

令和4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4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 ****

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

林 千裕, 郷原 絢子, 山崎 雄一郎
西 盛宏

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) は長く標準術式であったが, 現在では気膀胱下に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。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。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, 18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-2022年6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か月後のVUR消失率について検討した。

結果

対象は18名, 患者背景は男児9人女児9人, 月齢87か月 (46-115), 体重21.7kg (14.5-29.8) (表記は中央値 (最小値-最大値)) であった。患側は左側4人, 右側2人, 両側12人, 最大VUR GradeはGrade V: 4尿管, Grade IV: 14尿管, Grade III: 6尿管, Grade II: 4尿管, Grade I: 2尿管であった。平均手術時間は片側例が148分 (133-174), 両側例が190分 (115-243), 平均入院期間は2.1日, 周術期合併症は1例でClavien-Dindo分類Grade I (術後尿量低下) であった。術後3か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。

神経筋性側弯症手術時腰背筋切離術併用の効果検証

中村 直行, 河邊 有一郎, 大庭 真俊
百瀬 たか子, 町田 治郎

はじめに

神経筋性側弯症 (NMS) は高度な脊柱変形を呈し、脊椎の矯正固定術に難渋する。腰背筋膜切離術 (V flap 法)¹⁾ は、そのアプローチにおいて、有益とされる。今回、われわれの経験した症例を元に、V flap 法の効果を検証した。

対象と方法

対象は、2017年3月から2022年3月までに、当院で単一術者による小児神経筋性側弯症後方固定術を受け、骨盤固定を併用した55例 (男児24例女児31例) であった。原疾患は脳性麻痺が50例、SMAが2例、筋ジストロフィーが2例、先天性ミオパチーが1例であった。GMFCSは、Level Vが49例を占めた。術後深部創感染が5例に発症していた。これらにおいて、V flap 法利用群と非利用群に分け、術前、術中因子を、名義変数に関しては Fisher's exact test を、連続変数に関しては Mann-Whitney U test を用いて解析した。

結果

V flap 利用群と非利用群を比較すると、術前因子：性別、手術時年齢、BMI、SPO、てんかん、胃ろう、気切、術前検査時のHbとTP、GMFCSに有意差はなく、唯一、術前Cobb角に差が見られた。周術期因子：麻酔導入時間、固定椎間数、術中体温35.5度以下持続時間、手術終了時体温、手術時間、術中出血量、主Cobb角矯正率、SPO

の矯正率に統計学的有意差は見られなかった。surgical site infection (SSI) には影響していなかったが、SSI例はV flap 法利用群だけに発生していた。(表1, 2)

まとめ

高度な脊柱変形を有する小児神経筋性側弯症患者に対して、V flap 法を利用することにより、脊柱変形の矯正率を落とすことなく手術が施行できていた。SSIへの影響に関して、現在の症例数で

表1 研究対象 評価結果 1

Factor	Group	V.flap		p.value
		no	yes	
性別	girl	10	21	0.765
	boy	6	18	
てんかん	no	4	7	0.712
	yes	12	32	
胃瘻	no	6	22	0.245
	yes	10	17	
GMFCS	I, II, III	1	0	0.291
	IV, V	15	39	
気切	no	12	36	0.175
	yes	4	3	
VPshunt	no	16	36	0.548
	yes	0	3	
SSI	no	16	34	0.306
	yes	0	5	

研究対象の性別、てんかん有無、胃瘻有無、GMFCSレベル、気切有無、VPshunt有無、感染発生に関して、V-flap法の利用有無で統計学的有意差はなかった。

表2 研究対象 評価結果2

	vflap	最小	25 %	メディアン	75 %	最大	P 値
手術時年齢	no	11.5	12.5	14.8	15.6	17.2	0.491
	yes	10.4	12.8	13.5	14.6	19.6	
BMI	no	9.6	11.2	13.1	13.9	18.7	0.29
	yes	9.3	11.8	13.6	15.1	20.7	
手術終了時体温	no	34.5	36.2	36.7	37.3	38	0.22
	yes	34.1	35.8	36.4	37	38.5	
術中低体温持続時間	no	0	45	120	210	420	0.668
	yes	0	30	105	180	462	
Cobb 角矯正率	no	48.2	55.1	63.4	67.4	79.4	0.731
	yes	34.7	52.1	61.3	71.3	87.1	
SPO 矯正率	no	47	63.1	73.1	84	93.1	0.765
	yes	21	59.3	69.6	82.5	100	
術中出血量	no	386	585	1,019	1,336	1,960	0.41
	yes	275	644	1,911	1,626	5,156	
固定椎間数	no	15	16	16	16.2	18	0.981
	yes	15	16	16	16	17	
Hb	no	11.2	13.8	14.1	14.8	17	0.101
	yes	10.1	13	13.6	14.6	16.9	
術前 Cobb 角	no	50	79.5	90.5	106.2	141	0.0176 ^{**}
	yes	65	95.5	108	117.5	141	
麻酔導入時間	no	33	41.5	45	52.2	68	0.867
	yes	22	38	48	59	224	
SPO	no	0	21	34.5	43	68	0.179
	yes	13	31.5	38	47	62	
手術時間	no	307	383	403	471	497	0.262
	yes	287	382	446	488	608	
TP	no	6.1	6.9	7.2	7.6	8.2	0.32
	yes	6.1	6.8	7.1	7.4	8.8	

研究対象において、V-flap 法は重症患者に適応される傾向があり、有効に矯正されていた。

は統計学的有意差に至っていなかった。しかし、SSI 例が V flap 利用群だけに発生していることを考えると、今後の症例追加により解析結果に変化が生じる可能性があるため、今後も注意していく。

文 献

- 1) 二見徹. 小児整形外科疾患の現状と展望 小児脊柱変形治療の現状と今後の展望 脳性麻痺の側彎症. 整形外科 2004;55:1493-1502.

乳児股関節検診における単純 X 線画像の Deep Learning 診断補助技術の開発について

大庭 真 俊, 中村 直 行, 百瀬 たか子
町田 治 郎

背 景

乳児股関節検診の二次検診として行われる単純 X 線検査の読影は、特に経験の少ない医師にとって難しいことがある¹⁾。また、渡辺らは単純 X 線検査で正常範囲内に分類される股関節の中に、超音波検査で異常が発見される例があることを報告しており²⁾、可能な限り多くの例に超音波健診を行うことが望ましいと述べている。

平成 30 年から始まった乳幼児健診の標準化に伴い、全国の自治体において全出生の 10 % 以上に二次健診（精査）が行われることを目標とされた。この二次健診に全例超音波健診を行う体制の構築が望まれるが、大都市圏など出生数の多い地域では、必ずしも対象乳児数に見合う超音波健診のキャパシティを確保することが困難な自治体も多いと思われる。そのため、しばらくの間は単純 X 線画像による二次健診にも一定の需要があると見込まれる。

そこでわれわれは、Deep Learning による画像認識技術を応用し、乳児股関節健診単純 X 線画像の読影を支援する技術の開発を試みた。小児専門施設として蓄積した多くの単純 X 線画像および診療記録を教師データとして画像認識用 Deep Learning モデルを訓練すれば、乳児股関節健診単純 X 線画像から高精度に脱臼疑い例を拾い上げることができるのではないかと、いう仮定のもと、本研究を行った。

方 法

2010 年 4 月 - 2021 年 5 月に先天性股関節脱臼疑いで紹介された、月齢 2 から 12 の患者 650 名を対象とした。初診時の股関節単純 X 線画像 650

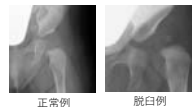
枚から左右それぞれの股関節を含む部分を切り抜き、右股関節の画像は左右反転し、すべて左股関節の画像とした。さらにこの画像に回転を加えて別画像を作成する Data augmentation を行い、最終的に訓練用データ 750 枚（脱臼股 250 例、正常 500 例）および、テスト用データ 160 枚（脱臼股 80 枚、正常 80 枚）を準備した（図 2）。

深層学習フレームワークは Keras を用い、Imagenet トレーニング済みの VGG16 および InceptionV3 を深層学習のベースモデルとし、それぞれをファインチューニングして使用した。訓練用データを使用して 2 つのベースモデルに転移

方法 1 乳児単純 X 線画像データの取得

・単純 X 線画像の処理

- 腸骨～大腿骨近位を左右それぞれ切りぬいて分類
 1. 正常股関節 (α 角 $>30^\circ$)
 2. Tonnis Grade 2以上の脱臼股
 3. それ以外の形成不全股 → 今回は使用せず



➢ 単純化のため、右股関節画像は反転して使用

訓練用画像	テスト用画像
脱臼股画像：95枚 正常股画像：751枚	脱臼股画像：27枚 正常股画像：81枚

図 1 乳児単純 X 線データからの訓練用およびテスト用画像データの取得

方法 2 データセットの準備 | 訓練用およびテスト用

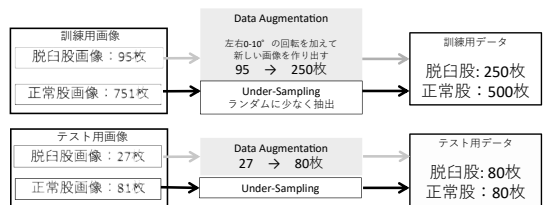


図 2 訓練用およびテスト用画像データの準備と前処理

学習を行った後、テスト用データ 160 枚を正しく識別できるかどうかのテストを行った。

結果

脱臼股を脱臼股、正常を正常と判定した場合を正解としたとき、全体の正解率は VGG16 で 94.4 %、InceptionV3 で 95 %であった (図 3)。脱臼股の陽性的中率は InceptionV3 では 100 %であった。Grad-CAM でそれぞれのモデルの判断根拠部位を可視化したところ、VGG16 は主に寛骨臼を、InceptionV3 は関節内を広く着目し、判断材料としていることが判った。

結論

脱臼股の診断性能はベースとする深層学習モデルにより異なることが判った。乳児の先天性股関節脱臼は健診時に見逃し、歩行開始後に診断され

た場合、ほぼ全例で手術が必要となるため、過剰診断が許容される疾患である。その目的においては、少数の正常股関節を異常と判断する可能性があっても、陽性的中率に優れる InceptionV3 が、今回の候補の中では目的に合致しうる深層学習モデルとすることができる。しかし、診断精度のさらなる向上のため今後、Deep Learning に用いる訓練データの増加や画像の前処理などの改良を加える必要があると考えられた。

参考文献

- 1) 武井聖良, 伊藤順一, 小崎慶介. 整形外科医による発育性股関節形成不全 (DDH) の X 線読影の正答率についての考察. 日小整会誌 2017;26:323-327.
- 2) 渡辺研二. DDH 二次検診の X 線と超音波画像の比較. 日小整会誌 2019;28:278-284.

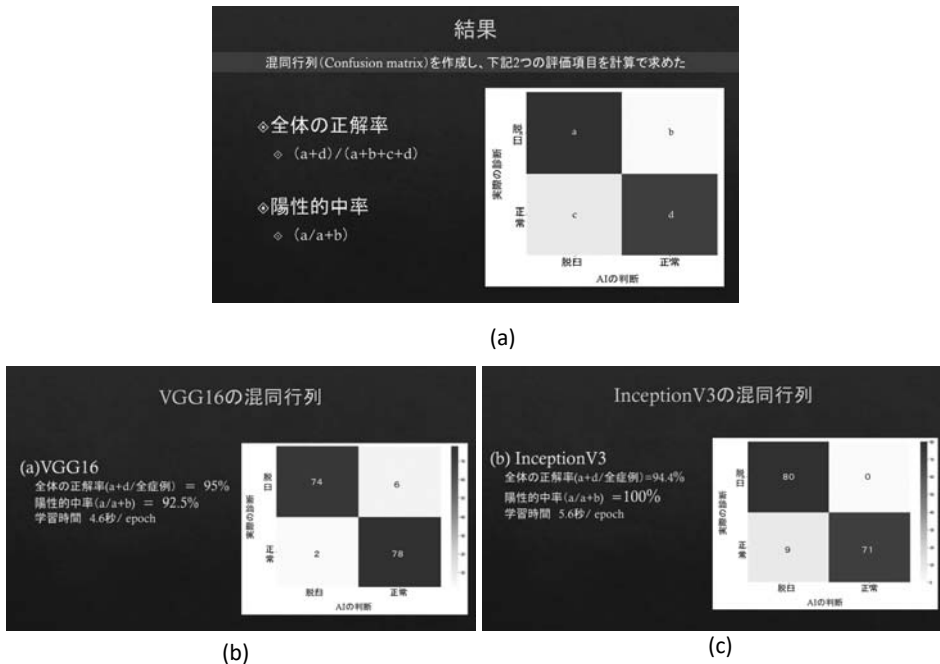


図3 各ベースモデルの転移学習後の診断性能を示す混同行列

頭部 MRI arterial spin labeling (ASL) 画像を用いた 小児の画像診断に関する研究

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⁾
 北川藍²⁾, 伍成文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。

こども医療センター放射線科は、1.5Tesla および 3Tesla 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

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。

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検証している。

超早産児における神経調節補助換気 neurally adjusted ventilatory assist (NAVA) 管理の呼吸予後および発達への影響の検討

齋藤 朋子, 豊島 勝昭, 柴崎 淳
下風 朋章, 稲垣 佳典, 野口 崇宏
勝又 薫, 林 辰司, 谷山 禎彦

はじめに

急性期の集中治療の発展により、当センターでは出生体重 1,000 g 未満の超低出生体重児の救命率は約 95 % と向上しているが、救命された児の精神運動発達には課題がある¹⁾。慢性肺疾患 chronic lung disease (CLD) は精神運動発達との明確な関連が指摘されているが、その頻度は減少していない。過去には、CLD を予防する目的でデキサメサゾンが投与されたが、学童期の認知機能や運動発達に悪影響があるために使用は差し控えられている²⁾。しかしながら、呼吸悪化時には、グルココルチコイドの投与が避けられない。そのためデキサメサゾンに取って代わりヒドロコルチゾンの投与機会が世界的にも増えているが、神経発達に及ぼす影響は明らかではない。また、早産児において、長期間の挿管管理は CLD 発症率の上昇や、脳幹容積の減少、運動発達遅滞と関連することが報告されている³⁾。挿管管理期間の短縮や CLD の予防、コルチコステロイド投与を減らすことは早産児の発達の向上につながる可能性がある。

近年、横隔膜活動電位 diaphragm electrical activity (Edi) を利用した呼吸器モードである神経調節補助換気 neurally adjusted ventilatory assist (NAVA) を用いた呼吸器管理が注目され、呼吸同期性に優れていることが証明されている。超早産児は長期的に人工呼吸器管理を必要とし、未熟な肺に過剰な圧をかけることで CLD に進展するリスクが高いが、NAVA を用いて同期性の高い補助換気を行うことで肺保護作用や児の快適さの向上が期待で

きる⁴⁾。重症慢性肺疾患児に対する乳児期のデキサメサゾンや鎮静薬の使用量を減らしたとの報告もある⁵⁾。

超早産児で、同調性の高い NAVA を用いた呼吸管理は肺保護作用や児の快適さの向上が期待できる。一方で NAVA 管理による挿管管理期間、CLD 発症率などの呼吸予後や、発達への影響については不明である。

当院では 2018 年から NAVA を使用できる呼吸器の導入を開始し、2019 年からは超早産児全例に対して NAVA を用いた呼吸管理戦略を行ってきた。今回の研究は NAVA 管理の呼吸および発達に及ぼす影響を評価することが目的である。

方法

2016-2021 年に当院 NICU に生後 24 時間以内に入院した在胎 27 週以下の早産児を対象とし、重度の先天異常児は除外した。NAVA 導入前の 2016-2017 年入院 (pre-NAVA 群) と、NAVA を本格的に導入後の 2019-2021 年入院 (NAVA 群) の 2 群に分け比較検討した。呼吸予後の検討として、グルココルチコイド使用率および修正 36 週、40 週での呼吸サポート率の比較を、発達予後の検討として、退院前の脳 MRI による Kidokoro score と修正 1 歳半の発達検査の比較を行った。

データは中央値および四分位範囲 interquartile range (IQR) で示し、独立 2 群の差は、Mann-Whitney 検定を用いた。すべての統計解析には EZR (ver.2.6) を使用した。また当院の倫理委員会の承認を得ている。(整理番号 139-7)

結果と進捗

期間中に当院に入院した超早産児は104名で、先天異常児5名を除き、pre-NAVA群は49名、NAVA群は50名が対象であった。背景の周産期

因子と治療戦略について表に示す(表1, 2)。今後呼吸予後と発達予後についての解析を進める予定である。

表1 周産期因子

	PRE-NAVA (49名)	NAVA (50名)	P
在胎週数(週)	25.4 (24.6-26.9)	25.9 (24.4-26.9)	0.80
出生体重(g)	752 (632-903)	755 (595-907)	0.85
男児	33 (67%)	25 (50%)	0.103
母体ステロイド2回投与	36 (74%)	33 (66%)	0.39
臍帯血IgM (mg/dL)	7 (4-11)	6 (5-11)	0.87
acute CAM*	27 (57%)	24 (48%)	0.71
subacute CAM	3 (6%)	3 (6%)	> 0.99
DCH*	4 (9%)	6 (12%)	0.74
臍帯炎	13 (28%)	19 (38%)	0.39

CAM*: 絨毛膜羊膜炎, DCH*: びまん性絨毛膜羊膜ヘモジデロシス

表2 治療戦略

	pre-NAVA (49名)	NAVA (50名)	P
十二指腸チューブ	24 (49%)	6 (12%)	<0.001
カフェイン開始日齢(日)	15 (10-18)	5 (4-8)	<0.001
経腸栄養 100 mL/kg 到達日齢(日)	11 (10-13)	12 (10-17)	0.134
NAVA 開始日齢(日)	—	20 (14-26)	—
NAVA 開始修正週数(週)	—	28.4 (27.7-29.3)	—

文献

- 野口 聡子, 豊島 勝昭, 盛一 享徳, 他. 在胎 23-25 週の児の発達予後と就学状況. 日本周産期・新生児医学会雑誌 2019;55:907-912.
- Shinwell ES, Karplus M, Reich D, et al. Early postnatal dexamethasone treatment and increased incidence of cerebral palsy. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2000;83:F177-181.
- Guillot M, Guo T, Ufkes S, et al. Mechanical Ventilation Duration, Brainstem Development, and Neurodevelopment in Children Born Preterm: A Prospective Cohort Study. J Pediatr 2020;226:87-95.
- Alander M, Peltoniemi O, Pokka T, et al. Comparison of pressure-, flow-, and NAVA-triggering in pediatric and neonatal ventilatory care. Pediatr Pulmonol 2012;47:76-83.
- Lee J, Kim HS, Jung YH, et al. Neurally adjusted ventilatory assist for infants under prolonged ventilation. Pediatr Int 2017;59:540-544.

新たに保険収載となったマイクロアレイ染色体検査の有用性の検討

黒田 友紀子

背景

マイクロアレイ染色体検査 (CMA) はコピー数変化 (CNV) を検出する手法であり、2022年度秋から「染色体構造変異解析」として保険収載された (令和4年診療報酬点数表 D006-26 8,000点)。マイクロアレイ染色体検査は、従来の G-band 染色体検査や FISH 法で検出できないような染色体の微細な欠失・重複 (コピー数変化) を検出することができる手法である。コピー数変化の検出は正確にできる一方で、欠失を伴わない染色体均衡型転座 (数ではなく位置の変化) や遺伝子変異 (遺伝子コード領域の塩基変化) は検出できない。

諸外国ではすでに CMA は臨床検査として遺伝学的診断に用いられてきた。2011年アメリカ臨床遺伝学会 (ACMG) より、CMA は原因不明の知的障害、先天異常症候群に対して最初に行う検査 (first tier) として位置付けされている^{1,2)}。さまざまな報告を総合すると、CMA の診断率は 10-15% である¹⁾。

当科では 2007 年より、研究の枠組みで対象をしばらくこみ CMA を行ってきた。保険収載検査である G-band や FISH 検査による診断を先行して行い、診断未定例の一部に CMA を行ってきた。保険収載以降に CMA を first tier として行った場合の遺伝診療に与える影響は未定であった。

CNV は次世代シーケンサーによる全遺伝子エクソン領域を対象としたエクソーム解析の CNV 解析によっても検出可能である。エクソーム解析の CNV 解析は CMA と同等の診断率とされている^{3,4)}。次世代シーケンサーによるコピー数解析にとって代わられつつある。この手法は、次世代シーケンサーで対象領域のシーケンスリード数を計算することで他の領域の平均よりもコピー数変化がある領域ではリード

数 (depth) が増減することからコピー数を検出する方法である。保険収載のマイクロアレイ染色体検査では検出が不可能なエクソン数個単位での欠失・重複 (コピー数異常) を検出することができる。遺伝子変異を検出することができることに加えてコピー数も検出できることから、診断率はエクソーム解析 (全遺伝子のエクソン (コード領域) のシーケンス解析) では変異・コピー数異常を合わせて 30-40% と高く、マイクロアレイ染色体検査の代替となりうる。現状一般的な解析ツールでは、エクソン 4 個以上で連続した欠失・重複を検出することが可能である。当科ではさらにエクソン単位でのコピー数を検出する独自のツールも併用して検出を行っている。検出能力はマイクロアレイ染色体検査より優れているが、偽陽性が多いのは欠点である。現状は、検出されたコピー数変化をマイクロアレイ染色体検査、あるいは multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) 法や定量 PCR などの別手法での確認することが必須であり発展途上の技術である。現在も日本では研究の枠組みで行われているエクソーム解析を当施設でも解析しており、CNV も検出している。エクソーム解析も将来、CMA と並んで CNV 解析に用いられるようになる可能性がある。

当科の診断実績から、保険収載後の CMA による臨床遺伝診療での有用性の検証と、さらにエクソーム解析の CNV 解析結果との検出率の比較を行った。

対象・方法

2022年4月から2023年2月まで (11か月間) に当施設で行った保険収載マイクロアレイ染色体検査 127 件を解析対象とした。全例が多発先天異常 (MCA)、発達遅滞・知的障害 (DD/ID) の

いずれかを認めた例であった。解析例は、次世代シーケンサー解析で検出した CNV 確認例を事前に除外した。CMA 検査前 G-band 異常核型（陽性例 20 例）、G-band 陰性例または未施行例（107 例）を含んでいる。

また、エクソーム解析は、2023 年 2 月までに当施設で行ったエクソーム解析 91 件を対象とした。全例が G-band 陰性、または未施行例である。MCA, ID/DD のいずれを認めた例が 76 例、それ以外の表現型が 15 例であった。当施設で多く行っている TruSightOne パネル解析（疾患関連遺伝子 4,813 種類のパネル）による事前スクリーニ

ング施行せずに、直接エクソーム解析を行った例を対象とした。TruSightOne 解析は全遺伝子ではなく、限られた遺伝子をシーケンスするため、CNV 検出率はエクソームにより劣ると予想されたためである。CNV 検出は XHMM, log2ratio 解析（遺伝子エクソン単位の欠失検出も可能）を行った。

結果

1. マイクロアレイ染色体検査の解析結果（図 1）

CMA 施行例のうち G-band 陽性例 20 例中 16 例で CNV を検出した（図 2）。16 例中 5 例は非典型

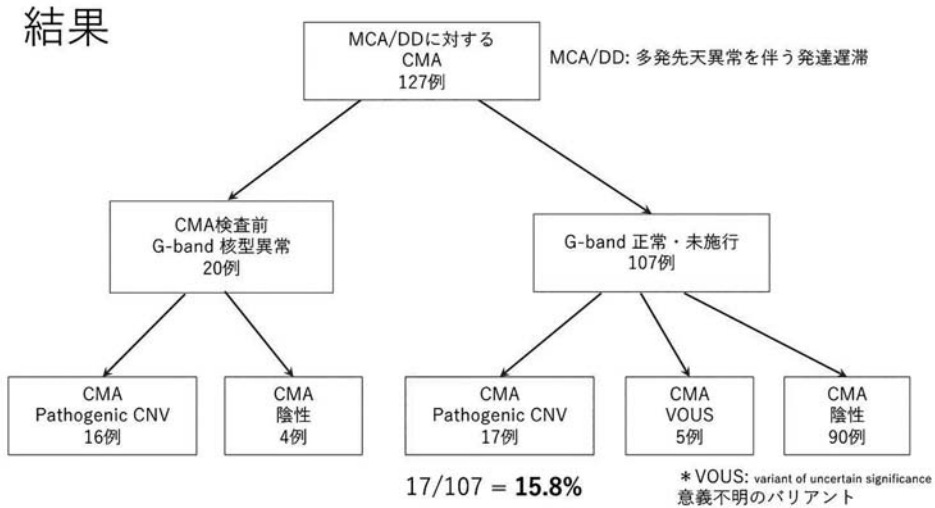


図 1 マイクロアレイ染色体検査解析例と結果

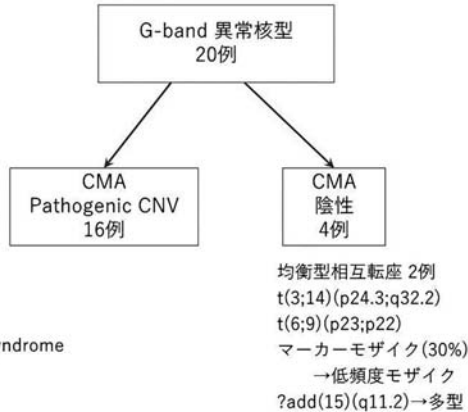
検査前G-band陽性例

<5例 recognizable syndrome>
 idic(21)(q22.3): Down syndrome
 marker chromosome: 22q tetrasomy
 t(5;7)(p13.3;q11.21): Williams syndrome
 (7q11.21-q21.11 atypical large deletion)
 der(4)t(4;22)(p15;q12),-22: 4p-/22q11.2 deletion
 add(5)(p15): 5pモノソミー
非典型例を含めた既知の症候群を診断

<2例 想定外のCNV>
 add(14)(q24.3)→del(14)(q31.1-q32.2) DICER1 syndrome
 ?inv(6)(p11.1;q12) → 12p13.32 1.7Mb deletion
新しい遺伝学的診断

9例：染色体由来・構造特定(add, del, dup)
 1例：複雑な染色体構造異常

G-bandより詳細に把握



CMAの限界

図 2 検査前 G-band 陽性例のマイクロアレイ染色体検査解析例と結果

例を含めた既知の染色体異常症を検出した。Down 症候群の表現型であったが, *idic* (21) (q22.3) とバイサテライト染色体であり, 21q ほぼ全腕のトリソミーと一部微細なモノソミーを合併した非典型例であった。またマーカー染色体由来特定 (22q テトラソミー), G-band で均衡型相互転座に見えたが Williams 症候群の責任領域を含む 7q11.21-q21.11 の欠失による非典型的な Williams 症候群であった症例が含まれていた。また, G-band で想定されていた核型ではなかった例を 2 例認めた。1 例は, 14q の端部付加染色体と想定されていたが, 腫瘍遺伝子の *DICER1* 遺伝子を含む中間部欠失であり腫瘍サーベイランスが適応となった。また, 逆位を疑われた染色体とは別の CNV を認めた例が 1 例あった。他には, 染色体の付加染色体の由来や欠失・重複の正確な範囲を同定できた例が 9 例, 複雑な染色体構造異常を解析した例 1 例の内訳であった。いずれも, これまでの FISH 検査では, 詳細な欠失・重複範囲が同定できない例であった。

G-band で陽性であったにもかかわらず CMA で CNV が検出されず陰性であったのは, 4 例であった。2 例が CNV を伴わない均衡型相互転座, 1 例が 30 %の小型マーカーモザイク, 1 例がサテライトの多型が疑われた例であった。いずれも, CMA で検出できないとされている変化であった。

CMA 施行例のうち, G-band 陰性あるいは未施行例 107 例中 17 例 (15.8 %) で臨床的意義のある CNV (Pathogenic CNV) を認めた (図 3)。このうち, 7 例は recognizable syndrome (臨床所見から診断可能な症候群) であった。1p36 欠失症候群が 2 例, 22q11.2 欠失症候群, 欠失型 Angelman 症候群, 9p トリソミー/18q モノソミー, 13 トリソミー, 欠失型 NF1 (17p11.2 欠失) を含んでいた。いずれも非典型的な表現型の症例や, 想定されていたものの詳細な情報を得るためなど CMA を施行した理由が個々に存在した。この 7 例を除くと, 診断未定の MCA または ID/DD での診断率は 100 例中 10 例と診断率は 10 %であった。この 10 例は, CMA 以外では診断するのは困難な症例であった。

2. エクソーム解析の CNV 解析結果 (図 4)

臨床診断未定の MCA または ID/DD のエクソーム解析 76 例中 7 例 (9.2 %) で臨床的意義のある CNV (Pathogenic CNV) を検出した。また, 塩基バリエーション (SNV) や indel は 29 例 (38.1 %) で検出し, うち 2 例は CMA で検出不可能な遺伝子内の重複・欠失であった。

臨床診断未定の MCA または ID/DD に対する pathogenic CNV 検出率は CMA と 10 %前後と同程度であった。

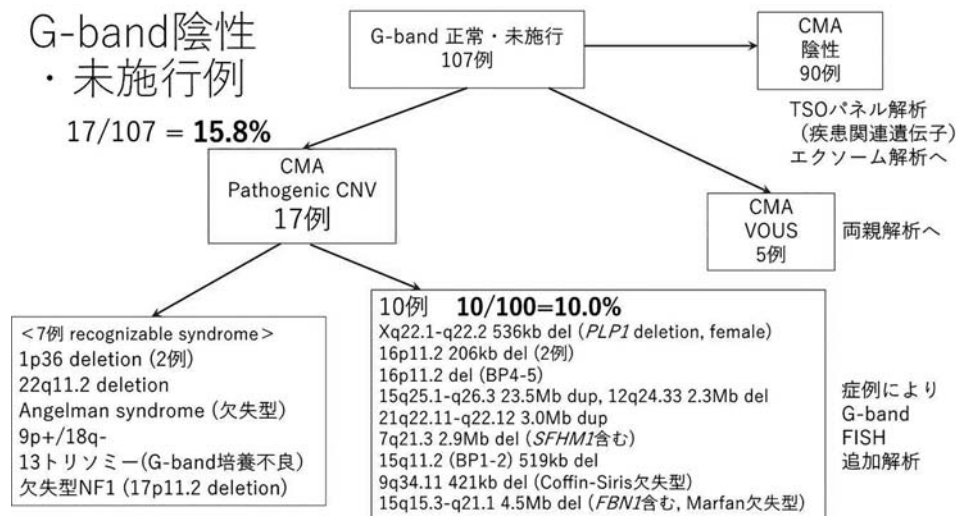


図3 検査前 G-band 陰性あるいは未施行例のマイクロアレイ染色体検査解析例と結果

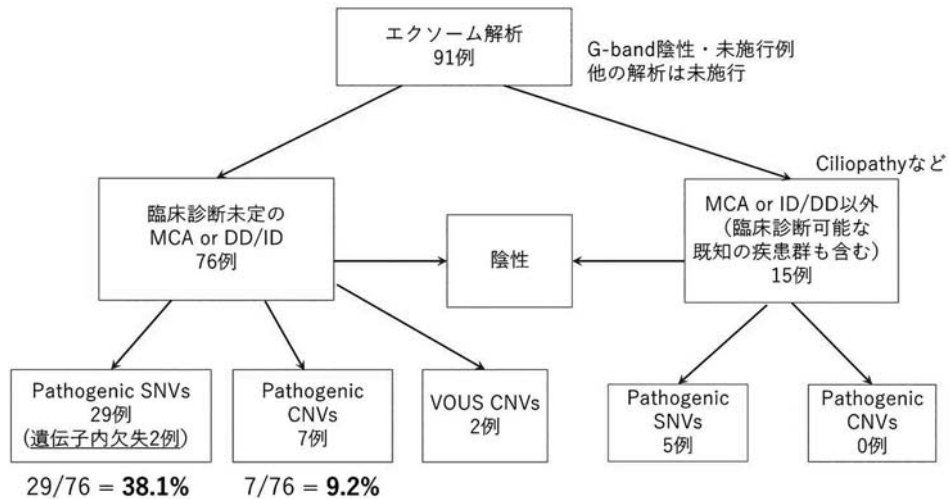


図4 エクソーム解析例と結果

考 察

本研究を通して、マイクロアレイ染色体検査は、G-bandで核型異常を認めた例の追加解析として、診断未定の多発先天異常症候群や知的障害の診断の両方で有用な検査であることがわかった。

