature. J Nucl Med Technol 2018;46:123-128.
4）Kato M, Watanabe S, Iida T, et al. Flow Pattern Classification in Lymphatic Malformations by Indocyanine Green Lymphography. Plast Reconstr Surg 2019;143:558e-564e.
5）Shibasaki J, Hara H, Mihara M, et al. Evaluation of lymphatic dysplasia in patients with congenital pleural effusion and ascites using indocyanine green lymphography. J Pediatr 2014;164:1116-1120.

小児低血糖症における flash glucose monitoring（FGM）を用いた血糖動態の評価

花川純子，平野泰大，朝倉由美
水谷陽貴，滝崎菜穂，室谷浩二

背　景

脳は大量のブドウ糖を消費する臓器であるため，低血糖は脳機能に著しい影響（けいれん，意識障害など）を及ぼし，重症の場合は永続的な後遺症を残す。小児の低血糖は原因が多様で，低血糖時の症状も非特異的な場合があり，しばしば診断に難渋する。小児の低血糖の原因が複雑な理由は，血糖上昇のための機構と低下のための機構の先天性の異常や低年齢による未熟性による疾患が含まれているからとされる。

低血糖の再発を防ぐためには，低血糖を生じた原因の検索が必須である。ケトン性低血糖症のように空腹が持続した場合に生じるものであれば病歴から推測が可能であるが，血糖調節機構の未熟性による低血糖症やダンピング症候群による低血糖症の場合は，しばしば持続血糖モニタリングが有用となる。また，高インスリン血症に起因する低血糖症の場合は，治療効果判定にも持続血糖モニタリングが有用である。

血糖値と間質液のグルコース濃度はおおむね平衡関係にあると考えられており，適切に設計された機械を用いて測定した間質液のグルコース濃度からおおよその血糖値を計算できるというのが，contiuous glucose monitoring（CGM）の基本的な考え方である。CGM には，大別して，患者が常時携帯してリアルタイムに血糖値と変化傾向を表示するタイプと，医療機関において過去の血糖変動を振り返るタイプの 2 種類がある。これらの機械は，現在，1 型糖尿病の患者に対して保険適応となっている。前者は，現在 sensor augmented pump（SAP）療法とよばれるパーソナル CGM（持続血糖モニタリング）機能を搭載したインスリンポンプ療法として使用するか，スマートフォン等のモバイル機器を介してデータを表示させる必要がある。一方，flash glucose monitoring（FGM）とは間歇スキャン型 CGM で，reader をかざすことで測定データを読みとることが可能であり，使用中に従来型の血糖測定器による校正を必要としないという特徴・利点がある。

現在小児低血糖症には，自己血糖測定のみ認められており，CGM は保険適応がない。そのため，より詳細な血糖経過を知るためには，頻回の血糖測定が必要となり，穿刺回数や採血量が増えることで患児に対する侵襲が大きくなる。加えて間歇的血糖測定の場合，測定前後に生じる無症候性の低血糖を知ることは困難であり，血糖経過の把握や治療戦略が不完全なものとなる場合もある。持続血糖モニタリングの低血糖に対する有用性は近年新生児領域でも報告が散見されるようになり[1]，当院でも CGM を用いて持続血糖モニタリングを安全に行なった実績がある[2]。加えて FGM も有効例が報告され始めている[3]。

病院内で使用する場合，電波を発するモバイル機器を使用しないデバイスが望ましい場合がある。また，小児の場合，常に受信器を携帯する必要がないほうが活動に制限がかからず，本人・家族に加え医療従事者の負担も軽減できる。かざすだけでデータを読み取るデバイスであれば低年齢の小児でも操作が可能となり，学校等で医療従事者以外の成人スタッフとも血糖値を共有することができるため，患児の低血糖を回避できる可能性がより高まる。

今回，FGM を用いて低血糖を生じた既往のある小児において，原因検索や血糖動態の把握，治

神奈川県立こども医療センター　内分泌代謝科

療効果判定を行った。

対象と方法

＜対象＞

①すでに低血糖症と診断されている児

例：先天性高インスリン性血症，肝型糖原病，ケトン性低血糖症等

②原因不明の低血糖を生じた既往のある児

ただし，ペースメーカー等，他の埋め込み型医療機器を使用している児は併用禁忌のため除く

＜方法＞

インフォームドコンセントを得たのちFGMを装着する

機器はAbbot社のFreeStyleリブレ®を使用する

最低8時間に1回は厚さ4 cm以内の衣服の上から血糖を読みとる

装着期間は連続14日間以内

入浴や運動に制限はないが，X線・CT・MRI検査の際には，センサーをはずす

評価項目：血糖変動

テープかぶれや刺入部の発赤等の皮膚トラブルの有無

結　果

すでに低血糖症と診断されている2名の患者においてFGMによる血糖評価を行った。

患者①　5歳　女児

先天性高インスリン血症による低血糖に対して，内服および頻回食事摂取による栄養療法中であった。オクトレオチド酢酸塩が先天性高インスリン血症による低血糖症に対して保険適応となったため持続皮下注射を導入した。効果判定および用量調節目的に外来でFGM装着を行った。

自宅で通常どおりの生活を行ったところ，午前4–8時すぎまでの血糖が低値であることが判明した（図1）。

オクトレオチド酢酸塩の持続投与量を午前4–9時まで増量し，再度FGM装着を行った。

早朝の低血糖が改善した（図2）。

血糖値が安定した結果，期せず低血糖が出現した際，自覚症状はない状態で気が付くことができ（図3），原因検索を行うことが可能であった。その結果，持続皮下注射を行っている携帯型ポンプのチューブトラブルでオクトレオチド酢酸塩の投与が中断されていたことが判明した。チューブの固定方法を工夫して，その後はトラブルを生じることなく過ごせている。

患者②　3歳　男児

ダンピング症候群による低血糖症に対して，ミルクアレルギーがあるためミルフィーの頻回注入（1日4回　1回200 mLを2回にわけて注入）と注入90分後のブドウ糖投与，夜間持続注入で対応していた。注入時間の調整のため入院の上，FGM装着を行った。

