

令和5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

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 8000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。

諸外国ではすでにマイクロアレイ染色体検査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、マイクロアレイ染色体検査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、マイクロアレイ染色体検査の診断率は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りこみマイクロアレイ染色体検査を行なってきた。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おこない、診断未定例の一部にマイクロアレイ染色体検査を行ってきた。保険収載以降にマイクロアレイ染色体検査を 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 解析はマイクロアレイ染色体検査

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なっている。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 MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) 法や定量 PCR などの別手法で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実施しており、CNV も検出している。エクソーム解析も将来、マイクロアレイ染色体検査と並んで 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、保険収載後のマイクロアレイ染色体検査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2024年2月まで(23か月間)に当施設でおこなった保険収載マイクロアレイ染色体検査239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。マイクロアレイ染色体検査検査前 G-band 異常核型(陽性例38例)、G-band 陰性例または未施行例(201例)を含んでいる。

また、エクソーム解析は、2023年2月までに当施設でおこなったエクソーム解析91件を対象とした。2024年度はマイクロアレイ染色体検査あるいは、TruSightOne パネル解析を行わずにエクソーム解析をした症例の該当がなかった。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4813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)

マイクロアレイ染色体検査施行例のうち G-band 陽性例38例中31例で CNV を検出した(図2)。38例中8例は非典型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 症候群だった症例が含

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19例、複雑な染色体構造異常を解析した例2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マイクロアレイ染色体検査で CNV が検出されず陰性であったのは、7例であった。3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、2例が多型が疑われた例であった。いずれも、マイクロアレイ染色体検査で検出できないとされている変化であった。

マイクロアレイ染色体検査施行例のうち、G-band 陰性あるいは未施行例201例中40例(20.0%)で臨床的意義のある CNV (Pathogenic CNV) を認めた(図3)。このうち、15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マイクロアレイ染色体検査を施行した理由が個々に存在した。この15例を除くと、診断未定の MCA または ID/DD での診断率は186例中25例と診断率は13.4%であった。この25例は、マイクロアレイ染色体検査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例はマイクロアレイ染色体検査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 検出率はマイクロアレイ染色体検

解析結果

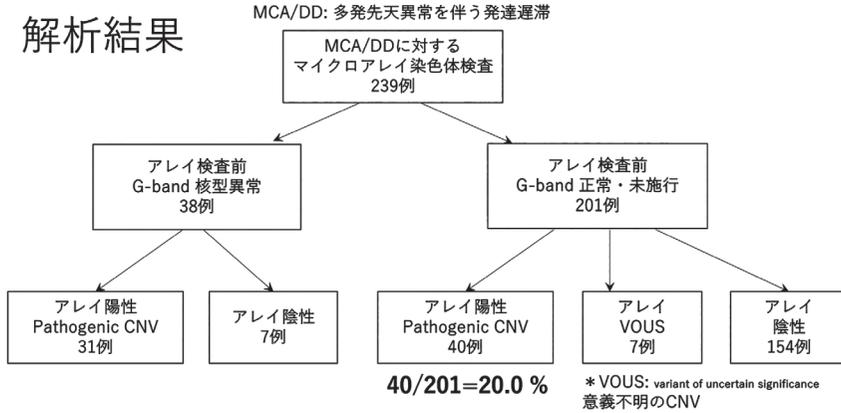


図1 マイクロアレイ染色体検査解析例と結果

検査前G-band陽性例

<8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
 Angelman syndrome, inv dup(8p)
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

その他の症例: 染色体由来・構造特定(add, del, dup)
 2例: 複雑な染色体構造異常
G-bandより詳細に把握

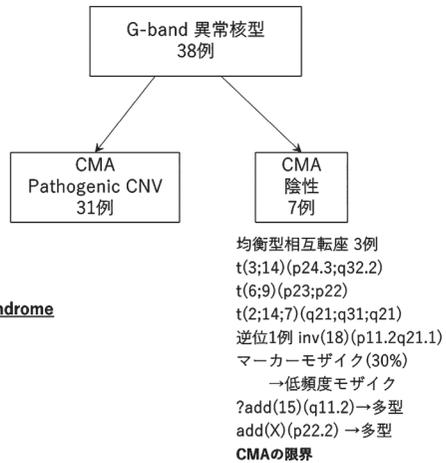


図2 検査前 G-band 陽性例のマイクロアレイ染色体検査解析例と結果

G-band陰性・未施行例

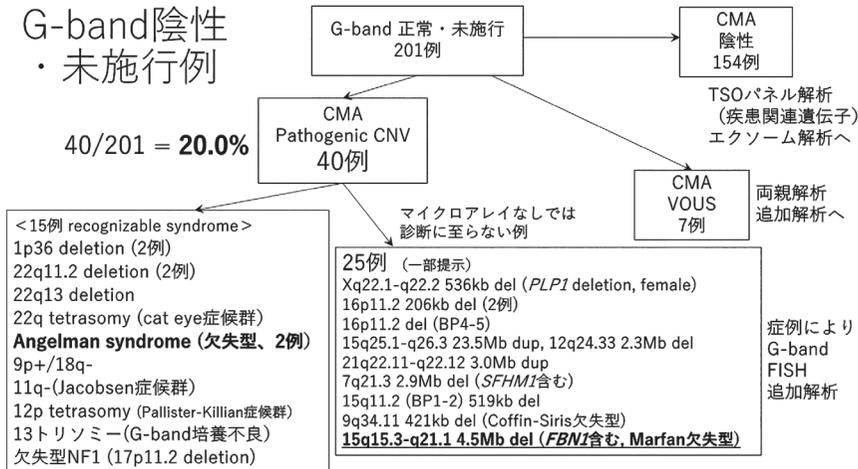


図3 検査前 G-band 陰性あるいは未施行例のマイクロアレイ染色体検査解析例と結果

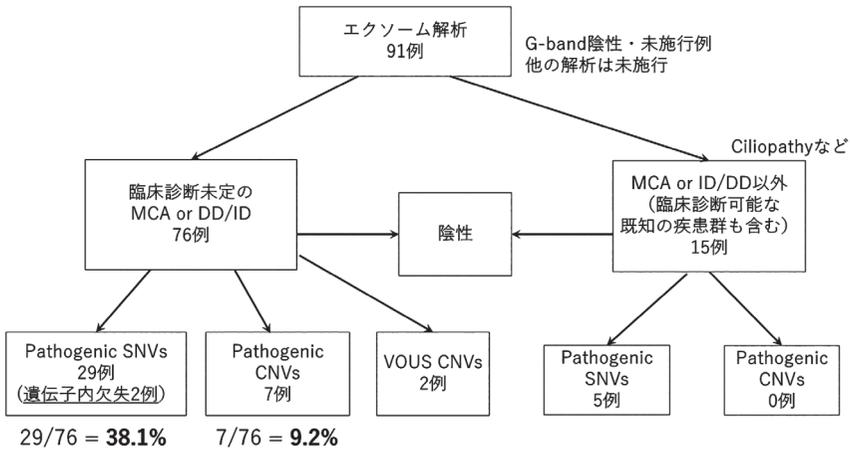


図4 エクソーム解析例と結果

査と比較して10%前後と同等かやや低くなった。

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。マイクロアレイ染色体検査を行うことにより、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、20.0%と過去のマイクロアレイ染色体検査の陽性率(10-15%)と比較して高い陽性率になっている。臨床所見から診断可能なrecognizable