G-band陽性例では研究の枠組みでは行っていた際には追加解析を行わず、両親解析やFISH検査による由来の特定を行っていた。CMAを行うことにより、欠失・重複範囲の正確な同定、両親正常核型、あるいは両親染色体未解析例での付加染色体の由来同定を行うことができるようになった。正確な同定により、健康管理に直接影響を与えた例もあった。例をあげると、欠失範囲に含まれる遺伝子からQT延長症候群の発症リスクが判明した例、腫瘍遺伝子DICER1症候群であることがわかり腫瘍サーベイランス開始と成長ホルモンの投与中止をした例などがある。健康管理以外にも、核型異常の詳細がわかることにより、両親解析前に次子再発率の推定が提示できることは遺伝カウンセリングに影響を与えた。

G-band陰性または未施行例に対しても全体では、15.8%と過去のCMAの陽性率(10-15%)と一致している結果であった。臨床所見から診断可能なrecognizable syndromeを除いても10.0%と一致している。Recognizable syndromeはCMA以外にもG-band, FISH検査を組み合わせることで

診断可能であるが、先述のように詳細についてはCMAでないと検出できない。したがって、現在保険収載となったCMAはrecognizable syndromeであっても最初に行う検査であると考えられる。また検出されたCNVを見ると、16p11.2微小欠失が3例含まれており、非症候群性知的障害・発達遅滞の原因として頻度の高いCNVが検出されており、検体のバイアスなく検査を行っていることがわかる。

現時点での本研究結果では、CMAはG-bandに変わってfirst tierの検査と考えられる。一方、G-band陽性例でCMA陰性例であった4例は、CNVを伴わない均衡型相互転座2例、低頻度マーカーモザイク、サテライトの多型(CMAのプロブ対象外)とCMAの限界とされているものである。特にCNVのない均衡型相互転座や染色体構造異常はCMA正常の1%程度に存在し、そのうち半数が表現型異常に関わっているとされている。G-bandを施行せずにCMAを行った場合にはこれらを見逃すことになる点はCMAをfirst tierの検査とした場合の問題点である。

本研究では、CMAと同等とされているエクソーム解析でのCNV解析との比較も行った。結果はMCAまたはID/DDを認めたエクソーム解析例全体で9.2%と、CMAで既知の症候群に合致しない(recognizable syndromeではない)例に行った10.0%と同等であった。また、10.0%に

含まれていないが、2例では遺伝子内の欠失・重複といったCMAでは検出限界以下の小さなサイズのCNVも検出できた。注意すべきは、エクソーム解析は現時点で研究的検査であることから、検査対象からrecognizable syndromeを除いており、CMAと異なりバイアスが存在する。当施設では、多くは疾患関連遺伝子パネル(TruSightOneパネル, 4,813遺伝子)をエクソーム解析前に施行した例が多く、最初からパネル解析を出さずにエクソーム解析を提出した例(本研究解析例)は全体からみると一部である。検出したCNVは、頻度の高い知的障害のCNVは検出されていないことから選択バイアスが存在すると考えられるため、一概にCMAと比較検討はできない。ただ、現時点までの本研究結果からはエクソーム解析のCNV解析はCMAと同等であり、将来CMAに変わってfirst tierの検査となる可能性がある。

最後に、本研究は解析途中での中間報告となり、期間を延長して継続する予定である。保険収載前のCMA解析例との比較を行って検査対象のバイアスによる陽性率への影響を調べること、保

険収載後のCMA解析例を増やして比較検討を行うことを計画している。

文献

- 1) Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 2010;86:749-764.
- 2) Manning M, Hudgins L, Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med* 2010;12:742-745.
- 3) Retterer K, Scuffins J, Schmidt D, et al. Assessing copy number from exome sequencing and exome array CGH based on CNV spectrum in a large clinical cohort. *Genet Med* 2015;17:623-629.
- 4) Dong X, Liu B, Yang L, et al. Clinical exome sequencing as the first-tier test for diagnosing developmental disorders covering both CNV and SNV: a Chinese cohort. *J Med Genet* 2020;57:558-566.

涙道内視鏡を用いた小児涙道疾患の診断と治療

松 村 望

研究目的と背景

先天鼻涙管閉塞とは、涙液の排出路である涙道(鼻涙管)の下端が先天的に閉塞していることにより、乳幼児に眼脂、流涙、涙嚢炎(細菌感染)、などをきたす疾患である。新生児の約1割が罹患すると報告されており、産科、小児科、眼科などでみる機会の多い疾患である。自然治癒率が高い一方で、治癒せずに外科的治療を必要とする場合もある。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目的として初診している。

先天鼻涙管閉塞の外科的治療の第一選択は、世界的にプロービングと呼ばれる治療である。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(以下、ブジー治療)が歴史的に行われてきた。この治療については、主にタイミングに関してさまざまな議論がなされてきた。従来は、1歳未満

に局所麻酔下で体動を制御して行われることが多かった。一方で、欧米を中心に、自然治癒に期待して1歳を過ぎるまで待ってから最小限の症例数に対して全身麻酔下で外科的治療を行うことを推奨する意見もある。しかし、遅くなると全身麻酔の負担に加え、ブジーを用いたプロービングの治療成績が悪化するという報告もみられる。このほか、患者満足度、費用対効果、なども検討すべき課題であり、治療の時期は世界的に議論がなされているが結論が出ていない¹⁾。

このような中で、わが国で涙道内視鏡が開発され、先天鼻涙管閉塞に対する外科的治療の手法として、本研究を中心に使用されるようになり、成功率がほぼ100%と極めて良好な成績が相次いで報告されるようになった²⁾。近年では海外からも同様に良好な治療成績が報告されている³⁾。この結果、涙道内視鏡を用いた先天鼻涙管閉塞の治療は、わが国においては標準治療の一角を担うようになってきた。このため、涙道内視鏡を用いた先天鼻涙管閉塞開放術の治療指針を示すことが必要となってきた。

このような背景のもと、日本涙道・涙液学会を中心に、Minds（日本医療機能評価機構）の形式（科学的根拠に基づくシステマティックレビューにより作成された推奨を含む形式）に基づく「先天鼻涙管閉塞診療ガイドライン」の作成を2019年末より開始し、本年度（2022年11月）に完成し、日本眼科学会雑誌にて発表、公開され、その後、2023年2月にMinds診療ガイドラインとして収載された⁴⁾。

本研究を2012年に開始してからちょうど10年の節目となる本年度、当初は未知の治療として開始した涙道内視鏡を用いた先天鼻涙管閉塞の診療が、EBMに基づくガイドラインに収載されるに至ったことは、本研究の大きな成果であろう。

研究成果

1) 手術件数および治療成績

本研究は、院内倫理委員会の承認を得て2012年より開始した。2023年3月までに、延211例の涙道内視鏡手術を全身麻酔下で行った。このうち、先天奇形症候群や骨性閉塞のない187例に対する治療成績は、治癒率100%であった。一方

で、先天奇形症候群および顔面奇形を伴う症例に関しては、約半数の症例でなんらかの症状が残っており、完治には至らないケースが多いことがわかった。最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難治性の原因であることが本研究で明らかになった⁵⁾。

本年度から新たに、先天奇形症候群や顔面奇形などのない1歳半以下の乳幼児に対し、外来で局所麻酔下での涙道内視鏡を用いた先天鼻涙管閉塞開放術を開始した。これまで11例の手術を行い、治癒率は100%であった。手術時間に関しても、これまで測定した範囲内では、最短1分、最長5分と短時間であり、全身麻酔の手術と比較した侵襲の違い、治療成績の違い、安全性、満足度などを評価していく方針である。

2) 研究内容とその発表

2012年に本研究を開始し、多数の学会発表および国内紙への論文投稿を行った。国際誌としては、2016年にHigh-resolution dacryocystoscopy for observation for pediatric lacrimal duct obstruction⁵⁾と題する症例報告を行い、先天鼻涙管閉塞、後天性涙道閉塞（アデノウイルス感染症に伴う）、ダウン症候群に伴う涙道閉塞、それぞれの涙道内視鏡所見の違いを報告した。続いて、最も代表的な疾患である先天鼻涙管閉塞に関して、涙道内視鏡所見を分類し、2019年にTranscanalicular endoscopic primary dacryoplasty for congenital nasolacrimal duct obstruction.として発表した²⁾。この中で、主に以下のような内容を報告した。

- ・初回治療の先天鼻涙管閉塞は、鼻涙管下端の1か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（癭痕型、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
- ・治癒率は100%であった

複雑型の中の癭痕型の発生する機序に関しては、われわれが報告した「先天鼻涙管閉塞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を報告した⁶⁾。この

ことから、遷延する先天鼻涙管閉塞においては、涙道内に癒痕化が起こる機序の一因が解明され、治療時期の議論にも一石を投じた。

本年度はあらたに「先天鼻涙管閉塞診療ガイドライン」を発表した⁴⁾。ガイドラインの内容と涙道内視鏡の扱いについては次項に記載する。このガイドラインは現在英語化を予定しており、涙道内視鏡を用いた先天鼻涙管閉塞の外科的治療が日本において普及していることを国外に知らせるきっかけとなるであろう。

また、2023年6月に中国で行われるアジア太平洋眼形成外科学会において、招待講演者として、涙道内視鏡手術に関する講演を筆者が行った。日本が世界に先駆けて行っている涙道内視鏡を用いた診療が、海外に広がるひとつのきっかけとなることを願っている。

3) 先天鼻涙管閉塞診療ガイドラインと涙道内視鏡

先に述べたように、日本涙道・涙液学会を中心に「先天鼻涙管閉塞診療ガイドライン作成委員会」を発足し、2019年からEBMに基づくガイドラインの作成にとりかかった。メンバー14名で作成し、クリニカルクエスション(以下CQ)を7つ設定し、それらに対してシステマティックレビューを行い、以下のような推奨を提示した。「先天鼻涙管閉塞診療ガイドラインの骨子(CQと推奨)」

1. 涙嚢マッサージは推奨されるか⇒実施を提案する(弱い推奨)
2. 抗菌薬局所投与は推奨されるか⇒必要時のみの実施を提案(弱い推奨)
3. 生後6-15か月のプロービングは推奨されるか⇒実施を提案(弱い推奨)
4. 涙道内視鏡の治療は推奨されるか⇒実施を提案(弱い推奨)
5. 初回不成功例に再プロービングは⇒実施しないことを提案(弱い推奨)
6. 先天鼻涙管閉塞は弱視リスクを増すか⇒不明だが検査を行う(強い推奨)
7. 先天涙嚢瘤の治療方針⇒先天鼻涙管閉塞より早期の治療を提案(弱い推奨)

この中で特にCQ4で涙道内視鏡について詳細に記載している。涙道内視鏡を用いたプロービングに関しては、日本で使用されているベントタイ

プ(先端が屈曲している形状)のプローブの使用では、どの報告でも成功率が100%近く、大きな有害事象や合併症の報告がないことから、涙道内視鏡の使用は望ましいとされたものの、まだ使用できる施設に限りがあることを述べている。今後はこの治療が一般的になるように、技術の普及を進めていきたい。

4) ガイドラインの改訂に向けたランダム化比較試験の実施

本ガイドラインの特徴として、全体的に弱い推奨が多いという問題点が挙げられる。これは、ランダム化比較試験(以下RCT)のようなエビデンスレベルの高い論文が少ないことがその原因である。Mindsの診療ガイドラインは、5年に1回程度の改訂を予定しており、今後も随時ブラッシュアップされていくべきものである。その際に、涙道内視鏡を用いた診療の推奨グレードを上げるためにはRCTが必要となる。われわれのグループは、CQ1の「涙嚢マッサージの有効性」を検討するRCTを、当科と横浜市立大学の共同研究で執り行い、本年度に終了した。この結果を今後は発表し、ガイドラインの改訂に向けてひとつのエビデンスを提供したいと考えている。そして、本研究の方向性として、CQ4の「先天鼻涙管閉塞の治療に涙道内視鏡の治療は推奨されるか」に対するエビデンスレベルを上げるべく、新たに当施設が中心となり、日本涙道・涙液学会の支援を受けて「先天鼻涙管閉塞に対する外科的治療に関する多施設共同無作為化比較試験」を開始した。このRCTは、生後6-15か月の片眼性先天鼻涙管閉塞の外科的治療を希望する小児に対し、従来型のブジーと、涙道内視鏡のどちらかを無作為に割り付けて使用し、治療成績や所要時間、満足度などを調べるものである。ブジーと涙道内視鏡はどちらを使用しても90%近い治癒率が見込めるため、その差は小さく、予定症例数も408例と多く、参加5施設で3年の研究期間を予定している。本研究を通して、涙道内視鏡の優位性が明らかになることが期待される。

まとめと今後の課題

これまでの本研究では、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、新しく「涙道内視鏡プロービング」という選択肢を加えるべく提案してきた。その結果、「先天鼻涙管閉塞診療ガイドライン」において、この治療が推奨されるに至ったことは、本研究の1つの結果であると考えている。また、これらの研究成果は海外でも高く評価され、近年では涙道内視鏡は海外でも普及しつつある。2023年には海外での招待講演も行い、また、先天鼻涙管閉塞診療ガイドラインを英語化して国際誌で発表することを予定している。このように、本研究が、先天鼻涙管閉塞という乳幼児における頻度の高い疾患に対する治療方針に、国内外で変化を生んでいると考えられる。

参考文献

- 1) Petris C, Liu D. Probing for congenital nasolacrimal duct obstruction. *Cochrane Database Syst Rev* 2017;12:7:CD011109.
- 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) Li Y, Wei M, Liu X, et al. Dacryocystitis-assisted incision of Hasner's valve under nasoendoscopy for membranous congenital nasolacrimal duct obstruction after probing failure: a retrospective study. *BMC Ophthalmol* 2021; 21:182.
- 4) 先天鼻涙管閉塞診療ガイドライン作成委員会: 先天鼻涙管閉塞診療ガイドライン. *日本眼科学会雑誌* 2022;126:991-1021.
- 5) Matsumura N, Goto S, Yamane S, et al. High-resolution dacryocystitis for observation for pediatric lacrimal duct obstruction. *Am J Ophthalmol Case Rep* 2016;21 (1):23-25.
- 6) 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.

早産児における高流量経鼻カヌラの流量と横隔膜活動電位の関連

野口 崇 宏, 下 風 朋 章, 齋 藤 朋 子
豊 島 勝 昭

背景

早産児の非侵襲的な呼吸補助の1つに高流量経鼻カヌラがある。高流量経鼻カヌラは経鼻的持続陽圧換気と比較して同様に効果的である事が示されており¹⁾、当院ではFisher & Paykel社のOpti Flow[®]とVapoTherm社のPrecision Flow[®]を導入し、診療に活用している。経鼻的持続陽圧換気がpositive end expiratory pressure (PEEP)を設定して呼吸補助を行うのに対し、高流量経鼻カヌラの流量は児の呼吸の様子を観察しながら決定している、客観的な指標は確立されていない。高流量

経鼻カヌラの早産児に対する効果として、それぞれの機器における流量を増減させた際の咽頭圧の変化については報告があるが^{2,3)}、流量を変化させた際の早産児の生理学的な反応についての報告は少ない。

呼吸努力の評価方法として、横隔膜の活動電位を確認することが有用であることが報告されている^{4,5)}。早産児の横隔膜活動電位については、神経調節補助換気を行う際に使用するelectrical activity of the diaphragm (Edi)カテーテルで計測する事ができる。当院では2018年より、慢性肺

疾患予防のために早産児の人工呼吸器管理方法として Edi カテーテルを用いた神経調節補助換気を基本にしていて、Edi カテーテルは人工呼吸器離脱後の呼吸努力の客観的なモニタリングとしても活用している。高流量経鼻カヌラの流量を変化させた際の早産児の生理学的な変化について、Edi 値を用いて検討した報告はまだ無い。

高流量経鼻カヌラの流量の過多は呼吸抵抗になり、呼吸努力を増悪させる可能性があるだけでなく、高流量経鼻カヌラを装着することによって生じる騒音による長期的な神経学的予後への影響が懸念される⁶⁾。一方で流量が過少な場合、十分な呼吸補助ができないことによる呼吸努力が増悪する可能性があるため、客観的な流量調節の指標が必要と考える。本研究の目的は、それぞれの機器における流量の変化と横隔膜活動電位の関連を明らかにし、早産児の診療に役立てる事にある。

方 法

2021年4月以降に当院に入院し、神経調節換気を行うために Edi カテーテルを挿入していて、人工呼吸器離脱後に高流量経鼻カヌラを装着した

早産児を対象に検討を行った。染色体疾患や多発奇形、未熟児動脈管開存症以外の先天性心疾患を有する児は除外した。高流量経鼻カヌラのデバイスは Fisher & Paykel 社の Optiflow[®] か Vapotherm 社の Precision flow[®] のどちらかを用いた。それぞれ 4 L/min, 6 L/min, 8 L/min の流量を使用した1時間の心拍数、呼吸数、動脈血中酸素飽和度に加え、Edi peak および Edi minimum の値を1分毎に採取し、流量とそれぞれの値の変化について検討した。データは中央値および四分位範囲 interquartile range (IQR) で示した。

結果、進捗状況

2023年3月までに当科へ入院し、神経調節換気を行った後に高流量経鼻カヌラを使用した早産児は18名であった。うち11名が Precision flow[®] を使用し、7名が Opti flow[®] を使用していた。患者背景については表1に示す。今後、各機器、各流量におけるバイタルサイン、SpO₂ の変化および Edi Peak, Edi min の関係について解析を進める方針である。

表1 患者背景

		Precision Flow [®] (n=11)	Opti Flow [®] (n=7)
在胎週数		25.3 (24.4-25.7) 週	27.7 (26.7-28.9) 週
出生体重		584 (544-714) g	804 (710-1,138) g
抜管週数		33.6 (32.3-33.7) 週	31.5 (31.1-33.5) 週
抜管時体重		1,050 (884-1,204) g	1,079 (927-1,278) g
抜管前 呼吸設定	NAVA level	1.2 (1.1-1.4) cmH ₂ OμV ⁻¹	1.0 (0.9-1.1) cmH ₂ OμV ⁻¹
	PEEP	7 cmH ₂ O	6 cmH ₂ O
	使用酸素濃度	21 (21-24) %	21 (21-21) %

文 献

- 1) Yoder BA, Stoddard RA, Li M, et al. Heated, humidified high-flow nasal cannula versus nasal CPAP for respiratory support in neonates. *Pediatrics* 2013;131:e1482-1490.
- 2) Collins CL, Holberton JR, König K. Comparison of the pharyngeal pressure provided by two heated, humidified high-flow nasal cannulae devices in premature infants. *J Paediatr Child Health* 2013;49:554-556.
- 3) Kodera T, Takatera A, Morisawa T, et al. Pharyngeal pressure due to high-flow nasal cannula devices in preterm infants. *Pediatr Int* 2021;63:1212-1217.
- 4) Guslits BG, Gaston SE, Bryan MH, et al. Diaphragmatic work of breathing in premature human infants. *J Appl Physiol* (1985) 1987;62:1410-1415.
- 5) Stein H, Hall R, Davis K, et al. Electrical activity of the diaphragm (Edi) values and Edi catheter placement in non-ventilated preterm neonates. *J Perinatol* 2013;33:707-711.
- 6) Wachman EM, Lahav A. The effects of noise on preterm infants in the NICU. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2011;96:F305-309.

児童思春期精神科で外来・入院診療を行った摂食障害患者の新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 流行前後における比較

庄 紀子¹⁾, 吉井 亜希子^{1,2)}, 尾野 美奈子¹⁾
山本 恭平¹⁾, 廣内 千晶³⁾, 豊原 公司¹⁾

概要

児童思春期精神科を初めて受診した神経性無食欲症 (以下 AN) 患者は, COVID-19 流行前の 2018-19 年度に比べ, 流行後の 2020-21 年度に約 1.5 倍に増えた。COVID-19 流行前後に分け, 診療録および患者・家族が初診時に提出した自己記入式問診票を後方視的に調査し, 患者の年齢, 併存診断, 不登校や虐待の有無などの背景要因, 抑うつ・不安などの併存症状, 家族からみた病前の患者の様子などを比較したところ, 流行前後の結果は近似しており, AN 患者の均質性を認めた。本調査項目からは AN 発症に関連する心理社会的要因は示唆されず, より詳細な検討が必要と考えられた。

背景

国立成育医療研究センターが実施した「COVID-19 流行下の子どもの心の実態調査」(全国 26 医療機関が参加) (<https://www.ncchd.go.jp/press/2021/211021.html>) において, COVID-19 流行前の 2019 年度と比較し, 2020 年度は神経性やせ症 (神経性無食欲症) の初診外来患者数が約 1.6 倍, 新入院患者数が約 1.4 倍に増加したことが明らかになった。神奈川県立こども医療センター児童思春期精神科 (以下当科) 外来を受診した摂食障害患者の背景要因や併存症状などを調査することにより, COVID-19 流行後に増加した AN 患者の特徴を知ることが目的として本調査研究を実施した。なお, 当科外来は完全紹介予約制であり, 原則として初診は 15 歳 (中学 3 年) まで, 継続診療は 18 歳 (高校 3 年) までである。入院

診療は原則として 15 歳 (中学 3 年) までを対象としている。

対象と方法

2018 年 4 月 1 日から 2022 年 3 月 31 日の 4 年間に, 当科外来を初めて受診し, 国際疾病分類第 10 版 (ICD-10) により F50 (摂食障害) と診断した 15 歳 (中学 3 年) 以下の患者を対象とした。診療録および患者・家族が初診時に提出する自己記入式問診票から後方視的に性別, 年齢, 主診断, 併存診断, 不登校・虐待の有無などの背景要因, 抑うつ・不安などの精神症状などについて調査した上で解析した。

さらに F50 を AN と非 AN の 2 群に分けて解析した。AN : F50.0 (神経性無食欲症) および F50.1 (非定型神経性無食欲症)

非 AN : F50.8 (他の摂食障害) および F50.9 (摂食障害, 特定不能のもの), 嘔吐恐怖・嚥下恐怖などによる食事摂取困難による体重減少を含む。

結果

<AN, 非 AN の患者実数>

- (1) 各年度の初診患者 (実数, 平均年齢, 性別) (表 1)
- (2) COVID-19 流行前後の患者実数 (表 2)

COVID-19 流行による学校の一斉休校が 2020 年 3 月から 5 月に行われた。休校前の 2018 年度と 2019 年度を流行前群, 休校後となる 2020 年度と 2021 年度を流行後群とした。

COVID-19 流行後の 2020 年度と 2021 年度に, AN の患者実数が約 1.5 倍に増加したが, 非 AN の患者実数に変化はなかった。ただし, Fisher's

1) 神奈川県立こども医療センター 児童思春期精神科 2) 東京さつきホスピタル 発達・思春期精神科
3) 横浜市立大学附属市民総合医療センター精神医療センター 児童精神科

exact testにて摂食障害に占めるANの比率の増加に有意差はなかった。

<各群の患者プロフィール>

(3) 年齢 (表3)

COVID-19流行前後でAN患者の平均年齢に差はなかった。ただし、流行後には流行前に0名だった小学2年・3年と低年齢の患者が3例みられた。

(4) 併存診断 (表4)

各群ともに、最も多い併存診断はF8であり、F8の全例がF84(自閉症・アスペルガー症候群・広汎性発達障害)であった。なお、やせの影響を考慮し、発達障害の診断は慎重に行っている。

(5) 背景要因・身体的状態 (表5)

AN, 非ANともCOVID-19流行前後に差を認めなかった。外来初診をしたAN患者の約半数に当科での入院治療を要した。

(6) 自己記入式問診票の結果 (10歳以上の患者が対象。初診時に提出) (表6)

自己記入式問診票の内容

①受診希望：あなた自身が受診を希望しますか？

②苛々・暴力：イライラをおさえられずにかを壊したり、暴れたりしたことがある。

③自傷：最近(ここ2週間)、自分で自分の身体を傷つけたことがある。

④希死念慮：最近、実際に死ぬための計画を考えたことがある。

⑤幻聴：最近、他の人には聞こえない声(例えば命令する声など)が聞こえる不思議な体験をしたことがある。

⑥嫌な記憶の想起：忘れてしまいたい嫌なことを何度も思い出したり、嫌なことが夢に出ることがある。

⑦外傷体験：今でも忘れられないひどい暴力や嫌がらせを誰かから受けた思い出がある。

⑧不信：自分のまわりの人のことを信頼できない・信用できないと感じることがある。

⑨ Generalized Anxiety Disorder-2 (GAD-2) 全般性不安障害のスクリーニングテスト (0-6, カットオフ値3)

⑩ Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) うつ病のスクリーニングテスト (0-27, カットオフ値14)

全ての質問について、AN・非ANともにCOVID-19流行前後に差を認めなかった。AN患者は非AN患者よりも抑うつ・不安、苛々・暴力、嫌な記憶の想起、不信などの精神症状が重篤な傾

表1 AN, 非ANの各年度の初診患者(2020年3-5月一斉休校)

AN	2018年度	2019年度	2020年度	2021年度
患者数(例)	25	29	42	40
平均年齢(歳)	12.4 ± 1.5	13.0 ± 1.6	12.9 ± 1.7	12.5 ± 1.6
性別(男:女)	0:25	2:27	1:41	3:37

非AN	2018年度	2019年度	2020年度	2021年度
患者数(例)	26	19	18	24
平均年齢(歳)	10.1 ± 3.0	10.7 ± 2.9	10.3 ± 2.9	10.3 ± 2.6
性別(男:女)	9:17	4:15	3:15	5:19

表2 AN, 非ANのCOVID-19流行前後の患者実数

	流行前	流行後
AN患者数(例) (男:女)	54 (2:52)	82 (4:78)
非AN患者数(例)(男:女)	45 (13:32)	42 (8:34)

向を認めた。

(7) 自己記入式問診票の結果（家族が対象。初診時に提出）（表7）

自己記入式問診票の内容

①育児に手がかかって大変でしたか？<はい/いいえ>

②保育園や幼稚園で周りの人になじみやすい

子でしたか？<はい/いいえ>

③友達とのつきあいはいかがでしたか？<少ない/普通/多い>

④成績はどうでしたか？<上位/中位/下位>

全ての質問について、AN・非ANともにCOVID-19流行前後に差を認めなかった。

表3 各群の患者プロフィール（年齢）

	流行前 AN (N = 54)	流行後 AN (N = 82)		流行前 非AN (N = 45)	流行後 非AN (N = 42)
平均年齢(歳)	12.7 ± 1.6	12.7 ± 1.6		10.4 ± 2.9	10.4 ± 2.8
未就学 小学生 小学校学年 (例)	1年以下 0 2年 0 3年 0 4年 1 5年 9 6年 11	1年以下 0 2年 1 3年 2 4年 5 5年 4 6年 9		未就学 3 小学生 25	未就学 2 小学生 26

表4 各群の患者プロフィール（併存診断）

	流行前 AN (N = 54)	流行後 AN (N = 82)		流行前 非AN (N = 45)	流行後 非AN (N = 42)
併存診断 (重複あり)(例)	F8 3 (5.6%) F3 2 F4 1 F9 1	F8 6 (7.3%) F4 5 F2 1 F7 1 F9 1		F8 9 (20.0%) F7 8 F4 3 F9 1	F8 10 (23.8%) F4 6 F7 2 F9 2

F2 (精神病的障害) F3 (気分障害) F4 (神経症性障害) F7 (精神遅滞) F8 (心理的発達の障害) F9 (行動および情緒の障害)

表5 各群の患者プロフィール（背景要因・身体的状態）

	流行前 AN (N = 54)	流行後 AN (N = 82)		流行前 非AN (N = 45)	流行後 非AN (N = 42)
発症前の不登校(例)	11 (20%)	29 (35%)		13 (28.9%)	10 (23.8%)
被虐待歴(例)	1 (1.9%)	3 (3.7%)		3 (6.7%)	1 (2.4%)
初診時標準体重比* (%)	73.3 ± 9.0	73.9 ± 11.8		80.7 ± 14.1	81.7 ± 12.8
初診時 BMI (Body Mass Index)	14.0 ± 2.0	14.3 ± 2.5		14.0 ± 2.1	14.5 ± 2.2
当科入院(例)	26 (48%)	40 (49%)		11 (24.4%)	9 (21.4%)

*性別・年齢別・身長別標準体重(日本小児内分泌学会) <http://jspe.umin.jp/medical/taikaku.html>

表6 各群の10歳以上の患者の初診時自己記入式問診票の結果

	流行前 AN (N = 51)	流行後 AN (N = 72)	流行前 非 AN (N = 23)	流行後 非 AN (N = 26)
①受診希望あり	23 (45 %)	43 (60 %)	8 (35 %)	14 (54 %)
②苛々・暴力	20 (39 %)	22 (31 %)	4 (17 %)	6 (23 %)
③自傷	6 (12 %)	14 (19 %)	1 (4 %)	0 (0 %)
④希死念慮	6 (12 %)	6 (8 %)	0 (0 %)	1 (4 %)
⑤幻聴	6 (12 %)	7 (10 %)	1 (4 %)	0 (0 %)
⑥嫌な記憶の想起	17 (33 %)	24 (33 %)	5 (22 %)	10 (38 %)
⑦外傷体験	6 (12 %)	14 (19 %)	0 (0 %)	5 (19 %)
⑧不信	28 (55 %)	38 (53 %)	5 (22 %)	9 (35 %)
⑨ GAD-2 (0-6) (平均)	2.8 ± 2.5	2.9 ± 2.2	2.0 ± 2.5	2.1 ± 2.1
GAD-2 (3 以上) (例)	19 (37 %)	31 (43 %)	5 (22 %)	7 (27 %)
⑩ PHQ-9 (0-27) (平均)	11.1 ± 6.4	10.7 ± 6.0	5.3 ± 5.4	6.8 ± 5.1
PHQ-9 (14 以上) (例)	17 (33 %)	23 (32 %)	3 (13 %)	2 (8 %)