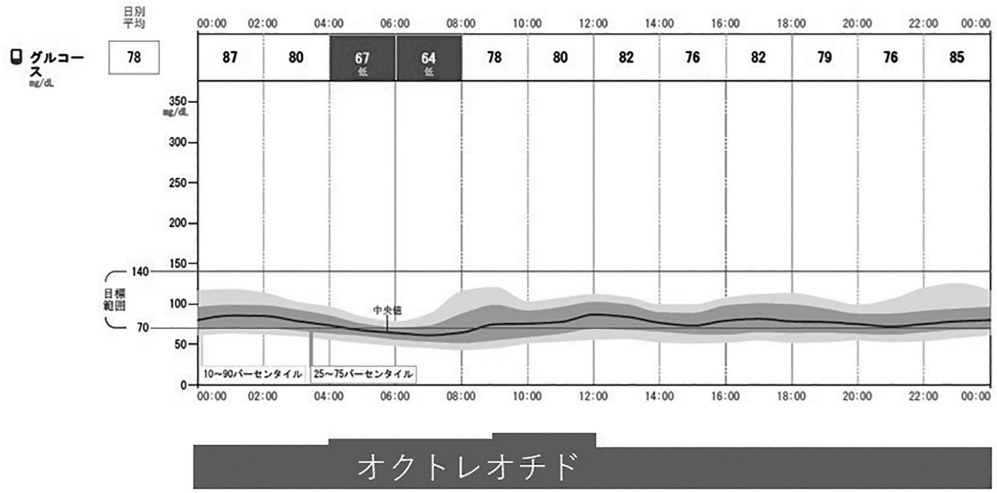


図1　血糖推移（患者① 持続皮下注射開始後　14日間の日内パターン）

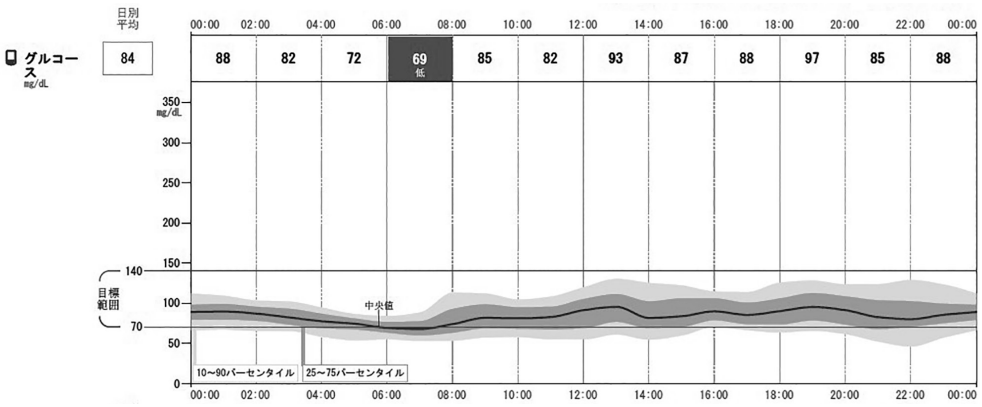


図2　血糖推移（患者① 用量調節後　14 日間の日内パターン）

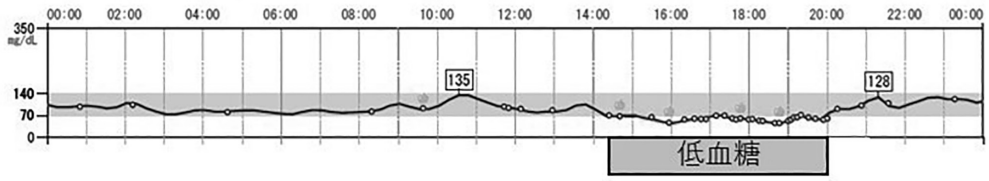


図3　血糖推移（患者①　低血糖が生じた日の日別記録）

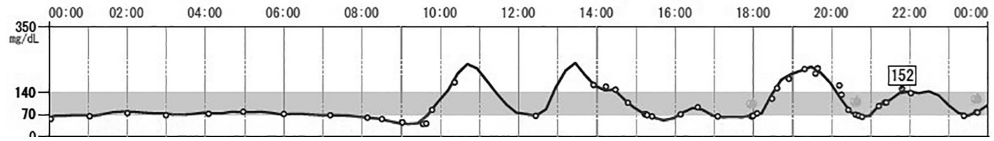


図4　血糖推移（患者②　間歇注入のみの日の日別記録）

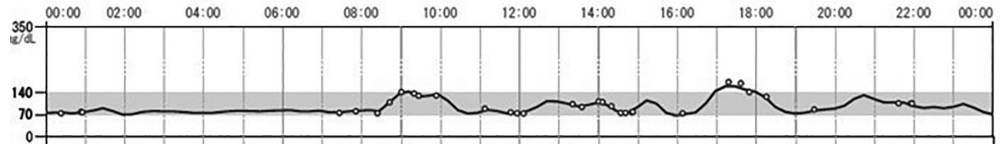


図5　血糖推移（患者②　注入時間・内容の調整後の日別記録）

ミルフィーの注入後，血糖値の急激な上昇と，その直後に起こる血糖値の急激な低下の状態が繰り返されており，ダンピング症候群に起因する低血糖であることが確認できた。また，夜間持続注入を中止すると早朝に低血糖を生じることが判明した（図 4）。

間歇注入を 1 回 250 mL を 3 回にわけて注入することに変更し，ブドウ糖投与と夜間持続注入を中止した。自宅で FGM 装着を継続したところ，注入後の高血糖，ダンピング症候群による低血糖が消失し，1 日を通じた血糖変動の安定化が確認された（図 5）。

両患者とも，皮膚トラブル等の合併症なく 14 日間 FGM 装着が可能であった。

考　察

2 患者とも，間歇的血糖測定ではわからなかった低血糖を含め血糖推移を安全に評価することが

可能であった。その結果，低血糖予防に効果的な対応をとることができ血糖変動が安定した。

自宅でFGM装着を継続することにより，普段の生活での血糖推移を評価することができ，本人・家族と正確な血糖情報の共有が可能となった。

穿刺による血糖測定回数を増やすことなく24時間持続的な血糖推移を評価できたため，本人・家族の負担を軽減できた。

今後の予定

有効性および安全性評価のため，さらなる症例の蓄積を目指す。

文　献

1）水本洋. NICUにおけるCGM（continuous glucose monitoring）の応用. 日本新生児成育医学会雑誌 2019;31:323-327.

2）友滝清一. リアルタイム持続血糖モニタリングを用いた新生児の血糖管理. こども医療センター医学誌 2017;46:139-140.

3）東條達也, 柘植智史, 谷口弘晃, 他. 新生児高インスリン性低血糖症に対するCGM（continuous glucose monitoring）の使用経験. 日本新生児成育医学会雑誌 2019;31:791.

先天性大脳白質形成不全症に関連する遺伝子のスプライシング異常の解明

新保裕子[1)]，後藤知英[2)]，黒澤健司[3)]

はじめに

遺伝子の選択的スプライシング制御の破綻が疾患の原因となり，その1つに深部イントロンの変異が挙げられる[1-2)]。

オリゴデンドロサイトに発現しているPLP1遺伝子は，7つのエクソンから成り，PLP1（277アミノ酸）とエクソン3の後半35アミノ酸が欠落したDM20（242アミノ酸）の2つのスプライシングバリアントが存在する。PLP1（277アミノ酸）は主に中枢神経のオリゴデンドロサイトで発現し，PLP1/DM20の比率低下が髄鞘化形成異常を惹き起こす。

PLP1遺伝子異常は，先天性大脳白質形成不全症 pelizaeus–merzbacher disease（PMD），spastic paraplegia 2（SPG2）の原因となり[3)]，重複，点変異，欠失，挿入，スプライシング異常が知られる。

最近，新たな病態 hypomyelination of early myelinating structures（HMES）を持つ患者群から，PLP1遺伝子の深部イントロンに変異が報告されている[4-6)]。

今年度は，当センターで解析した深部イントロンの新規変異について，スプライシングへの影響を細胞で評価した。図1にイントロン3の2次構造と変異報告を示す。さらに，レスキュー実験として，pre-mRNAを安定化させるために，変異部位と結合する相補的な部位に変異を入れたダブル

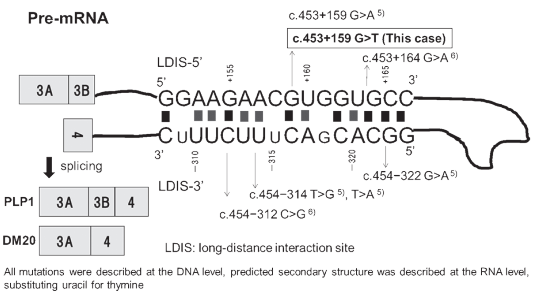


図1　*PLP1* イントロン3の2次構造（予測）と変異報告

1）神奈川県立こども医療センター　臨床研究室　　2）同　神経内科　　3）同　遺伝科

変異体（レスキュー）を作製し，スプライシングが正常化されるかどうかを検証した。

方　法

1．PLP1 発現細胞の培養

PLP1 の遺伝子発現があるオリゴデンドロサイト前駆細胞株（Oli-neu）を国立精神・神経医療研究センター 井上健先生より Dr. Jacqueline Trotter（University of Mainz, Germany）[7] の承諾を得て譲受した。Oli-neu 細胞は Poly-Lysine コートしたシャーレ，SATO medium+1 % horse serum を用いて培養した。

2．プラスミドベクター構築

RNA 転写産物の解析に用いるエクソントラップベクター（pET01, MoBiTec GmbH, Germany）に，エクソン 3–5 を含む野生型および変異型のインサート DNA を導入する。変異型に関しては部位特異的変異導入法（Mutagenesis kit, Toyobo, Japan）を用いて作製した。

3．mRNA 転写産物の解析

Oli-neu 細胞 1×10^4/ well（24 well plate）を播種し，3 日後にリポフェクタミン 2000（Invitrogen, USA）を用いて，野生型および変異型のプラスミドを導入し，2 日後に RNA を抽出（Isogen, Wako, Japan），逆転写反応により RNA から cDNA を合成し（PrimeScript RT Master Mix Takara, Japan），cDNA を鋳型として PCR を行った。