syndromeを除くと13.4%と過去報告例と一致した。Recognizable syndromeはマイクロアレイ染色体検査以外にも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マイクロアレイ染色体検査でないとなし検出できない。したがって、現在保険収載となったマイクロアレイ染色体検査は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微細欠失が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、マイクロアレイ染色体検査はG-bandに変わってfirst tierの検査と考えられる。一方、G-band陽性例でマイクロアレイ染色体検査陰性例だった7例は、CNVを伴わない均衡型相互転座3例、低頻度マーカーモザイク、サテライトの多型(マイクロアレイ染色体検査のプロンプ対象外)とマイクロアレイ染色体検査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マイクロアレイ染色体検査正常の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を施行せずにマイクロアレイ染色体検査を行った場合にはこれらを見逃すことになる点はマイクロアレイ染色体検査をfirst tierの検査とした場合の問題点である。

本研究では、マイクロアレイ染色体検査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、マイクロアレイ染色体検査で既知の症候群に合致しない (recognizable syndrome ではない) 例におこなった 13.4 % と比較してやや低かった。また、10.0 % に含まれていないが、2 例では遺伝子内の欠失・重複といったマイクロアレイ染色体検査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、マイクロアレイ染色体検査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, 4813 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) は全体から見ると一部である。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、一概にマイクロアレイ染色体検査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 解析はマイクロアレイ染色体検査と同等であり、将来マイクロアレイ染色体検査に変わって first tier の検査となる可能性がある。

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, Addendum:Committee PPaG. 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.

神奈川県立こども医療センター児童思春期精神科病棟で 入院治療を行った摂食障害患者における 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の影響

吉 井 亜希子^{1,2)}, 庄 紀 子¹⁾

概 要

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 流行が小児の神経性無食欲症 (Anorexia Nervosa, 以下 AN) 入院患者に及ぼした影響について診療録および問診票をもとに後方視的に検討した。流行前

後で入院患者実数は約 1.7 倍に増加したが、患者背景、併存疾患、重症度、入院経過、予後などについて有意な変化はみられなかった。COVID-19 流行後に入院した AN 患者 45 名のうち、発症に休校や課外活動中止による対人コミュニケー

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

ションの変化やダイエットへの関心の高まりなど COVID-19 の影響があると考えられた患者が 13 名 (28.9 %) みられた。

背景

COVID-19 パンデミックは感染症罹患や死亡だけでなく、生活パターンの変化や社会的孤立等による自殺企図、薬物乱用、不安・抑うつが増加など、メンタルヘルスに大きな影響を及ぼしている¹⁻²⁾。摂食障害 (Eating Disorder, 以下 ED) は、極端な食事制限と著しい痩せを特徴とする AN を代表とするメンタルヘルス疾患であるが、COVID-19 流行により国内では AN の入院患者数は約 1.6 倍に増加したと報告されている³⁾。これまで海外の研究では入院患者の増加だけでなく、標準体重比の低下、全身状態の不安定さなど、重症度や臨床経過の変化についても指摘されているが⁴⁻⁵⁾、国内にける知見は乏しい。本研究は、入院患者の診療録および問診票を後方視的に調査することにより、COVID-19 流行が小児 AN 患者に及ぼした影響について検討することを目的として実施した。

対象と方法

対象：2018 年 4 月 1 日から 2022 年 3 月 31 日の 4 年間に神奈川県立こども医療センター児童思春期精神科病棟に、国際疾病分類第 10 版 (ICD-10) により F50 (ED) と診断されて入院した中学生以下の小児 116 名のうち、再入院であった 27 名を除く初回入院患者 89 名 (男児 3 名、女児 86 名) を対象とした。

調査方法：診療録および患者・家族が記載した問診票をもとに、後方視的に調査を実施した。ED を AN と非 AN に分類した。

- ・ AN : F50.0 (AN) および F50.1 (非定型 AN) (肥満恐怖、やせ願望、身体イメージの障害、過活動などを伴う)
- ・ 非 AN : F50.8 (他の ED) および F50.9 (ED, 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や原因不明の食事量低下など)

また AN について、A : COVID-19 流行前 AN 群 (2018 年 4 月-2020 年 3 月, n=26), B : COVID-19 流行後 AN 群 (2020 年 4 月-2022 年 3 月, n=45)

の 2 群に分け、A, B 両群の年齢、性別、入院期間、入院時体重、入院時 body Mass Index (以下, BMI)、入院時標準体重比、退院時 BMI、退院時標準体重比、退院後半年以降の標準体重比 (予後評価)、併存診断、経管栄養の実施、病状による個室使用、入院前の不登校、希死念慮、自殺企図、抑うつに関する自己記入式問診票である DSRS-C (Depression Self-Rating Scale for Children)・PHQ-9 (Patient Health Questionnaire-9) および不安に関する自己記入式問診票である GAD-7 (Generalized Anxiety Disorder-7) のスコア値と病的であることが疑われるカットオフ値を上回った人数について比較した。群間の差は、連続変数の中央値の比較には Wilcoxon rank-sum 検定、カテゴリー変数の比率の比較にはカイ二乗検定を用い、統計的有意性は $p < 0.05$ とした。B 群については、発症の契機に COVID-19 が関連している割合とその理由を検討した。

結果

各年度の AN, 非 AN の入院患者数の推移を図 1 に示した。COVID-19 流行後に AN 患者実数は約 1.7 倍に増加したが、ED に占める AN の割合に流行前後で有意差を認めなかった ($p=0.30$) (図 1)。非 AN の患者実数は COVID-19 流行前後ともに 9 名であった。