表7 各群の家族の初診時自己記入式問診票の結果

	流行前 AN (N = 53)	流行後 AN (N = 80)	流行前 非 AN (N = 42)	流行後 非 AN (N = 42)
①育児に手がかかった	7 (13 %)	16 (20 %)	8 (19 %)	8 (19 %)
②就学前なじみにくかった	15 (28 %)	23 (29 %)	12 (29 %)	14 (33 %)
③友人が多い	16 (30 %)	20 (25 %)	14 (33 %)	12 (29 %)
③友人が少ない	4 (8 %)	8 (10 %)	1 (2 %)	5 (12 %)
④成績が上位	29 (55 %)	43 (54 %)	10 (24 %)	16 (38 %)
④成績が下位	1 (2 %)	6 (8 %)	3 (7 %)	2 (5 %)

考 察

COVID-19 流行前後で AN 患者の各種プロフィールに統計学的有意差がないだけでなく、その結果は近似しており、AN 患者の均質性を認めた。COVID-19 流行に伴う何らかの要因が AN 発症の契機となっていると推測されるが、本調査項目からは AN 発症に関連する心理社会的要因は示唆されなかった。一方で COVID-19 流行によって患者数に変化がなかった非 AN の発症には心理社会的要因よりも生物学的要因が大きく関与して

いる可能性が示唆された。AN の発症に関わる心理社会的要因を検討するには、より詳細に患者の性質や家族背景を調査する必要がある。

小学2・3年のような低年齢患者が増加している可能性があり、発症の低年齢化を確認するためには、全国的な調査が待たれる。COVID-19 流行前後に関わらず、AN 患者は身体的危機状態にあるだけでなく、重篤な精神症状を抱えていることを念頭に置いて診療にあたる必要があると考えられた。

今後の展望

初診後の計測結果の推移などを調査することで、COVID-19 流行前後の AN, 非 AN 患者の予後について検討する予定である。また、当科

で入院治療を行った AN, 非 AN 患者について、より詳細に背景要因や併存症状などを調査し、COVID-19 流行前後の患者の比較をする予定である。

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, 杉 山 円, 福 井 厚 子
平 川 崇

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（計画番号 PC3150413）」を行っており、全症例で安全に施行できている。本年度は、In vivo において T 細胞機能欠如ラット (F344/NJcl-rnu/rnu : ノードラット) の顎裂部へ PRP を新規ゼラチンハイドロゲルシート (GHS) に含有させて移植を行った。

対象と方法

ノードラットの上顎の門歯-犬歯間に $5 \times 2.5 \times$

1 mm の骨欠損を作製し、① PRP 群 ② PPP (Platelet poor plasma) 群 ③ PRP+GHS 群 ④ PPP+GHS 群 ⑤ GHS 群 ⑥ コントロール群の 6 群に分けて検討した (n=3)。GHS 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 1)。術前後の画像は、microCT Rm_CT2 (Rigaku corporation, Tokyo, Japan) を用いて撮影された。条件設定は、90 kV, 160 μ A, スライス幅 120 μ m (0.12 mm スライス) とした。CT 画像の解析には、医療画像ワークステーション 3D slicer (BWH and 3D Slicer contributors, <https://www.slicer.org/>) を用いた。まず、移植直後と 2 か月後の骨欠損部を全て含むような円柱を仮定しその中

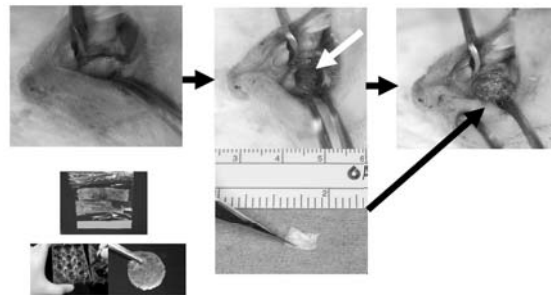


図 1 大きな骨欠損 ($5 \times 2.5 \times 1$ mm) を作製したノードラット (F344/NJcl-rnu/rnu) にゼラチンハイドロゲルシートを移植

の骨体積を計測した。その円柱内の骨体積の割合を比較することにより、骨形成能を統計学的に検討した (図2)。

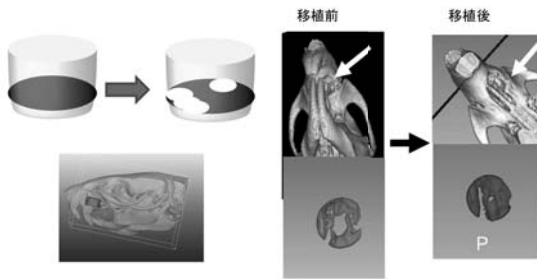


図2 3Dslicer を用いた μ CT 測定

左上：骨欠損部を十分に覆う程度の円柱 (薄色) を設定し、同じ形状、容積の円柱に含まれる骨部分の割合を算出することで、骨欠損部の治癒過程を数値化して比較する (新生骨を円柱内の4つの円とした)。左下：ゼラチンハイドロゲルシート移植前後のCTを重ね合わせたところ。右：移植前の3DCTと骨欠損部断面および移植後の3DCTと骨欠損部断面

結果

2か月後の骨体積の割合から移植直後の割合を引いた結果は、① PRP 群：4.2 (5.2 \pm 1.4) % ② PPP：3.9 (3.9 \pm 0.6) % ③ PRP+GHS 群：3.4 (2.6 \pm 1.6) % ④ PPP+GHS 群：3.8 (5.4 \pm 2.5) % ⑤ GHS 群：7.4 (6.9 \pm 1.7) % ⑥ コントロール群：3.1 (3.2 \pm 0.3) % であった。

考察

GHS 移植群がコントロール群と比較して骨形成が高い傾向にあった。GPS が顎裂部骨形成において有効である可能性が示唆された。

その一方で、PRP+GHS 群は骨形成において優位差がなかった。この原因は、ラットの顎裂部が小さいために操作が煩雑になったことがあげられ、今後症例数を増やし、検討を重ねる予定である。

ダウン症患者におけるリバーストリヨードサイロニンを 中心とした甲状腺ホルモンの解析

岩野麗子¹⁾、室谷浩二²⁾、花川純子²⁾

研究背景および目的

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 (健康児で1-2%の頻度に対して、ダウン症患者で4-19.5%の頻度)。健康者の甲状腺疾患の発生頻度が2,000-4,000人に1人の割合に対し、ダウン症患者では300人に1人の割合で発症し、10倍の頻度となっている。ダウン症患者で甲状腺疾患が多い理由としては、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン thyrotropin-releasing hormone (TRH) の分泌不全、視床下部-下垂体軸-副腎系 hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) の未熟、甲状腺刺激ホルモン thyroid stimulating hormone (TSH) の不適切な分泌や非感受性などが考えら

れるが、その原因はまだ解明されていない。

そこでわれわれは、ダウン症患者の甲状腺ホルモン動態を明らかにすることが、甲状腺疾患に至るまでの機序の解明につながると考え、研究を始めた。最初に甲状腺ホルモンを同時に測定できる方法を、高速液体クロマトグラフィー-タンデム型質量分析装置 (LC-MS/MS) を用いて検討した。次に確立した測定法を用いてダウン症患者の甲状腺ホルモンを年代別に測定した。その結果、リバーストリヨードサイロニン (rT3) の値が、ほとんどの年代でダウン症患者の方が有意に高いことが明らかになった¹⁾。そこで、本研究ではなぜダウン症患者で rT3 の値が高いのかその理由を明らかにすることにした。本年度では、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 (T3) から代謝される各種ジヨードサイロニン (T2) の定量を行い, rT3 の量の違いがその代謝物にまで影響しているのかどうか調べた。

実験方法

T2 の測定法の検討

T2 の異性体 3 種 (3,5- ジヨードサイロニン: 3,5-T2, 3,3'- ジヨードサイロニン: 3,3'-T2, 3',5'- ジヨードサイロニン: 3',5'-T2) (図 1) を測定できる方法を検討した。

市販の標準物質 (3,5-T2, 3,3'-T2, 3',5'-T2) および内部標準物質 (3,5-T2 IS) を用いて, 測定に必要な Multiple Reaction Monitoring (多重反応モニタリング) のパラメーターを検討した。

次に, 検討したパラメーターを用いて, LC-MS/MS を用いた測定の方法を検討した。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: TQ4500” (Sciex, Framingham, MA, USA) から構成される, 高速クロマトグラフィー-タンデム型質量分析装置 (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グラジエント溶出で行った。

表 1 甲状腺ホルモンの測定のための MRM パラメーター

Compound	MRM transitions (m/z)	RT (min)	DP	EP	CE	CXP
3,5-Diiodo-L-thyroxine (3,5-T2)	525.8 > 480.0 (Q)	3.92	88	10	26	12
	525.8 > 382.0 (q)		88	10	26	11
3,3'-Diiodo-L-thyroxine (3,3'-T2)	526.0 > 480.0 (Q)	4.39	78	10	29	21
	526.0 > 382.0 (q)		85	10	34	5
3',5'-Diiodo-L-thyroxine (3',5'-T2)	525.9 > 479.9 (Q)	4.46	74	10	26	12
	525.9 > 382.0 (q)		55	10	30	6
3,5-Diiodo-L-thyroxine ¹³ C ₆ (3,5-T2 IS)	532.0 > 485.9 (Q)	3.82	87	10	28	19
	532.0 > 388.0 (q)		87	10	28	15

RT, retention time; DP, declustering potential; EP, entrance potential; CE, collision energy; CXP, collision cell exit potential
Q, quantifier; q, qualifier

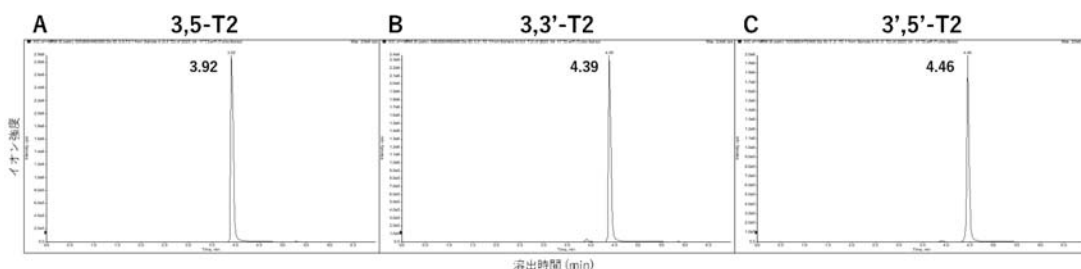


図 2 各種ジヨードサイロニン標準物質のマスクロマトグラム

LC-MS/MS を用いて 50 ng/mL の各種 T2 標準物質を解析した結果をマスクロマトグラムで示す。A: 3,5- ジヨードサイロニン, B: 3,3'- ジヨードサイロニンおよび C: 3',5'- ジヨードサイロニン。図は, 縦軸はイオン強度, 横軸は溶出時間で示している。

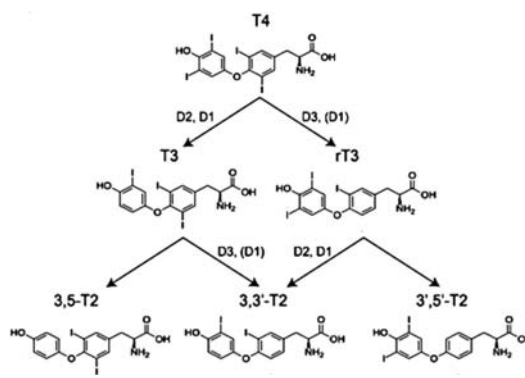


図 1 甲状腺ホルモンの代謝経路

T4: テトラヨードサイロニン T3: トリヨードサイロニン
rT3: リバーストリヨードサイロニン 3,5-T2: 3,5- ジヨードサイロニン 3,3'-T2: 3,3'- ジヨードサイロニン 3',5'-T2: 3',5'- ジヨードサイロニン

D1: 1 型甲状腺ホルモン脱ヨード酵素 D2: 2 型甲状腺ホルモン脱ヨード酵素 D3: 3 型甲状腺ホルモン脱ヨード酵素

Jongejan et al. Clin Chem (2020)²⁾ より転載

結果

表 1 に, 各種 T2 および T2-IS の MRM を一覧で示した。各々の化合物につき 2 種類のイオンペアを選択したが, 感度が一番高い Q (quantifier) を測定に用いることにした。

次に, カラムを用いた分析結果のマスクロマトグラムを図 2 に示した。3 種の T2 は異性体であ

るため分子量はすべて同じであるが、カラムを用いることで個別に分離することができた (図2)。

考 察

本年度は各種 T2 を同時測定できる方法を検討した。以前に確立した T3, rT3 およびテトラヨードサイロニン (T4) の測定法と同じ条件で測定することができたので、今後は計6種類の甲状腺ホルモンを同時に測定することが可能となる。次の課題としては、実際に T2 の測定法を用いて血清中の T2 を測定する予定である。ただ、文献によると血中の T2 量は非常に微量であるため²⁾ (3,3'-T2 で 0.003 ng/mL 程度)、現在使用しているタンデム型質量分析装置 (TQ4500) では、感

度が足りなく測定できない可能性がある。その場合は昨年度新たに当院に導入された“Triple Quad 7500: QT7500”を用いて検討を行う。この機種は TQ4500 よりも 100 倍以上感度がよいとされているので、T2 の定量は可能であると予想される。

文 献

- 1) Iwano R, Toki M, Hanakawa J, et al. Quantification of serum thyroid hormones using tandem mass spectrometry in patients with Down syndrome. *Biomed chromatogr* 2022;36:e5249.
- 2) Jongejan RMS, Klein T, Meima ME, et al. A Mass Spectrometry-Based Panel of Nine Thyroid Hormone Metabolites in Human Serum. *Clin Chem* 2020;66:556-566.

¹H-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⁾
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 スペクトロスコーピー (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。¹H-MRS で観測可能な脳内代謝物は三十数種類におよび、それぞれ異なる化学シフト値をもつ。その信号強度は¹H 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

¹H-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患者の脳内¹H-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¹H-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¹H-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。量子科学技術研究開発機構(旧、放射線医学総合研究所、以下、量子研と略す)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、神経疾患の疑われる患児に関しては¹H-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患者の脳内¹H-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(¹H-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¹H-MRS信号パターンなどをまとめる。また、得られた¹H-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¹H-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¹H-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か所が原則)について行う。1部位について得られるデータは¹H-MRSデータ:数100KB程度、および位置確認用MRIデータ:3MB程

度である。¹H-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¹H-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、¹H-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一台のPCに集約する。2)使用するPCは¹H-MRSデータ転送以外はLANケーブルをつなぐ、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)解析は基本的にはセンター内で行い、¹H-MRSデータをより詳細に解析するためにセンターから研究分担者が在籍している量子研へ持ち出す場合などは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4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5,919に達し、今年度の新たな解析症例だけで381症例(昨年度427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れていない)、実患者数は487人(昨年度544人)、延解析人数は582例(同613例)であった。昨年度はCOVID-19流行の影響による検査数減少の影響を受け解析数は増減している。1検査につき3か所

の MRS 取得と解析を標準とし有所見例では 5-6 か所を計測することから、全解析数は 1,819 件 (昨年度 1,862 件) である。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つてからは PACS 上で配信)。10 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¹⁾したが、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 N-アセチルアスパラギン酸 (NAA) 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, 柴崎ら, 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 2018 年に掲載された²⁾。昨年度は、96 時間以内と 1 週間以降の 2 点における MRS 絶対濃度と拡散強調像で得られる ADC 値と予後予測能の比較を行った原著論文を *Journal of Pediatrics* に掲載することができた³⁾。また、当センターでの ¹H-MRS 研究の 1 つのまとめとなる review を日本磁気共鳴医学会の英文誌 *Magn Reson Med Sci*. 誌に 20 周年記念の invited review として掲載した⁴⁾。今年度は、早産児の代謝物の検討を *Pediatr Res*. 誌に掲載した⁵⁾。

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。治療モニタリング関連では、West 症候群でのてんかん治療薬投与に伴う脳内 GABA 濃度変化を含む論文が神経内科より公開された⁶⁾。

今年度も COVID-19 感染の継続により、国際学会での発表は難しい状況が続いているが、web を含めた講演で MRS の有用性を啓発しており、国内学会では、相田が日本磁気共鳴医学会 (MRI 学会) 大会で「¹H-MR spectroscopy for the pediatric brain (¹H-MRS の小児脳での活用)」をシンポジウム講演するなど、複数の学術発表を行った。

将来展望

当初は共同研究者である量子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することで、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、量子研の 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、現在は隔週 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ている。当院ではすでに臨床の一部として欠かせない ¹H-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、量子科学技術研究開発機構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していく。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と考えている。

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) Shibasaki J, Niwa T, Piedvache A, et al. Comparison of Predictive Values of Magnetic Resonance Biomarkers Based on Scan Timing in Neonatal Encephalopathy Following Therapeutic Hypothermia. J Pediatr 2021;239:101-109.
- 4) Aida N. ¹H-MR Spectroscopy of the Early Developmental Brain, Neonatal Encephalopathies, and Neurometabolic Disorders. Magn Reson Med Sci 2022;21:9-28.
- 5) Tomiyasu M, Shibasaki J, Kawaguchi H, et al. Altered brain metabolite concentration and delayed neurodevelopment in preterm neonates. Pediatr Res. 2022;91:197-203.
- 6) Ikeda A, Tomiyasu M, Yamamoto A, et al. Elevation of brain gamma-aminobutyric acid levels is associated with vigabatrin-associated brain abnormalities on magnetic resonance imaging. Epilepsy Res 2022;181:106881.

鼓膜換気チューブ留置術を施行した症例における 滲出性中耳炎予後因子の検討

井 上 真 規

はじめに

滲出性中耳炎は小児では最も頻度の高い疾患であり、2歳までに約90%が発症するといわれている。耳管機能の改善は6歳以降と考えられており¹⁾、乳幼児においては滲出性中耳炎の治療として鼓膜換気チューブ留置術を施行することが多い。しかし耳管機能の改善は症例によってさまざまであり、滲出性中耳炎予後の推測は困難である。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滲出性中耳炎予後因子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、初回チューブ留置期間、初回チューブ留置期間中の耳漏の有無、初回チューブ留置時の喘息の有無、アデノイド切除術の有無、初回チューブ留置術施行前の1歳時と、3歳時の乳突蜂巢面積で検討した。

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か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

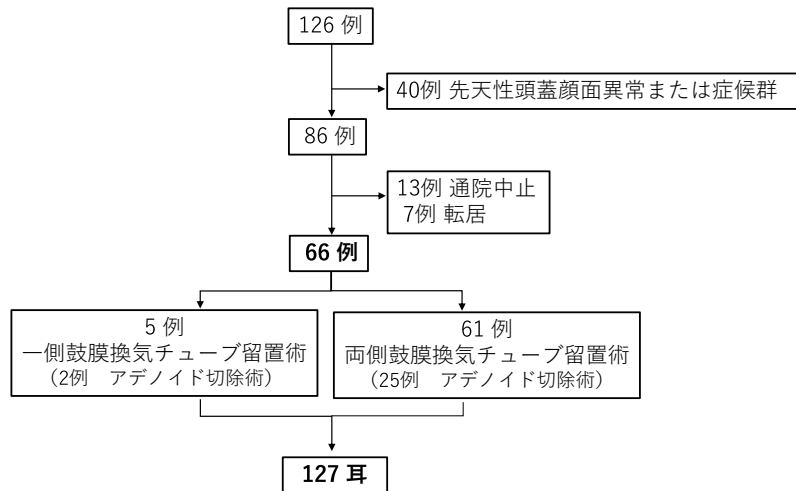


図1 対象症例

下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か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。

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 (range)	1.6 (1.1-1.9)
初回鼓膜換気チューブ留置術	
側頭骨単純X線検査	1.3 (1-1.8)
1歳時	3.3 (3-3.9)
3歳時	
アデノイド切除術	1.5 (1.1-1.9)
観察年数中央値 (range)	5.2 (1.9-5.9)

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。

②検討因子

(1) 初回チューブ留置期間

中央値は再留置ありでは21か月 (range: 2-53か月), 再留置なしでは25か月 (range: 9-40か月) であった。

(2) 初回チューブ留置期間中の耳漏の有無

再留置ありでは52% (13/25耳), 再留置なしでは64.3% (63/98耳) であった。

(3) 初回チューブ留置時の喘息の有無

再留置ありでは24% (6/25耳), 再留置なしでは10.2% (10/98耳) であった。

(4) 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。

(5) 初回チューブ留置術施行前の1歳時の乳突蜂巣面積

中央値は再留置ありでは178 mm² (range: 70-413 mm²), 再留置なしでは190 mm² (range: 62-364 mm²) であった。

(6) 3歳時の乳突蜂巣面積

中央値は再留置ありでは314 mm² (range: 161-641 mm²), 再留置なしでは439 mm² (range: 112-799 mm²) 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。初回チューブ留置期間、初回チューブ留置期間中の耳漏の有無、初回チューブ留置時の喘息の有無、アデノイド切除術の有無、1歳時の乳突蜂巣面積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0.36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0.02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2 再留置の確率

Variables	OR	95 % CI	P-value
初回チューブ留置期間	0.7	0.47-1.03	0.07
耳漏	0.75	0.31-1.85	0.54
喘息	2.58	0.8-8.37	0.11
アデノイド切除術	0.98	0.41-2.37	0.97
1歳時乳突蜂巣面積	1.01	0.54-1.9	0.98
3歳時乳突蜂巣面積	0.36	0.15-0.84	0.02

OR=odds ratio; CI=95 % confidence interval.

考 察

小児では鼓膜換気チューブ留置術施行後、鼓室内粘膜の改善には18か月以上を要すると考えられている²⁾。本検討では初回チューブ留置期間は再留置ありで中央値21か月、再留置なしで中央値25か月と再留置なしでやや長かったが、初回チューブ留置期間と再留置との関連はみられなかった。チューブ留置期間中の耳漏は早期のチューブ脱落の原因となり、その結果再留置を要しやすいとの報告もあるが²⁾、本検討では初回チューブ留置期間中の耳漏と再留置との関連はみられなかった。喘息のような慢性の気道疾患は、上咽頭浮腫を生じその結果耳管閉塞を来すため滲出性中耳炎を反復しやすい³⁾。しかし本検討では初回チューブ留置時の喘息と再留置との関連はみられなかった。アデノイド切除術により上咽頭の細菌叢が排除され耳管機能の改善に有効という意見があるが⁴⁾、本検討ではアデノイド切除術と再留置との関連はみられなかった。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⁵⁾。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⁶⁾。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。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) Strong MS. The eustachian tube: basic considerations. *Otolaryngol Clin North Am* 1972;5:19-27.
- 2) Valtonen H, Qvarnberg Y, Nuutinen J. Tympanostomy in young children with recurrent otitis media. A long-term follow-up study. *J Laryngol Otol* 1999;113:207-211.
- 3) Hao J, Chen M, Liu B, et al. Compare two surgical interventions for otitis media with effusion in young children. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2019;276:2125-2131.
- 4) Boston M, McCook J, Burke B, et al. Incidence of and risk factors for additional tympanostomy tube insertion in children. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;129:293-296.
- 5) 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.
- 6) Andréasson L. Correlation of tubal function and volume of mastoid and middle ear space as related to otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1976;85:198-203.

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

先天性大脳白質形成不全症の代表的疾患の Pelizaeus-Merzbacher disease (PMD), Spastic paraplegia 2 (SPG2) は, PLP1 遺伝子異常 (重複, 点変異, 欠失, 挿入, スプライシング異常) によって引き起こされる¹⁾。これらの遺伝子の解析は, 次世代シーケンスの発展に伴い, アミノ酸非コード領域のイントロンも解析可能となっている。

新たな病態 Hypomyelination of early myelinating structures (HMES) を持つ患者群から, PLP1 のイントロン3の深部イントロンの long-distance interaction site (LDIS) に変異が報告されている²⁻⁴⁾。

PLP1 は2つのスプライシングバリエント PLP1 (277 アミノ酸) と DM20 (242 アミノ酸) が存在し, HEMS 患者においては, PLP1/DM20 の発現比率低下が疾患の原因となる。

一昨年度は, 深部イントロン LDIS 変異について, 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人為的に変異を入れたダブル変異体によるレスキュー, 昨年度は Tantzer らの論文を参考に DM20 のスプライシングドナーサイトに結合する相補的な配列をもつ アンチセンスオリゴマー (ASO) を用いたレスキューを実施し, PLP1/DM20 の発現比率を評価したところ, 比率の改善が認められた^{5,6)}。これらのことより, 深部イントロンの LDIS は PLP1 および DM20 のスプライシングに強く関与していることが示唆された。

ところで, 深部イントロンの LDIS 領域は陸上に暮らす哺乳類において保存性が高く (図1), 進化の過程におけるイントロンの獲得や消失は大変興味深い。LDIS 領域の変異体においては,

pre-mRNA の2次構造の安定性を示すギブスエネルギー (ΔG) 値が WT と比べて高くなる (低い数値ほどエネルギー的に安定度が高い)。

保存された領域の5'側と3'側は16塩基対あたり13塩基対において相補的な塩基対を有するが, 3塩基対 ($C \neq U, G \neq U, G \neq G$) では相補的でない。この3塩基対を $C = G, G = C, G = C$ に置換をすることで, ΔG の安定化が高まることで, PLP1 と DM20 のスプライシングに影響はあるだろうか。

今回, LDIS 領域の pre-mRNA の2次構造の安定性について, 上記3塩基対を置換した配列 (人為的バリエント) の ΔG 値を mfold program (<http://mfold.rna.albany.edu/?q=mfold/RNA-Folding-Form>) (55-base normal RNA test sequence comprising 20 bases from c.453+150 to +169 and 20 bases from

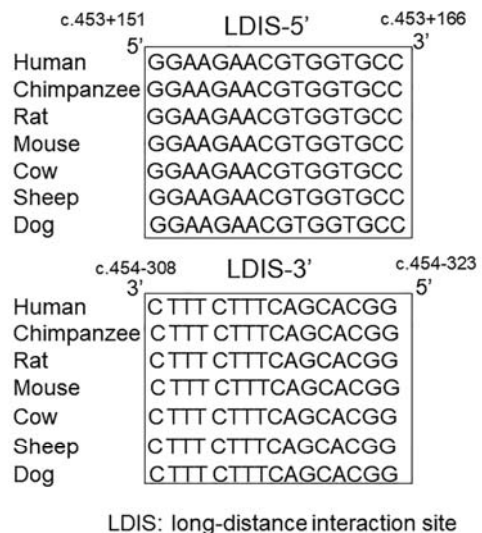


図1 PLP1 intron3 LDIS 領域における種の保存性

c.454-326 to -307), separated by 15 random bases (N_{15}) を用いて計測, 人為的バリエントをエクソントラップベクターに組み込み, 細胞実験において PLP1 と DM20 のスプライシングの影響を検証した。

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, PLP1 遺伝子のエクソン 3,4,5 を含む野生型および人為的バリエントのインサート 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 を用いて, 野生型および人為的バリエントのプラスミドを導入し, 48 時間後に細胞を回収, RNA を抽出, 逆転写反応により RNA から cDNA を合成, cDNA を鋳型としてベクター特異的プライマーを用いて PCR にて目的領域 (PLP1 エクソン 3,4,5) を増幅させた。

結果

ΔG 値を mfold program で計算した結果, WT の Initial $\Delta G = -17.6$ kcal/mol に対して, 人為的バリエントは Initial $\Delta G = -30.6$ kcal/mol という値が得られた。人為的バリエントにおいて ΔG 値が低いエネルギー値で安定化することを示す (図 2)。

次に, これらのベクターを細胞へトランスフェクション後に mRNA 転写産物の解析 (Reverse Transcriptase PCR) を実施した。その結果, 人為的バリエントでは, PLP1/DM20 の発現比率が WT よりも若干低下した (図 3)。

考察

PLP1intron3 の LDIS は種の保存性が高く, この部分に変異が入ると PLP1/DM20 の発現比率が低下することは, 既に知られている。野生型では, LDIS 領域の 16 塩基対あたり 3 塩基対は相補的でない。この 3 塩基対を相補的にした人為的バリエントを作製したが, PLP1/DM20 発現比率が野生型よりも僅かに低下していた (図 2)。

このことから, LDIS 領域にある相補的ではない 3 塩基対にも, スプライシング制御に何らかの意味があることが示唆された。

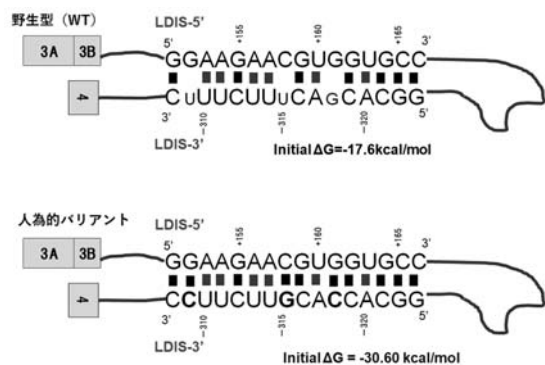


図2 LDIS 領域の pre-mRNA の 2 次構造と ΔG 値
野生型 (上段), 人為的バリエント (下段)

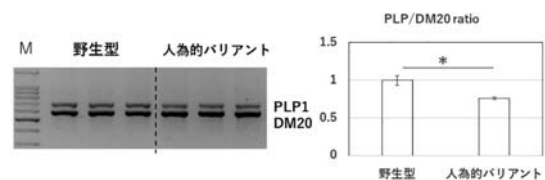


図3 mRNA 転写産物の解析結果
電気泳動写真(左), PLP1/DM20 の比率(右) Student's t-test.
 $P < 0.05$ (*)

文献

- 1) Inoue K. PLP1-related inherited dysmyelinating disorders: Pelizaeus-Merzbacher disease and spastic paraplegia type 2. *Neurogenetics* 2005;6:1-16.
- 2) Steenweg ME, Wolf NI, Schieving JH, et al. Novel hypomyelinating leukoencephalopathy affecting early myelinating structures. *Arch Neurol* 2012;69:125-128.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 新保裕子, 後藤知英, 黒澤健司. 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. こども医療センター医学誌 2020;49:138-140.
- 6) 新保裕子, 後藤知英, 黒澤健司. 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. こども医療センター医学誌 2021;51:166-168.
- 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.