4．in silico 解析

Pre-mRNAの安定性は，mfold program（http://mfold.rna.albany.edu/?q=mfold/RNA-Folding-Form）を用いて検討した。

結　果

mRNA 転写産物の解析

Reverse Transcriptase PCR の結果，変異型では PLP1 の発現量が激減し，PLP1/DM20 の発現比率も低下したが，ダブル変異により PLP1 の発現量と PLP1/DM20 の発現比率が正常化した（図 2）。

Pre-mRNA の安定性

mfold program の解析結果，変異型（c.453+159 G>T）は野生型と比べて不安定な構造を持つが，ダブル変異（c.453+159 G>T＋c.454–316 C>A）では安定化することが示された（図 3）。

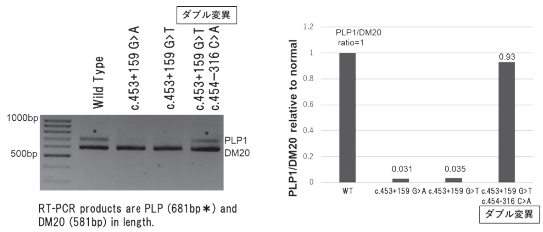


図２　mRNA 転写産物の解析結果

電気泳動写真（左），PLP1/DM20 の比率（右）コントロールの野生型を 1 とする 変異型では PLP1 の発現量が激減し，PLP1/DM20 の発現比率も低下する。ダブル変異では PLP1 の発現量と PLP1/DM20 の発現比率が正常化する。

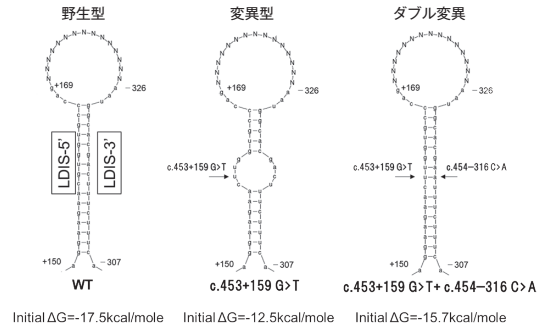


図３　*PLP1* イントロン３の pre-mRNAの２次構造の安定性（*in silico*）

野生型（左），症例（中央），ダブル変異（右）
LDIS: long-distance interaction site

考　察

PLP1 のイントロン 3 のスプライシングエンハンサー領域欠損による PLP1/DM20 の発現比率の低下と髄鞘化形成不全症との関連についてはマウスモデルを用いた研究において報告されている[8]。今回，当センターで解析した PLP1 イントロン 3 の一塩基変異（c.453+159 G>T）による PLP1/DM20 の発現比率の低下を細胞実験で証明した。c.435+159 の G（グアニン）は相補的な部位 c.454–316 の C（シトシン）は両方 3 つの水素結合を有するため安定した構造をとるが，c.435+159 が T（チミン）に置換することで，T は 2 つの水素結合のため不安定な構造になる。そこで，相補的な部位 c.454–316 を C から 2 つの水素結合をもつ A（アデニン）に置換して，2 つの変異体を導入したレスキューモデルを作製し，検証したところ PLP1/DM20 の発現が正常化された。この結果より，イントロン深部の long-

distance interaction site は，図 3 で示すような構造を持ち，相補的な構造を安定化させることで正常なスプライシングが起こることが示唆された。

文　献

1）Faustino NA, Cooper TA. Pre-mRNA splicing and human disease. Genes Dev 2003;17:419-437.

2）Vaz-Drago R, Custódio N, Carmo-Fonseca M. Deep intronic mutations and human disease. Hum Genet 2017;136:1093-1111.

3）Inoue K. PLP1-related inherited dysmyelinating disorders: Pelizaeus-Merzbacher disease and spastic paraplegia type 2. Neurogenetics 2005;6:1-16.

4）Steenweg ME, Wolf NI, Schieving JH, et al. Novel hypomyelinating leukoencephalopathy affecting early myelinating structures. Arch Neurol 2012;69:125-128.

5）Taube JR, Sperle K, Banser L, et al. PMD patient mutations reveal a long-distance intronic interaction that regulates PLP1/DM20 alternative splicing. Hum Mol Genet 2014;23:5464-5478.

6）Kevelam SH, Taube JR, van Spaendonk RM, et al. Altered PLP1 splicing causes hypomyelination of early myelinating structures. Ann Clin Transl Neurol 2015;2:648-661.

7）Trotter J. The development of myelin-forming glia: studies with primary cell cultures and immortalized cell lines. Perspect Dev Neurobiol 1993;1:149-154.

8）Wang E, Dimova N, Sperle K, et al. Deletion of a splicing enhancer disrupts PLP1/DM20 ratio and myelin stability. Exp Neurol 2008;214:322-330.

質量分析システム（LC-MS/MS）を用いた血中ステロイド一斉分析法の構築（最終報）

室谷浩二[1)]，岩野　麗[2)]，花川純子[1)]
朝倉由美[1)]，安達昌功[1)]

はじめに

ステロイドホルモンは，副腎および性腺（精巣，卵巣）において，コレステロールから多段階の酵素反応を経て生合成される（図 1）。従来，ELISA などの免疫学的測定法により目的とするステロイド成分を 1 つずつ個別に測定していたため，各成分あたり 0.5−1.0 mL の採血量が必要で，小児（特に，新生児や早産児）では，多数のステロイド成分を同時に測定することが，しばしば困難であった。加えて，測定に用いられる抗体の特異性が必ずしも高くなかったため，目的とするステロイド成分を正確に定量できず，偽高値や偽低値を呈する結果，誤診断の可能性すらあった。さらに，新生児や早産児は，胎児副腎皮質由来ステロイドの干渉に起因する 17-OHP やテストステロンの偽高値がしばしば問題となり，先天性副腎過形成の確定診断や，非典型的な外性器形態（ambiguous genitalia）を有する新生児における迅速かつ正確な性別決定が困難な場合があった。

本研究の目的は，質量分析システム（LC-MS/MS）を用いて，血中の各種ステロイド成分を高い感度と特異性で同時定量測定できる系を確立すること，である。新生児や早産児でしばしば認められる，胎児副腎皮質由来ステロイドの干渉に起因する 17-OHP やテストステロンの偽高値を回避することにより，新生児マススクリーニングで見いだされた 17-OHP 高値における正確な診断とその後の治療フォロー，非典型的な外性器形態

1）神奈川県立こども医療センター　内分泌代謝科　　2）同　臨床研究室

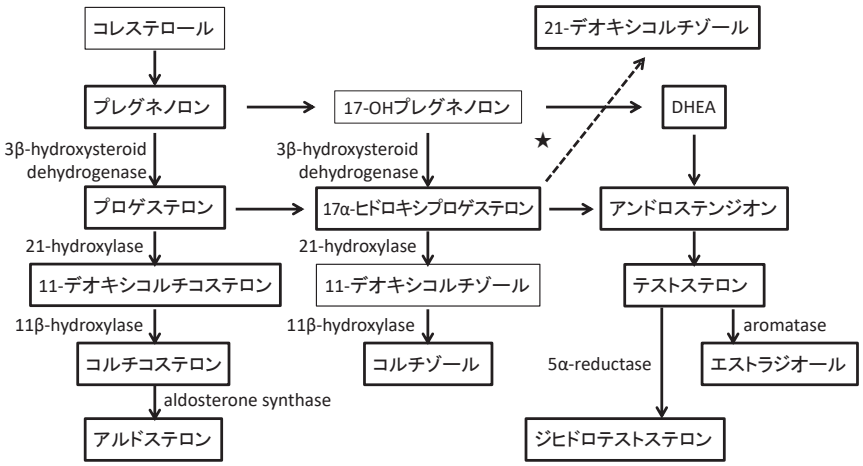


図1　ステロイドホルモン生合成

ステロイドホルモンは，副腎および性腺（精巣，卵巣）において，コレステロールから多段階の酵素反応を経て生合成される。★は，21 水酸化酵素欠損症など，17-OHP が上昇した時に起こる反応である。本研究で分析予定のステロイドを，太実線四角で囲んで示す。