COVID-19 流行前後における AN 患者背景と臨床像の比較について表 1 に示した。調査した全項目について流行前後に有意差を認めなかった。入院期間 (日) の中央値 [IQR] : A 166[112-208], B 140[95-213], 入院時標準体比 (%) : A 69.4[61.1-74.6], B 70.5[65.1-76.2], 退院時標準体比 (%) : A

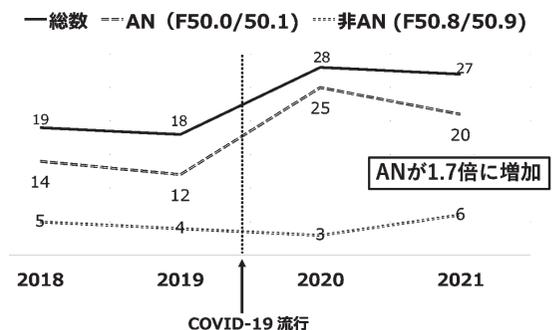


図 1 COVID-19 流行前後の摂食障害の入院患者数の推移

表1 COVID-19 流行前後における AN 患者背景と臨床像の比較^a -単変量解析-

	COVID-19 流行前 (n=26)	COVID-19 流行後 (n=45)	P-value
年齢	12 [11-13]	12 [11-13]	0.74
性別, 女児 n (%)	26 (100)	43 (97.2)	0.28
入院期間 (日)	166 [112-208]	140 [95-213]	0.44
入院時 BMI	12.7 [11.7-14.5]	13.0 [11.8-14.4]	0.90
入院時標準体重比 (%)	69.4 [61.2-74.6]	70.4 [64.8-76.2]	0.57
退院時 BMI (欠損値 = 1)	16.8 [15.4-17.9]	17.5 [16.1-18.6]	0.06
退院時標準体重比 (%) (欠損値 = 1)	87.2 [84.0-92.4]	91.7 [85.3-95.0]	0.14
退院後半年以降標準体重比 (%) (欠損値 = 8)	87.3 [84.0-92.4]	89.5 [84.8-96.1]	0.50
併存診断あり -n (%) *	4 (15.4)	10 (22.2)	0.49
発達障害	2	4	
情緒障害	1	3	
不安障害	1	1	
強迫性障害	1	1	
その他		5	
経管栄養実施あり -n (%)	18 (69.2)	28 (62.2)	0.55
病状による個室使用あり -n (%)	15 (57.7)	22 (48.9)	0.47
不登校あり -n (%)	4 (15.4)	7 (15.6)	0.99
希死念慮あり -n (%)	9 (34.6)	18 (40.0)	0.65
自殺企図あり -n (%)	3 (11.5)	1 (2.2)	0.10
DSRS-C** (欠損値 =15)	n=21	n=35	
スコア	16 [13-19]	17 [9-23]	0.80
cut-off 16 点以上 -n (%)	11 (52.4)	19 (54.3)	0.89
PHQ-9** (欠損値 =23)	n=16	n=32	
スコア	15.5 [12.5-18]	9.5 [7-15]	0.04
cut-off 14 点以上 -n (%)	10 (62.5)	12 (37.5)	0.10
GAD-7** (欠損値 =23)	n=20	n=28	
スコア	2 [2-13]	4.5 [1-8.5]	0.88
cut-off 11 点以上 -n (%)	6 (30.0)	6 (21.4)	0.50

^aすべての変数は指定がない限り中央値 [IQR] で示す *重複あり ** 自己記入式問診票に患者本人が回答

87.2[84.0-92.4], B 91.7[85.3-95.0], 退院後半年以降の標準体重比 (%):A 87.3[84.0-92.4], B 89.5[84.8-96.1] であり, COVID-19 流行前後にかかわらず, 入院時に顕著なやせを呈していた患者は, おおむね 4-5 か月の入院治療を経て体重が病的でない程度に回復して退院し, 退院後も体重を維持できていた。

COVID-19 流行後に入院した AN 患者 45 名のうち, 発症に COVID-19 の影響があると考えられ

た患者が 13 名 (28.9 %) いた。具体的には, 「休校で他の子がどのくらい勉強しているか分からなくなり不安になった。」「休校等により友人と会えなくなった。同時期から痩せたいと思うようになった。」「休校となり課題が多く出され, その負担から自傷するようになった。さらに休校明けから対人トラブルがあり, その後に断食を開始した。」「部活の全国大会等が中止になりモチベーションを保てなくなり部活をやめた。その後に他

の部活に入ったが対人関係に苦労した。同時期からダイエットを開始した。」「部活がなくなり、きょうだいや在宅勤務の父との衝突が増えた」など、休校や課外活動中止による対人コミュニケーションの変化や、「休校でやや体重が増加し、ダイエットを開始した。」「もともとダイエットをしていたが、休校で運動できる時間が増え、食事を自分で調整できるようになった。」「コロナで部活(運動系)の練習がなくなり、運動量が低下した。体型を気にするようになって体重減少が進行した。」など休校や課外活動中止によるダイエットへの関心の高まりなどがその理由として話された。

考 察

COVID-19 流行前後で AN 入院者数は約 1.7 倍に増加し、国内外の報告と同程度であったが、患者背景、併存疾患、重症度、入院経過、予後などについて有意な変化はみられなかった。海外の調査では不安や抑うつ⁵⁾の増加、重症化、高い再入院率などが報告されているが知見は一定していない⁵⁾。本研究では約 3 割の AN 入院患者が、行動制限による対人コミュニケーションの変化、ダイエット志向の高まりを発症の契機として挙げており、COVID-19 流行は、AN の病状や臨床経過よりも、発症の引き金としてより関与している可能性が考えられた⁶⁾。今後、行動制限の緩和により AN 患者の臨床経過がどのように推移するか継続した評価が必要である。

今後の展望

COVID-19 流行が収束し、行動制限が緩和された 2023 年度も AN 患者数は増加のまま高止まりしている。COVID-19 流行によって新たに定着したテレワークや対人交流の多様化、感染に対する不安の高まりなどとの関連を含め、さらなる評価を進めたい。

文 献

- 1) Jones EAK, Mitra AK, Bhuiyan AR. Impact of COVID-19 on Mental Health in Adolescents: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health* 2021;18:2470.
- 2) Bertollo AG, Braga GC, Tonin PT, et al. The Impact of Stress from Social Isolation during the COVID-19 Pandemic on Psychiatric Disorders: An Analysis from the Scientific Literature. *Brain Sci* 2023;13:1414.
- 3) 国立成育医療研究センター, 2021. コロナ禍の子どもの心の実態調査 子ども心の診療ネットワーク事業, 全国 26 医療機関調査.
- 4) Spettigue W, Obeid N, Erbach M, et al. The impact of COVID-19 on adolescents with eating disorders: a cohort study. *J Eat Disord* 2021;9:65.
- 5) Schlissel AC, Richmond TK, Eliasziw M, et al. Anorexia nervosa and the COVID-19 pandemic among young people: a scoping review. *J Eat Disord* 2023;11:122.
- 6) Springall G, Cheung M, Sawyer SM, et al. Impact of the coronavirus pandemic on anorexia nervosa and atypical anorexia nervosa presentations to an Australian tertiary paediatric hospital. *J Paediatr Child Health* 2022;58:491-496.