急性骨髄性白血病患者における 抗がん剤薬物動態に及ぼす年齢の影響の検討

時澤 秀明^{1,2)}, 柳 町 昌 克^{2,3)}, 岩 崎 史 記³⁾
横須賀 とも子³⁾, 慶 野 大³⁾, 宮 川 直 将³⁾
廣 瀬 綾 菜³⁾, 松 本 尚 也³⁾, 飯 塚 敦 広³⁾
甲 斐 維 子¹⁾, 岩 野 麗 子⁴⁾

背 景

急性骨髄性白血病 (AML) は小児において急性白血病の約 25 % を占めている。AML の治療はシタラビンとアントラサイクリン系抗がん剤を中心とした多剤併用化学療法である。急性前骨髄球性白血病およびダウン症に発症した AML を除いた小児 AML 新規診断例の治療成績は、無イベント生存率 (EFS) が約 60 %, 全生存率 (OS) が約 70 % である¹⁾。本邦で実施された全国研究である日本小児白血病リンパ腫研究グループ (JPLSG) AML-05 試験プロトコルでは、乳児 (診断時 1 歳未満) 症例において、試験開始当初に初回寛解導入療法中の感染症死亡例が問題となり、初回寛解導入療法における抗がん剤投薬量の減量と支持療法の強化という改訂が行われた。登録時年齢が 2 歳未満の場合は以下の換算式を用いる²⁾。

「投与量 = 体表面積あたりの投与量 × { 体重 (kg) } ÷ 30」

改訂後は、早期死亡例はなく、EFS, OS ともに先行プロトコルである AML99 試験と同等の結果が得られている。

しかしながら、2 歳未満における投与量の減量が血中濃度や薬物動態および治療成績 (治癒率や合併症発症率など) に及ぼす影響は不明である。当院においてこれらの減量基準を踏襲した AML-12 試験プロトコルでの治療で 2 歳未満の患者の再発例を多く経験した。一般に幼小児期の薬物動態は成長と共に変動する要因が多く、小児という括りの中でも年齢によって薬物動態の個人差は大きいと考えられている。また上記換算式の設定根拠は乏しく、各年齢層における血中濃度推移は同様でない可能性がある。また薬剤によって減量の必要性が異なる可能性がある。そのため、体表

1) 神奈川県立こども医療センター 薬剤科 2) 同 治験管理室 3) 同 血液・腫瘍科
4) 同 臨床研究室

面積どおりの投与群と体重補正での減量投与群の2群においてAMLの治療に使用するそれぞれの抗がん剤が同じ血中濃度を維持できているかどうか評価することは、乳幼児のAMLに対する適切な治療法の開発において重要である。

目的

各年齢層の抗がん剤血中濃度を比較することで、年齢毎の薬物動態の相違について検討する。年齢毎の薬物動態を検討することで、上記プロトコルでの治療量妥当性について検討する。

対象

2021年7月6日以降にAMLと診断され、エトポシド、シタラビン、ミトキサントロン、イダルビシンによる化学療法を施行した患者。診断時年齢が18歳未満の男女であり、本人または保護者などの代諾者からの同意が得られている患者。なお本研究は神奈川県立こども医療センター倫理審査委員会の承認を得て施行している。

方法

- 1) 各薬剤のインタビューフォームより薬物動態を参考とした1サイクルにおける検体採取ポイントを設定し、血液検体の採取(1mL)を行う。
- 2) 当院臨床研究室で高速クロマトグラフィータンデム型質量分析装置を用いて、逆相カラムを使用して各試料の血漿濃度を測定する。
シタラビンはAra-CTP、Ara-Uの2つの化合物も測定する。
イダルビシンは未変化体、イダルビシノールの2つの化合物を測定する。
- 3) 血中濃度結果、肝機能、腎機能等の検査データ、投与量、臨床情報を元に年齢毎の薬物動態に関して検討する。

結果

今回はイダルビシンの11例の症例について結果を報告する。イダルビシンは投与終了直後(ピーク)のポイント結果を示す。

年齢中央値は7歳(1か月-15歳)であり、このうち2歳未満で抗がん剤の減量を行った群(U群)は5例、2歳以上の減量を行わなかった群

(O群)は6例であった(表1)。イダルビシンのピーク濃度は平均値477 (ng/mL)、標準偏差356 (ng/mL)であった。2群(O-U)間においてピーク濃度に有意差を認めなかった(マン・ホイットニー検定、 $p=0.56$)が、血中濃度は104-1,071 (ng/mL)とばらつきを認めた(表2, 図1)。

表1 患者背景

Pt	年齢(歳)	性別
U-1	0.1	M
U-2	0.9	M
U-3	1.3	F
U-4	1.5	M
U-5	1.8	F
O-1	7	M
O-2	10	M
O-3	11	F
O-4	13	F
O-5	13	F
O-6	15	M

表2 イダルビシン、イダルビシノールのピーク血中濃度

Pt	年齢(歳)	性別	イダルビシン (ng/mL)	イダルビシノール (ng/mL)
U-1	0.1	M	417	6
U-2	0.9	M	232	10
U-4	1.5	M	1,071	22
O-2	10	M	104	9
O-4	13	F	481	14
O-5	13	F	1,040	57
O-6	15	M	110	9

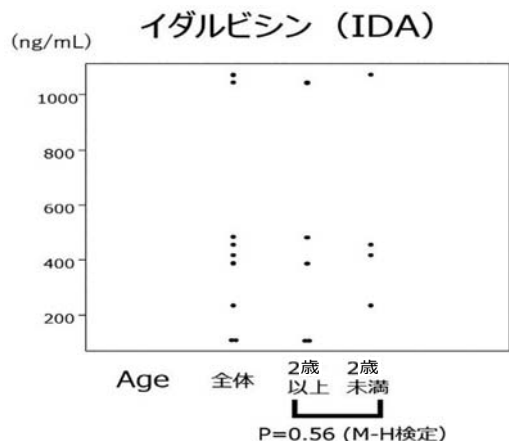


図1 イダルビシンピーク濃度の年齢群間比較結果

考 察

イダルビシンのピーク濃度においてはばらつきがあるものの、年齢群間において大きな差は見られなかった。少数例での検討ではあるが、今回得られた結果および血中薬物濃度の観点からはイダルビシンの2歳未満の減量は適切であることが示唆された。他薬剤についても、血中濃度推移を検討するにあたっての検体採取ポイントを検討中であり、イダルビシンの検体採取ポイントの見直しも検討中である。

今後症例を増やしての解析や、さらなる評価ポイントでの年齢群間の血中濃度比較を行う予定である。また、測定方法や保存方法のさらなる検討

も必要である。

文 献

- 1) Tsukimoto I, Tawa A, Horibe K, et al. Risk-stratified therapy and the intensive use of cytarabine improves the outcome in childhood acute myeloid leukemia: the AML99 trial from the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *J Clin Oncol* 2009;27:4007-4013.
- 2) Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, et al. Appropriate dose reduction in induction therapy is essential for the treatment of infants with acute myeloid leukemia: a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol* 2013;98:578-588.

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, 水 谷 陽 貴, 籾 生 なおみ
上 原 健 史, 滝 崎 奈 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、血糖上昇ないし低下に関わる機構の先天性の異常に加えて、低年齢による血糖維持の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、血糖の経時的な評価が必要であり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、continuous 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、従来型の血糖測定器を用いた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が困難であり、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はじめて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 6 名において、原因検索や血糖動態の把握、治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、FGM はペースメーカー等、他の埋め込み型医療機器との併用が禁忌となっているため、これら医療機器を使用している患者は除外した。

方法

- ・本人ないし保護者から文章による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よみとる
- ・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

新たに低血糖が指摘された 3 名の患者において FGM による血糖評価を行った。

患者①

6 歳 男児

1 歳時ころより空腹時の不機嫌を指摘されていた。こまめな補食で対応していたが、活動量増加に伴い朝起床できないことが増えてきたため、前医で FGM 装着したところ夜間に 70 mg/dL 以下に頻回になっていることが判明し当院紹介となった。FGM を用いて血糖動態の評価を入院の上を行った。

入院 1 日目の夕食後 - 2 日目の朝まで 14 時間の絶食を行ったが低血糖を認めなかった (図 1)。

入院 2 日目 - 3 日目に再度絶食を行い 22 時間経過した時点で FGM 上のグルコース値 54 mg/dL、実測血糖値 61 mg/dL となった時点で終了とした (図 2)。経過中低血糖を疑う症状は認めなかった。

FGM 上のグルコース値は、実測血糖値と比べて 10-40 mg/dL 程度低く表示されていた。

その他、原因検索のため精査を行ったが、低血糖を呈する疾患は否定的であった。

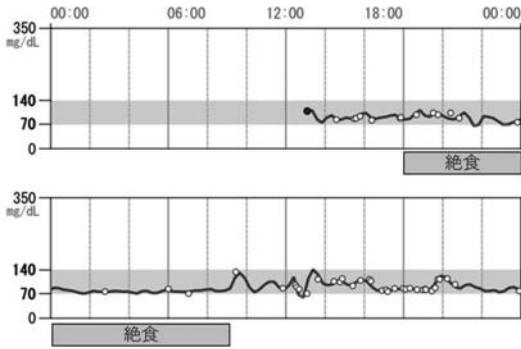


図1 血糖推移
(患者①-1 入院1日目-2日目の日内パターン)

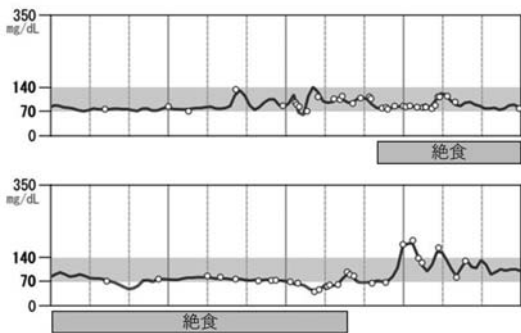


図2 血糖推移
(患者①-2 入院2日目-3日目の日内パターン)

患者②

9か月 男児

大頭症の精査で行った包括的遺伝子解析 (TruSight One) の結果、大頭症の原因遺伝子に加えて、糖原病IX型の原因遺伝子にも変異が同定されたため、FGMで血糖の評価を行った。ミルク間隔があく時間夜間に血糖が低値で表示されたが、実測血糖値は90 mg/dL 台であり低血糖症状も認めなかった (図3)。

FGM上のグルコース値は、実測血糖値と比べて50 mg/dL程度低く表示されていた。

患者③

6か月 男児

高インスリン血症による低血糖に対して、内服および特殊ミルクによる栄養療養中の児。血糖推移をFGMで評価を行った。

血糖は1日を通して安定していた (図4)。

全患者で、皮膚トラブル等の合併症なくFGM装着が可能であった。

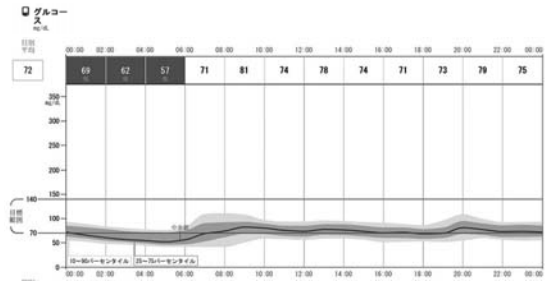


図3 血糖推移
(患者② 14日間の日内パターン)

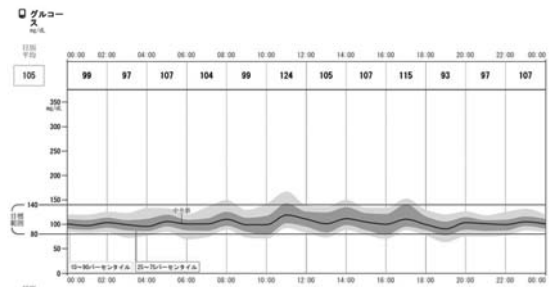


図4 血糖推移
(患者③ 14日間の日内パターン)

考察

全患者において、血糖推移を安全に評価することが可能であった。

患者①・②でFGM上のグルコース値が実測血糖値と比べて低く表示されていることが明らかとなった。今回使用したFreeStyle リブレ®は、校正が不要とされているが、低血糖や高血糖を生じた際や測定値と一致しない症状がある場合や測定値の正確性に疑問がある場合は穿刺による血糖測定が必要とされている。安全に評価を行うために、自宅で装着する場合は家族に指導する必要がある。

24時間持続的な血糖推移を評価できたため、本人・家族の負担を増やすことなく原因検索や治療効果判定を行うことができた。

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. 小児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.

food protein-induced enterocolitis syndrome (FPIES) の特徴と予後

犬尾千聡

はじめに

food protein-induced enterocolitis syndrome (FPIES) は非 IgE 依存性で, 新生児期から乳児期に嘔吐, 下痢, 下血, 体重増加不良などの消化器症状を呈する疾患である¹⁾。近年, 本邦でも症例数は増加しており, 発生率が 2009 年は 0.21 % であったのが, 2020 年には 0.5 % であったと報告されている²⁾。FPIES の原因食物における臨床経過や予後についての報告は少ない。当院における FPIES の臨床像を明らかにすることを目的とし, 本検討を行った。

方法

2015 年 1 月 1 日から 2020 年 12 月 31 日までの期間に当科を初診し, FPIES と診断し, 半年以上経過を追えた患者のカルテを後方視的に検討した。FPIES の診断は「新生児・乳児食物蛋白誘発胃腸症 Minds 準拠診療ガイドライン」の診断の定型的方法と照らし合わせて確認した。寛解確認については, 原因食物を除去なく摂取できることを医師が確認できた日を寛解とした。統計解析には GraphPad Prism ver. 9.2.0 を用い, Mann-Whitney の U 検定と Fisher の正確検定を使用した。全ての分析において, $p < 0.05$ を有意差ありとした。

結果

症例の総数は 49 例で, 原因食物として乳が 26 例, 鶏卵が 18 例, 小麦が 3 例, 大豆が 2 例であった。各食材における患者背景では, 乳は発症月齢が中央値で 0 か月と, 鶏卵・小麦・大豆に比べて発症が早い傾向にあり, また基礎疾患として早産児が 23 % の 6 例, 先天性心疾患が 38 % の 10 例, 消化器疾患が 19 % の 5 例にあり, 他の食品と比べて基礎疾患を持つ患者が多い傾向にあった。各食材の発症時月齢の分布では, 乳は 8 割が生後 3 か月以内に発症しており, 鶏卵も 8 割が 7-10 か月の間に発症していた (表 1)。症例数の年次推移では, FPIES と診断した症例は乳の症例が多い

表 1 患者背景

	乳 (N=26)	卵 (N=18)	小麦 (N=3)	大豆 (N=2)
男児 (人)	18 (69 %)	9 (50 %)	1 (33 %)	0 (0 %)
発症月齢 (月)	0 (0-13)	8 (6-15)	7 (6-8)	7
基礎疾患 (人)				
早産児	6 (23 %)	0	0	0
先天性心疾患	10 (38 %)	2 (11 %)	0	0
消化器疾患	5 (19 %)	0	0	0
その他	6 (23 %)	2 (11 %)	0	1 (50 %)
気管支喘息	0	0	1 (33 %)	0
アトピー性皮膚炎	7 (27 %)	10 (56 %)	2 (67 %)	1 (50 %)
アレルギー性鼻炎	0	0	0	0

傾向にあるが、2020年には卵は7例と症例数が増加していた(図1)。

発症時の摂取食材では、鶏卵は約8割が卵黄で発症しており、全卵・卵白・卵加工品と続いていた。乳は約9割が人工乳で発症しており、母乳・強化母乳・牛乳がそれぞれ1例であった(図2)。初発症状を図3に示した。卵・小麦・大豆は全

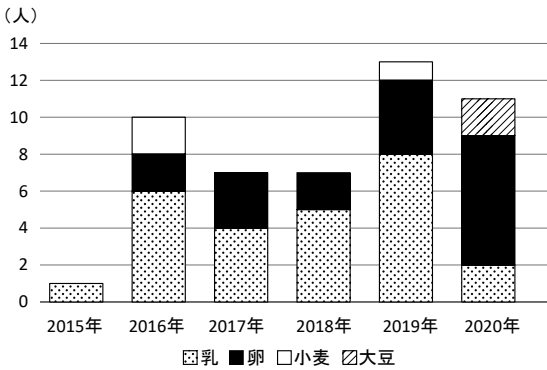


図1 症例数の年次推移

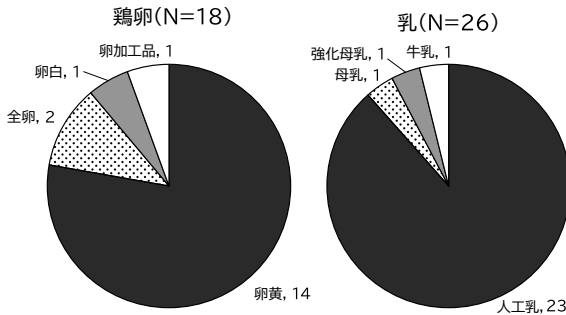


図2 発症食材(鶏卵・乳)

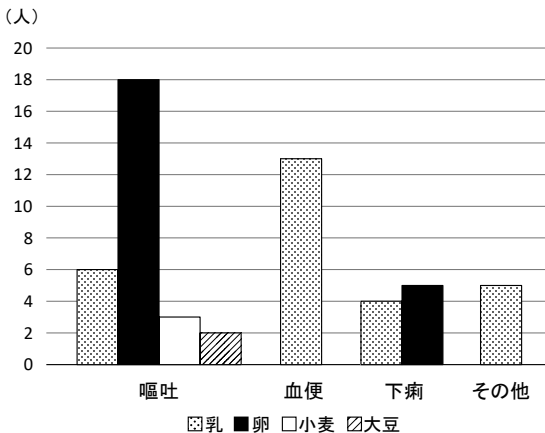


図3 初発臨床症状

例嘔吐症状を認め、血便を認めた症例はいなかった。逆に、乳は嘔吐症状を認めたのは2割の6例であり、血便症状が6割に認められた(図3)。

寛解を確認できたのは49例中42例であり、寛解月齢はそれぞれ中央値で、乳が15か月、卵が28か月、小麦が28か月、大豆が26か月であった。また、発症から寛解までの期間については、中央値で、乳が13.5か月、卵が20か月、小麦が20.5か月、大豆が19か月であった(表2)。

表2 食材ごとの寛解状況

	乳 (N=26)	卵 (N=18)	小麦 (N=3)	大豆 (N=2)
人数(人)	24 (92%)	15 (83%)	2 (67%)	1 (50%)
寛解確認月齢(月)	15 (6-38)	28 (15-63)	28 (22-34)	26
発症から寛解までの期間(月)	13.5 (6-33)	20 (7-55)	20.5 (15-26)	19

考察

当院のFPIESの原因食材は乳が最も多く、次いで卵であった。2020年の我が国の全国規模の多施設共同前向き出生コホート研究ではFPIESの原因食物として、卵が34.5%、乳が21.7%であった³⁾。本検討でも卵での症例数が増加していた。

初発症状は乳が有意に血便症状が多く、卵は嘔吐症状が多かった。乳は、基礎疾患を有する児が多かった。未熟児や消化管術後、先天性心疾患のため、消化管機能低下・消化管粘膜障害・長期断食による消化管粘膜の萎縮などが、血便症状に寄与している可能性が考えられる。FPIESの寛解率について各国間の比較検討の報告では、乳は3歳までに20-94%、卵は12.5-50%と報告されている⁴⁾。

本邦でのFPIES寛解率の報告では、卵黄は2歳までに64.3%、乳は2歳までに87.5%と報告されている^{5,6)}。本検討では、卵は中央値で28か月、乳は15か月にそれぞれ83%と92%が寛解しており、寛解率は高い。

本検討の限界として、単施設の後方視的検討であり、症例数が少ないこと、症状確認および寛解確認の経口負荷試験を行っていないため、発症や寛解時期については保護者からの報告のみに基づいていることが挙げられる。

今後、症例が蓄積されることが予想されるため、個々の原因食物の臨床像解明のため、さらなる検討を行いたい。

文献

- 1) 厚生労働省好酸球性消化管疾患研究班, 日本小児アレルギー学会, 日本小児栄養消化器肝臓学会. 新生児・乳児食物蛋白誘発胃腸症Minds準拠診療ガイドライン. 2019.
- 2) Nowak-Węgrzyn A, Chehade M, Groetch ME, et al. International consensus guidelines for the diagnosis and management of food protein-induced enterocolitis syndrome: Executive summary-Workgroup Report of the Adverse Reactions to Foods Committee, American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2017;139:1111-1126.
- 3) Yamamoto-Hanada K, Pak K, Saito-Abe M, et al. Allergy and immunology in young children of Japan: The JECS cohort. *World Allergy Organ J* 2020;13:100479.
- 4) Bird JA, Barni S, Brown-Whitehorn TF, et al. Food protein-induced enterocolitis syndrome oral food challenge. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2021;126:506-515.
- 5) Watanabe Y, Sakai H, Nihei M, et al. Early tolerance acquisition in hen's egg yolk-associated food protein-induced enterocolitis syndrome. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2021;9:2120-2122.
- 6) Kimura M, Shimomura M, Morishita H, et al. Prognosis of infantile food protein-induced enterocolitis syndrome in Japan. *Pediatr Int* 2017;59:855-860.

NGS 解析にて単エクソン欠失や LOH を検出できる アルゴリズムの発展改良

成 戸 卓 也

遺伝子診断には次世代シーケンサー (NGS) 解析が導入されてきた。サンガーシーケンス解析は、大きいサイズの遺伝子解析では労力・コストの面から多検体処理が困難であった。臨床施設での遺伝子解析は確定診断だけではなく、時には変異が未検出であった場合には臨床診断の妥当性を検討しなおす必要や疾患管理を見直す判断がせまられる場合がある。変異の検出精度は解析コストや多検体処理能力と並んで、臨床施設での遺伝子診断では特に重要である。

NGS は新規病因遺伝子の発見を目的とした全エクソン解析などの探索的解析から、ターゲットをしばった遺伝子解析 (ターゲットシーケンス解析) までさまざまな応用方法がある。ポータブル型の NGS はこれまでよりも比較的少量のデー

タを低コストで処理することができ、臨床施設での応用を可能とした。DNA エンリッチメントの方法や、ターゲットの設計、アライメント・フィルタリングといったアルゴリズムの工夫をすることでサンガーシーケンスの代替方法として可能になる手法である。

NGS は付随してゲノムコピー数の変化 (CNV) についての情報も取得できる。CNV のうち染色体数異常や複数の遺伝子などを含む 10 kb 以上の「大きな欠失・重複」は多くのソフトウェアでは検出されるが、1 エクソン欠失など 1 kb より「小さな欠失・重複」は目視による確認で拾い出している。「小さな欠失・重複」についてアルゴリズム等を検討した。

方法

検査に対する十分な説明を行い、対象者家族に対するインフォームドコンセントの行われた376検体のエクソームを解析した。FASTQ ファイルのクオリティ評価について、FastQCを用いて行い、解析はBWA, GATK, XHMM およびさまざまな評価のために Picard, Samtools のツールを用いた。

単一エクソン欠失を疑われる症例について、欠失範囲を含む約20 kbの領域を TaKaRa Ex Premier DNA Polymerase で増幅し、Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina) でシークエンス解析を行った。染色体構造変異を推定し、サンガーシークエンスで配列を同定した。

結果

Samtools の idxstats を用いて染色体ごとのリード数のZスコアを算出した。これにより検体間のリード数を検定でき、21番染色体においてZスコア5以上の3検体を見出した。この3検体はダウン症と診断されており、矛盾しない結果となった。しかしながら、XHMM ではこの3検体の21番染色体を重複としては検出できなかった。

XHMMにより検出されたCNVは18,388個であった。CNVの中で信頼性の高いQ_SOMEスコア95以上が8,136個(44.2%)であり、1検体当たりのCNVは21.6個であった。CNVの重複する領域頻度を算出し、1%以上(4個以上)の重なり合うCNVを除外すると、解析対象となるCNVは1検体当たり3.8個となった。

XHMMで検出したCNV領域の重なりを検討したところ、chr20:1588295-1611804の領域では176検体でCNVと検出していた。この中でQ_SOMEスコアが95以上の検体は53個(30.1%)であり、Q_SOMEスコアはコホート内で検討すると意義が低かった。頻度が1%(3個以下)の領域は1,444個であり検出したCNV領域の26%となった(図1)。

常染色体性劣性遺伝である検体において、病原性のあるSNV変異が1つしか見当たらない症例について単一エクソンの読み取り回数が少なく、エクソン欠失のCNV変異を疑った。このエクソンのqPCRを行い、欠失が疑われた。前後のエクソン領域を含む約20 kbのロングレンジPCRを

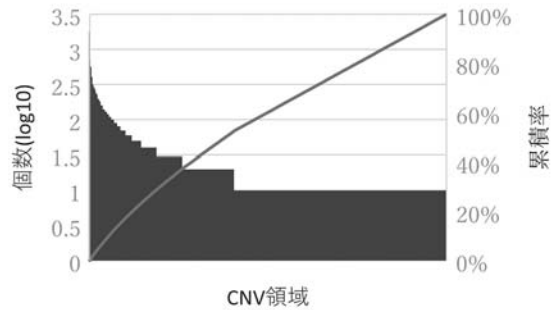


図1 CNV 検出の重複数

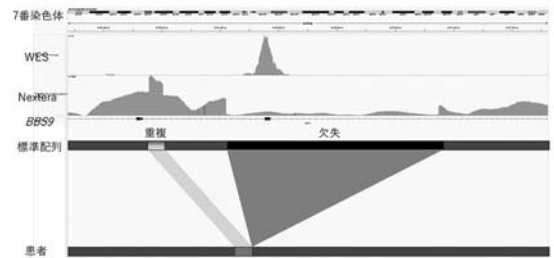


図2 単一エクソン欠失の構造決定

を行いバンドを得た。Nextera XT キットを用いて hg38 にマッピングしたところ、欠失のみでなく重複領域も検出した。この領域周辺のリードを詳細に解析し、構造変異を推定した(図2)。最終的にサンガーシークエンスで配列を確認した。

考察

XHMMはCNVを検出するソフトウェアの1つである¹⁾。XHMMは、WESのデータをGATKで処理してから得られるdepth of coverage fileを入力データとしてCNVを検出する。XHMMのみでは染色体での重複や「小さな欠失・重複」である単一エクソンの欠失は検出されなかった。

常染色体性劣性遺伝を疑い、SNVから遺伝子内のCNVを探して単一エクソン欠失を同定することができた。しかし、単一エクソンの重複や欠失のような箇所は膨大にあり、その箇所をアルゴリズムにて決定することまではできていない。全体的なCNV頻度でフィルタリングすることにより解析対象CNVの個数を21.6個から3.8個までに減らすことが可能となった。これはSNV変異をgnomADを用いたフィルタリングが有効なように、大規模なデータベースからふるいにかけることの有用性を示唆している。

CNVを検出するツールには「大きな欠失・重複」あるいは「小さな欠失・重複」それぞれに偏りがある。単一のエクソン領域でも検出できるPatternCNV, CONTRA, CLAMMS, HMZDelFinder, FishingCNV, ExomeDepthのツールアルゴリズムは「小さな欠失・重複」を検出できようであり²⁾、今回の症例の単一エクソン欠失を検出することが今後の検討事項である。

文献

- 1) Fromer M, Purcell SM. Using XHMM Software to Detect Copy Number Variation in Whole-Exome Sequencing Data. *Curr Protoc Hum Genet* 2014;81:7.23.1-21.
- 2) Gordeeva V, Sharova E, Babalyan K, et al. Benchmarking germline CNV calling tools from exome sequencing data. *Sci Rep* 2021;11:14416. doi:10.1038/s41598-021-93878-2.

RNAseqを用いた先天性疾患患者の遺伝学的解析

榎本友美

背景と目的

次世代シーケンス技術の登場により先天性疾患の研究は大きく前進し、近年DNAのエクソン部分をターゲットとしたエクソーム解析を用いた解析が盛んに行われている。一方RNAseqも次世代シーケンス解析手法の1つであり、サンプルの転写産物の情報を網羅的に得ることができる画期的な手法である。RNAseqでは転写産物の発現量の情報に加え、スプライシング異常などによる異常な転写産物の検出も可能である。当研究室では、主にエクソーム解析による先天性患者の遺伝学的解析を進めている。しかし検出された変異の病原性がよくわからない場合や、患者の臨床症状から原因遺伝子が絞り込まれているにもかかわらず変異がみつからない場合等、解析に行き詰まることもある。臨床エクソーム解析の診断率は40-45%ほどとされ、依然として患者の半数以上は遺伝学的な原因が見つからないのが現状である。その場合さらなる解析としてRNAseqを行い、遺伝子の転写産物量や異常な転写産物の有無を調べることによって、原因変異の特定ができる可能性がある。また発症メカニズムの解明にも有用である¹⁾。そのためRNAseqを用いた本研究の提案に至った。

方法

1. 解析対象患者の検討および検体採取

エクソーム解析では変異の特定に至らなかった患者や原因変異の候補はあるもののその病原性や発症メカニズムが不明な患者を主に解析対象とする。インフォームドコンセントを充分に行って得られた患者の検体を使用する。患者の末梢血をRNA専用の採血システムであるPAXgene等の採血管に採取し、専用のkitでRNAを抽出する。必要に応じ、患者の組織や培養細胞等も使用する。RNAは特に分解を受けやすいためRNAの品質が保たれたサンプルを原則解析対象とする。

2. RNAseqを施行

血液サンプルの場合はグロビン除去処理もしくはグロビン除去対応kitを用いて次世代シーケンスライブラリを作製し、RNAseqを施行する。データ解析は当研究室オリジナルの解析パイプラインを用いて行う。

3. 確認実験・機能解析実験

RNAseqで発現量の変化や異常転写産物等が検出された場合、必要に応じ確認実験や追加の機能解析実験を行う。発現量、異常転写産物の確認としてはRT-PCRやウエスタンブロット等を行う。

機能解析としてはコンストラクト等を作製し、異常転写産物の発現の有無や発現量の変化を測定する。必要に応じ患者の培養細胞等も使用する。

結果：現在までの進捗状況

現在、解析対象患者の検討および検体採取を行っているところである。現在までに1名の患者の採血およびRNAの抽出が終了しており、今後

RNAseqの施行を予定している。

文献

- 1) Werner KM, Cox AJ, Qian E, et al. D-bifunctional protein deficiency caused by splicing variants in a neonate with severe peroxisomal dysfunction and persistent hypoglycemia. *Am J Med Genet Part A* 2022;188:357-363.

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改良および臨床応用

室谷 浩 二¹⁾, 岩野 麗子²⁾, 花川 純子¹⁾
朝倉 由美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 α -ヒドロキシprogesterone (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 (CAH, 21水酸化酵素欠損症 (21-OHD) など) 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。この方法を診療に利用することで、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 (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種類のステロイドは、図1に示すとおりである。

(2) 患者検体の定量

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

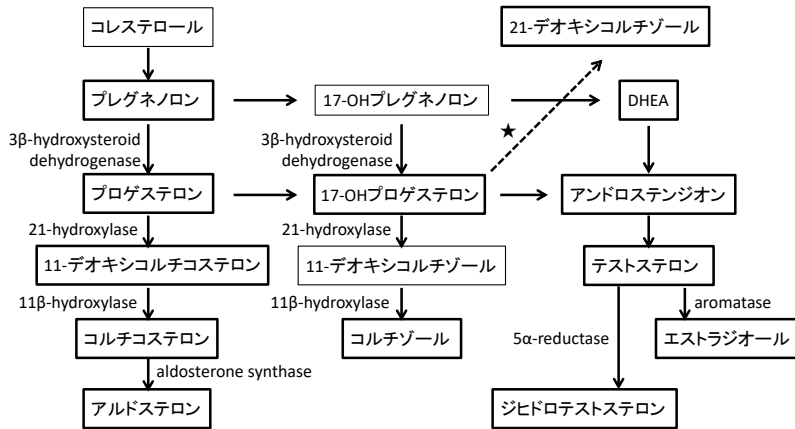


図1 ステロイドホルモン生成

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。本研究で分析するステロイドを、太実線四角で囲んで示す。

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、日本マスキング学会誌に論文投稿し、原著論文として受理された¹⁾。

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が、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検討した。相関係数の有意性を検定したと結果、Cortisol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。ただし、治療によって17-OHP値が低くコントロールされている場合、21-DOFへの変換が起こらず、低値を取る可能性がある。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。ここで、17-OHP値だけではなく、同時測定する他のステロイドホルモン値から計算されるステロイドホルモン比を併用することでより正確な判断が可能となる。また、ステロイドホルモンの同時測定はホルモン動態を明らかにできるため、21-OHD以外のステロイドホルモン合成障害の鑑別診断の精度が高まると考えられる。神奈川県でも、新生児マスキングにおいて、2021年8月から、副腎過形成症の検査でLC-MS/MS法を用いた検討に変更し、従来の17-OHP値のみならず、21-DOF値、(17-OHP+4-AD)/F比、11-DOF/17-OHP比を加えて、総合的に判定することとなった。

今後の計画

これまで血中ステロイド一斉分析法にトリプル四重極型 LC/MS/MS 分析システム “Triple Quad 4500 (Sciex)” を用いてきたが、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。新機種 “Triple Quad 7500 (Sciex)” の導入が確定したため、来年度以降、新機種を用いた血中ステロイド一斉分析法を確立する方針である。エストロンやエストラジオールの測定感度の改善に寄与すると期待される。

参考文献

- 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. 日本マスキリーニング学会誌 2019;29:31-37.
- 2) Fiet J, Le Bouc Y, Guéchet J, et al. A Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry Profile of 16 Serum Steroids, Including 21-Deoxycortisol and 21-Deoxycorticosterone, for Management of Congenital Adrenal Hyperplasia. J Endocr Soc 2017;1:186-201.