（ambiguous genitalia）を有する新生児における迅速かつ正確な性別決定が可能となる。

研究成果の要約

（1）多重モニタリング（MRM）分析系の設定

当院が保有する質量分析システム“トリプル四重極型 LC-MS/MS 分析システム”Triple Quad 4500（Sciex）を用いて，13 種類のステロイドと 25 水酸化ビタミン D の多重モニタリング（MRM）分析の系を確立した。13 種類のステロイドとは，コルチゾール，アルドステロン，テストステロン，エストラジオール，ジヒドロテストステロン，プレグネノロン，プロゲステロン，11-デオキシコルチコステロン，コルチコステロン，17α-ヒドロキシプロゲステロン（以下17-OHP），21-デオキシコルチゾール，デヒドロエピアンドロステロン，アンドロステンジオンである（図 1）。

（2）患者検体の定量

21 水酸化酵素欠損症を含む患者の解析を行い，その成果を，日本マススクリーニング学会誌に論文投稿し，原著論文として受理された[1)]。当院で診療を継続している 21 水酸化酵素欠損症（21-OHD）の患者 12 名と副腎低形成性症（DAX1 異常症）の患者 2 名の残血清を用いて解析を行った。

21-OHD 患者では，ほとんどのステロイドホルモン成分が測定されたが，エストロンについては検出されない検体が多く観察された。同様に，DAX1 異常症の患者検体においてもエストロンは検出されなかった。

本法（LC-MS/MS 法）での測定値と従来法である ELISA 法での測定値を比較検討した結果，21-OHD 患者では，テストステロンの測定値は LC-MS/MS 法と ECLIA 法での測定値の間には差がほとんど観察されなかった。また，DAX1 異常症患者も同様に，LC-MS/MS 法と ECLIA 法での測定値には差がほとんど観察されなかった。

21-OHD 患者における 17-OHP の測定では，両者の測定値の間に大幅な乖離が観察され，どの検体においても ELISA 法での測定値の方が高値を示した。

ELISA 法と本法での測定値の相関を図 2 に示した。各ステロイドホルモン成分における相関係数は，17-OHP：0.69，コルチゾール：0.99，テストステロン：0.82 であった。相関係数の有意性を検定したところ，検定統計量（t）は，17-OHP：2.547，コルチゾール：24.248，テストステロン：3.770 であった。P 値は，17-OHP：0.038，コルチゾール：5.12×10^{-8}，テストステロン：0.007 で

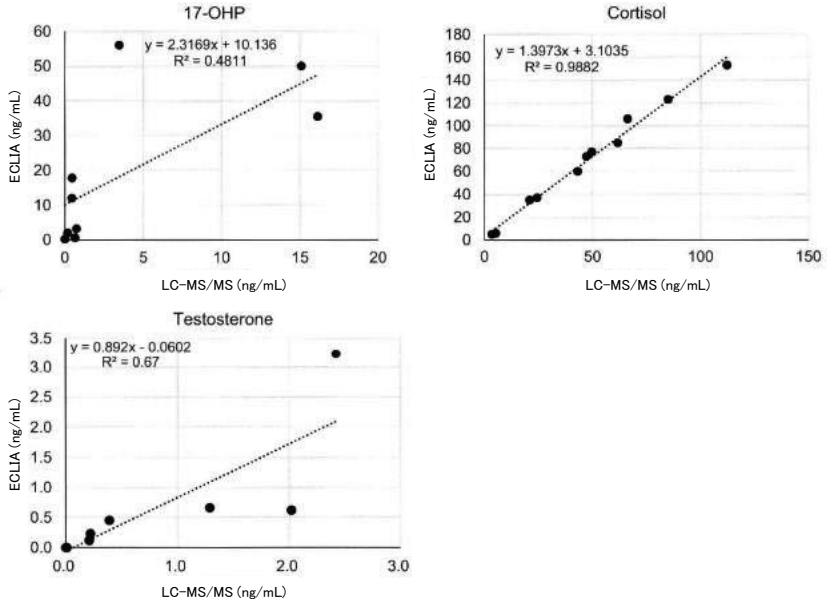


図２　ECLIA 法と LC-MS/MS 法での血中ステロイド測定値の相関
３種類の血中ステロイドホルモン（17-OHP，Cortisol，Testosterone）について，ECLIA 法と LC-MS/MS 法での測定値の相関を示す。

あった。この結果から，コルチゾールとテストステロンは，LC-MS/MS 法と ECLIA 法での測定値間の相関係数に 1 %の有意水準があり，17-OHP は，LC-MS/MS 法と ELISA 法での測定値間の相関係数に 5 %の有意水準があることが示された。

考　察

21-OHD の患者では，21-水酸化酵素が欠損しているため，17-OHP が 21-水酸化を受けられず高値を呈する。加えて，過剰な 17-OHP が 11-水酸化酵素により 11-水酸化を受けて 21-DOF が産生され，高値を呈する。このため，21-DOF は 21-OHD の新たな診断指標として有用であると考えられる。しかしながら，本検討では，17-OHP 高値かつ 21-DOF 高値であった検体は，2 例のみであった。他に 17-OHP 高値の症例は 6 例あったが，21-DOF は低値（コントロールと同じレベル）であった。この結果に対する明確な原因は不明であるが，治療による影響が考えられる。すなわち，17-OHP 値が低い場合，21-DOF への変換が起こらない可能性が考えられる。したがって，21-OHD を診断する際に，17-OHP の数値だけではなく，21-DOF も同時に定量することで診断がより確実となる可能性があること[2]，経過フォロー中のコントロール指標に 21-DOF 値が有用である可能性があること，が推測される。

本研究で検討した LC-MS/MS を用いた測定法を CAH スクリーニングの陽性例の精密検査受診時の確定診断に用いることにより，胎児副腎皮質由来ステロイド成分の干渉に起因する 17-OHP の偽高値を回避することが可能となり，21-OHD の診断精度が高まると考えられる。ただし，17-OHP の数値だけで 21-OHD を判断するのではなく他のステロイドホルモンを同時に測定することで，ステロイドホルモン比などを用いて判断することも必要である。また，21-OHD 以外のステロイドホルモン合成障害の鑑別診断もステロイドホルモンを同時に測定することでホルモン動態が明確となり，診断精度が高まると考えらえる。

今後の計画

21 水酸化酵素欠損症患者の検体をさらに集積し，各種ステロイド成分の測定，日内変動の検討を予定している。

加えて，エストロンやエストラジオールの測定感度に問題があることが判明したため，これらの測定感度を改善するための方法を検討する方針である。

文　献

1）岩野麗子, 花川純子, 朝倉由美, 他. 高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計を用いた血中ステロイドホルモン一斉分析法の構築. 日本マススクリーニング学会誌 2019;29:31-37.

2）Fiet J, Le Bouc Y, Guéchot J, et al. A Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectometry Profile of 16 Serum Steroids, Including 21-Deoxycortisol and 21-Deoxycorticosterone, for Management of Congenital Adrenal Hyperplasia. J Endocr Soc 2017;1:186-201.