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

エクソン内の点変異は一般にミスセンス、ナンセンス、同義変異として定義されるが、偶然に置換した部位がスプライシングドナーやアクセプターサイトとして認識され、pre-mRNA のスプライシングに影響を与えることが知られている¹⁾。

先天性大脳白質形成不全症は中枢神経系の髄鞘形成不全を示し、代表的な疾患に Pelizaeus-Merzbacher Disease (PMD), Spastic paraplegia 2 (SPG2), Hypomyelination of early myelinating structures (HMES) が挙げられる。これらの疾患は PLP1 遺伝子の重複、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。PMD と SPG2 に関しては、2000 年に Cailloux らによって、臨床的重症度に基づいて5つのクラス(形態0-4)に分類され(図1)²⁾、ミスセンス変異は小胞体への変異タンパクの凝集蓄積、重複変異は過剰な PLP1 やスプライスバリエントの DM20 タンパク質がエンドソーム/リソソームに蓄積、そしてナンセンス変異や欠失では PLP1

のタンパク質合成ができず、PLP1 を欠く脆弱なミエリンの形成が原因となる³⁾。PLP1 の異常なたんぱく質が蓄積するミスセンス変異よりも、PLP1 を欠くナンセンス変異や欠失のほうが軽症と言われている。ほとんどの症例において表現型と遺伝型が一致するが、一致しない例もある。

今回、ナンセンス変異を有するが重症度が高い症例について、スプライシング異常を含めいくつかの仮説をもとに検証した。

方法

1. スプライシング予測

PLP1 のエクソン3の変異c.295C > T, p.Gln99* について、2つの計算ソフト NetGene2 と NNSPLICE を用いて、mRNA スプライシングへの影響を予測した⁴⁾。

2. ベクター作製および転写産物の解析

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変異体のインサートDNAを導入する。変異体は Toyobo の Mutagenesis kit を用いて作製した⁵⁾。

HEK293T 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2,000を用いて、野生型および変異体のプラスミドベクターを導入し、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を合成し、cDNAを鋳型としてベクター特異的プライマーを用いて、PCRにて目的領域の増幅を行い、塩基配列をサンガーシーケンスにて決定した。

結果

2つのスプライシング予測において、exon3/

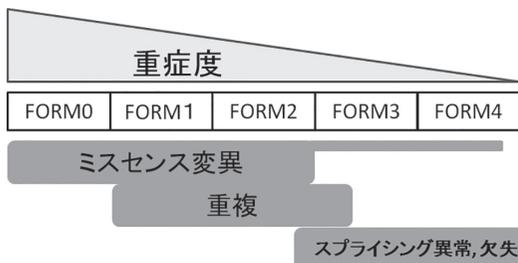


図1 遺伝型と表現型(臨床像)

重症度の説明

FORM 0 定額が見られない。

FORM 1 定額は獲得するが座位はとれない。

FORM 2 座位は獲得するが支持歩行を獲得しない。

FORM 3 支持歩行は獲得するが自立歩行に至らない。

FORM 4 自立歩行を獲得する。

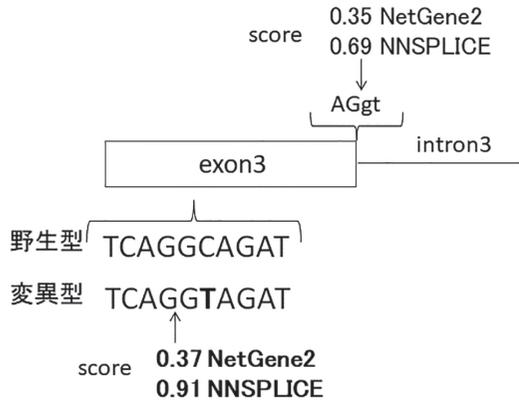


図2 スプライシング予測値

NetGene2 <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2/>
NNSPLICE http://www.fruitfly.org/seq_tools/splice

intron3 のスプライシングドナーサイトのスコアより exon3 内の AGGC > AGGT 変異で新たに発生するスプライスサイトのスコアのほうが高くなり、スプライシング異常が起こると推察される (図2)。

また、エクソントラップベクターを用いた転写物の解析結果、変異型では野生型で見られない転写物が得られ、サンガーシーケンスで塩基配列を確認したところ、エクソン3内に55塩基の欠失が認められた。

考察

エクソン内の塩基置換はミスセンス変異、ナンセンス変異、同義変異に分類されるが、塩基置換がある部位の前後の配列により、スプライシング異常を惹き起こすことがあるため、解析時にこれらのことを念頭に置き、スプライシングの可能性

についても検討をする必要がある。

今後の展開

スプライシング異常により不良 mRNA は、nonsense mediated mRNA decay (NMD)⁶⁾ と呼ばれる分解機構が働き、壊されるのか、または、アミノ酸の読み枠がずれて、途中でストップコドンが入るトランケートタイプのタンパクが新たな機能を獲得して細胞器官に蓄積するのか、を明らかにしたい。

文献

- 1) Cartegni L, Chew SL, Krainer AR. Listening to silence and understanding nonsense: exonic mutations that affect splicing. *Nat Rev Genet* 2002;3:285-298.
- 2) Cailloux F, Gauthier-Barichard F, Mimault C et al. Genotype-phenotype correlation in inherited brain myelination defects due to proteolipid protein gene mutations. *Clinical European Network on Brain Dysmyelinating Disease. Eur. J. Hum. Genet.* 2000;8:837-845.
- 3) Inoue K. PLP1-related inherited dysmyelinating disorders: Pelizaeus-Merzbacher disease and spastic paraplegia type 2. *Neurogenetics* 2005;6:1-16.
- 4) Pertea M, Lin X, Salzberg SL. GeneSplicer: a new computational method for splice site prediction. *Nucleic Acids Res* 2001;29:1185-1190.
- 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* 2021;50:147-149.
- 6) Maquat LE. Nonsense-mediated mRNA decay: splicing, translation and mRNP dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004;5:89-99.