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⁾, 田中 玲子¹⁾
永原 則之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てきた。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ている。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ている。また、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。

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 衛生学・公衆衛生学教室

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

市販のプロープを用いて行った (SureFISH ALK BA probe, Agilent Technologies, Paulo Alto, CA)。FFPE 切片はプロープの浸透性を改善するために温熱処理して作成した。プロープ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。

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 31 症例、延 39 件の検討を行った。内訳は骨軟部腫瘍が 17 例、脳腫瘍が 8 例、神経芽腫群腫瘍と腎臓腫瘍が各 2 例、精巣と造血器腫瘍がそれぞれ 1 例であった。

FISH 法を行ったのは 18 例で、9 例で遺伝子再構成、8 例で遺伝子増幅の有無、1 例で同腕染色体の有無を検討した。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 13 例、8 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のは 16 例で表 2 のとおりである。FISH 法では、神経芽腫と小脳腫瘍 (medulloblastoma) の 2 例で *MYCN* の増幅を、4 例の *USP6* (nodular/ cranial fasciitis 2 例と aneurysmal bone cyst, solid type 2 例) と 1 例ずつの *EWSR1* (Ewing sarcoma) と *ALK* (anaplastic large cell lymphoma) の再構成を認めた。PCR 法では、*GNAS* 変異が 3 例 (いずれも骨, fibrous dysplasia), *BRAF* V600E (小脳, low grade glioma), *DICER1* 変異 (腎臓, 院外症例, cystic nephroma), *CTNNB1* 変異 (下肢軟部組織, desmoid fibromatosis) がそれぞれ 1 例同定された。

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 (18) :
遺伝子再構成の検討
<i>USP6</i> (5), <i>ALK</i> (1), <i>TFE3</i> (1), <i>EWSR1</i> (1), <i>KIAA1549::BRAF</i> (1)
遺伝子増幅の検討
<i>MYCN</i> (5), <i>MYC</i> (3)
その他の遺伝子異常の検討
isochromosome 12p (1)
PCR 法 (13) : 遺伝子変異などの検討
<i>BRAF</i> V600E (5), <i>GNAS</i> (3), <i>DICER1</i> (1), <i>CTNNB1</i> (1), <i>BCOR-ITD</i> (1), <i>H3F3A</i> (1), <i>H3F3B</i> (1)
RT-PCR 法 (8) : 融合遺伝子の検出
<i>KIAA1549::BRAF</i> (2), <i>PAX3/7::FOXO1</i> (各1), <i>EWSR1-WT1</i> (1), <i>MYH9/RRBP1/FILLIP1L/OMD/CDH11/CTNNB1::USP6</i> (1), <i>BCOR::CCNB3</i> (1), <i>ZFTA (C11orf95)::RELA</i> (1)

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

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	骨(腸骨)	FISH	<i>USP6</i> rearrangement	Nodular fasciitis
2	軟部腫瘍(頭部)	FISH	<i>USP6</i> rearrangement	Cranial fasciitis
3	骨(下肢)	FISH	<i>USP6</i> rearrangement	Aneurysmal bone cyst (solid type)
4	骨(左下肢)	FISH	<i>USP6</i> rearrangement	Aneurysmal bone cyst (solid type)
5	軟部組織(下肢)	FISH	<i>EWSR1</i> rearrangement	Ewing sarcoma
6	軟部組織(下肢)	FISH	<i>ALK</i> rearrangement	Anaplastic large cell lymphoma
7	小脳	FISH	<i>MYCN</i> amplification	Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH
8	副腎	FISH	<i>MYCN</i> amplification	Neuroblastoma
9	骨(右下肢)	PCR	<i>GNAS</i> p.R201H	Fibrous dysplasia
10	骨(右下肢)	PCR	<i>GNAS</i> p.R201C	Fibrous dysplasia
11	骨(右下肢)	PCR	<i>GNAS</i> p.R201H	Fibrous dysplasia
12	小脳	PCR	<i>BRAF</i> p.V600E	Low grade glioma
13	腎臓	PCR	<i>DICER1</i> p.E1813G	Cystic nephroma
14	軟部組織(下肢)	PCR	<i>CTNNB1</i> p.S45F	Desmoid fibromatosis
15	小脳	RT-PCR	<i>KIAA1549::BRAF</i>	Pilocytic astrocytoma
16	小脳	RT-PCR	<i>KIAA1549::BRAF</i>	Pilocytic astrocytoma

表3 次世代シーケンサーを用いて特異的遺伝子異常が検出された症例

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	軟部組織(右腰部)	<i>FILIP1L::USP6</i>	Nodular fasciitis
2	軟部腫瘍(頭部)	<i>CDH11::USP6</i>	Nodular fasciitis
3	大腿骨	<i>OMD::USP6</i>	Aneurysmal bone cyst
4	軟部組織(胸部)	<i>EWSR1::FEV</i>	Ewing sarcoma

RT-PCR 法では *KIAA1549::BRAF* 融合遺伝子が 2 例の小脳腫瘍 (pilocytic astrocytoma) から検出された。

2. RNA シーケンス (表 3)

RNA シーケンスを行ったのは 32 例で、18 例は凍結検体を、6 例は FFPE 検体を、8 例で骨髄液を用いておこなった。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。

診断特異的融合遺伝子が検出されたのは以下の 4 例であった：*FILIP1L::USP6* (腰部軟部組織, nodular fasciitis), *CDH11::USP6* (頭部軟部組織, nodular fasciitis), *OMD::USP6* (大腿骨, aneurysmal bone cyst), *EWSR1::FEV* (Ewing sarcoma)。

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。低悪性度や良性の骨腫瘍は時に鑑別診断が難しい場合があるが、分子生物学的検討を加えることで、診断精度を上げることができたと考える。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、Langerhans cell histiocytosis での *BRAF* V600E などルーチンで検出が求められることが増えている。そのような中で、迅速に正確な結果を返すことができていると考える。

次世代シーケンサーを用いた RNA シーケンスでは 4 例から疾患特異的融合遺伝子を検出し、最終診断を得ることができた。今年度は FISH 法で *USP6* 遺伝子再構成を伴う腫瘍を 4 例検出し、そのうち 2 例で RNA シーケンスを用いて融合遺伝子を同定した (NF 1 例, aneurysmal bone cyst 1 例)。

USP6 遺伝子再構成を伴うもう 1 例は、組織診断は infantile myofibroma であったが、同融合遺伝子が検出されたことで NF と最終診断された。NF は組織所見・免疫組織学的に他の低悪性度の紡錘形細胞腫瘍との鑑別が困難であることがしばしばあり、遺伝子異常の検出は診断を確定させるに大変有用であった。

今回の検討で複数の疾患特異的融合遺伝子が検出された一方、NTRK-rearranged spindle cell neoplasm における NTRK 融合遺伝子や, sarcomas with BCOR genetic alterations における BCOR 遺伝子異常など組織学的・免疫組織学的に検出が期待されたいくつかの腫瘍で目的の融合遺伝子が検出されなかった。一方、RNA シーケンスでは一部でその病的意義が不明な融合遺伝子を含む遺伝子異常が多々検出され、慎重な検討を要する。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、その中で新たな知見の獲得を目指す。

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) Hiemcke-Jiwa LS, van Gorp JM, Fisher C, et al. USP6-Associated Neoplasms: A Rapidly Expanding Family of Lesions. *Int J Surg Pathol* 2020;28:816-825.

小児専門病院において質の高い実践と 教育・研究を推進する「小児看護のリーダー」の経験 －ライフストーリー法によるパイオニアの語りから－

西 角 一 恵

目 的

設立 50 周年を迎えた A 県小児専門病院（以下当センター）において、質の高い実践と教育・研究を推進する「小児看護のリーダー」であった看護師を対象とし、ライフストーリー法によるパイオニアの語りからその経験を明らかにすることである。その上で、小児専門病院における小児看護の将来に向けて目指すべき方向性を考察する。

方 法

ライフストーリー法を用いた質的帰納的研究。「小児看護のリーダー」とは、「質の高い実践と教育・研究を推進した看護師」と定義する。1970 年代からの 50 年間で当センターにおいて、実践、教育、研究を推進する役割を担う職位・業務に携わった経験を持ち、かつ学会等で学会長を経験した看護師を対象とし、「小児看護のリーダー」に該当する 4 名を選出し、機縁法を用いてリクルー

トした。同意を得たものを協力者とし、ライフストーリー・インタビューを1名につき2回程度、最も記憶に残った経験、最も大変だった経験、転機となった経験、多職種との協働等を中心に実施した。面接内容は了解を得てICレコーダーに録音し、面接時の様子はフルドノートに記録した。録音した語りは逐語録を作成後、ライフストーリーを再構成し質的帰納的に分析した。所属施設の倫理審査を受けている。

結 果

研究協力者は、「小児看護のリーダー」に該当する4名である。質の高い実践と教育・研究を推進するリーダーとなる過程は、4つの局面で構成されていることが明らかとなった。

第1局面では、戦後、女性の権利拡大が図られた時代とはいえ、長く働き続けることが困難だった時代に、「看護師」という自立できる職業と出会い、第2局面では小児看護を選択後、転機となるエピソードにより、ライフワークとして小児看

護を追求していくことが確固たるものになっていく。第3局面に入ると、子どもの入院環境の改善に取り組んだり、家族も支援の対象にしたりと子どもの最善の利益のために奮闘し、第4局面において、志を同じくする仲間とともに小児看護の発展に力を尽くすようになっていった。

考 察

小児看護のリーダー（以下リーダー）は、自立だけでなく、長く働き続ける意志を持って看護師という職を選択している。リーダーたちは、小児看護の可視化に努め、第3局面では全員が看護師長以上の職位であり、小児看護実践のリーダーとしてだけでなく、組織のマネジメントの視点からも、小児看護の確立に貢献してきたといえる。そして、第2局面から第3局面にかけて、後に第4局面で学会設立や開催等において中心的役割を果たす仲間との出会いや交流をしており、小児看護を通して仲間を見つけ、ともに新たなことに取り組むという姿勢が小児看護の発展につながっている。

呼吸障害を呈する新生児に対する気道および気管支ファイバー

稲垣 佳典

はじめに

当センターでは、早産児や先天性心疾患、消化器疾患など多様な疾病を持つ新生児の診療を行っている。あらゆる入院患者において呼吸障害への適切な対処は、よりよい救命に不可欠である。また、近年の技術進歩により細径の内視鏡の品質が向上し、気道および気管支ファイバー検査は全国的にも新生児医療に浸透しはじめている。当院では以前から呼吸障害に対してファイバー検査を実施してきた。本研究では、下気道病変が疑われる呼吸障害を呈し、当センターで治療を受ける新生

児を対象に、当院ではあらたな検査手法として非挿管下に気管気管支ファイバー検査を実施し、呼吸障害の原因究明、疾患ごとの重症度や予後予測、治療介入基準や介入の効果判定を行う。この検査方法により呼吸機能検査やCT検査では評価し得なかった、リアルタイムに気管内を目視で評価することが、比較的低侵襲に可能となる。さらには診療可能な疾病の幅が広がることが期待される。

臨床現場でたびたび問題となる気管気管支軟化症は、気道が脆弱なため、呼気時に気道内腔を保持できずに生じる閉塞性の気道病変である。気管

気管支軟化症はさまざまな原因によって生じるが、NICU入院患者では食道閉鎖術後、心疾患術後、気管切開術後、染色体異常などの基礎疾患を有する場合に散見される。軽症例では保存的にフォローアップを行い、成長とともに自然軽快する例も報告されるが、進行する症例では外来での気道急変で発症し、重篤な合併症や死亡の転機をたどることが知られている。一方で、臨床症状から正確な病勢を判断することは難しく、治療方針の施設間の差異が大きな分野である¹⁾。

これまで当院では挿管下の陰圧陽圧CT検査で臨床症状を推定し、重症度と治療介入基準を判断してきた。しかし、放射線被ばくの問題点や、挿管が必須であるなどの条件から検査の敷居が高く、必ずしも評価が望ましい症例全例で実施できていないのが現状である。このため、より非侵襲的な方法、自発呼吸下の臨床症状に即した環境で気管気管支軟化症の評価を行う方法の一般化が望まれている。

これまで食道閉鎖症の根治術前に気管気管支ファイバー検査を用いた呼吸管理の有用性は報告されている²⁾。

われわれは根治術前の気管気管支ファイバー評価に加えて食道閉鎖術後の気管気管支軟化症³⁾に注目し、非挿管下に気管気管支ファイバーによる重症度評価を行った。細径の気管支ファイバーを用いた気管内の観察には必ずしも挿管を要さず、体の小さな新生児においても自発呼吸、自然気道の、より生理的な呼吸条件下の気道の変化を評価できる。これにより、評価介入のハードルを下げ、必要なタイミングに、より正確な実態把握が可能となる。結果として気管気管支軟化症が重篤な転機で発症する前に、感染予防対策や在宅人工呼吸器サポートの導入などにより、患者の生命発達予後の改善を目標とする。

非挿管の気管気管支ファイバー検査は、気管気管支軟化症の重症度評価のみならず、声門下の狭窄をきたす疾患の重要な評価手法になる可能性があり、検査データを蓄積、解析し、より確かな重

症度評価を目標とする。

方法

過去の症例を後方視的に検討するとともに、これからの症例を前向きに検討する。

先天性食道閉鎖の根治術前後で気管気管支ファイバー検査を行い、臨床所見と軟化所見の重症度を比較し、退院後も必要に応じて介入群と非介入群における所見の推移を外来診察や日帰り入院等でフォローアップする。

非挿管中の気管支ファイバー検査は検査前にアトロピン0.02 mg/kg、ミダゾラム0.1-0.2 mg/kg、局所麻酔としてキシロカインを前投し、経鼻または経口で細径内視鏡を挿入し、自然気道、自発呼吸下の気管および気管支の所見を観察する⁴⁾。

結果

2020年以降で非挿管下に気管気管支ファイバー検査を行った食道閉鎖の症例は13症例あり、このうち9名に気管軟化の所見を認めた。画像データは現在解析中。今後症例を蓄積し、評価の方法や介入の適応について検討を加える。

参考文献

- 1) Kamran A, Jennings RW. Tracheomalacia and Tracheobronchomalacia in Pediatrics: An Overview of Evaluation, Medical Management, and Surgical Treatment. *Front Pediatr* 2019;7:512.
- 2) Andropoulos DB, Rowe RW, Betts JM. Anaesthetic and surgical airway management during tracheoesophageal fistula repair. *Paediatr Anaesth* 1988;8:313-319.
- 3) Dodge-Khatami A, D Deanovic, P Sacher, et al. Clinically relevant tracheomalacia after repair of esophageal atresia: the role of minimal intra-operative dissection and timing for aortopexy. *Thorac Cardiovasc Surg* 2006;54:178-81.
- 4) 長谷川久弥, 星名潤, 兵頭玲奈, 他. 気管支鏡検査. 長谷川久弥, 新生児呼吸管理ハンドブック. 東京医学社, 東京, 2021;132-140.

フォンタン手術術後遠隔期の体肺静脈側副血行路の臨床経過について

築野 一馬

背景

本邦におけるフォンタン術後の体肺静脈側副血行路に関する報告はほとんどが症例報告であり、危険因子や臨床経過についての研究の報告は非常に少ない。

目的

体肺静脈側副血行路の危険因子や臨床経過を明らかにし、治療戦略について検討すること。

方法

2005年1月1日から2009年12月31日に当院にて初回のフォンタン手術を施行し、現在までに術後遠隔期のカテーテル検査を行った患者を対象に、カテーテル検査結果などの診療記録を基に後方視的研究を行う。血管造影検査で体肺静脈側副血行路の発生頻度や血管径の変化、カテーテル検査データなどの臨床経過をフォンタン手術術前、

フォンタン手術直後、遠隔期のそれぞれで比較を行い、臨床経過を明らかにする。また、遠隔期に有意な体肺静脈側副血行路が発生するかどうかを、カテーテル検査データのロジスティック回帰分析を行い、体肺静脈側副血行路の発生に寄与する危険因子を抽出する。

倫理的配慮

本研究は診療録を用いた後方視的研究であり、対象となる患児に新たな侵襲が加わることはない。利用する情報から名前、住所など患者を直接特定できる個人情報全てを削除し、プライバシーへ配慮している。また、研究成果は専門学会や専門学術雑誌で発表されることがあるが、その際も患者を特定できる個人情報は一切利用しない。そして、オプトアウトを用いて患者に対し本研究の情報提供を行い、同意を得ている。

神奈川県立こども医療センター 循環器内科

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、滲出性中耳炎に対して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、乳突蜂巣発育を含めた滲出性中耳炎予後の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 耳鼻いんこう科

対象と方法

2009年1月－2015年12月に1歳時に滲出性中耳炎に対して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、アデノイド切除術の有無で検討を行い、予測因子には3歳時の乳突蜂巣面積と1歳時の乳突蜂巣面積の比を加えて検討した。

再留置の確率についてはロジスティック回帰分析、再留置の予測因子に関してはROC解析にて検討を行った。

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か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か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

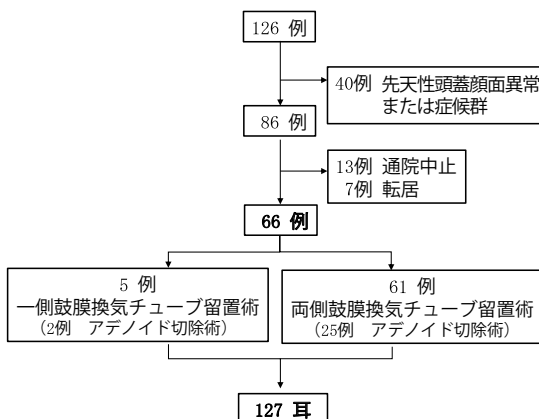


図1 対象症例

施行した。

結果

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。

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 mm² (range: 70–413 mm²), 再留置なしでは190 mm² (range: 62–364 mm²)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 mm² (range: 161–641 mm²), 再留置なしでは439 mm² (range: 112–799 mm²)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。

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が大きくなると再留置の確率は減る結果となり、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)。

次に再留置に有意な関連がみられた3歳時乳突蜂巣面積を含むモデルを6つ作成した。AUCにおいては、3歳時乳突蜂巣面積、1歳時乳突蜂巣面積、アデノイド切除術を含むモデルが最もAUCは高かったが他のモデルと大差はなく、1歳時乳突蜂巣面積、アデノイド切除術、3歳時乳突蜂巣面積と1歳時乳突蜂巣面積の比は再留置の

表1 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.

予測因子としてあまり有用ではないと考えられた。以上より3歳時乳突蜂巣面積が再留置の予測因子として有用である可能性が推察された(図2)。

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。また3歳時の乳突蜂巣面積が再留置の予測因子として有用な可能性も推察された。

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滲出性中耳炎症例において滲出性中耳炎の予後因子の検討を行った。3歳時乳突蜂巣面積が大きいほど再留置の確率が低く、また3歳時乳突蜂巣面積が再留置の予測因子として有用である可能性が推察された。3歳時乳突蜂巣面積は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 ear space as related to otitis media. Acta Otolaryngol 1977;83:29-33.

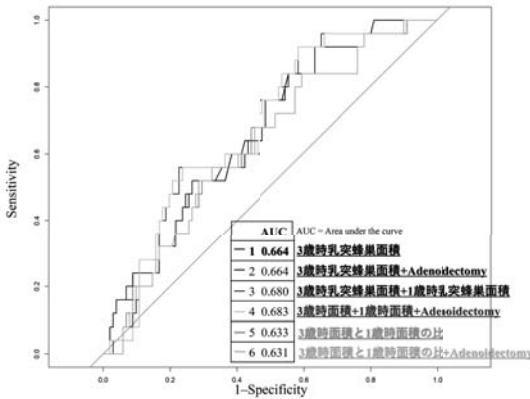


図2 再留置の予測因子

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12報継続)

山崎 雄一郎, 下木原 航太, 江浦 瑠美子
西 盛宏, 郷原 絢子

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2021年度まで継続して報告してきて今回が第12報となる。2021年度：二分脊椎症患者の腎瘢痕の実態-ガイドラインに準拠した尿路管理で腎瘢痕は防げるかどうかを縦断的研究により検討した。2022年度は2021年度研究の論文化に時間をかけJ.Urologyでリジェクトされたため再度詳細を検討し直し以下の内容（投稿中のため改変）を主体としてSpinal Cordに投稿中である。

Study Design : Retrospective cohort study

Objectives : Firstly, to investigate the prevalence of new DMSA abnormalities according to the age of patients with spina bifida, and secondly to evaluate the age differences in risk factors for new DMSA abnormalities.

Methods : All patients with spina bifida requiring clean intermittent catheterization visited from 2009 to 2021 were enrolled. Inclusion criteria consisted of having at least two DMSA scans performed at ≤ 12 years and

≥ 13 years. Patients with no sequential data of video urodynamic study were excluded. Risk factors for new DMSA abnormalities were evaluated in two different growth stages (≤ 12 years, ≥ 13 years).

Results : 57 patients with a median follow-up of 18 years were included. In the end of this study 22 patients (39 %) had DMSA abnormalities. The number of patients having new DMSA abnormalities in childhood ≤ 12 years and in young adulthood ≥ 13 years were 10 (18 %) and 12 (21 %) respectively. After the LASSO logistic analysis, three variables including maximum detrusor pressure, vesicoureteral reflux, and bladder trabeculation were recognized as relevant factors of new DMSA abnormalities in children ≤ 12 years. On the other hand, vesicoureteral reflux was the only relevant factor in young adults ≥ 13 years.

Conclusions : In children with spina bifida, there was no age tendency of the development of new DMSA abnormalities. Vesicoureteral reflux affected new DMSA abnormality in both childhood ≤ 12 years and young adulthood ≥ 13 years. However, video urodynamics parameters were relevant to new DMSA abnormality only in childhood ≤ 12 years.

自閉症児の偏食による栄養障害

田上 幸治, 長沢 晋也, 森 里美

はじめに

自閉スペクトラム症 autism spectrum disease (ASD) は、行動、興味、または活動の限定された反復的な様式、社会的コミュニケーションおよび対人的総合反応における持続的欠損を認める神経発達症の1つである。ASDの児では特定の食品しか食べない、特定の食品以外を拒むなどと

いった偏食をしばしば認める。

方法

2014年1月から2020年9月に当センターの児童思春期精神科と総合診療科を受診した偏食の訴えのあるASDの児を対象とした。平日3日間に児が摂取した全ての食品や量を栄養Proソフト

ウェアバージョン 2.00 (女子栄養大学出版部, 東京, 日本) を使用して摂取した栄養素を評価した。各栄養素は, 年齢と性別の推定平均必要量を満たしていない場合に栄養素欠乏であるとした。評価する栄養素は推定平均必要量が定義されている, 一日のタンパク質, ビタミン A, ビタミン B1, ビタミン B2, ビタミン B6, ビタミン B12, ビタミン C, ナイアシン, 葉酸, カルシウム, マグネシウム, 鉄, 亜鉛, 銅, ヨウ素, およびセレンを評価した。飲料を含む食材の数を食品レパートリー数と定義した。食品レパートリー数と栄養素欠乏数の関係を調べるために Pearson の積率相関係数を用いた。これらの解析を行うために, SPSS バージョン 23 (IBM, Armonk, NY, USA) を使用した。有意水準を $p < 0.05$ とした。

結果

この研究の参加者は 55 人 (男 38 人, 女 17 人) で, 年齢は 1 歳から 19 歳 (平均年齢: 8.7 ± 4.6 歳) であった。3 日間の食事記録から抽出した食材の数である食品レパートリー数は 1 から 53 (平均: 21.4 ± 12.4) であった。55 人のうち「食品レパートリー数が非常に少ない」に該当する児は 22 人であった。栄養素欠乏, すなわち推定平均必要量未満の栄養素の数は 0 から 17 で認め, 平均 7.3 ± 4.5 であった。栄養素欠乏の割合が高い栄養素はビタミン A (65%), ビタミン B1 (65%), ビタミン B2 (55%), カルシウム (69%), マグネシウム (49%), 鉄 (49%), 亜鉛 (49%) であった (表 1)。食品レパートリー数と栄養素欠乏数の間に有意な負の相関が認められ ($r = -0.67$; $P < 0.01$) (図 1), レパートリー数が少ないほど栄養素欠乏数が増す結果となった。

食品レパートリー数が 15 以下の重度の偏食の児は 22 名 (男 14 人, 女 8 人) で, 年齢は 3 歳から 13 歳 (平均年齢: 6.9 ± 3.1 歳) で, やせ 6 名, 普通 16 名, 肥満は 0 名であった。摂取される割合の高い, 重度の偏食の児が好む食品は, 白米 16 名, パン 15 名, ミルク, 牛乳 14 名, フライドポテト, ポテトチップ 12 名, から揚げ, フライドチキン 7 名, スナック, クッキー 8 名であった。

表 1 各栄養素の欠乏の人数

栄養素	人数 (%)
タンパク質	10 (18)
ビタミン A	36 (65)
ビタミン B1	36 (65)
ビタミン B2	30 (55)
ナイアシン	24 (44)
ビタミン B6	26 (47)
ビタミン B12	13 (24)
葉酸	18 (33)
ビタミン C	26 (47)
カルシウム	38 (69)
マグネシウム	27 (49)
鉄	27 (49)
亜鉛	27 (49)
銅	9 (16)
ヨウ素	25 (46)
セレン	9 (16)

一日の摂取量が推定平均必要量以下を欠乏と定義した

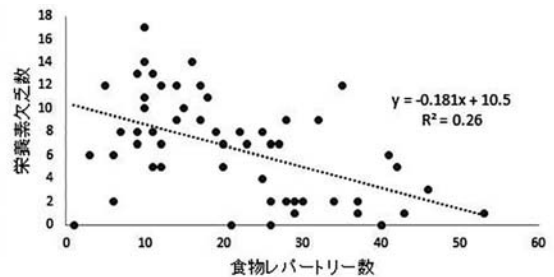


図 1 レパートリーと栄養素欠乏

考察

偏食のある ASD の児の食事について, 食物レパートリー数と栄養素の欠乏数に負の相関があることを示し, 参加者の中には 3 日間の食事記録から不足する栄養素により身体的な症状をきたす可能性がある児もいた。ASD に係る医療従事者は, 偏食による栄養不足により身体症状が現れる可能性を配慮し, 適切に栄養についての助言を行えるように準備しておく必要がある。

ダウン症候群における動脈管の自然歴

勝 又 薫, 下 風 朋 章, 齋 藤 朋 子
 劔 持 孝 博, 稲 垣 佳 典, 野 口 崇 宏
 高 橋 恵, 波 若 秀 幸, 谷 山 禎 彦
 林 辰 司, 清 水 達 人, 江 原 元 氣
 柴 崎 淳, 豊 島 勝 昭

背 景

ダウン症候群にはさまざまな先天性心疾患が合併するが、中でも動脈管開存症は7%の頻度で見られると報告されている¹⁾。一方、染色体異常や先天性心疾患のない正期産児の動脈管は、生後72時間で96%が自然閉鎖することが知られている²⁾。

自分達の観察では、しばしば、ダウン症候群においては、動脈管閉鎖時期が遅い³⁾。ダウン症候群では、肺高血圧のリスクが高いため⁴⁾、不可逆的な肺高血圧に進行する前に、適切な時期の動脈管への介入が必要である。

今までダウン症候群における動脈管の自然歴を報告した論文はなく、適切な介入時期に役立つため動脈管の閉鎖時期や閉鎖に関連する因子を後方視的に検討した。

方 法

対象は、2014年1月1日から2019年12月31日までに生後24時間以内に当院に入院したダウン症候群の児である。除外基準は、動脈管依存型心疾患でPGE1製剤を使用、先天性動脈管欠損症、在胎34週未満、閉鎖までのフォローなし、未閉鎖で死亡した症例である。未熟児動脈管の影響を除外する目的で、在胎34週以降に限定した。出生後24時間以内から心臓超音波検査で、動脈管閉鎖を確認するまで数日毎に確認した。閉鎖は心臓超音波による適正なゲインを調節しカラードプラで血流がみられないことで定義した。

動脈管の閉鎖時期や閉鎖に関連する因子を、電

子診療録を用いて後方視的に検討した。閉鎖に関連する因子として、在胎週数、動脈管以外の先天性心疾患、出生後の酸素投与、新生児遷延性肺高血圧症、出生時Hb、利尿剤投与、甲状腺機能低下症を検討した。症候性の場合、水分制限や利尿剤投与を行い改善が乏しい場合に動脈管結紮術を実施した。症候性動脈管開存症は、多呼吸(呼吸数>60回/分)、陥没呼吸、尿量低下、消化不良で定義した。

結果と結語

対象期間内のダウン症候群の入院は131名で、除外症例は50名(生後24時間以降に入院18名)であった(図1)。

対象期間内に動脈管が自然閉鎖したのは61名(75%)であった。自然閉鎖を確認した時期に関しては、1週間以内が36名(59%)、1-2週間が17名(28%)、2-3週間が5名(8%)、3週間以降は3名(5%)であった。1週間以内のうち生後72時間以内に閉鎖したのは15名(25%)であった。

ダウン症候群は動脈管の閉鎖時期は遅いことが明らかになった。

現在までの進捗および今後の展望

本研究は倫理委員会の承認を受けており、2021年4月よりデータ採取や解析を開始した。データ収集・解析は終了しており、現在雑誌投稿準備中である。

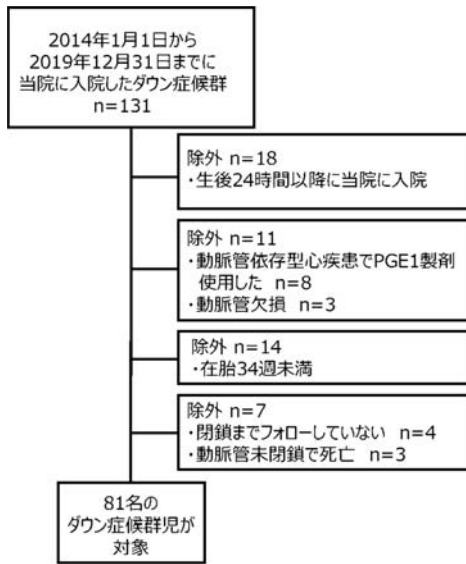


図1 本研究の対象患者

2014年1月1日から2019年12月31日までの期間、当院に入院したダウン症候群131人のうち、生後24時間以降に入院した18名、動脈管依存型心疾患でPGE1製剤を使用した8名、動脈管欠損3名、在胎34週未満14名、閉鎖までフォローしていない4名、動脈管未閉鎖で死亡した3名を除く81名を本研究対象者とした。

文献

- 1) Bull MJ. Down syndrome. N Engl J Med 2020;382: 2344-2352.
- 2) Jan SL, Hwang B, Fu YC, et al. Prediction of ductus arteriosus closure by neonatal screening echocardiography. Int J Cardiovasc Imaging 2004;20:349-356.
- 3) 勝又薫, 谷山禎彦, 林辰司, 他. ダウン症候群における動脈管の自然歴. 日本周産期・新生児医学会学術雑誌 2019;55:475.
- 4) Hasegawa N, Oshima M, Kawakami H, et al. Changes in pulmonary tissue of patients with congenital heart disease and Down syndrome: a morphological and histochemical study. Acta Paediatr Jpn 1990;32:60-66.