重症心身障害児への働きかけと発達に関する研究

井合瑞江[1,2]，辻　恵[1,2]，柳川智志[3]
原　伸一[3]，山口恵美[4]，熊田直亮[4]

要　旨

表出表現の乏しい重症心身障害児への働きかけに対する反応を客観的にとらえて，療育へ反映させ発達につなげることが本研究の目標である。昨年度まで心拍変動解析による自律神経活動変動，ビデオ撮影による観察を指標とし音楽や音・匂いに対する変化を検討し反応性の乏しい症例も含めて本人なりの捉え方の違いを示唆する解析結果を得ている。個別性を踏まえた働きかけのため今年度は終日人工呼吸器依存幼児例において，心拍変動解析を用いて日中生活・療育活動中の変化について検討した。“手を触れて話しかける”働きかけ開始時の反応はLF／HF上昇・HF低下としてとらえられ，続けることや反復で反応は変化していた。具体的な働きかけを続けることによる反応の変化を詳細かつ継続的に検討する必要性が示された。

はじめに

重症心身障害児（者）（以下，重症児（者））の重度化・重複化は医療の進歩とともに進んでいる。知的・運動障害のみならず脳神経系・脳幹機能障害を伴い，人工呼吸器などの医療機器や医療的ケアが生活にかかせない状態となる子どもたちが増えている。表出機能の障害が重く，反応性の乏しい重症児（者）が含まれ，医療や安全が優先された制約の多い環境の中で過ごさざるをえないことが多く見受けられる。

施設で過ごす子どもたち１人１人に発達の可能性はあり，私たちは生理学的指標も取り入れた発達や働きかけの検討を続けている。本人はどう感じているのか，どのような働きかけや支援が良いのか，表出の乏しいケースにおけるコミュニケーションを念頭に日々の活動につなげたい。

今年度は昨年度から引き続き，表情や四肢・口の動きなどから反応や情動を判断することが難しい当院施設入所者１名（以下，対象者）に対し，心拍変動解析を中心として，１日の生活場面と療育活動中の変化について解析検討した経過を報告する。

対象・方法

１．対象

当施設入所中の溺水後遺症による重症心身障害

1）神奈川県立こども医療センター　神経内科　　2）同　重症心身障害児施設　　3）同　発達支援部
4）同　重心生活支援課

幼児 1 例。GMFCS-V，追固視なく，顔の表情変化なし，開閉眼不十分，開口・嚥下運動不可。終日人工呼吸管理，経管栄養。随意運動なし，流涙や一過性の不規則紅斑出現あり。頭部 MRI では大脳・深部灰白質のびまん性委縮と被殻の嚢胞性脳軟化症を認める。脳波は正常背景脳波はみられず頭頂後頭優位な棘波あり，臨床的発作は同定しにくいが脳波上の発作を認める。

2．方法

生活場面におけるさまざまな感覚刺激（聴覚，視覚，触覚等）や遊びに対する対象者の反応を心拍変動解析（Memcalc/Bonary light® GMS 社製）を用いて評価する。心拍変動解析は，心電図の RR 間隔の変動から算出される周波数解析で，周波数スペクトルの低周波数成分を low frequency（LF），高周波数成分を high frequency（HF）とし，自律神経機能評価に使用され[1)]，副交感神経指標が HF，交感神経指標が LF／HF とされる。心拍数（HR）も計測する。分析期間は 2020 年 4 月－2021 年 3 月とした。

3．検討課題

1）日中生活場面での記録
　吸引や注入，体交などの処置による変化

2）療育活動場面における変化
　手を触る：右または左，手背から指にかけてゆっくり触れる
　声かけ：「おはよう」「タッチタッチ」「呼名とお話」

“手を触れて話しかける”行為は記録の有無にかかわらず，呼名と肩動かし後のルーチンとして同一実施者により毎週 3 日以上は反復して行われた。心拍変動解析による評価時は上記の刺激を 1 分間，休憩を 1 分間で繰り返した。

なお対象者の保護者には研究の主旨を説明し，文書にて同意を得た。

結　果

2020 年 4－10 月までに 6 日間，日中記録を行った。うちデータ解析が可能であったのは 4 日間であった。

1．日中生活場面での記録

処置（おむつ交換・体交・吸引・ベッドからの移乗の組み合わせ）は 4 回とらえられた。LF／HF 上昇，HF 低下パターンとなり，HR は軽度上昇した。

昨年度の検討と同様の結果であった。

2．療育活動場面での心拍変動解析

日中に繰り返し実施された呼名と肩動かし後の“手を触れて話しかける”働きかけ時における心拍変動解析では（2020 年 7 月 30 日，1 回），呼名後の肩動かしで LF／HF 上昇，HR 上昇し，手の触れ始めに LF／HF 上昇，HF 一旦低下後，徐々に LF／HF は低下し，HF が上昇した。刺激がなくなると HF は低下した（図 1）。

1 分間“手を触れて話しかける”行為を 4－5 回反復する心拍変動解析は 2020 年 4 月と 10 月の 2 回評価となった。4 月施行結果では 1 回目の左手

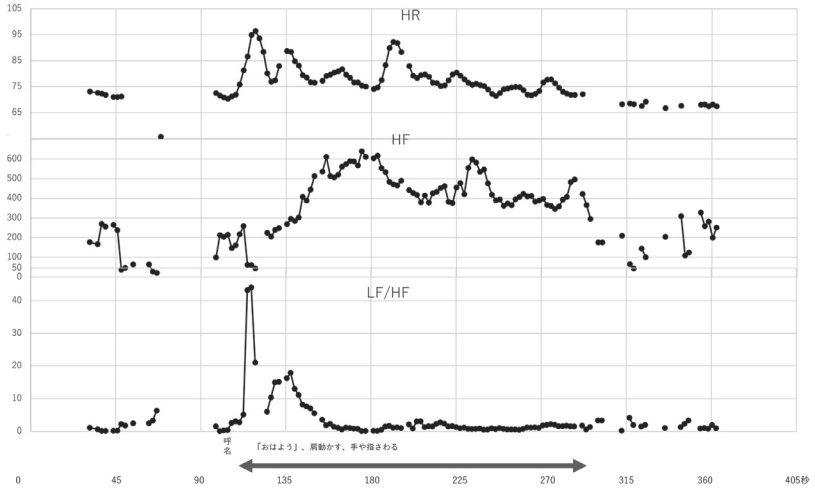


図 1　働きかけ（呼名から肩動かし，手・指に触れる）中の心拍変動解析

タッチ＋声かけ「タッチタッチ」で明確なHR，LF／HFは上昇，HFの一過性低下を認めた。その後の刺激反復中，LF／HFは小幅な上昇と休憩中の低下を反復し，HR変化はやや遅れて同様の動きを示した。HFは1回目刺激中に一過性低下後に上昇し，以後は刺激・休憩での動きは一定せず徐々に低下する経過を示した。10月施行結果では初回刺激でLF／HF上昇がわずかに認められたが，以後は刺激・休憩に伴う変化は一定せず，検査中全般にLF／HF低下傾向がうかがえた。HF，HRは一定の変化を示さなかった。

考　察

重症児（者）における心拍変動解析については交感神経系活動LF／HFが健常人のような日内変動がみられず，副交感神経系活動HFのみが自律神経機能の評価指標となりうるという報告[2]やや睡眠時自律神経活動でHFの低下とLF／HFの優位性が示された報告[3]などがあり，中枢神経系の異常に基づく病態の特異性を反映している。対象者は昨年度の検討から通常の日内パターンとは異なり，睡眠中LF／HFが高くHFは高値とならない交感神経活動が優位なパターンが明らかとなった。また，HRが高い時間帯ではHF低値，覚醒中のかかわりに反応してLF／HFが高値となる一定の反応を示し，心拍変動解析による評価により対象者がかかわりをしっかり受信していることが推測された。HFは肺伸展受容器が発する呼吸周期の揺らぎによるため呼吸異常とHF低値の関連が考えられているが対象者ではHFが一定して低値となることはなかった。

今回，処置時にはLF／HF上昇，HF低下，HR上昇のパターンが明らかとなった。このような反応は対象にとって不快・苦痛または驚きなど大きな感情の動きとしてとらえている可能性が示された。また，“手を触れて話しかける”ことについては評価回数が少なく結論とすることは難しいが，刺激の始まりはLF／HF高値が明らかであり，反復することで変動幅は低下した。また，4月検査と比して10月検査では刺激の始まり時のLF／HF上昇が少なくなり，“手を触れて話しかける”行為を日常的に行っていたことが何等かの影響をもたらした可能性がある。同じ働きかけでも捉え方の変化に影響を及ぼすさまざまな要因が考えられる。覚醒度や体調，周囲の環境，けいれん発作など，生理的なものから情緒的なものまで多くの要因が想定される。反復される働きかけへの学習が心拍変動解析の変化に関わる1つの要因となる可能性もあり，継続的かつ詳細な検討が必要である。