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)}, 岩野 麗子⁴⁾, 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⁾, 柳町 昌克^{2,3)}

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 試験プロトコールでは、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⁾。

$$\text{「投与量} = \text{体表面積あたりの投与量} \times \{ \text{体重 (kg)} \} \div 30 \text{」}$$

改訂後は、早期死亡例はなく、EFS, OS とともに先行プロトコールである 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 試験プロトコールでの治療で 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、上記プロトコー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) 各抗がん剤について検体採取ポイントを設定

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

し、血液検体の採取を行う。

- 2) 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を分離し、血漿中の薬物濃度を測定する。
- 3) 年齢毎の各抗がん剤の血中濃度を比較検討する。

結果

血漿中濃度平均を以下に示す。

O: 2歳以上は6例, U: 2歳未満は5例であった。

全ての症例において肝機能および腎機能に異常はなく、肥満やるい瘦も見られなかった。

解析にはマン・ホイットニー検定を用いた。

エトポシド (ng/mL) : トラフ (<2y) 61 ± 31, トラフ (≥2y) 1908 ± 3239 (P=0.10), ピーク (<2y) 13183 ± 1831, ピーク (≥2y) 13911 ± 3815 (P=0.76)

シタラビン : ピーク (<2y) 28 ± 28 (μg/mL), ピーク (≥2y) 17 ± 1.7 (μg/mL) (P=0.49), 投与後2時間 (<2y) 34 ± 14 (ng/mL), 投与後2時間 (≥2y) 50 ± 15 (ng/mL) (P=0.31)

ミトキサントロン (ng/mL) : ピーク (<2y) 171 ± 164, ピーク (≥2y) 376 ± 184 (P=0.22), 投与後2時間 (<2y) 3 ± 4.0, 投与後2時間 (≥2y) 8 ± 7.8 (P=0.58)

イダルビシン (ng/mL) : ピーク (<2y) 544 ± 316, ピーク (≥2y) 425 ± 342 (P=0.56), 投与後2時間 (<2y) 8.0 ± 7.0, 投与後2時間 (≥2y) 12 ± 6.0 (P=0.48)

それぞれの図は1-8に示す。

群間比較において有意な差は見られなかったが、MITはピーク濃度において2歳以上が高い傾向が見られた。

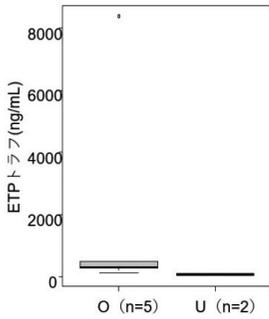


図1 エトポシドトラフ

(O: 2歳以上, U: 2歳未満 以下図同様)

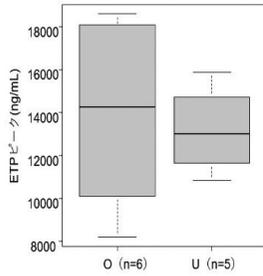


図2 エトポシドピーク

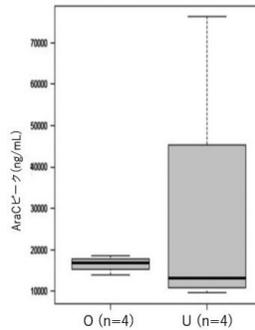


図3 シタラビンピーク

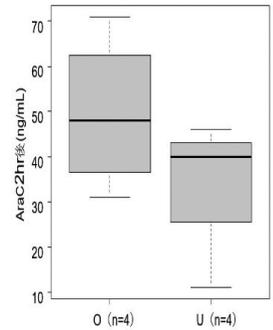


図4 シタラビン2時間後

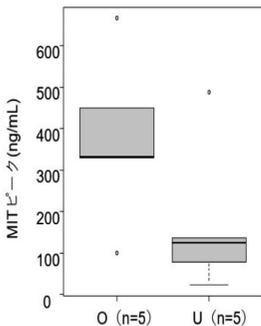


図5 ミトキサントロンピーク

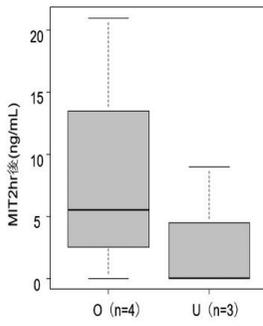


図6 ミトキサントロン2時間後

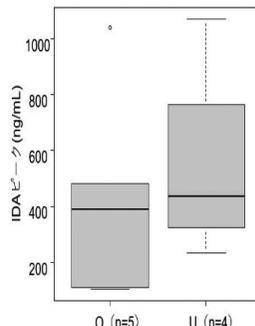


図7 イダルビシンピーク

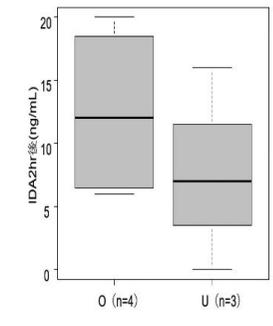


図8 イダルビシン2時間後

考 察

ミトキサントロンはピーク濃度の2群間比較において、2歳以上が高い傾向が見られた。2時間後値が同程度であることから、代謝は2歳以上において速い傾向となった。ミトキサントロンにおいて血漿中濃度の観点からのみでは、2歳未満での過度な減量の可能性が示唆された。本研究では治療効果の指標やAra-Cにおける代謝産物Ara-CTP等の測定は検討できていないため、今後はこれらを測定項目に加え、症例数も増やして比較検討を行う必要がある。また、POP-PK（集団薬物動態解析）における比較も今後検討する。

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 FGM (Flash Glucose Monitoring) を用いた 血糖動態の評価

花川 純子, 上原 健史, 籀 生 なおみ
深江 俊愛, 滝崎 菜穂, 井澤 雅子
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、CGM (Continuous Glucose Monitoring) 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 SAP (Sensor Augmented Pump) 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、FGM (Flash Glucose Monitoring) 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いる³⁾。

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

今回、FGM を用いて低血糖を生じた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および当院通院中の成人患者

例：先天性高インスリン性血症、肝型糖原病、ケトン性低血糖症等

②原因不明の低血糖を生じた既往のある児および当院通院中の成人患者

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6名の患者において FGM による血糖評価を行った。

患者①

21歳 男性

汎下垂体機能低下症に対してホルモン補充療法中。授業中に机から落ち頭部打撲、けいれんを認め救急搬送された。脳波では突発波なく低血糖が疑われ FGM を用いて血糖動態の評価を外来で行った。