リンパ管腫 (リンパ管奇形) 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

白井秀仁¹⁾, 新開真人¹⁾, 新保裕子²⁾
北河徳彦¹⁾, 望月響子¹⁾

はじめに

リンパ管腫は、リンパ管奇形 (LM) とも呼ばれる疾患で、出生時より存在する先天性腫瘍性疾患である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していく過程での異常から生じるリンパ管の奇形とされている。組織学的にはリンパ液の貯留したリンパ内皮細胞に裏打ちされた大小さまざまな嚢胞が集簇

し、全体としての腫瘤を形成する。頸部に好発し、病変サイズや占拠部位に伴って気道や嚥下に関連する障害を引き起こしうる。重症例では気道狭窄や閉塞に至り気管切開を要する例もある。

LMは内服療法、硬化療法、手術摘除などを組み合わせて加療する¹⁾。多くの症例で満足いく治療結果を出すことができるが、重症例では治療に難渋する。気道狭窄を伴うLM、硬化療法反復後

1) 神奈川県立こども医療センター 外科 2) 同 臨床研究室

の微細な嚢胞からなる残存病変などが特に難渋する例であり、まだ完全に満足のいく治療法が確立してはいない。このため LM の病態解明と、新たな治療法確立が求められている。

われわれはこれまでに、リンパ管腫内皮細胞 (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、治療面では硬化療法の手技の工夫と硬化療法薬の選択によって、気道狭窄を伴う LM に対して気管切開なしで安全に硬化療法を行う方法を確立し報告してきた³⁾。本方法は徐々に知られるようになり、全国より相談が寄せられるに至っている。

対象と方法

2022 年 4 月から 2023 年 3 月の期間に当科で LM と診断し、治療を行った患者を対象とした。

気道狭窄例に対し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⁴⁾。即ち、①術前画像評価で気道狭窄とその原因となっている LM の部分を確認、②全身麻酔下に喉頭鏡で気道評価を行い、気管挿管を行う。③目標とする気道狭窄部分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。④体表より超音波をあて、バルーン周辺を描出する。狭窄部がバルーンとして反映されるため、気道周囲の病変全体を良好に描出する事が可能である。エコーガイドで穿刺を行い、気道狭窄の責任病変部に限定したピンポイントの硬化療法を行う。穿刺針にて内容液の吸引を行い、置き換えるようにプレオマイシンを局注する。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。⑤術後は想定外の腫脹による気道狭窄対策に、気管挿管のまま最低 48 時間経過を観察していたが、気道状態に応じた短縮を試みた。⑥抜管目標付近で気道評価を行い、抜管可能であれば、抜管を試みた。

気道狭窄例以外では超音波ガイド下に穿刺を行い、通常の手技で硬化療法を行った。

表在型 LM 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

症例は 11 例、男児 4 例女児 7 例であった。病変部位は頭頸部 9 例、腋窩 1 例、胸部 1 例であった。7 例は他県からの紹介受診。5 例は 2022 年 4 月以前からの治療継続である。

期間中の硬化療法は合計 30 回、中央値 2 (1-8) 回施行した。

症例①：図 1

胎児診断例。在胎 25 週に頸部 LM と診断され、気管切開の適応と説明あり。セカンドオピニオンの後に在胎 33 週で母体搬送となる。在胎 37 週 5 日、3,474 g で出生。出生時、第一啼泣認めたが、陥没呼吸強く、蘇生台で nasal high flow (NHF) を要した。NICU 入室後 CPAP 装着。頸部に巨大 LM があり、気道は全周が覆われていた。

初回治療後、呼吸状態改善し、抜管し、自然気道を達成。その後も治療を反復し、経過中にはシロリムスも併用した。最終的に 8 回の治療を行い、治療を完了。自然気道で退院可能であった。

症例②：図 2

胎児診断例。在胎 35 週 6 日。2,447 g で出生。

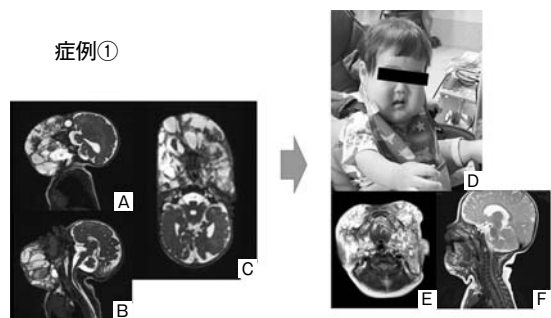


図 1

A, B, C : 治療前 MRI 所見。頸部に広汎に LM が存在し、気道全周を覆う。D : 治療後の外観。自然気道で日常生活を送る。E, F : 治療後 MRI 画像所見。病変は大幅に縮小している。

症例②

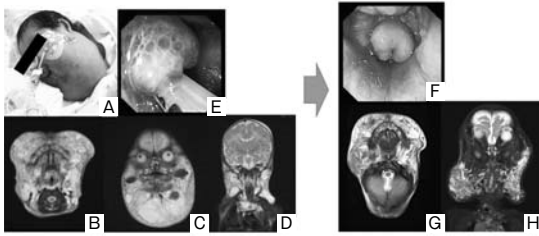


図2

A: 出生時外観。挿管管理を要した。B, C, D: 治療前 MRI 所見。頸部に広汎に LM が存在し、気道全周を覆う。E: 喉頭ファイバー所見。初回治療時。喉頭蓋にも病変を伴い、徐々に喉頭軟化症が顕在化した。F: 喉頭ファイバー所見。複数回加療後。最終的に気管切開を余儀なくされたが、喉頭蓋所見は改善しなかった。G, H: 治療中 MRI 所見。LM 病変自体は大幅に縮小している。

出生時、啼泣するも陥没呼吸強く、吸気性喘鳴も著明。ファイバーで喉頭蓋腫脹も認め、挿管人工呼吸管理とした。頸部に巨大 LM があり、気道は全周が覆われていた。

出生後より硬化療法を開始し、頸部病変および喉頭蓋病変の縮小改善傾向は認めた。しかし強い条件下での NPPV 管理が限界であり、安定した抜管には至らなかった。生後 2 か月よりシロリムス併用開始。また喉頭軟化症所見の進行がみられたため、喉頭破裂軟骨部レーザー焼灼、喉頭蓋吊上げ術など行った。しかし、安定した抜管管理には至れず、状況に鑑み、生後 5 か月で気管切開を行った。現在も治療継続中である。

症例③

胎児診断例。両側顎から両側頸部、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。1 回の治療で抜管を達成でき、4 回の治療で自然気道を達成。6 回の治療で気道リスクはほぼ解消できたものの、夜間呼吸不安定が残存したため在宅酸素療法を導入して退院。

その後も継続して治療を行い、現在までに在宅酸素療法も離脱している。一方で外観に関してはさらなる改善希望があり、シロリムスを開始した。

症例④: 図③

他院で在胎 38 週 6 日、3,010 g で出生。胎児診断なし。嘔吐といびきの精査のため日齢 2 で NICU 入院。左頸部 LM と診断された。病変のサイズ 50 × 15 mm 程度であったが、喉頭蓋が大き

症例④ 日齢 25 女児

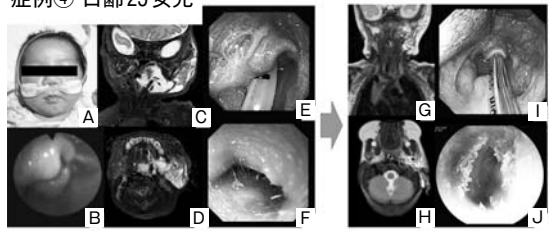


図3

A: 転院時外観。NHF を要す状態。B: 喉頭ファイバー所見。転院時。喉頭蓋が右方向に偏位している。C, D: MRI 画像所見。左頸部から舌下喉頭へと及ぶ LM 所見。E: 喉頭ファイバー所見。初回治療時。挿管チューブとの位置関係で喉頭蓋の偏位が明らか。F: 外耳道所見。LM による外耳道閉塞。G, H: 治療後 MRI 所見。病変は大幅に縮小。I: 喉頭ファイバー所見。喉頭蓋も正常に戻っている。J: 外耳道。開通が確認できる。

く偏位していた。吸気性喘鳴と陥没呼吸も伴っており、気管切開での退院が提案されていた。セカンドオペニオンを経て日齢 25, NHF 装着状態で当院 NICU へ転院。

当院評価でも喉頭蓋が大きく右側に偏位しており、吸気性喘鳴と陥没呼吸あり。2 回の治療で病変は縮小し、喉頭蓋の偏位も正常化した。自然気道で安定し、3 回の治療で退院とした。また当初は LM による外耳道閉塞も認めていたが、治療に伴いこれも解消した。

症例⑤: 図 4

胎児診断例。他院で在胎 38 週 2 日、2,558 g で出生。NICU で経過観察していた。日齢 14 より呼吸状態悪化し、緊急挿管。気管切開の方針となった。当院にセカンドオペニオン。

症例⑤ 日齢 28 女児

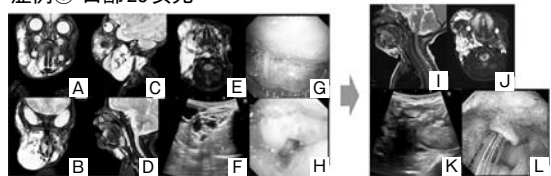


図4

A, B, C, D, E: 治療前 MRI 所見。右頸部側頭部から舌下顎内に病変は及び、一部対側にも達している。喉頭蓋谷病変が最も呼吸に悪影響を及ぼしていると考えられた。F: 超音波画像所見。下顎尾側からの矢状断操作。画面右が口唇。頭舌骨筋 (図中 M) の頭側、舌根部に病変 (図中 LM) が存在。G: ファイバー写真。舌下も病変によって隆起が確認できる。H: 喉頭ファイバー所見。喉頭病変が喉頭蓋谷を中心に分布。I, J: 治療後 MRI 所見。気道周囲の病変を中心に縮小が確認できる。K: 超音波画像所見。舌根部病変が消失。L: 喉頭ファイバー所見。喉頭蓋谷周囲も正常化し、呼吸も安定した。

日齢 25, 挿管状態で当院 NICU へ転院。

病変は右頸部から下顎骨内に広く分布し, ファイバーでは喉頭蓋谷に病変突出を認めた。呼吸への悪影響は舌下および喉頭蓋谷病変が中心であると判断した。

初回治療では気道狭窄軽減するも抜管には至らなかった。2 回目治療では喉頭蓋病変への焼灼も併用。喉頭蓋谷を中心とした気道周囲の病変は縮小。術後 12 日で抜管達成でき, 段階的に自然気道まで到達。遠方であった事も加味し 5 回の治療を行い退院とした。

症例⑥

乳児例。出生時より口腔底の膨隆を自覚。1 か月時に近隣のこども病院で精査。下顎内の LM と診断されたが, 介入は困難と判断され当院紹介。いびきが強く, 就寝時には SpO₂ が 95 % 程度まで落ち込む状態であった。2 回の治療で気道リスクは大幅に改善して, 術後挿管管理が不要となった。5 回の治療で治療完了とした。

症例⑦

1 歳女児。胎児診断された LM であったが, 外観上目立たないとの事で経過観察されていた。1 歳の頃に病変の急速増大を来とし, 気道緊急から気管切開に至った。その状態でセカンドオピニオンあり。当院での加療を行う事となった。

2 度の硬化療法を行い気道周囲の病変は大幅に縮小。現在気管切開離脱を目指し, カニューレを細く移行中である。

症例⑧

7 歳女児。4 年前より LM の治療を開始。硬化療法を 1 回行ったが, 効果乏しく, リンパ管腫—静脈吻合および減量術を 3 回施行。効果乏しく, 当院紹介受診。

2 回の治療を行い, 病変は大幅に縮小。現在治療継続中である。

症例⑨

胎児診断例。頸部から左腋下の病変。出生時に換気不安定さがあり, 日齢 0 より NHF 管理を要した。新生児期に気道病変に介入。1 回の治療で自然気道を確保, 3 回の治療で気道リスクは解消し, 退院した。1 年後より腋窩病変に介入開始とし, 4 回目の硬化療法を行った。期間中に 5 回目の治療を施行するも, 病変縮小効果はほとんど得

られなかった。このため外科的切除を行った。術後の残存リンパ嚢胞に対して追加で硬化療法を行い, 消退した。

考 察

LM における手術摘除は確実な腫瘍減量効果を期待できるが, 特に頸部病変では神経障害やリンパ漏などの合併症, 高い再発率など課題が多く, 第一選択にはなりにくくなっている⁴⁾。これに対し硬化療法は 70-80 % で病変縮小効果が期待でき, 反復施行も可能である。合併症が少なく遜色ない効果を得られるため, 第一選択になりやすい。現在本邦では OK432 が唯一保険収載されている。しかし OK432 には, 反応性腫脹が強く, 比較的長時間生じやすいという特徴が存在する。

重症頸部 LM はしばしば呼吸器・消化器系に接し, 気道狭窄や経口摂取障害などを引き起こす^{5,6)}。LM は感染や出血に伴い, また治療介入に伴って急速腫大する事が知られており, このため特に気道狭窄を伴う LM の治療は, 窒息のリスクを常に念頭におく必要がある。このような例に安易に硬化療法を行うと, 反応性腫脹による窒息のリスクが報告されており⁷⁾, 長期挿管や気管切開などを要する事が多い⁸⁾。OK432 は特に腫脹が強く, この傾向が強いといえる。このため気道に半周以上接する LM では気管切開を検討すべきとする報告もある⁹⁾。気管切開を必要とせず安全に硬化療法が可能であれば理想的な治療といえる。

今回の対象となった 11 例のうち, 気道緊急のリスクがあった症例が 9 例である。うち他県からの紹介が 7 例であった。3 例は他院で気管切開が提案されている中, 当院に相談頂き治療を行った。3 例は気道リスクを認識しながらも, 介入のリスクがむしろ高いと判断され, 経過観察を選択されていた。うち 1 例は実際に気道緊急を生じ気管切開された後の紹介であった。これら 9 例の症例に, 当科で報告したバルーンとエコーを活用した気道保護硬化療法 UBAS を行った³⁾。気管切開のない 8 例で気道狭窄が改善し, 自然気道での退院を達成した。気管切開の 1 例も気道狭窄が改善したため, 現在前医にて気管切開離脱に向けたプロセスを始めて頂いている。

UBAS は硬化療法の手技の工夫であり, 硬化療

法の目標を LM 全体の消退ではなく、気道狭窄の軽減・消失に設定し、気道狭窄の責任部位にピンポイントで絞った硬化療法を行うものである。これによって反応性腫脹による気道狭窄進行を最小限に抑えながら気道拡大効果を待機する。この治療のためには狭窄した気道と、その狭窄の責任となっている LM 部位を同時にリアルタイムに描出・評価する必要がある。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が、狭窄した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事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・ウィ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・ウィンドウとなる。本治療の確立によって、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プレオマイシンを採用した。プレオマイシンは、OK432 と異なり硬化療法後の腫脹が軽微である事が知られ、本治療の趣旨に合致する。一方でプ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、プ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、プレオマイシンの安全な使用にも寄与している。

今回 9 例中 1 例において気管切開を余儀なくされた。元々喉頭周囲にも病変が多く、安定した自然気道が確保しきれないうちに、喉頭軟化症の所見も強くなっていた。披裂軟骨部へのレーザー焼灼の効果は限定的であり、喉頭蓋吊上げ術も効果は短期間に留まった。最終的には気管切開の回避には至らなかった。喉頭軟化症合併例での新たな治療手段が課題である。

治療に難渋するもう 1 つは微細な Microcystic type である。OK432 は 1 cm 未満の嚢胞が主体で

ある Microcystic type LM への効果は乏しい。これに対し前述のプレオマイシンは Microcystic type にも一定の効果が期待できる。しかし嚢胞が 1 mm 以下の非常に微細なタイプには効果は限定的になる。未治療で微細な Microcystic type LM 病変が治療に難渋するのも事実ではあるが、稀ではある。一方、上述のように気管切開を回避するために硬化療法を反復した例において、気道狭窄は解消したが外観上の腫瘍が残存する場合がある。このような例では超音波でほとんど嚢胞が認められない微細な Microcystic type 状態になっている事が多い。2021 年 9 月に難治性リンパ管疾患に対してシロリムスが適応追加承認された。硬化療法や手術摘除との選択順位は今後の課題である。効果発現には少なくとも数か月かかるため気道狭窄例での単独使用は少なくとも困難であるが、微細な Microcystic type への効果を期待したい。当院では現在 6 例が使用開始しているが評価待ちである。また既に報告した *PIK3CA* 変異²⁾ との関係性も検討すべき部分である。しかし現時点では遺伝子変異は分離培養細胞からの検出であり、摘除検体が必須であり、今後の課題である。

参考文献

- 1) 白井秀仁, 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) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) Defnet AM, Bagrodia N, Hernandez SL, et al. Pediatric lymphatic malformations: evolving understanding and therapeutic options. *Pediatr Surg Int* 2016;32:425-433.
- 8) Manning SC, Perkins J. Lymphatic malformations. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2013;21:571-575.
- 9) 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.

小児外科疾患における新時代手術（ナビゲーション手術，ロボット手術）の導入とチーム育成

望 月 響 子

背景と目的

外科手術は発展を続け開腹開胸手術から内視鏡手術へ、現在はロボット支援手術の保険収載も進みナビゲーション手術も進化している。小児外科領域は体腔の小ささと疾患の多彩さから成人外科に遅れてはいるが、内視鏡手術は増加の一途をたどっている。2020年のNational Clinical Database annual reportでもヒルシュスプルング病根治術は60%、鎖肛根治術31%、胆道拡張症根治術42%、肺切除60%、漏斗鏡手術85%、噴門機能再建74%、食道切除術33%、腎摘術30%、大腸全摘66%、摘脾74%、腸重積症観血的整復術38%、虫垂炎手術86%、鼠径ヘルニア類縁疾患手術は50%と内視鏡外科手術の割合が高い。小児領域という点では小児泌尿器の分野で2020年にロボット支援腹腔鏡下腎盂形成術が保険収載され、当院で内視鏡手術においては全国有数の執刀数である先天性胆道拡張症根治術も2022年にロボット支援腹腔鏡下手術として保険収載された。胆道拡張症に関しては内視鏡手術保険収載が2016年²⁾であり、ロボット手術保険収載までの期間は6年しか空いていない。いよいよ小児疾患でもロボット手術の保険収載が増えていくと思われる。

ロボット支援下内視鏡手術導入に関する指針として術者条件、施設条件がある。術者条件としては、トレーニングコースを受講しロボット支援下内視鏡手術のcertificationを取得していること、各領域の専門医や内視鏡手術技術認定医を取得していることなどがある。施設条件としては、臨床使用前に術者、助手、手術看護師を含めた医療チームとして十分な臨床見学を行うこと、臨床使用において第一例目より当該術式の熟練指導医(学会推奨のプロクター等)を招聘しその指導下に行くこと、[新しい術式を導入する指針]を各施設で作成し安全な導入に努めることなどがある¹⁾。ゆえに手術支援ロボットという特殊な機械を用いる手術を導入するにあたりチーム医療は欠かせず、外科医は臨床工学技士・看護師・麻酔科医と協力しながら機器のトラブルシューティングに備えて対応する必要がある。

ナビゲーション手術は色素、赤外線カメラ、CT画像を3D構築したものを二次元でパソコン上掲示するこれまでの方法から、複合現実mixed reality(MR)技術により清潔術野に立体画像を回転させ確認できるところまで進化している。MRとはCGなどで作られた人工的な仮想世界に

現実世界の情報を取り込み、現実世界と仮想世界を融合させた世界をつくる技術である。MR 技術を用いたナビゲーション手術は、医療画像解析における不可欠な技術として空間認識を改善させる有用なツールである³⁾。現在広まりつつあるこのMR 技術を用いたナビゲーション手術は、透過型で実物の景色に画像を重ね合わせることによって複合現実をもたらす。清潔術野上に画像を描出して立体視でき、さらに術者は清潔手袋をしたまま空間で操作できる。注目したい画像を選択し回転させたり拡大させたり動かすことが可能で、切除イメージをより直観的に理解しやすい。CT 画像を3D化したホログラムを利用したMR 技術は空間認識を向上し、手術中のナビゲーションだけでなく手術シミュレーションや手技トレーニングのような教育にも有用なツールと考えられる。MR シミュレーションは医療行為での失敗や危機感を事前に繰り返し体験することで患者個別医療や繊細な医療技術の習熟でき、滅菌術野を目視しながら手技を継続でき、術者自ら設置するガイドに沿った熟練医と若手医の体験共有・手技伝承に貢献できる可能性を秘めている。

当院小児外科においても新時代手術に向けての準備を進めていく必要がある。

方法

ロボット支援手術に関しては、外科医のみではなく看護師や臨床工学技士など多職種でチーム編成を行い、知識を深めるだけでなく臨床見学を行うことを計画する。

MR ナビゲーション手術に関しては、術前に3D-CTを要する疾患においてCT画像を医療用画像処理ソフトウェアで三次元処理し必要な手術解剖をポリゴン化、ウェアラブルグラスで患児にレジストレーションして重畳表示させ手術シミュレーションや教育に利用する。現在複数回試行しその有用性を確認している。

結果

昨年度は第14回日本ロボット外科学会学術集

会がコロナ禍完全web開催となったため、外科医師希望者と手術室看護師4名が参加しロボット外科の知識を深めた。ナビゲーション手術では肺切除症例や肝切除症例のCT画像のポリゴン化を行い手術に向けたシミュレーションを行っている。

考察

ロボット外科学会では11の上級演題、24の一般演題のうち小児外科分野は上級演題1つのみであり、発表演者も限られた施設からであった。内視鏡手術でも成人が用いる5mm鉗子だけでなく小児では3mm鉗子が有用なように、ロボット手術でも3.5mm術具の開発が望まれていた。また、ロボット手術手技獲得のためにVRシミュレーターや力学的フィードバックの有用性が示唆されていた。

MRナビゲーションでは、体格の小さい小児でも末梢気管支や末梢肺動脈、肝内血管の構築が可能で立体化して自由にターゲット構造を動かせることで空間的イメージをつかむことができた。今後は清潔術野での応用を検討している。

今後の展望

ロボット手術は実際の手術見学や術者育成の段階ではないが、多職種で知識をさらに深め共通認識をもって粛々と準備を進めていく。MRナビゲーションではさまざまな臓器や術式での実臨床での有用性を検証していく。

文献

- 1) 古賀寛之, 山高篤行. 小児外科をめぐるさまざまな問題と将来の展望 ロボット手術.小児外科 2021;53:73-76.
- 2) 永川雄一, 土田明彦. 胆膵疾患のロボット手術はどこまで進歩したか, 消化器クリニカルアップデート 2019;1:45-49.
- 3) 志賀淑之, 杉本真樹, 安部光洋, 他. 複合現実Mixed Reality(MR), 拡張現実Augmented Reality(AR), 仮想現実Virtual Reality(VR)を応用した手術ナビゲーションによるロボット支援腎部分切除の経験. Japanese Journal of Endourology 2020;33:138-144.

鶏卵アレルギーに対する baked egg diet の治療効果の検討

犬尾 千聡

はじめに

離乳食における鶏卵摂取は、1980年に改定「離乳の基本」、2005年の「授乳・離乳の支援ガイド」、2019年のガイドの改定に至るまで、症状誘発のリスクのある卵白摂取開始を遅らせる固ゆでした卵黄から摂取を開始し、全卵に移行するという摂取方法となっている。

原因食物を摂取しながら治癒を誘導する経口免疫療法の有用性が報告されているが、治療中にアレルギー症状が頻発してしまう。baked egg (BE) とは高温加熱を受けている焼き菓子などに含まれる鶏卵成分を指す。過去の報告ではBEの継続的な摂取により鶏卵アレルギーの寛解促進が示唆されている¹⁾。イギリスやカナダなどでは鶏卵アレルギーの耐性獲得を促進する目的として自宅でBEから摂取を開始する食事指導が行われている^{2,3)}。

神奈川県立こども医療センターでは、2018年から鶏卵アレルギー児、鶏卵アレルギー・ハイリスク乳児に対して、鶏卵含有のパンを用いて少量より摂取を増量していく baked egg diet (BED) を開始している。2歳以下の鶏卵アレルギー児に対する食事指導を従来の加熱卵 heated egg (HE) で始めた群とBEで始めた群で寛解率・臨床経過について比較検討する。

方法

2015年4月から2019年8月に当院初回受診した鶏卵アレルギー児の経過を診療録を元に後方視的に検討した。baked egg を用いて食事指導を行った群 (BE群) と加熱卵を用いて食事指導を行った群 (HE群) と鶏卵アレルギー寛解、摂取食材によるアレルギー症状を評価した。

鶏卵摂取により明らかなアレルギー症状の既往がある、あるいはオボムコイド特異的IgEが陽性のため鶏卵未摂取状態の2歳以下の乳幼児で受診後2年間追跡できた症例を対象とした。卵黄による消化管アレルギー症例は検討から除外した。

初回受診から24か月時までを評価し、24か月時点での寛解率を比較検討を行った。また、24か月時点での寛解例については寛解するまでの期間・寛解年齢を評価した。

統計解析はGraphpadPrism ver 9.2.0を用い、MannWhitneyのU検定とFisherの正確検定を使用した。全ての分析において、中央値を代表値とし、範囲は四分位記で記載した。 $p < 0.05$ を有意差有りと定義した。

結果

検討患者背景はBE群28人、HE群43人であり、オボムコイド特異的IgEはBE群: 22.3 U_A/mL, HE群: 7.36 U_A/mLだった。両群に統計的な有意差はなかった(表1)。

受診後24か月後に鶏卵アレルギー寛解に至っている人数はBE群: 61.0%, HE群: 56%だった(図1)。両群に統計的な有意差はなかった。

当院受診から鶏卵アレルギー寛解までの期間はHE群: 12.5か月, BE群: 13か月だった(図2-A; $P=0.805$)。鶏卵アレルギー寛解の年齢は年齢: HE群: 2.25歳, BE群: 2.08歳だった(図2-B; $P=0.709$)。

まとめ

baked egg を用いた食事指導 (baked egg diet) は、寛解時期を遅らせることない。

表1 患者背景

	heated egg 群 n=43	baked egg 群 n=28	P Value
性別：男児(人)	32 (74%)	15 (53%)	0.07
初診時年齢(歳)	1.16 (0.58-2.0)	1.08 (0.58-2)	0.70
鶏卵完全除去(人)	31 (72%)	25 (89%)	0.14
鶏卵未摂取(人)	12 (28%)	3 (11%)	0.14
鶏卵のアナフィラキシー既往(人)	2 (4%)	3 (11%)	0.38
牛乳アレルギー(人)	20 (46%)	12 (42%)	0.81
小麦アレルギー(人)	14 (32%)	7 (25%)	0.59
喘息(人)	7 (16%)	3 (11%)	0.73
アトピー性皮膚炎(人)	19 (44%)	17 (61%)	0.23
総IgE (IU/mL)	171 (7.1-2447)	88.1 (6.5-1040)	0.27
卵白特異的IgE (U _A /mL)	29.45 (0.92-100)	26.8 (0.88-88.4)	0.39
オボムコイド特異的IgE (U _A /mL)	7.36 (0.00-100)	22.3 (0.00-100)	0.32

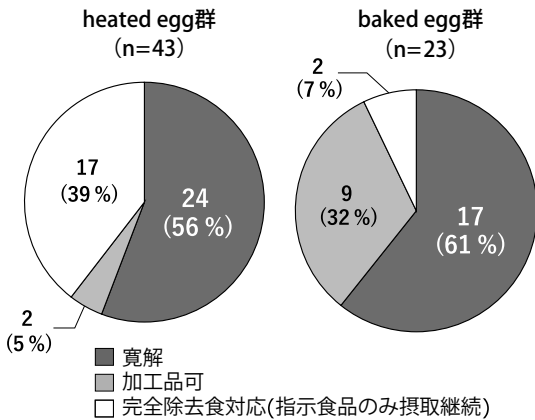


図1 24か月時での鶏卵アレルギー寛解

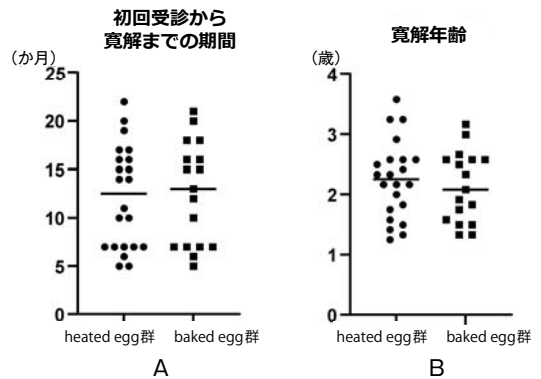


図2 鶏卵アレルギー寛解までの期間

文献

1) Leonard SA, Sampson HA, Sicherer SH, et al. Dietary baked egg accelerates resolution of egg allergy in children. J Allergy Clin Immunol 2012;130:473-480 e471.
2) Chomyn A, Chan ES, Yeung J, et al. Canadian food ladders for dietary advancement in children with IgE-

mediated allergy to milk and/or egg. Allergy Asthma Clin Immunol 2021;17:83.
3) Leech SC, Ewan PW, Skypala IJ, et al. BSACI 2021 guideline for the management of egg allergy. Clin Exp Allergy 2021;51:1262-1278.

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が使われている。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っている。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っている。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を代用するMR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

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¹⁻³⁾。

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きている。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、診断に堪えるか評価を行う。

個人情報漏洩の防止のため、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。解析は基本的にセンター内で行い、解析前後のデータをセンター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4年度には152件(89人)を撮影した。

令和4年、これまでの研究をもとに「小児領域における臨床応用と最近のトピックス」として胸部領域や腹部領域におけるMRIの臨床応用をインナービジョン誌に⁴⁾、総論としての「肺・縦隔

評価」、また各論としての「嚢胞性肺疾患」を小児科診療誌に投稿した^{5,6)}。

文献

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) 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 2015;276:258-265.
- 4) 野澤久美子. 小児領域における臨床応用と最近のトピックス. インナービジョン 2022;37:62-64.
- 5) 野澤久美子. 肺・縦隔評価. 小児科診療 2022;85: 148-152.
- 6) 野澤久美子. 嚢胞性肺疾患. 小児科診療 2022;85: 244-249.