今までのわれわれの検討では，提示された刺激に対する反応には個別性があり，重症心身障害児とひとくくりにできないことが示される。また「大好き・喜び・笑い」でLF／HFが上昇し，「耳をすませて集中」「鎮静的曲」でHFが高くLF／HF低下も報告した。昨年度と同様に，働きかけの始まり時の反応が明確だったことは環境場面の変化に際し，何等かのサインを提示することが本人の理解を評価する上で有用である可能性を示唆している。また，刺激や環境設定を同じスケジュールで繰り返したことで受け止め方が変化していくのか，発達や学習という視点をもって，今後も個々への適切な働きかけについて継続的に評価・検討することが必要である。

まとめ

1．重症児（者）における感覚刺激・環境変化の受け止め方の客観的指標として，心拍変動解析による評価は有用である。
2．反応の乏しい重症児1例で心拍変動解析を行い，処置や“手を触れて話しかける”働きかけの始まり時にLF／HF上昇，HF低下が明確であった。刺激反復により反応は変化した。
3．個別性を配慮した対応と評価を確立するため，さらなる検討継続が必要である。

文　献

1）Montano N, Ruscone TG, Porta A, et al. Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. Circulation 1994;90:1826-1831.
2）北川かほる. 種子島幸男. 藤井誠, 他. 心拍変動解析を用いた重症心身障害児(者)の療育評価に関する検討. 日本重症心身障害学会誌 2011;36:509-515.
3）松井学洋, 中井靖, 高田哲. 重症心身障害児の睡眠時自律神経活動の特徴. 脳と発達 2017;49:260-266.

低出生体重児フォローアップにおける3歳時までの特徴

尾方　綾，大出幹子，蒲池和明
高橋未央，後藤　恵，佐久間麗
伊藤朱真理，藤重千聡，広瀬真紀子
高野則之

問　題

近年の新生児・周産期医療の進歩により，超低出生体重児の死亡退院率は改善しており，我が国の超低出生体重児の死亡率の低さは世界的にみてもトップレベルである[1)]。一方で，より未熟な児や重症例の生存が増加している。そのようなハイリスク児は，脳性麻痺や知的障害，視力障害および聴力障害などの神経学的合併症の頻度が高いとされ，神経学的合併症のない児であっても，出生体重の低い児では，身体発育，精神運動発達は正期産児とは異なる[2)]。

早産児低出生体重児，慢性疾患を合併した児，神経学的問題を合併した児，多胎児，先天異常を認める児などのハイリスク児を対象とし，フォローアップ健診が行われている[3)]。ハイリスク児フォローアップ研究会によってKey Ageが定められており，修正1歳6ヶ月，3歳，6歳（就学前健診），9歳（小学校3年生）で発達・知能検査の実施が必要とされている[3)]。

近年では，脳性麻痺，知的障害，聴力障害などの明らかな障害を残す率は著しく減少しているのに対し，早産児極低出生体重児の不器用さの問題，学業成績の不振，軽度発達障害の症状としてとらえられる行動の問題，高次脳機能障害などを持つ児の存在がより注目されるようになってきている[4)]。

長谷川らは，修正年齢5歳までのフォローで身体発育および運動発達の長期予後の予測はほぼ可能だが，学習障害などの微細神経障害を含む精神発達の評価には学童期までのフォローが必要であるとしている[5)]。

金澤らは，平均年齢8歳の超低出生体重児を対象に，認知発達や発達障害，さらに行動問題を中心に予後の特徴を明らかにし，予後に影響を与える周産期因子や環境因子を明らかにすることを目的として調査を行っている[6)]。それによると，学習障害（LD）の出現率は25.8％と比較的高い結果となった。また，Conners親用評定尺度で何らかの行動問題が見られた児の割合は，超低出生体重児で51.5％となり，対照群と比べて有意に高かった。予測因子としては，入院日数が短いほどIQが高く，年収が多い家庭，出生体重が重い児ほどIQが高いという関係が認められた。注意欠如／多動性障害（ADHD）に関しては，出生体重SDが低いほど中核症状である不注意，多動性，衝動性といった特徴が強く表れる傾向が示されたが，そうした行動問題が兄弟姉妹（同胞）の人数など家庭環境による刺激を受けて軽減しうる可能性も示された。

平澤らは，WISC-ⅢのFIQは出生時体重や出生在胎週数と有意な相関を示したことから，早産低体重は軽度の知的障害のリスクとしている[4)]。また，FIQが100を超える児ではVIQ（言語性IQ）がPIQ（動作性IQ）より優位に高い児を48.5％に認めており，児への対応において視覚認知力を補うために言語による解説をつけるなど特別な配慮も必要としている。また，軽度発達障害の症状は3，4歳ではわかりにくいことが多く，3歳時に発達検査の指数のみに注目していると問題なく順調と判断されてしまうことになるので，発達検査のみならず行動面の特徴の把握など詳細な評価を行い，それに基づいてその時期の児にどのよう

神奈川県立こども医療センター　臨床心理科

に対応していくのかなどの保護者への有効な支援策を検討提案するように留意すべきであるとしている。

発達障害が社会的に注目を浴びるようになってくるにつれ，軽度発達障害を持つ可能性を疑う児の保護者の不安を軽減し，児の問題に適切に介入，支援について方策を考えていくことが重要になってきている[4]。近年では発達障害の早期発見・早期療育が課題となっている。自閉症スペクトラム（ASD）のある子どもは早期療育を行うと，行動の改善や発達の促進に良い結果をもたらし，さらに家族の子どもに対する理解を深めるよう働きかけることで，支援は長く続き，生活の広い範囲に広がり，その結果，成人後の社会適応とQOLを高めるとされている[7]。また，早期発見の意義について，介入を早期から始める方が親の心理教育的支援の効果が上げやすいことでもあるとされる[8]。他の子どもとわが子を比べて気に病むことや，自分の育て方に自信を持てずにいることが長く続くことによって，親は慢性的なストレスにさらされるが，介入開始の時期が早くなることにより，そのような状態をより早く抜け出し，見通しと意欲を持って育児に当たることができるような支援が可能となるとされている[8]。一方で，発達の早期段階での障害の見極めは容易ではなく，保育所・幼稚園などでの集団生活においていわゆる“問題行動”が顕在化し，保育者が対応に苦慮する事例が報告されている[9]。

儀間は，極低出生体重児のフォローアップ健診で1歳6ヶ月・3歳時に実施した問診評価の結果と6歳時の発達の関連を検討しており，フォローアップ健診で用いる問診表はハイリスク児を適切にフォローアップし，その後の発達を支援する上で有用な情報を多く含んでいること，3歳時の問診にそれがより顕著であることを示している[10]。

当センターではハイリスク児のフォローアップ（以下フォローアップ）として，臨床心理科臨床心理士が発達・知能検査を実施し，結果を基に保護者と話し合いを行い，児の発達状況や発達特性など理解を深めたり，必要な対応や介入について検討を行っている。また，新生児科主治医とも結果を共有し，必要に応じて多職種と検討したり，療育機関を利用することを勧めている。また，フォローアップを行う中で早期に児の発達特性を把握し，必要な支援に繋げることができるよう，Key Ageの初回となる修正1歳6ヶ月での発達検査実施時に，新版K式発達検査2001（K式）に加えて，親記入式乳幼児自閉症チェックリストmodified checklist for autism in toddlers（M-CHAT）を併せて実施している。発達検査結果に加えM-CHAT結果から，気になる特性を有する児として挙げられた場合，Key Ageである3歳の発達評価を待たずに修正2歳頃に発達検査の再検査を行ってきた。その中で，発達検査結果とM-CHAT結果に乖離があり，Key Ageを待たずして発達フォローが必要と判断されるケースが一定数あることや[11]，修正1歳6ヶ月時にM-CHATが不通過であった児らは3歳時までにキャッチアップが難しい可能性があることが示された[12]。また，6歳時に実施したWISC-Ⅳ知能検査の結果を検討したところ，全検査IQの平均は同年齢集団の中で平均的な水準であった一方，ワーキングメモリーに落ち込みが見られる割合が目立つことが示された[13]。また，このような個人内差の大きい対象児たちの7割程度はM-CHATを通過しており，知的能力の個人内差の大きさは修正1歳6ヶ月時のM-CHATの結果からは予測がしきれないことが示唆された[13]。また，修正1歳6ヶ月の検査時に心理士が気になる要素と捉えた特性は，M-CHATの通過／不通過といった単純な振り分けのみならず，主に家族や心理士との交流の中で，時に関与しながら観察を行う中で把握可能であると考えられた[12]。