夜中～早朝や食事前に低血糖を認める日があった(図1)。

内服および食事摂取を確実にを行うように指導した。

患者②

15歳 女児

幼少期、感冒時等、食事摂取量低下を認めた際

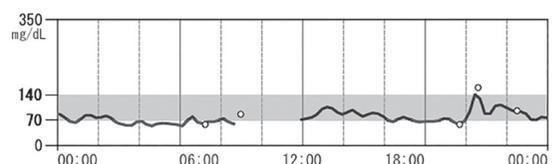


図1 血糖推移(患者① 日内パターン)

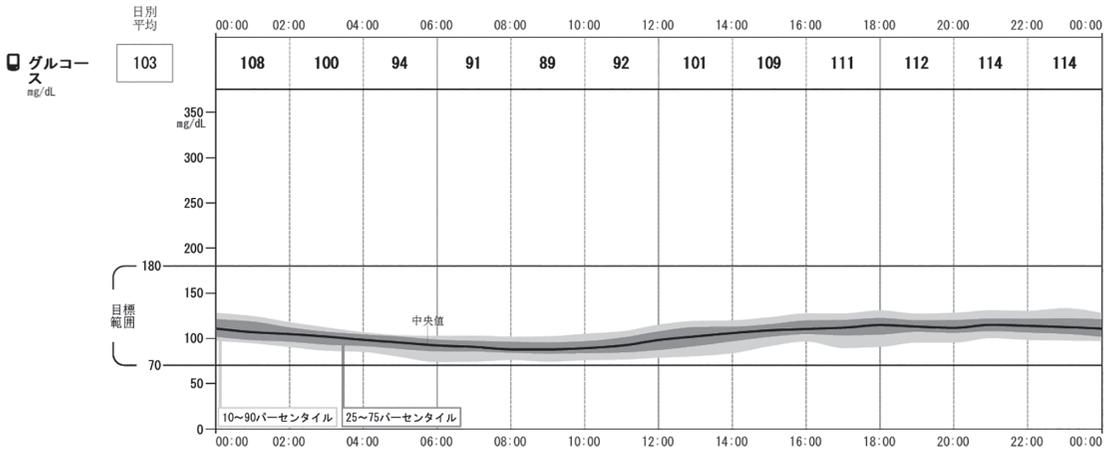


図2 血糖推移 (患者② 14日間の日内パターン)

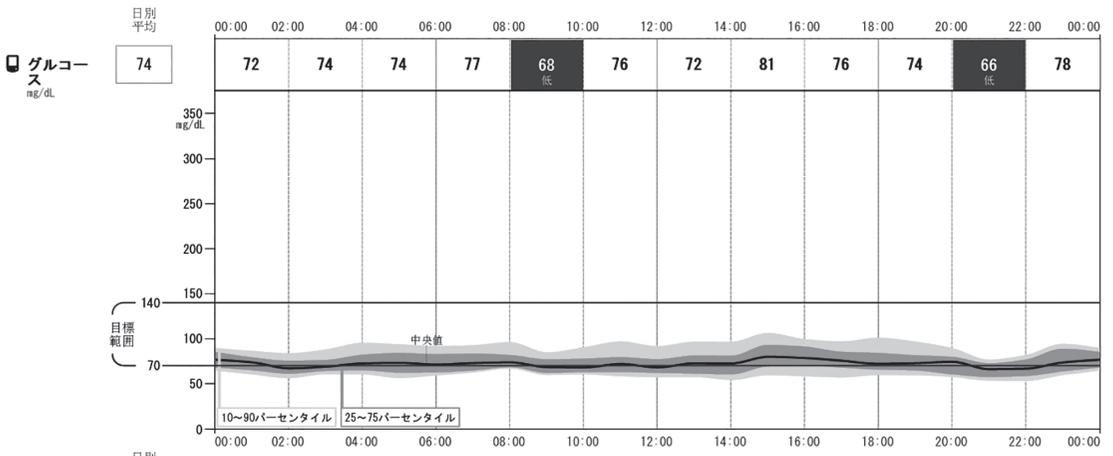


図3 血糖推移 (患者③ 7日間の日内パターン)

に、ケトン性低血糖の既往がある児。成長とともにケトン性低血糖は認めなくなっていたが、学校生活が多忙となり十分な食事量の確保が難しい時や、クラブチームでの運動を行った日やその翌日に冷汗・手の震え等低血糖を疑う症状を認めることが増えた。FGMを用いて血糖動態の評価を外来で行った。

血糖は安定しており、自覚症状も認めなかった(図2)。

できるだけ空腹をさけるように指導を行った。

患者③

日齢 18 女児

日齢 3 に低血糖を認め、高インスリン血性低血

糖と診断された。ブドウ糖点滴終了後、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おり哺乳間隔6時間でも低血糖を生じないことが確認できた(図3)。

患者④

2歳 男児

前医で糖原病IX a型の診断がついていたが無治療で経過観察をされていた。当院転院時、低血糖が疑われたため入院の上、FGMで血糖の評価を行った。

夜間から早朝にかけて低血糖を認めた(図4)。

眼前に糖原病用ミルク(GSD-N)を導入し、早朝の低血糖は改善した(図5)。

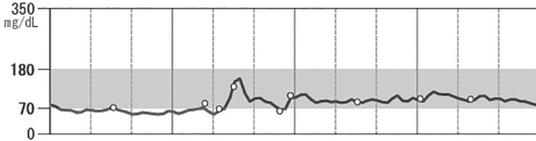


図4 血糖推移 (患者④-1 入院中の日内パターン)

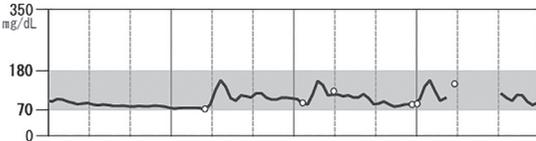


図5 血糖推移 (患者④-2 入院中の日内パターン)

患者⑤

12歳 男児

先天性高インスリン血症に対してジアゾキシド内服中の児。低血糖のあとに頭痛を生じることがあり、最近頭痛の訴えが増加してきたため、FGMで血糖の評価を行った。

評価できた範囲では血糖は安定していた (図6)。

患者⑥

3歳 女児

施設で生活中的の児。起床後に不機嫌やぐったりし朝食摂取後に改善するエピソードを頻回に認めており、FGMを用いて血糖動態の評価を行った。低血糖は認めなかった (図7)。