経皮的心房中隔欠損閉鎖術のリスク因子に関する検討

小野 晋

はじめに

本研究の目的は当院で過去に経皮的閉鎖術を行った心房中隔欠損患者のカルテ情報を後方視的に検討し、不整脈合併症例、閉鎖栓留置不可能症例、閉鎖栓置き換え症例のリスクファクターを抽出することである。前年度の研究では解析患者290例中、不整脈合併症例は13例(4.5%)、閉鎖栓留置不可能症例は9例(3%)、閉鎖栓置き換え症例は47例(16%)であった。不整脈合併症例に対するリスクファクターはなかった。閉鎖栓留

置不可能症例に対するリスクファクターはバルーン閉鎖試験による心房中隔欠損径 ($p < 0.0001$) と肺/体血流比 ($p = 0.007$) であった。閉鎖栓置き換え症例に対するリスクファクターは年齢 ($p = 0.005$)、体重 ($p = 0.02$)、バルーン閉鎖試験による心房中隔欠損径 ($p = 0.0002$) であった。今年度は対象患者を心房中隔径、年齢で層別化し、留置困難な患者群のみを対象とし、心房中隔欠損の形態に着目し留置困難症例のリスクファクターを検討した。

検討①

留置不能症例、閉鎖栓置き換え症例について心房中隔径による ROC 曲線を描くとカットオフ値はそれぞれ 22.4 mm (AUC : 0.82, 感度 : 0.78, 特異度 : 0.87) 16.8 mm (AUC : 0.67, 感度 : 0.66, 特異 : 0.63) であったため、留置困難症例のカットオフ値として 16.8 mm を採用した。心房中隔径 ≥ 16.8 mm となる患者 143 例を対象に、留置不能または閉鎖栓置き換え症例のリスクとなる欠損孔の形態について検討した。欠損孔の形態として欠損孔から各方向への rim 径を評価した。名義ロジスティック回帰分析を行ったところ、大動脈方向の rim 径がリスクファクターとして抽出された ($p=0.048$) (図 1)。ROC 曲線を描くとカットオフ値は 2.2 mm となった (AUC : 0.52, 感度 : 0.62, 特異度 : 0.52)。

検討②

同様に年齢による ROC 曲線を描くとカットオフ値は 6 歳 (AUC : 0.53, 感度 : 0.78, 特異度 : 0.38) 4 歳 (AUC : 0.58, 感度 : 0.45, 特異度 : 0.69) であったため、留置困難症例のカットオフ値として 6 歳を採用した。年齢 ≤ 6 歳となる患者 202 例を対象に、同様の検討を行ったところ、冠静脈洞方向の rim 径 ($p=0.033$) と上方 rim 径 ($p=0.011$)

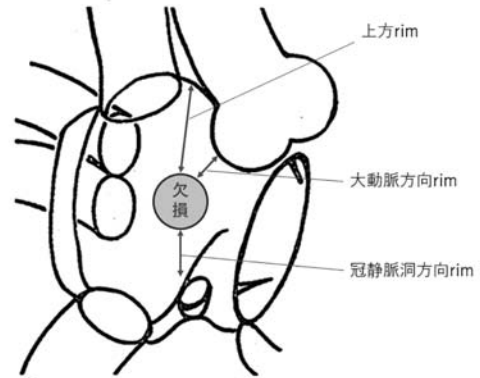


図 1 右心房から見た心房中隔および心房中隔欠損の模式図

がリスクファクターとして抽出された (図 1)。それぞれのカットオフ値はそれぞれ、11 mm (AUC : 0.62, 感度 : 0.84, 特異度 : 0.84), 5.6 mm (AUC : 0.63, 感度 : 0.86, 特異度 : 0.81) であった。

結論

心房中隔径が 16.8 mm 以上で、大動脈方向の rim が 2.2 mm 以下のもの、年齢が 6 歳以下で冠静脈洞方向の rim が 11 mm 以下のものと上方 rim が 5.6 mm 以下のものは留置が難しい可能性がある。

足柄上地域における乳幼児健診担当医師確保をめざした現況調査

青木理加

はじめに

神奈川県西部の足柄上地域は県内でも少子高齢化が著しく進んでおり小児科医が少ない。この地域では開業医が家庭医として小児を診療し、小児科医以外の多くの開業医が乳幼児健診も担ってきた歴史がある。ここ数年、健診担当医師が決まら

ずに難渋する自治体があり、その背景には小児科医を含めた同地域の健診担当医師数の不足があると推測された。今後、開業小児科医の高齢化が進めば健診担当医師不足が一層深刻になることが予想され、現段階で自治体と健診担当医師の現況を調査し関係者が今後の方策を考えるための資料と

したいと考えた。

目的

小児科医が少ない少子化地域において乳幼児健診（集団）のシステムを維持していくために自治体と健診担当医へのアンケート調査により現状と課題を明らかにする。

対象と方法

神奈川県西部の僻地の足柄上地域の6自治体（南足柄市・中井町・大井町・松田町・山北町・開成町）と19名の全健診担当医を対象に乳幼児健診の現況について各々2021年秋に調査票を送付し記名式にて回答を得た。

自治体への質問では、実施する健診種、回数、年間対象者数（2020年度）、最近3年以内の医師確保困難の状況の有無、小児科医による健診の希望の有無と理由、健診事業で困っていること等を選択式、あるいは自由記載とした。

健診担当医師への質問では、協力する健診種と自治体名・回数、医師の専門科、年代（10歳毎）、自施設での乳幼児診療の状況、予防接種等の小児保健への協力状況等を選択式で質問した。また、乳幼児健診の研修機会（コロナ以前）、健診業務の負担感とその理由、地域内や近隣圏の小児科医に望む支援を選択式で質問し、健診システムの問題点や解決法の提案を自由記載してもらった。

結果

足柄上地域の全6自治体（1市5町）と健診担当医18名（回答率94.7%）より回答を得た。過去3年以内（2021年度分まで）に4自治体で健診担当医師の決定に難渋する状況があった。自治体は健診担当医として小児科医を強く望むか（4自治体）どちらかといえば望み（2自治体）、その理由として「小児科医としての視点を期待するから」を挙げていた。課題として、「医師により健診の質が一定しない」（4自治体）、「医師が小児科医でないときに相談のしにくさがある」（3自治体）を挙げていた。自由記載では「対象児の減少により費用対効果が低い」と考える自治体があった。健診担当医師への調査では、医師背景で「小児科を専門としない医師」は61%で半数を超

え、内科医の他、整形外科医と泌尿器科医が1名ずつ含まれていた。未就学児を診療する機会が「あまりない」、「ほとんどない」を選択した医師が合わせて50%、「未就学児に予防接種をする機会が無い」は22%であった。健診業務の負担感には44%が「ある」と回答し、非小児科医師では専門外であることを理由として挙げ、具体的には健診の際に「言語発達、情緒行動が正常か判断に迷うことがある」、「紹介のタイミングを迷う（言語発達、歩行）」、「小児の診察に慣れない」、「母親の質問に答えられない」という内容であった。一方、小児科医師では「回数の多さによる診療制限への影響」と「拘束時間の長さによる減収」を挙げていた。健診担当医が決まらない自治体の健診に別の町から内科医が片道40分かけて協力する事例が見られ内科医を含めて地域の乳幼児健診を維持するための努力がなされていた。健診担当医が地域内や近隣圏の小児科医師に望む支援として、61%が「健診そのものへの参画」を希望し、28%が「研修への協力・精査時の協力」を挙げていた。

考察

乳幼児健診は実施主体である自治体が各健診の対象者数に応じて実施方法、回数、日程を決定し、健診担当医師、関連職種に協力を依頼して事業を行っている。この地域の6つの自治体の規模は南足柄市が4.2万人、5つの町は9千人から1.7万人でいずれも小さい。自治体によっては2種類の健診を同一の日に実施したり3か月健診を一医療機関での個別式健診に変更したりする等の工夫も見られた。健診担当医師を新たに探す際には多くの自治体が小児科医にまず打診するが負担の集中とともに健診日時の重複もあり地域の小児科医だけでは対応しきれない。健診日程が重ならないように自治体の枠を超えて調整をする仕組みも無い。少子化の進行によって今後、小児科以外の開業医が診療や予防接種で乳幼児に接する機会そのものが減っていくことも予想される。また育児支援の機会である乳幼児健診には、小児科医のいない自治体が健診担当医に小児科医を期待する状況もある。

今回の調査で神奈川県西部の少子化地域におい

て小児科を専門としない医師が乳幼児健診を担当する状況が明らかとなった。地方における乳幼児健診の現況に関する報告は少なく、小児科以外の医師が健診を担当する状況は都市部の小児科医にあまり知られていないと思われる。健診医師確保と健診の質の充実のためには、小児科医のいな

い自治体が、近隣圏の小児科医に健診への協力や助言を求めることと、県保健福祉事務所、地区医師会、医会等が、小さな自治体では企画しにくい研修会等を開催することは効果的であると考えられ、近隣圏の小児科医による広域的な人的支援や研修支援が重要になると考えた。

小児炎症性腸疾患におけるバイオマーカーの研究

松村 壮史

背景

近年、小児のクローン病や潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患（以下 IBD）は増加傾向にある。小児 IBD は一般的に成人より重症で、より強度の高い治療を要することが多い。

IBD の診療では、寛解状態を維持することが重要である。寛解しているか再燃しているかは症状や身体所見、検査データなどを参考とし最終的には内視鏡検査で診断する。しかし小児 IBD 患者の内視鏡検査は鎮静が必要で（当院ではほぼ全例全身麻酔下で行っている）、前処置に協力が得られなかったりなど成人と比較し検査のハードルが高い。そのため、余計な検査を回避するためには正確な IBD の病勢把握が必要である。しかし、寛解状態でも腹痛や排便回数増加を認め、症状は落ち着いていても検査データで炎症反応が上昇していることがあり、判断に苦慮することが多い。

今日、さまざまな疾患でバイオマーカーによる病勢把握や予後予測、早期発見の有用性が報告されている。IBD 診療においても便中カルプロテクチンやロイシンリッチ $\alpha 2$ グリコプロテイン（以下 LRG）、尿中プロスタグランジンなどが使用されており、その有用性についての報告は散見されているが小児においての有用性ははっきりと分かってはいない。本研究では小児 IBD 患者にお

いてバイオマーカーの有用性を評価し今後の診療に役立てることを目的とする。

方法

2018 年から現在までに当院に入院・通院しており、内視鏡検査・病理診断によりクローン病か潰瘍性大腸炎と診断された患者を対象とした。ベーチェット病や免疫不全症などの基礎疾患を伴う炎症性腸疾患、分類不能型の炎症性腸疾患（unclassified IBD）は対象から除外した。対象患者の疾患活動期、寛解期にバイオマーカーを測定し、それらに相関関係があるかを評価した。

結果

潰瘍性大腸炎は 14 名（表 1）、クローン病は 7 名（表 2）であった。潰瘍性大腸炎患者の活動期の LRG は中央値 26.8 $\mu\text{g/mL}$ (9.1–55.5)、寛解期の中央値 9.6 $\mu\text{g/mL}$ (6.8–14.1) で明らかな有意差を認めた。便中カルプロテクチンでは活動期の中央値 10,800 mg/kg (4,850–81,600)、寛解期の中央値 39.1 mg/kg (9.7–3,180)、尿中プロスタグランジンの活動期の中央値 62.6 $\mu\text{g/gCr}$ (21.3–223.0)、寛解期の中央値 19.4 $\mu\text{g/gCr}$ (12.4–19.8) と LRG とともに活動期、寛解期で有意差を認めた。クローン病の活動期の LRG は 43.15 $\mu\text{g/mL}$ (27.6–

53.1), 寛解期 8.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (7.3-12.9) で有意差を認めた。便中カルプロテクチンでは活動期の中央値 13,900 mg/kg (6,740-65,100), 寛解期の中央値 130.05 mg/kg (28.7-464) で有意差を認めた。尿中プロスタグランジンは検査数が少なく検証できなかった (図 1, 2)。

表 1 潰瘍性大腸炎患者の臨床的特徴

患者	年齢	性別	診断	LRG (活動期) $\mu\text{g}/\text{mL}$	Calprotectin (活動期) mg/kg	PGE-MUM/Cr (活動期) $\mu\text{g}/\text{gCr}$	LRG (寛解期) $\mu\text{g}/\text{mL}$	Calprotectin (寛解期) mg/kg	PGE-MUM/Cr (寛解期) $\mu\text{g}/\text{gCr}$
1	14	M	UC (直腸限局型)	9.1	5,570	NA	6.8	9.7	NA
2	6	F	UC (全結腸型)	NA	NA	90.3	9.6	NA	19.4
3	12	F	UC (全結腸型)	46.8	28,900	25.7	9.3	NA	NA
4	13	F	UC (全結腸型)	NA	7,980	223	10.5	57.8	19.8
5	10	F	UC (左側結腸型)	11.7	5,340	NA	8.3	11.4	12.4
6	14	M	UC (全結腸型)	NA	12,900	36.5	NA	379	19.8
7	10	F	UC (左側結腸型)	NA	25,400	41.5	13.8	26.7	NA
8	12	F	UC (全結腸型)	22.2	4,850	168	8.9	547	NA
9	14	F	UC (全結腸型)	52.1	51,100	117	8.3	51.9	16
10	12	M	UC (詳細不明)	19.5	23,300	98.1	10.7	10	NA
11	12	M	UC (全結腸型)	55.5	81,600	21.3	9.6	39.5	NA
12	11	M	UC (全結腸型)	19.7	7,600	34	11.2	16.4	NA
13	8	F	UC (左側結腸型)	31.4	5,350	78.7	14.1	3,180	NA
14	12	M	UC (全結腸型)	31.8	10,800	46.5	8.6	38.7	NA

表 2 クロウン病患者の臨床的特徴

患者	年齢	性別	LRG (活動期) $\mu\text{g}/\text{mL}$	Calprotectin (活動期) mg/kg	PGE-MUM/Cr (活動期) $\mu\text{g}/\text{gCr}$	LRG (寛解期) $\mu\text{g}/\text{mL}$	Calprotectin (寛解期) mg/kg	PGE-MUM/Cr (寛解期) $\mu\text{g}/\text{gCr}$
1	14	M	27.6	9,700	40.8	NA	NA	NA
2	15	M	42.5	40,300	79.1	8.7	229	12.3
3	5	M	32.9	13,900	271	NA	NA	NA
4	14	M	NA	6,740	667	12.9	464	NA
5	13	F	53.1	65,100	152	7.8	31.1	NA
6	13	M	44.1	9,950	119	7.3	28.7	NA
7	10	F	43.8	25,900	NA	NA	NA	NA

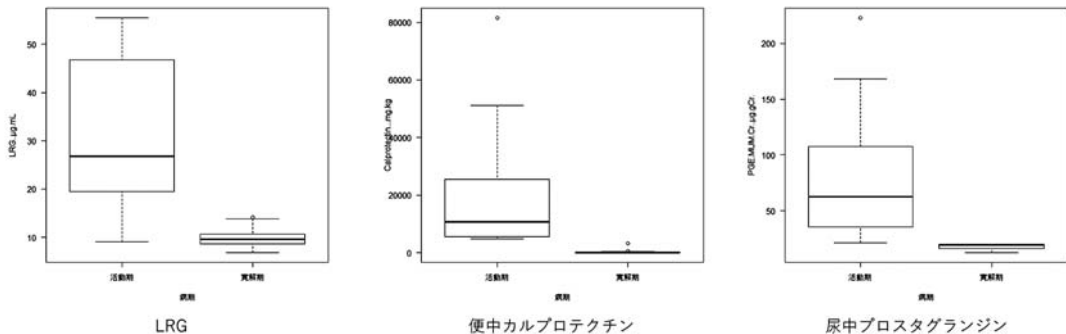


図 1 潰瘍性大腸炎患者の臨床的特徴

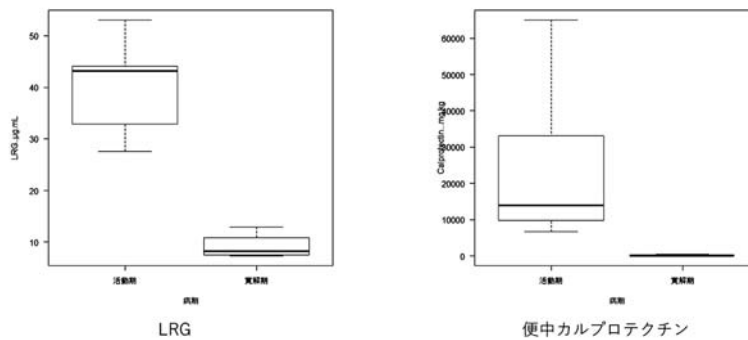


図2 クローン病患者の臨床的特徴

考察

成人のIBD診療で一般的に使用されるLRG, 便中カルプロテクチン, 尿中プロスタグランジンは小児においても病勢把握に有用であると考えられる。今後は3つのうちのバイオマーカーが最も有用であるかを検証する予定ではあるが、最近

潰瘍性大腸炎の患者の再燃初期にLRGは上昇せず便中カルプロテクチンのみ上昇していた症例を経験した。LRGは血液検査で調べることができるため便中カルプロテクチンよりも簡便に検査はできるが、今後も検討の余地があると考えられる。

小児膜性腎症における自己抗体の関与について

松村 壮史

背景

膜性腎症は糸球体の基底膜上皮下へ免疫複合体が沈着し、補体の活性化により惹起され、その結果血尿や蛋白尿、腎機能低下を来す疾患である。成人では高度蛋白尿・低アルブミン血症を呈することが多く、ネフローゼ症候群の代表的原因疾患である。

小児の膜性腎症は成人の膜性腎症と臨床像・疫学が異なる。小児でも成人と同様にネフローゼ症候群を来すことはあるが、学校検尿や3歳児検尿などの検尿システムを契機に無症状で診断されることが多い。また、成人では血尿を来すことはまれであるが、小児では半数以上の患者が血尿を呈する。患者数は少なく、小児腎生検に占める割合

として5%前後といわれている。

特発性膜性腎症は特に原因のない「特発性」と感染症や膠原病、がんなどにより発症する「二次性」がある。成人では二次性の割合が高く、膜性腎症の治療を行う上でどちらかを鑑別することはとても重要である。今までは腎病理の糸球体の形態や蛍光抗体の染色パターンで見極めていたが、近年特発性膜性腎症の自己抗体(抗PLA2R抗体, 抗THSD7A抗体)が発見され、特発性膜性腎症の診断の精度が非常に高いものとなった。今後膜性腎症の診断において抗PLA2R抗体や抗THSD7A抗体の有無を評価することが基本となるだろう。

対して小児特発性膜性腎症では約50%が自己

抗体陽性だが、報告によって陽性率のばらつきが大きい。特に欧米の報告とアジアの報告では陽性率が異なり、本邦の小児特発性膜性腎症の疫学は不明である。

方法

2018年から当院に入院もしくは通院していた小児膜性腎症の患者を対象とした。膜性腎症の診断は腎生検の病理結果で行い、患者の年齢、性別、受診理由、診断時の尿・血液検査のデータ、治療後の検査データ、治療内容、および腎病理の抗 PLA2R 抗体陽性率および抗 THSD7A 抗体の陽性率を検討した。

結果

症例 1

基礎疾患に大脳皮質形成異常症による精神発達遅滞がある（既知の遺伝子異常なし）3歳女児。3歳児検尿で蛋白尿を指摘され当院を受診。受診時1日1.6g程度の高度蛋白尿および Alb 2.6 mg/dL と低アルブミン血症あり。2018年6月に腎生検を行い、膜性腎症と診断。ロサルタンカリウム内服で経過をみたが Alb の低下が続きネフローゼ状態となったため2019年1月から PSL 2 mg/kg を開始。ステロイド投与でも Alb 上昇はわずかであったためシクロフォスファミドを併用し、シクロフォスファミド12週投与後ミゾリビンに免疫抑制薬を変更。2019年8月に尿蛋白陰性化を認め、2019年9月に PSL 終了。2021年11月にミゾリビン中止、2022年2月にすべての治療を中止したが現在まで尿蛋白陰性化を維持している。治療開始前の抗 PLA2R 抗体は陰性であったが、腎組織の抗 PLA2R 抗体は陽性、抗 THSD7A 抗体は陰性であった。

症例 2

特に基礎疾患のない6歳女児。2018年度の学校検尿で蛋白尿を指摘され2019年2月に当科外来を受診。初診時は1日0.7g程度の蛋白尿であったが

その後徐々に悪化し2019年5月の時点で1日2.3gの高度蛋白尿となり Alb 2.3 mg/dL とネフローゼ状態となった。同年6月に経皮的腎生検を施行し膜性腎症の診断。同年7月から PSL 2 mg/kg を開始したが改善に乏しくミコフェノールモフェチル、シクロスポリンを導入した。2020年3月に尿蛋白陰性化。2020年5月に PSL 中止。2021年10月にすべての治療を終了したが現在まで蛋白尿の再燃は認めていない。治療開始前の抗 PLA2R 抗体は症例1と同様に陰性であったが、腎組織の抗 PLA2R 抗体は陽性、抗 THSD7A 抗体は陰性であった。

症例 3

2015年、1歳時に神経芽腫（左副腎原発、ステージ4）を発症。自家末梢血幹細胞移植をはじめとした集学的治療により寛解。2019年11月から肉眼的血尿が出現し2021年3月から高度蛋白尿を認めた。2021年4月に腎生検を行い膜性腎症の診断。同年6月から PSL とシクロスポリンを開始し、2022年1月に尿蛋白陰性化。2022年7月に PSL 中止、同年11月にシクロスポリンを中止し現在無治療で経過観察中である。治療開始前の抗 PLA2R 抗体は陰性であったが、腎組織の抗 PLA2R 抗体は陽性、抗 THSD7A 抗体は陰性であった。

考察

本研究では腎組織の抗 PLA2R 抗体陽性を3名全員に認めた。発症が研究対象（2018年以前の発症）ではない小児膜性腎症の患者の腎病理標本も染色したが、やはり抗 PLA2R 抗体のみ陽性であった。過去の報告では小児膜性腎症のうち抗 PLA2R 抗体陽性率は約20%とされているが、さらに高い可能性がある。当院では高度蛋白尿をきたす膜性腎症の患者が多く、かれらのすべてがステロイドと免疫抑制薬を併用し強力な免疫抑制を行うことで良好な治療経過をたどっている。今後とも症例を蓄積し研究を進めていく予定である。

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

近年、次世代シーケンスデータを用いたリピート変異検出プログラムの開発が進んでいる。リピート変異は数塩基の繰り返し配列が伸長する構造異常であり、これを原因とする疾患が30以上報告されている（脆弱X症候群、球脊髄性筋萎縮症、ハンチントン病、筋強直性ジストロフィー等）。次世代シーケンス技術の理論上、リピート解析に最も適しているのはロングリードデータだが、ショートリードデータでも全ゲノムデータであれば一定の解析は可能である。さらに全エクソームデータでもエクソン内のリピートであれば検出できる可能性がある。リピート変異の検出には専用の解析プログラムが必要であり、解析プログラムが複数発表されている（ExpansionHunter¹⁾、exSTRa²⁾、STRetch³⁾、TREDPARSE⁴⁾）。本研究ではExpansionHunterを導入し解析結果の検討を行った。データはショートリードの全ゲノムデータとさらに全エクソームデータを使用した。これらについて報告する。

方法

1. 解析システムの構築 - ExpansionHunter

リピート検出プログラムのExpansionHunterを導入した。さらに複数の患者の検出結果ファイル(vcfファイル)を結合して解析を行うために、vcf解析ツールのVCFtoolsも導入した。Intel Xeon 3.50 GHz 2processors 4cores, Memory 64 GBのマシンを使用した。

2. ショートリードの全ゲノムデータを用いたリピート変異の探索および結果の検討

導入したExpansionHunterにてショートリードの全ゲノムデータ13検体のリピート変異の検出を行い、解析結果を検討した。

3. ショートリードのエクソームデータを用いた

リピート変異の探索および結果の検討

導入したExpansionHunterにてショートリードの全エクソームデータ208検体のリピート変異の検出を行い、解析結果を検討した。

結果と考察

本研究ではリピート変異検出プログラムのExpansionHunterを新たに導入し解析を行った。解析所要時間はシーケンスリードをレファレンス配列にマッピングしたbamファイルをスタートとすると、全ゲノムデータでも全エクソームデータでも1検体あたり約1分15-30秒とほとんど差はなかった。全ゲノムデータではExpansionHunterが想定したリピート候補領域全て(38か所)について解析が可能であったが、エクソームデータではいくつか解析できない領域があった。エクソームデータの場合エクソン外領域のデータは測定していないため、例えばイントロンのリピート候補領域はリードが少ない、もしくはリードがないために解析ができなかったと思われる。エクソームにおける検出結果のうち、ExpansionHunterの解析を行ったエクソーム検体の7割以上でリピート数が測定でき、かつリピート数増加の可能性がある異常に伸長したリピート数は除外したものを図1に示す(リピート多型のばらつきを示す)。エクソームデータであるものの、5'UTRや3'UTR、intronのリピート変異で測定可能なものがいくつかあった(NOTCH2NLC, PPP2R2B, PABPN1, JPH3, DMPK, NOP56)。またリピート数が大きくばらつくもの(PHOX2B, ATXN1)からほとんどばらつきがないもの(PABPN1, NOP56)までさまざまなであった。

全ゲノムデータでは、他検体に比べてリピート数増加の可能性のある変異が2個検出された

疾患	遺伝子	リピート領域	位置 (hg38)	測定された リピート数
神経核内封入体病	NOTCH2NLC	5'UTR	chr1:149390802	7-27
脊髄小脳失調症 7 型 (SCA7)	ATXN7	exon	chr3:63912684	3-19
脊髄小脳失調症 7 型 (SCA7)	ATXN7	exon	chr3:63912714	1-8
先天性中枢性低換気症候群	PHOX2B	exon	chr4:41745972	10-40
脊髄小脳失調症 12 型 (SCA12)	PPP2R2B	5'UTR	chr5:146878727	4-24
脊髄小脳失調症 1 型 (SCA1)	ATXN1	exon	chr6:16327633	6-38
脊髄小脳失調症 17 型 (SCA17)	TBP	exon	chr6:170561906	28-56
歯状核赤核淡蒼球レイ核萎縮 (DRPLA)	ATN1	exon	chr12:6936716	11-36
眼頭頰筋ジストロフィー (OPMD)	PABPN1	5'UTR	chr14:23321472	6
脊髄小脳失調症 3 型 (SCA3/MJD)	ATXN3	exon	chr14:92071009	15-38
ハンチントン病類縁疾患 2 型	JPH3	3'UTR	chr16:87604287	13-22
脊髄小脳性運動失調 6 型 (SCA6)	CACNA1A	exon	chr19:13207858	2-23
筋強直性ジストロフィー 1	DMPK	3'UTR	chr19:45770204	3-31
脊髄小脳失調症 36 型 (SCA36)	NOP56	intron	chr20:2652733	2-17
脊髄小脳失調症 36 型 (SCA36)	NOP56	intron	chr20:2652757	1-2
球脊髄性筋萎縮, X 連鎖性 1	AR	exon	chrX:67545316	12-35

図1 エクソームにおける検出結果

ExpansionHunter の解析を行ったエクソーム検体のうち 7 割以上でリピート数が測定でき、かつリピート数増加の可能性のある異常に伸長したリピート数は除外したものを示す (リピート多型のばらつきを示す)。

が、リピート数予測結果の信頼区間の値が大きい、IGV でマッピングデータを確認すると変異がはっきりと確認されない等の理由でミスコールと思われるものだった。一方エクソームデータでは他検体に比べてリピート数増加の可能性のある変異が 5 個検出された。4 個はミスコールであったが、1 個はリピート数予測結果の信頼区間の値も小さく、IGV でも変異が確認されたため、現在検証のための PCR 等を用いた実験および患者の臨床情報を再確認しているところである。

次世代シーケンス技術の理論上、リピート解析に最も適しているのはロングリードデータだが (長いリピート領域も比較的正確にマッピングできるため)、Ibañez K, et al.⁵⁾ らの報告どおりショートリードデータでも一定の解析は可能であった。しかしながらショートリードの場合はリピート重複のサイズが大きい場合、そのサイズを正確に予測できない時があるので注意が必要である。また今回の研究では、ショートリードのエクソームデータにおいてもエクソン内で十分なリードがある領域であれば解析が可能であった。ロングリードシーケンスはいまだ高額であり、より一般的で安価なエクソームシーケンスにおけるリ

ピート解析は一定の有用性があると思われる。

文献

- 1) Dolzhenko E, Deshpande V, Schlesinger F, et al. ExpansionHunter: a sequence-graph-based tool to analyze variation in short tandem repeat regions. *Bioinformatics* 2019;35:4754-4756.
- 2) Tankard RM, Bennett MF, Degorski P, et al. Detecting Expansions of Tandem Repeats in Cohorts Sequenced with Short-Read Sequencing Data. *Am J Hum Genet* 2018;103:858-873.
- 3) Dashnow H, Lek M, Phipson B, et al. STRetch: detecting and discovering pathogenic short tandem repeat expansions. *Genome Biol* 2018;19:121.
- 4) Tang H, Kirkness EF, Lippert C, et al. Profiling of Short-Tandem-Repeat Disease Alleles in 12,632 Human Whole Genomes. *Am J Hum Genet* 2017;101:700-715.
- 5) Ibañez K, Polke J, Hagelstrom RT, et al. Whole genome sequencing for the diagnosis of neurological repeat expansion disorders in the UK: a retrospective diagnostic accuracy and prospective clinical validation study. *Lancet Neurol* 2022;21:234-245.