自閉症を含む発達障害をできる限り早期に発見し，適切な支援につなげていくためには，子どもの発達を多様な角度から確認できる1歳6ヶ月および3歳児を対象とした健康診査（乳幼児健診）の場等で早期発見し，早期支援につなげることが特に重要であるとされ，乳幼児健診における発達障害の早期発見については，発達障害者支援法第5条において，市町村は，乳幼児健診を行うに当たり，発達障害の早期発見に十分留意しなければならない旨定められている。2017年1月に，総務省より，「発達障害者支援に関する行政評価・監視結果に基づく勧告」が公表され，厚生労働省における乳幼児健康診査における発達障害の疑

われる児童の早期発見に資する取組の促進について勧告もあった。その中で効果的な取組事例として，“定期的な巡回等による子どもの状態の把握”，“継続的・長期的なフォロー”などの他に，自治体内部の体制や外部との連携の重要性についてあげられる[14]。高木らによると，横浜市では，平成26年度の療育センターにおける新規相談の紹介元の全体の40％は乳幼児健診による早期発見である[15]。1歳6ヶ月児健診，あるいは3歳児健診において，発達障害を疑う幼児に対して，非常勤心理士による幼児相談，地域療育センターの多職種スタッフ（医師，心理士，福祉士）による療育相談を経て，地域療育センターでの診療へつながっていく場合が多い。幼稚園・保育所による早期発見は18％，医療機関による早期発見は13％である。医療機関による早期発見では，妊娠中～出産直後からさまざまな医学的治療を要した児が，急性期治療後，あるいは退院後に療育目的で紹介されることが多く，そのような乳児期から療育センターを訪れる利用者の多くが，医療機関からの紹介である。

上記のように，発達障害の早期発見について，地域の乳幼児健診が大きな役割を果たすと考えられる。そのため，フォローアップにおいても，乳幼児健診を受けているか，地域とつながっている児や家族なのかといったことを確認することも重要なポイントであると言える。これまで当科では，M-CHATで不通過であった児および心理士が気になった児について，より丁寧にサポートを行うことを目的として修正2歳頃でも再検査を実施してきたが，地域での支援体制も確立されていく中，そのような面も考慮し，より多角的に判断し，フォローアップの時期などを決める必要がある。

目　的

これまでのようにフォローアップで検査を実施し，その結果を基に保護者と児についての理解を深め，対応について考えることも重要であるが，より継続した支援が可能である地域の療育機関などにどのように移行するのかということも重要である。これまでは修正1歳6ヶ月時のK式の結果だけ判断するのではなく，M-CHATの結果などから総合的に判断して修正2歳時にも再検査を行うなど，丁寧なフォローアップを行った。ただし，地域での支援体制が変化する中で，今後の当科でのフォローアップのやり方についても見直す必要がある。そのためには，これまでの当科の取組を振り返り，評価を行う必要がある。

そこで，これまでにフォローアップを実施した児を対象とし，修正2歳時での再検査が必要と考えられた児の特徴や，療育機関など地域の機関の利用などについて，カルテ記録を基に後方視的に検討する。それにより，今後のフォローアップについて，児や保護者にとってより有効に，負担なく実施できるように見直す。

方　法

対象者：当科でM-CHATでの評価を開始した2010年10月から，2020年3月までにK式およびM-CHATを実施した低出生体重児のうち，修正1歳6ヶ月の検査時にM-CHATが不通過であった児304名を対象とした。

方法：修正1歳6ヶ月の検査時にM-CHATが不通過であった児の中で，3歳時の検査結果に影響を及ぼす要因について検討した。特に修正2歳時の検査の有無によって，3歳時の検査結果や，療育へのつながりやすさに影響するのかについて検討した。

倫理的配慮：取り扱うデータは個人情報保護に留意し，対象者個人が特定できないように配慮した。なお，本研究は倫理審査委員会の承認を得た。

結　果

1．対象者について

対象者の記述統計量を表1に示した。

2．3歳時の検査結果に影響を及ぼす要因について

3歳時のK式の全領域DQを目的変数とし，在胎週数，出生体重，修正1歳6ヶ月時のK式の全領域DQの結果，2歳時のフォローアップの有無，3歳までの療育の利用の有無を説明変数として，回帰分析を行った結果，R^2=.572であった。モデルは$F(5,180)=48.149$，$p<.001$であり，0.1％水準で有意であった。各説明変数による影響は表2に示した。

3．修正2歳時のフォローアップの有無と3歳までの療育機関の利用の有無についての関連

表1　対象者の記述統計量

		平均値	SD
在胎週数		28.67	4.27
出生体重		1076.06	498.48
修正1歳半フォロー	月齢	20.36	1.60
	修正月齢	17.98	1.09
修正2歳フォロー	月齢	24.11	1.35
	修正月齢	26.72	1.92
3歳フォロー	月齢	36.56	2.34

表2　3歳フォロー全領域DQへの周産期因子・フォロー状況の影響：強制投入法

		標準化係数β	t値	有意確率
	在胎週数	.030	.329	n.s
	出生体重	.041	.445	n.s
修正1歳半フォロー	全領域DQ	.697	11.586	p<.001
	修正2歳フォローの有無	.006	.115	n.s
	3歳以前の療育利用の有無	-.087	-1.442	n.s

表3　修正2歳フォローの有無と3歳以前の療育利用の有無のクロス集計表

			3歳以前の療育利用		合計
			あり	なし	
修正2歳フォロー	あり	人数	103	88	191
		期待度数	99.1	91.9	
	なし	人数	35	40	75
		期待度数	38.9	36.1	
合計			138	128	266

修正2歳時のフォローアップの有無と3歳までの療育機関の利用の有無について，χ二乗検定を実施した結果，有意差は認められなかった。クロス集計表を表3に示した。

考　察

当科では修正1歳6ヶ月時のフォローアップでK式に加えてM-CHATを実施し，その結果や行動観察，保護者の希望などから，3歳時のフォローアップを待たずに修正2歳時に再検査を実施してきた。特にM-CHATが不通過であった場合はほとんどの場合で修正2歳での再検査を提案してきたため，M-CHATが不通過であった児を対象とし，3歳時のフォローアップでの結果を検討した。

回帰分析の結果，3歳時のK式の結果に関しては，修正1歳6ヶ月時のK式の結果の影響が有意に認められ，修正1歳6ヶ月時の結果が低いほど3歳時の結果も低いという関係が示された。在胎週数，出生体重，修正2歳時のフォローアップの有無，3歳までの療育機関の利用の有無に関しては有意な関連は認められなかった。修正1歳6ヶ月時にM-CHATが不通過であった児らは3歳時までにキャッチアップが難しい可能性があることが示されているが[12]，本研究でも同様の結果となったと考えられる。金澤らは，8歳の超低出生体重児を対象とし，出生体重が重い児ほどIQが高いという関係が認められたこと，ADHDに関しては出生体重SDが低いほど不注意，多動性，衝動性，といった特徴が強く表れる傾向があることを示している[6]。また平澤らは，WISC-ⅢのFIQは出生時体重や出生在胎週数と有意な相関を示したことから，早産低体重は軽度の知的障害のリスクとする[4]。しかし，本研究では出生体重は関連が認められなかった。対象者の年齢や検査の種類の違いもあるが，3歳までの発達検査の結果に関しては，修正1歳6ヶ月時の発達検査の結果である程度予測ができる。修正1歳6ヶ月時のフォローアップにおいて，アセスメントを十分に行う必要がある。