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。

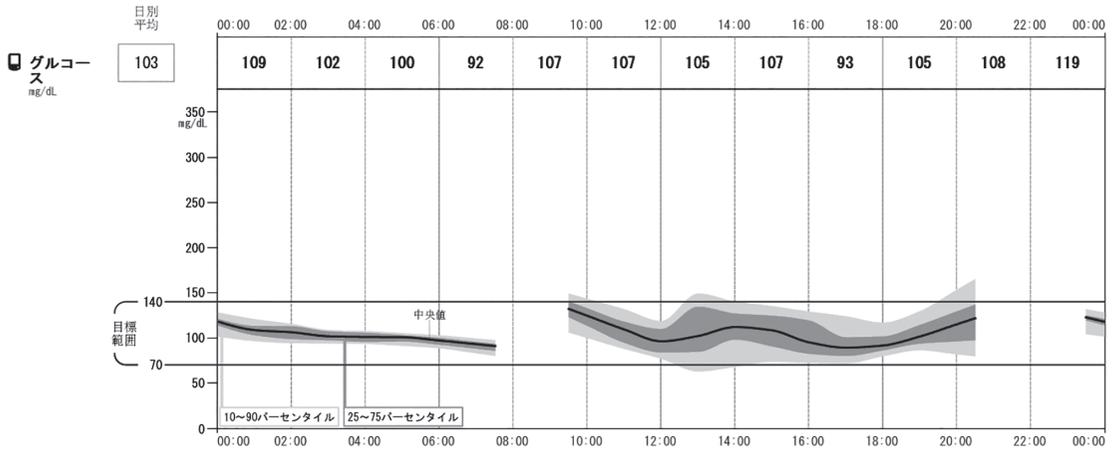


図6 血糖推移 (患者⑤ 14日間の日内パターン)

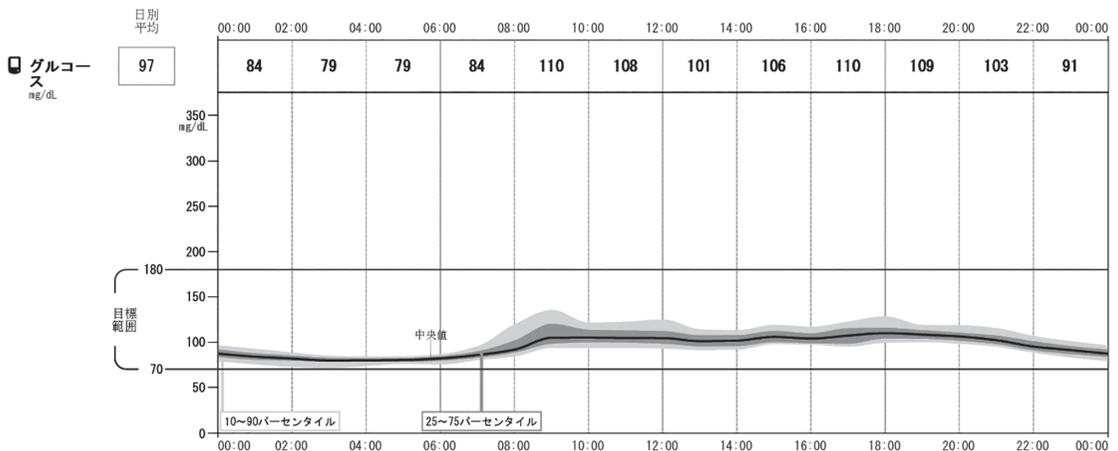


図7 血糖推移 (患者⑥ 14日間の日内パターン)

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。

今回は新生児から21歳まで幅広い年齢で、有害事象なく評価を行うことができ、実際に低血糖を予防できた症例もあった。

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;31:21-25.
- 2) 友滝清一. リアルタイム持続血糖モニタリングを用いた新生児の血糖管理. こども医療センター医学誌 2017;46:139-140.
- 3) 東條達也ら. 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.

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

次世代シーケンス技術の進歩により先天性疾患の遺伝学的解析は大きく進歩したが、その診断率は40-45%とされており、依然として患者の半数には遺伝学的な原因が見つからない。当研究室においても遺伝学的解析（主にエクソーム解析）の結果、検出された変異の病原性がよくわからない、もしくは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見つからないなど解析に行き詰まることがある。RNAseqは次世代シーケンス解析の1つであるが、DNAを解析対象とするエクソーム解析とは異なり解析対象は転写産物（RNA）であり、転写産物の発現量やスプライシング異常などによる異常な転写産物の検出が可能である。そのためエクソーム解析で原因変異が不明な症例にRNAseq解析を加え転写産物の情報を得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⁾。エクソーム解析等で原因変異がみつかっていない症例を対象にRNAseqを施工し結果の検討を行ったので報告する。

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。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の抽出を行った。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した。

2. RNAseqを施行

血液サンプルのためグロビン除去処理後に次世代シーケンスライブラリを作製し、RNAseq

を施行した。データ解析は当研究室オリジナルの解析パイプライン（マッピング：STAR, 発現量：featureCounts）を用いて行った。解析結果の可視化ツールとして Integrative Genomics Viewer (IGV) を使用した。

結果および考察

本研究にて2人の患者のRNAseqを行った。患者1は小頭症、けいれんの症状を有する女兒。エクソーム解析によりアスパラギン合成酵素欠損症の原因遺伝子である *Asparagine Synthetase* (*ASNS*)²⁾ の exon にまれなヘテロ接合体変異が検出され、患者の症状と矛盾なかった。*ASNS* は常染色体潜性遺伝形式をとる遺伝子のため、別アレルにもう1つの変異の存在が予想されたが、エクソーム解析では検出されなかった。そのため全ゲノム解析（ショートリード）を行いイントロン領域、untranslated region (UTR 領域) も含め *ASNS* の変異の探索を行ったところ、イントロン領域に両親になく患者のみが有する突然変異が検出された。スプライシング異常の指標である spliceAI のスコアに明らかな変化はなくスプライシング異常は示唆されなかった。イントロンの深い領域にある変異のため変異の解釈が難しく本研究にてRNAseqの適応となった。解析の結果、*ASNS* のイントロンに本変異が原因と思われる異常な転写産物が検出された（図1）。さらにエクソームにて検出されている exon の変異とイントロン変異をクロニングして由来アレルを確認したところ、イントロン変異は exon の変異とは別アレル由来変異であることがわかり、患者は *ASNS* のbiallelic な変異を有することが確認された。患者2は重度発達遅滞、斜視の症状を有する男児。Angelman 症候群が疑われ原因遺伝子の *UBE3A* を解析したが異常な転写産物は検出されなかった。