神奈川県における小児がん患者を対象とした 在宅移行の整備を目的とした 疾患パンフレット作成と在宅移行アンケート調査

横須賀 とも子¹⁾, 松 木 菜々海²⁾, 宮 川 有美子²⁾
大 倉 貴 和³⁾, 岡 部 卓 也⁴⁾, 村 上 寿 江⁵⁾
林 亜揮子⁶⁾

はじめに

本邦では年間2,000-2,500人の子どもが小児がんと診断されており、小児人口10,000人に約1人の割合である。多施設共同研究、新規薬剤の開発や治療の層別化により、寛解率が上昇したものの、救命できない患者が一定数存在する。厚生労働省の令和元年人口動態統計月報年計によれば、1歳から15歳未満の小児死亡数のうち、悪性新生物が原因での死亡は年間248人と記載されている。神奈川県立こども医療センターに焦点をあてれば、10-15名前後の小児がんの子どもたちが死亡退院していることとなる。

わが国では、小児がんの子どもたちは、ほとんどが病院死し、子どもたちが希望したとしても、一部の脳腫瘍を除いて在宅医療を行うシステムは途上である。イギリスで小児進行がんの在宅死が77%¹⁾、アメリカで小児がんの49%²⁾が在宅死している現状と大きくかけ離れており、我が国における在宅医療の整備は急務である。

実際の臨床では、病院から子どもたちが家に帰ることを希望し、「在宅医療に移行しよう」と計画しても、どの地域に小児がんの在宅医療経験のある訪問医、訪問看護ステーションがあり、どの程度の医療行為まで診療可能なのか、小児がんの在宅療養についての情報はほとんどなく、過去の経験に限られていた。そこで、小児がん拠点病院として、神奈川県下において訪問看護、訪問医との調査研究を通して連携基盤を作ることで、小児がん患者の在宅移行における現状を把握すること

を目的とした。

なお、当初行う予定であった疾患パンフレット作成(表題)については、厚生労働科学研究「小児がんの子どもに対する充実した在宅医療体制整備のための研究」班において、在宅で関わる関係者をまとめたパンフレットを作成しており、今回の目的は前述の現状把握内容のみと修正した。

対象と方法

調査期間は2021年12月から2022年1月とし、調査対象は日本医師会HPの検索サイトからの神奈川県内の在宅訪問診療所、クリニック271か所と、神奈川県訪問看護ステーション協議会に登録されている、24時間対応可能または小児対応可能な施設804か所を対象とした。訪問診療を行っている診療所に関しては、がん診療への関わりが低い診療科(産婦人科や精神科等)は除外した。訪問看護ステーションに関しては、24時間対応可能または小児対応可能以外は除外した。臨床試験のデザインは記名式の調査研究である。各施設に依頼文書を郵送し、1施設1回答とした。二次元バーコードを記載した依頼文書を郵送し、Google Formで集計を行った。

アンケート項目については、

I. 施設の背景

看護師、医師数や現在までの小児疾患、小児がんの在宅医療の実績の経験

II. 提供可能な医療行為

在宅酸素療法、人工呼吸管理(NPPV)気管

1) 神奈川県立こども医療センター 血液・腫瘍科 2) 同 医療福祉相談室 3) 同 小児がん相談支援室
4) 同 クリーン病棟看護師科 5) 同 緩和ケア普及室 6) 横須賀共済病院 小児科

切開の管理, 胃瘻, 腸瘻の管理, 経管栄養の交換, 経鼻胃管の管理, 交換, PICC, CV 管理, 褥瘡管理, リハビリ, 麻薬管理 (内服, 貼付), 麻薬管理 (PCA 含む点滴), 抗腫瘍薬 (内服, 点滴), 在宅輸血が可能か, 抗生剤, 中心静脈使用管理, 24 時間窓口の設置など

Ⅲ. 小児がんの在宅医療の過去の受け入れ実績を主な大項目とした。

Ⅱ, 成人, 小児に対して提供可能な医療行為の内容については①対応可 ②条件付きで対応可 ③対応不可の3つの選択肢での回答を依頼した。

解析方法は単純集計であり, 成人と小児の在宅医療の具体的項目の比較については McNemer 検定を用いた。

結果

質問紙を配布した1,075通のうち, 234 (21.7%) の回答を得た。そのうち, 94.4%の方が研究に同意された。

回答された施設の内訳は, 訪問看護ステーションが154施設, クリニック, 診療所, 医院などの診療施設が66施設, 上記の併設が1施設であった。勤務している一施設内の看護師数は中央値が6名であり, 0名から24名と幅があった。また, 診療所のうち80%では小児科医が勤務していなかった。18歳未満の在宅医療の経験数については, 54.3%の施設で実績があったが, 約半数で経験がなかった。

小児がん患者の在宅医療の経験については, 経験ありが49施設(22%)であり, その中で対応件数は3例以下が80%, 4-10例が18%, 11例以上が2%であった。

また, 在宅医療で行える医療内容については, 成人に比較し, 可能, 条件付きで対応可能な内容も小児では「不可」と考える施設が多数を占め, ($P < 0.01$) すべての項目で有意差を認めた(表1)。在宅輸血においては, 訪問看護, 訪問医を含めて, 成人でも小児でも対応不可が多く, この項目については成人, 小児での有意差を認めなかった。診療所に限って解析を行っても, 在宅輸血に対応可または条件付き対応可と回答した施設は成人で25%, 小児で18%にとどまった。

表1 全施設で提供可能^{*}な医療行為を小児と成人で比較した結果
※可能, 条件付きで可能を含む

医療行為	成人 (%)	小児 (%)	
酸素投与	95	80	P < 0.05
人工呼吸	88	73	
気管切開	92	77	
リハビリ	81	68	
褥瘡管理	95	81	
麻薬管理 (内服)	94	80	
麻薬管理 (点滴)	88	74	
抗腫瘍薬 (内服)	91	78	
抗腫瘍薬 (点滴)	63	53	
抗生剤投与	93	78	
看取り	94	76	
在宅輸血	39	35	P = 0.123

また, 年間の成人がんの診療人数で回答のあった67診療所を30例未満と30例以上で2群にカテゴリー化し, そのうち成人がんの診療数の少数群(n=26)と多数群(n=41)に分けて追加の解析を行ったところ(図1)診療所が小児に対して提供可能な医療行為について, 多数群のほうが小児でも成人同様対応可, 条件付きで対応可, と答える施設が多かった。

最後に, 小児がん患者の過去の受け入れ実績について, 診療所に限って追加の解析を行った。過去に小児がん患者の受け入れ実績のある診療所は診療所のうち, 17施設(36.3%)であり, 医師の中央値は9名, 神奈川県東部の人口の多い地域に偏在しており, 15/17施設(88%)が年間30例以上の成人がんの訪問診療を経験している, 多数群の施設であった。

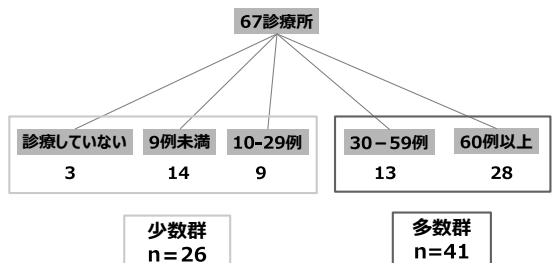


図1 年間の成人がんの診療人数による診療所の解析

考 察

本研究は、神奈川県全域において、訪問医、訪問看護への小児がん患者の在宅移行に関する調査研究となる。成人がんを対象とする施設を多く含んでいることが特色といえる。

今回のアンケートの回収率は配布 1,075 通のうち 234 回答 (21.7 %) と低くとどまった。また、小児がん患者の在宅医療の経験も各事業所において、ほとんどが 3 例以下であった。この原因として、成人と比較し、小児がんが稀少疾患であることから症例経験が得られにくいことがあげられる。過去の報告では、小児がん患者の在宅移行の問題点として、症例数が少なく経験が少ないこと、子どもを失うという特殊な感情を持つ親とのコミュニケーションが成人領域の医師では難しいこと、小児がん患者において、相当数が死の直前まで抗腫瘍治療を続けていることに慣れていないことなど³⁾が挙げられると報告されている。また、過去の神奈川県内の小児、終末期を標榜する訪問看護事業所を対象に行った調査では、終末期の小児がん患者と家族へのケアの困難として、訪問看護側から、疾患特有の症状アセスメントや、子どもと家族への心理的ケア、医療機関との連携体制、疾患に関連した知識の取得が挙げられている⁴⁾。これらのことから、小児がんの啓発活動や、小児の手技習得のため研修や情報提供の必要性、麻薬や薬用量の問い合わせ窓口の設置など、また小児がん側の成人の在宅研究会への参加、症例のフィードバックと双方向性の関係性の構築が必要と考えられた。

また、今回のアンケート結果では、在宅輸血に関し、成人と小児にかかわらずどちらも対応不可が多数を占めるとなった。在宅輸血を行う上での課題として、適正使用や確実な輸血検査の実施、製剤の管理と運搬、患者観察、急性期副作用へ対応⁵⁾などが問題点として挙げられる。また、訪問看護側の在宅輸血を実施する上での問題点として、輸血時の経過観察、滞在時間が長いこと、また、副作用、急変時の問題などもあげられる⁶⁾。小児がんの在宅医療への移行においては、固形腫瘍、造血器腫瘍ともに在宅輸血の実現が可能であれば、子どもが希望した際に在宅療養に近づくため厚生労働科学研究「小児がんの子どもに対する

充実した在宅医療体制整備のための研究」班の在宅輸血班では全国の調査も行われている⁷⁾。また、東京都では訪問看護師を対象とした在宅輸血連携研修会等のシステムづくり⁸⁾が行われており、神奈川県でも今後の在宅輸血のシステム作りが待たれるが、一事業所の努力では限界があり、保険点数の問題や研修体制、ガイドライン整備などのシステムづくりが重要と考えられた。

また、過去に小児がん患者を受け入れた実績のある診療所は神奈川県東部に偏在していた理由として、人口の多い横浜市に規模の大きな診療所が偏在している可能性があるため、今後の県西部の連携に関しては一例一例の連携を丁寧に行っていく必要があること、また成人がん診療数が 30 例以上の診療所では、勤務している医師数も多いことから、小児がん患者の対応が可能と回答していることも考えられる。これらの結果をもとに、今後も神奈川県下での小児がん患者の在宅医療への移行への連携が行える可能性がある。

引用文献

- 1) Vivkers J, Thompson A, Collins GS, et al. Place and Provision of Palliative Care for Children With Progressive Cancer: A Study by the Paediatric Oncology Nurses' Forum/United Kingdom Children's Cancer Study Group Palliative Care Working Group. *J Clin Oncol* 2007;25:4472-4476.
- 2) Wolfe J, Grier HE, Klar N, et al. Symptoms and suffering at the end of life in children with cancer. *N Engl J Med* 2000;342:326-333.
- 3) 朴明子, 石関梨華, 新井心, 他. 小児がんの在宅緩和ケア—群馬での取り組み. *日本小児血液・がん学会雑誌* 2014;51:379-378.
- 4) 竹之内直子, 後藤裕明. 終末期に在宅療養生活を送る小児がん患者と家族へ支援を行ううえでの訪問看護師の困難およびニーズ. *日本小児血液・がん学会誌* 2022;59:167-174.
- 5) 佐藤伸二, 黒田優. 在宅輸血を考える～その課題と展望～. *日本輸血細胞治療学会誌* 2017;63:729-735.
- 6) 藤田浩, 薬師寺史厚. 東日本での訪問看護ステーションにおける輸血実績に関するアンケート調査. *日本輸血・細胞治療学会誌* 2019;65:112-116.
- 7) 岩本彰太郎, 西川英里. 在宅輸血について. 大隈朋

夫. 厚生労働科学研究費補助金 がん対策推進総合研究事業 小児がん患者に対する在宅医療の実態とあり方に関する研究 分担研究報告書 2021;25-29. (WEB)

8) 大橋晃太, 太田祥一, 飴谷利江子, 他. 訪問看護師を対象とした在宅輸血連携研修会の実施について. 日本輸血治療学会誌 2020;66:685-686.

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⁾, 田中玲子¹⁾, 永原則之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、周産期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* 遺伝子の異常が知られている¹⁾。また、CPAM type1 や一部の CPAM type3 は *KRAS* 遺伝子を有し、肺腺癌の前がん病変であることが報告された²⁾。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、inflammatory myofibroblastic tumor (IMT) との疾患概念の重複が検討されている^{3,4)}。さらに、非腫瘍性の肺胞形成異常の遺伝子異常も明らかにされつつある⁵⁾。

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、従来先天性形成異常とされていた疾患の中にも、腫瘍発症のポテンシャルを持つものもあるということが分かってきた。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。

昨年度は FLIT について RNA シーケンスを用いて、複数の病的遺伝子異常を検出した。FLIT は大変稀な病変ではあり、現在国内他施設より検体提供を得て同遺伝子異常の検討を予定している⁶⁾。

今年度は新たに先天性肺形成不全が疑われる剖検例の肺の検討を、RNA シーケンスを用いて行った。

対象

当科アーカイブの肺胞形成異常と診断された剖検症例を対象とする。

方法

1. RNA シーケンス

肺の凍結検体より total RNA を抽出し、逆転

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 衛生学・公衆衛生学教室

表1 RNAシーケンスの検討対象症例

	sex	Gestational period	Body weight at birth	Lung/body weight ratio	Outcome
1	male	39-week-0-day	3,590 g	1.7 %	early neonatal death (3 days)
2	male	38-week-6-day	3,120 g	2.1 %	early neonatal death (3 hours)

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

当科の剖検のアーカイブより肺胞形成異常が疑われた症例は2例抽出された。いずれも男児で、それぞれ在胎週数は39週0日と38週6日であり、生後3日と3時間で新生児早期死亡に至った。剖検時体重は3,590 g と 3,120 g で、肺体重比が1.7 % と 2.1 % であり、肺低形成ではなかった(表1)。

症例1について、RNAシーケンスを施行し、複数の病的遺伝子異常が検出された。組織学的所見と合わせてRNAシーケンスの結果の検討中である。症例2については現在RNAシーケンスの結果の解析中である。

考察

FLITは極めて稀で、世界でも20例程度、国内では4例の報告に留まり⁶⁻⁹⁾ そのうち1例ではALK融合遺伝子が検出されている。当センターアーカイブの1例ではALK融合遺伝子は検出されておらず、発症の背景には異なる遺伝子異常があることが予想される。昨年度までのRNAシーケンスを用いた検討でFLIT発症に関わる遺伝子の候補を同定しているため、今年度以降に他施設より供与の検体を用いて、同遺伝子の検討を予定している。

また近年、先天性の形成異常とされてきた複数の肺疾患が遺伝子異常を背景に腫瘍発生のポテンシャルを持つことが報告されている。そこで本年度は原因が明らかにされていない先天性肺形成不全の2例について網羅的な遺伝子異常の検討を行い、一部で病的遺伝子の異常が示唆された。来年度以降は検出された遺伝子異常の病的意義などの検討を継続していきたいと考える。

文献

- 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.
- Nelson ND, Xu F, Chandrasekaran P, et al. Defining the spatial landscape of KRAS mutated congenital pulmonary airway malformations: a distinct entity with a spectrum of histopathologic features. *Mod Pathol* 2022;35:1870-1881.
- 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.
- 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.
- Vincent M, Karolak JA, Deutsch G, et al. Clinical, Histopathological, and Molecular Diagnostics in Lethal Lung Developmental Disorders. *Am J Respir Crit Care Med* 2019;200:1093-1101.
- 西野彰悟, 黒田靖浩, 畠山理, 他. Fetal lung interstitial tumorの1例. *日本小児血液・がん学会雑誌* 2022;59:86.
- Yoshida M, Tanaka M, Gomi K, et al.: Fetal lung interstitial tumor: the first Japanese case report and a comparison with fetal lung tissue and congenital cystic adenomatoid malformation/congenital pulmonary airway malformation type 3. *Pathol Int* 2013;63:506-509.
- 伊藤智夫, 新井浩和, 安達裕行, 他. Fetal lung interstitial tumorの1例. *日本未熟児新生児学会雑誌* 2013;25:619.
- 小野田正志, 簡野美弥子, 佐藤裕子, 他. Identification of Novel ALK Rearrangement A2M-ALK in a Neonate with Fetal Lung Interstitial Tumor. *日本小児血液・がん学会雑誌* 2014;51:240.

COVID-19 ワクチン (コミナティ) 接種後の抗体価に関する研究 - 当院の COVID-19 ワクチン (コミナティ) 接種後の抗体価の上昇と副反応・生活 習慣などの因子との関連性に関する検討 -

萩原 聡子¹⁾, 今川 智之²⁾, 鹿間 芳明²⁾
長谷川 由香里³⁾, 佐々木 美穂³⁾, 下風 朋章⁴⁾

背景

2019年12月に中国で初めて報告された新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) による感染症は、2020年より日本においても流行が拡大し、2021年よりワクチン接種が開始された。ワクチンの供給不足の影響によって当センターでは2021年4月と5月の2期に分けて職員に対して1回目のファイザー製のワクチンを接種し、その1か月後に2回目のワクチン接種を行なった。拙速的に開始された国のワクチン事業に対して、ワクチンの安全性に対する不安の声も強い中、医療従事者である危機感と責任感により多くの職員がワクチンを接種した。海外の文献でワクチンの効果や副反応が報告され始めていたが、まだまだ情報は少ない中で自分たちの副反応の頻度などを知りたいという思いから本検討はスタートした。

目的

- ・ COVID-19 ワクチン (コミナティ) 接種後の抗体価を確認し、ワクチン接種事業の当院における評価を確認する。
- ・ 年齢、性別、飲酒頻度、喫煙、運動習慣、副反応の有無などの因子と抗体価との関連を調べることで、接種に対する理解を高め、ワクチン接種を後押しするデータとして活用したい。また生活習慣と抗体価の関連は職員の健康管理に今後役立つ可能性がある。

対象

当院において、COVID-19 ワクチン接種に従事した職員および、COVID-19 患者に対応機会が多い職員

方法

- ① COVID-19 の抗体価を2回目ワクチン接種後2か月後・6か月後・3回目ワクチン接種の6か月後の時期に血液検査にて定量的なIgG抗体価の推移を評価する。
- ② 抗体価はRoche社のElecsys Anti-SARS-CoV-2 S RUO 試薬にてスパイクタンパク質 (S) の抗体 (定量) を測定し、中和抗体の獲得を確認する。
- ③ 対象者の基礎データのアンケートを取り、ワクチン接種時の問診表および接種後の副反応調査票も参考にする。基礎データと抗体価の関連を統計学的に解析する。

結果

同意を得られた対象者186名のうち、3回のワクチン接種を行い、3回の血液検査を施行できた106名を解析した。途中退職等のため血液検査が2回以下の者 (59名)、3回目採血時に4回目のワクチン接種が済んでいた者 (11名)、研究対象期間中にコロナ罹患が明らかに判明していた者 (9名)、3回目の接種を行わなかった者 (1名) は解析から除外した。

★対象の背景と抗体価中央値

3回の血液検査を施行できた106名の性別は男性30名、女性76名であった。平均年齢は42歳 (22-63歳)、20歳代25名、30歳代21名、40歳代17名、50歳代38名、60歳代5名であった。106名全体の抗体価中央値は2回目のワクチン接種2か月後で1,051 U/mL、6か月後で703 U/mL、3回目のワクチン接種6か月後で5,661 U/mLであった (表1)。

抗体価中央値はどの年代においても2回目のワ

クチン接種2か月後より6か月後には低下した(図1)。

★年齢と抗体価の関係(図2)

年齢と抗体価の関係は、2回目ワクチン接種2か月後でやや相関あり($r=0.240$, $p=0.013$), 6か月後でやや相関あり($r=0.283$, $p=0.003$)と、年齢が若い方が抗体価は高いという弱い相関を認めた。3回目ワクチン接種6か月後では年齢と抗体価の関係は認められなかった。

★3回の抗体価の相関関係(図3)

3回測定した各々の抗体価の相関関係は、2回目ワクチン接種2か月後と2回目ワクチン接種6か月後の抗体価には強い相関を認めた。 $(r=0.891, p<0.001)$

2回目ワクチン接種2か月後3回目ワクチン接種6か月後の抗体価には弱い相関を認め($r=0.273, p=0.005$), 2回目ワクチン接種6か月後と3回目ワクチン接種6Mの抗体価にも弱い相関を認めた($r=0.250, p=0.009$)

★対象の特徴と抗体価中央値(表2)

対象の特徴(アレルギー歴・高血圧/糖尿病/喘息などの基礎疾患・飲酒習慣・喫煙習慣・運動習慣)ごとに抗体価中央値を検討したところ、1日当たりビール350mL以上のアルコールを週4日以上飲む人は週3日以内の人と比べて、2回目ワクチン接種6か月後で抗体価が有意に低かった($p=0.009$)。また週に150分以上の運動習慣のある人は、それ以下の人と比べて、3回目ワクチン接種6か月後の抗体価が有意に高かった($p=0.024$)。

★ワクチン接種後の副反応の頻度(図4)

副反応の頻度は以下のとおりである。37.5度以上の発熱(1回目のワクチン接種後; 29.2%・2回目のワクチン接種後; 62.3%・3回目のワクチン接種後; 45.2%), 倦怠感(51%・68.9%・58.4%), 頭痛(24.5%・39.6%・24.5%), 下痢(6.6%・9.4%・6.6%), 嘔吐(1.9%・0.9%・0%), 筋肉痛(71.7%・63.2%・44.3%), 関節痛(8.5%・21.7%・14.2%)であった。

★ワクチン後の発熱と抗体価の関係(表3)

各副反応の有無と抗体価の関係としては、37.5度以上の発熱を認めたほうが、抗体価が高いという結果となった。2回目ワクチン2か月後の抗体価中央値は、2回目ワクチン後に発熱を認めた人は1,223 U/mL, 発熱を認めなかった人は721 U/mLで発熱を認めた人が有意に抗体価が高かった($p=0.001$)。2回目ワクチン6か月後の抗体価中央値は、2回目ワクチン接種後発熱を認めた人が804 U/mL, 発熱を認めなかった人は512 U/mLで発熱を認めた人が有意に抗体価が高かった($p=0.003$)。3回目ワクチン6か月後の抗体価中央値は、2回目ワクチン接種後発熱を認めた人で6,514 U/mL, 発熱を認めなかった人で4,016 U/mLと発熱を認めた人で有意に抗体価が高く、3回目ワクチン接種後発熱を認めた人で6,353 U/mL, 認めなかった人で4,450 U/mLと発熱を認めた人で有意に抗体価が高かった。

発熱以外は、副反応の有無による抗体価の有意差は認めなかった。

表1 対象の背景と抗体価中央値

性別	男	女	全体 (n=106) (U/ml)			
	30人	76人	2回目2M後	1,051		
年齢	平均年齢42歳 (22-63歳)		2回目6M後	703		
			3回目6M後	5,661		
20-29歳	3人	22人				
30-39歳	11人	10人				
40-49歳	5人	12人				
50-59歳	8人	30人				
60歳-	3人	2人				
				男性 (n=30)	女性 (n=76)	p値
			2回目2M後	875	1,145	0.066
			2回目6M後	545	703	0.077
			3回目6M後	6,128	5,259	0.009

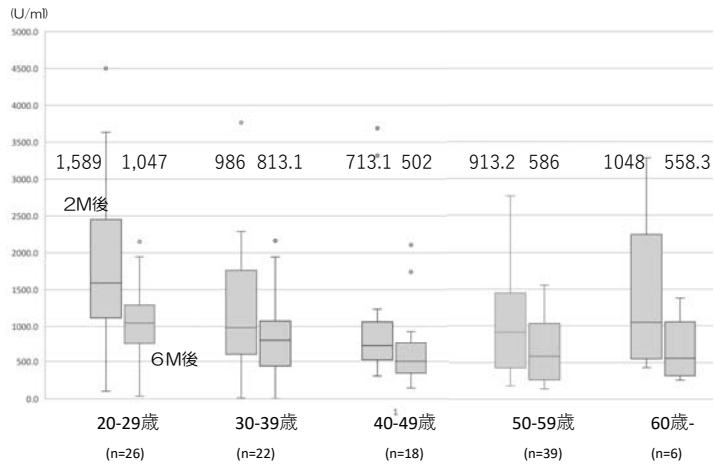


図1 年代別 2 か月後・6 か月後の抗体価中央値

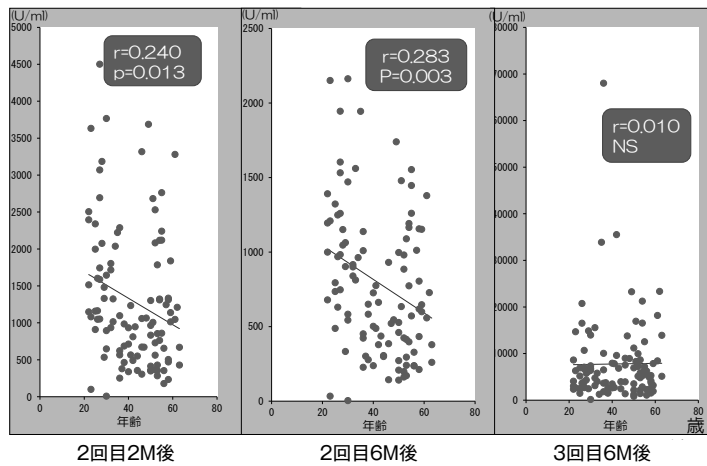


図2 年齢と抗体価の関係

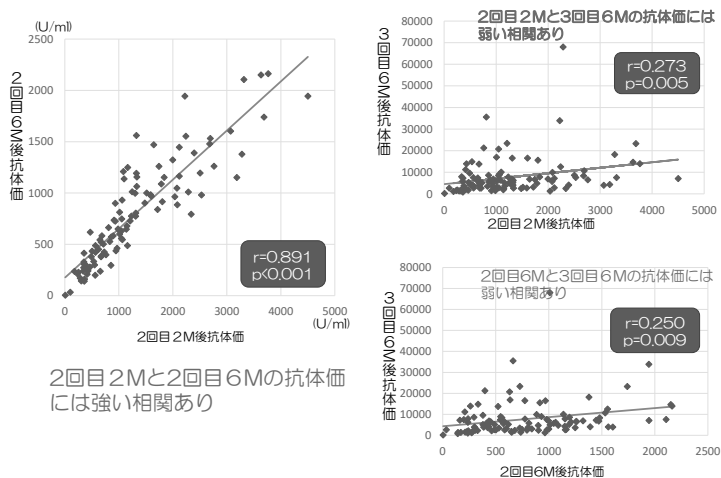


図3 3回測定した各々の抗体価の相関関係

表2 対象の特徴と抗体価中央値

アレルギー歴	あり(n=66)	なし(n=40)	P値
2回目2M後	1,113	1,016	0,065
2回目6M後	7,478	649	0,35
3回目6M後	6,089	4,911	0,43
高血圧・糖尿病・喘息などの病歴	あり(n=80)	なし(n=26)	
2回目2M後	1,096	1,049	0,36
2回目6M後	703	705	0,27
3回目6M後	5,775	5,116	0,38
飲酒習慣(ビール350ml/日以上)	あり(n=47)	なし(n=59)	
2回目2M後	1,053	1,048	0,29
2回目6M後	692	703	0,118
3回目6M後	5,134	5,796	0,068
飲酒習慣(ビール350ml/日以上)	週4日以上(n=17)	週3日以内(n=89)	
2回目2M後	730	1,139	0,073
2回目6M後	425	794	0,009
3回目6M後	5,189	5,753	0,39
運動習慣(中等度以上の運動)	週に150分以上(n=63)	150分以下(n=43)	
2回目2M後	1,014	1,139	0,48
2回目6M後	650	728	0,29
3回目6M後	6,314	3,957	0,024

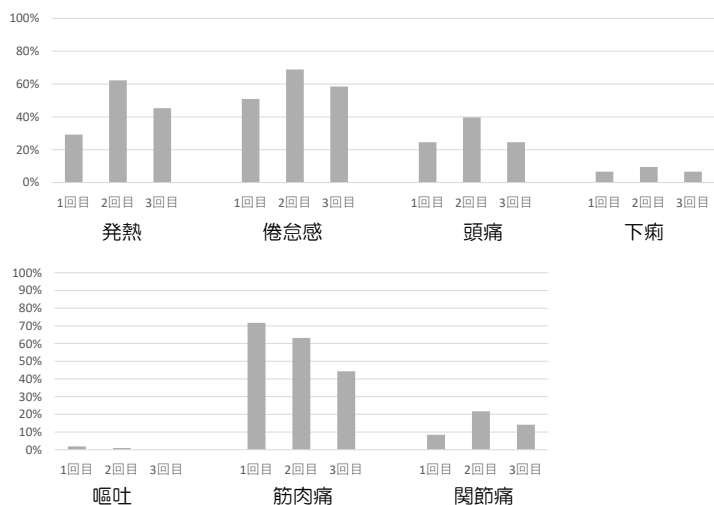


図4 副反応の頻度

表3 ワクチン後の発熱と抗体価の関係

	発熱	抗体価中央値 (IU/ml)		p値
		あり	なし	
2回目 ワクチン後 2M後	1回目発熱	1,139	1,000	0,22
	2回目発熱	1,223	721	0,001
	3回目発熱	1,155	976	0,191
2回目 ワクチン後 6M後	1回目発熱	813	679	0,160
	2回目発熱	804	512	0,003
	3回目発熱	751	615	0,106
3回目 ワクチン後 6M後	1回目発熱	4,813	5,864	0,142
	2回目発熱	6,514	4,016	0,008
	3回目発熱	6,353	4,450	0,013

まとめ

- ・職員においてはどの年代においても COVID-19 ワクチン（コミナティ）接種後の抗体価の上昇を確認した。
- ・年齢と抗体価には相関を認め、年齢が若い方が抗体価が高かった。
- ・3回測定した各々の抗体価に相関を認めた。
- ・週4日以上以上の飲酒習慣を認めるものは、抗体価が低かった。
- ・週に150分以上運動を行うものは、抗体価が高かった。
- ・ワクチン接種後の副反応で発熱を認めたものは抗体価が高かった。

考 察

2020年11月に大規模臨床試験によって、海外ではファイザー社製 mRNA ワクチンは新型コロナウイルスの発症を95%抑えるという高い効果が示された¹⁾。また重篤な有害事象の発生頻度は低いことも示されている¹⁾。副反応の出現頻度の差はあるものの、発熱や倦怠感や頭痛の副反応を多く認めたことはこの文献と同じであった。

厚生労働省が2022年10月に発表した新型コロナワクチン追加接種（3回目接種）にかかわる免疫持続性および安全性調査（コホート調査）で述べられている副反応も同様であった²⁾。

また若年層や女性で抗体価が上がりやすいなどの年齢や性別などの因子と抗体価の関連についても千葉大学からの報告と同様であった³⁾。飲酒頻度が高い人はワクチンの効果が出にくいなどの千葉大学より報告されているが、当センターにおいても同様の結果であった。

活発な運動を週に150分以上継続して行っているような運動習慣は、新型コロナウイルス感染症

（COVID-19）の市中感染症の罹患リスクが31%低く、感染症関連死のリスクも37%低いと英国のグラスゴー カレドニアン大学から報告されている。彼らは運動がワクチン予防接種の効果を40%高めることも示している⁴⁾。

われわれは症例数が少なく罹患リスクや重症化リスクを検討することはできなかったが、適度な運動を行っている人と過度にはならない飲酒習慣の人の方が抗体価が高かったことを確認した。このことより生活習慣の見直しは、新型コロナの抗体の維持に有効で、感染症予防の啓発に役立つ可能性が示唆された。

文 献

- 1) Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, et al. Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine, N Engl J Med 2020;383:2603-2615.
- 2) 新型コロナワクチン追加接種(3回目接種)にかかわる免疫持続性および安全性調査(コホート調査)厚生労働省
第88回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会, 令和4年度第18回薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会資料1-9より
- 3) COVIDワクチンに対する免疫応答を規定する機構の解明 千葉大学
https://www.ho.chiba-u.ac.jp/crc/dl/patient/20211215_COVID-19_vaccinestudy.pdf (2021年6月16日)
- 4) Chastin SFM, Abaraogu U, Bourgeois JG, et al. Effects of Regular Physical Activity on the Immune System, Vaccination and Risk of Community-Acquired Infectious Disease in the General Population: Systematic Review and Meta-Analysis. Sports Medicine 2021;51:1673-1686.