また，修正2歳時のフォローアップの有無と3歳までの療育機関の利用の有無の関係についても，有意な結果は認められなかった。つまり修正2歳時にフォローアップを行うことでより早期に療育につながるとは言えなかった。横浜市では，平成26年度の療育センターにおける新規相談の紹介元の全体の40％は乳幼児健診による早期発見となっており，1歳6ヶ月児健診，あるいは3歳児健診において，地域療育センターでの診療へつながる場合が多いとされる[15]。また，医療機関による早期発見では，妊娠中または出産直後からさまざまな医学的治療を要した児が，急性期治療後，あるいは退院後に療育目的で紹介されることが多く，そのような乳児期から療育センターを訪れる利用者の多くが，医療機関からの紹介である[15]。当センターでも，早期から療育的な介

入やリハビリテーションが必要な児は，フォローアップの結果や時期など関係なく療育機関をすでに利用していた。

早期に療育機関に繋げるためには，M-CHATの結果などで一律にフォローの回数を増やすよりも，修正1歳6ヶ月時のフォローアップの時点で十分にアセスメントを行い，必要に応じて療育機関などの地域資源についてアナウンスすることが重要である。また，検査結果を基に保護者と話し合う中で，地域の乳幼児健診の受診状況など，地域資源をどの程度活用しているか確認をする必要がある。金澤らは，検査結果に影響する要因について，年収や兄弟姉妹（同胞）の人数など家庭環境に関しても関連を示した[6]。Key Ageでのフォローアップ時に，発達検査による児の発達状況だけでなく，家族背景や保護者が適切なタイミングで主体的に必要な社会的資源を活用できそうなのかなど，育児を取り巻く環境についても注意を払う必要がある。

鈴木らは，発達障害に対する医学的支援においては，対象児本人への診断・治療にとどまらず，保護者自身を良好に適応させるような助言や支援がなされるべきであるとした[16]。近年，レジリエンスという概念が幅広い領域で注目されている。南らはレジリエンスを逆境やストレス，トラウマを体験しながらも，それを上手く対処し乗り越える過程，またはその過程を促進する力として，早産で子どもの誕生を迎えた父親の語りから，子どもの誕生時に体験した困難の回復過程におけるレジリエンスを明らかにした[17]。父親に内在されるレジリエンスとして【我が子や周りの人たちの力を信頼し委ねる】，【前向きに事象を捉え子どもの誕生を意味づける】，【状況を俯瞰的にみつめる】，【適度に心理的距離を保つ】という4つのテーマが抽出されており，【我が子や周りの人たちの力を信頼し委ねる】に関して，医療者からの良好な働きかけは，我が子への関心を寄せるエネルギーとなっており，やがては子どもの「生きようとするいのち」を信じる力に繋がっていたとしている[17]。また，小林らは，発達障害児の母親を対象に子育てのポイント，母親が自分に対して心がけていることや専門家と社会に求める点について検討をしている[18]。その中で，医療従事者が行う保護者支援として，子どもをまるごと受け入れ，良い点を伸ばしつつも，子どもが困っている時には子どもを助け，子ども自身に苦手な点を認識させ，助けを求めることを教えられるような養育態度を促すために専門家として発言することに加え，目先のことより，もっと先を見据えた子育てができるように母親に今後の見通しを話すことは重要であるとした[18]。また，母親の支援ニーズとして，医療機関や相談機関に対しては，「母親の気持ちに配慮する専門家の姿勢」，つまりこれまで頑張って育ててきたことを認める発言に加え，「正しい早期診断と適切な支援」を求めてた[18]。

発達の早期段階での障害の見極めは容易ではないが，修正1歳6ヶ月や3歳のフォローアップの時点で十分にアセスメントを行い，必要に応じて療育機関などの社会資源についてアナウンスすること，さらに先の見通しを伝えることがフォローアップで求められる。もちろん，早期の検査結果だけで断定することは避けなければならず，保護者とのコミュニケーションがより重要となる。また，カンファレンスなどで多職種と情報共有を行いながら，多面的にアセスメントを行うことも重要であろう。今後，M-CHATの結果などで一律に検査回数を増やすというのではなく，アセスメントや保護者とのコミュニケーションなど，その質を充実させることがより重要である。

当科では，心理検査時の情報収集を漏れなく円滑に行い保護者とのコミュニケーションの充実を図るために，2020年より問診票を作成，導入し，フォローアップに限らず初めて臨床心理科を受診する保護者に記載を求めている。問診票の中には，現状で心配なことに関する項目や児の特徴に関する項目だけでなく，家族背景や支援状況，通院や入院にあたって困っていることなど，児を取り巻く環境についての項目も盛り込んだ。今後，問診票を導入したことによる変化や意義などについても検討したい。

文　献

1）板橋家頭夫, 宮沢篤生, 和田和子, 他. 2010年に出生した超低出生体重児の死亡率. 日本小児科学会雑誌 2016;120:1254-1264.

2）三科潤. 早産低出生体重児の長期予後. 日本産科婦人科学会雑誌 2006;58:127-131.
3）河野由美. フォローアップの概念. 河野由美, 平澤恭子, 石井のぞみ他編, ハイリスク児のフォローアップマニュアル小さく生まれた子どもたちへの支援. 第2版, メジカルビュー社, 東京, 2018;2-5.
4）平澤恭子, 篁倫子, 竹下暁子, 他. 極低出生体重児の6歳時の発達とその支援. 東京女子医科大学雑誌 2013;83:137-143.
5）長谷川功, 村田美由紀, 松尾泰孝, 他. 当院における極低出生体重児の長期予後に関する検討. 日本小児科学会雑誌 2000;104:64-71.
6）金澤忠博, 安田純, 北村真知子, 他. Intact Survivalからみた極低出生体重児の予後 児童発達心理の立場から見た超低出生体重児の予後. 日本周産期・新生児医学会雑誌 2005;41:779-787.
7）神尾陽子. I. 自閉症スペクトラム（Autism Spectrum Disorders: ASD）とは. 神尾陽子, 市川宏伸, 他編, ライフステージに応じた自閉症スペクトラム者に対する支援のための手引き. 国立精神・神経センター精神保健研究所, 東京, 2010;1-3.
8）本田秀夫. Ⅲ-4. 幼児期の診断から療育へこどもの興味を伸ばす. 神尾陽子, 市川宏伸他編, ライフステージに応じた自閉症スペクトラム者に対する支援のための手引き. 国立精神・神経センター精神保健研究所, 東京, 2010;21-22.
9）渡辺顕一郎, 田中尚樹. 発達障害児に対する「気になる段階」からの支援ー就学前施設における対応困難な実態と対応策の検討ー. 日本福祉大学子ども発達学論集 2014;6:31-40.
10）儀間裕貴, 黒宮寛之, 渡辺はま, 他. 極低出生体重児における1歳6ヶ月・3歳時の問診評価と6歳時発達の関連. 理学療法学 2019;46:90-98.
11）高橋未央, 尾方綾, 小川舞, 他. 低出生体重児の発達支援について(1). 日本心理臨床学会第34回秋季大会発表論文集 2015;364.
12）尾方綾, 高橋未央, 小川舞, 他. 低出生体重児の発達支援について(2). 日本心理臨床学会第34回秋季大会発表論文集 2015;365.
13）高橋未央, 高橋明子, 原和載, 他. 低出生体重児フォローアップにおける6歳時の特徴. こども医療センター医学誌 2019;48:150-153.
14）株式会社政策基礎研究所. 乳幼児健康診査における発達障害の早期発見・早期支援のための取組事例に関する調査研究報告書;2019.
15）高木一江, 本田秀夫. 発達障害への早期介入ー横浜市における早期発見・支援体制と, 保護者のメンタルヘルス支援の在り方についてー. ストレス科学研究 2015;30:27-34.
16）鈴木浩太, 小林朋佳, 森山花鈴, 他. 自閉症スペクトラム児（者）をもつ母親の養育レジリエンスの構成要素に関する質的研究. 脳と発達 2015;47:283-288.
17）南香奈, 山崎智里. 早産で子どもの誕生を迎えた父親の困難な体験とレジリエンスーはじめて子どもをもつ父親の語りからー. Journal of Wellness and Heath Care 2020;44:71-79.
18）小林朋佳, 鈴木浩太, 森山花鈴, 他. 発達障がい診療における保護者支援のあり方ー母親が振り返る「子育て」の視点からー. 小児保健研究 2014;73:484-491.