本研究では全ゲノム解析にて検出された病原性が不明なイントロン変異をもった患者1と表現型

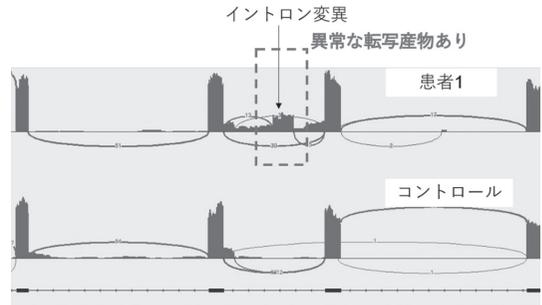


図1 *ASNS* のイントロン領域における異常な転写産物
ASNS のイントロン領域にイントロン変異が原因と思われる異常な転写産物が検出された。

から特定の遺伝子が疑われるにもかかわらずエクソーム解析では原因変異が同定されていない患者2の2名のRNAseqを行った。結果患者1にてイントロン変異が原因と考えられる異常転写産物が検出された。スプライシング異常の一般的な予測ツールである spliceAI では病原性が予測されなかったため、何か別の機構によるスプライシング異常の可能性が示された。ただし異常転写産物の量は多くなく患者の症状への影響についてはさらに検討が必要である。しかしながら解釈が難しい変異について転写産物の異常が検出され、変異の病原性の解釈に重要な情報を得ることができた。本研究にて、ターゲットとなる変異がわかっている患者のRNAseq解析について一定の有用性が示された。

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 A* 2022;188:357-363.
- 2) Ruzzo EK, Capo-Chichi JM, Ben-Zeev B, et al. Deficiency of asparagine synthetase causes congenital microcephaly and a progressive form of encephalopathy. *Neuron*2013;80:429-441.

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⁾
井澤 雅子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、新生児や未熟児）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、新生児や未熟児は、胎児副腎皮質由来ステ

ロイドの干渉に起因する 17-OHP (17 α -ヒドロキシprogesterone) 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

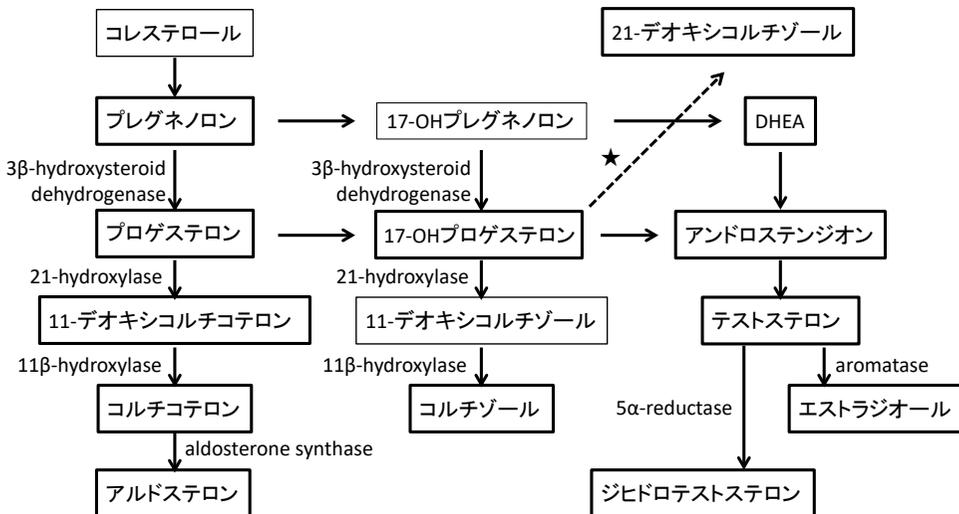


図1 ステロイドホルモン合成

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

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

昨年度までに、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。今年度は、新たに導入された質量分析システム Triple Quad 7500 (Sciex) を用いて、上記の測定系を設定完了した。これにより、エストロゲン系の測定感度をあげることができた。

(2) 患者検体の定量

これまで数年にわたり本研究を継続してきた。21 水酸化酵素欠損症を含む患者の解析成果は、日本マスキリーニング学会誌に論文投稿し、原著論文として受理されている¹⁾。

今年度は、① 21 水酸化酵素欠損症を含む患者の解析により、臨床現場での投薬調整に寄与したこと、② 非典型的な外性器を有する新生児におけるテストステロン (T)、ジヒドロテストステロン (DHT) を含む解析により、性腺の性状 (精巣成分の有無) を明らかにしたこと、などの成果を挙げた。特に、②に関連して、現在、コマーシャルラボでの DHT 測定ができなくなっていることから、他施設からの血清検体を受け入れ、T、DHT を含む測定を数回実施した。

考 察

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 21-DOF を

含む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²⁾。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、新生児マスキリーニングにおいて、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。

従来の“Triple Quad 4500 (Sciex)”を用いた測定系では、エストロンやエストラジオールの測定感度に問題があり、低濃度のエストロゲン測定ができなかった。新機種“Triple Quad 7500 (Sciex)”を用いた測定系では、エストロゲン系の測定感度をあげることができた。女子の前思春期や思春期早期の低濃度エストロゲン系の測定に役立つと期待される。

今後の計画

来年度以降、新生児科医師と共同し、出生早期に人工呼吸管理を要する早産児 (在胎 23 週以降 34 週未満で出生した児) の血清ステロイド分析を定期的に検討することで、早産児における副腎機能低下の病態や、副腎機能の成熟過程を解明することを目指す。

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.

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2 (継続研究)

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（健常児で1-2%の頻度に対して、ダウン症患者で4-19.5%の頻度）。しかし、甲状腺機能低下症に関連する症状の多くがダウン症患者によくみられる症状であるため、臨床的に甲状腺機能低下症と診断することは難しい。こうしたことから、ダウン症患者専用の甲状腺機能を評価できる指標があればよいのではないかと考えた。指標の候補の1つとして甲状腺ホルモンに着目し、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、比較対照者との違いを比較した。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⁾。ダウン症患者でrT3の値が高い理由を解明するために、昨年度からrT3の代謝産物であるジヨードサイロニン（T2）について研究を行っている。rT3が高い場合、T2の濃度にも変化がみられるかをどうか調べるため、昨年度に引き続きトリヨードサイロニン（T3）から代謝される各種ジヨードサイロニン（T2）の定量法の検討を行った。

実験方法

1. T2の測定方法の検討

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）を同時測定できる方法を検討した。昨年度検討した質量分析装

置（MS/MS）のMultiple Reaction Monitoring（多重反応モニタリング）のパラメーターを用いて、LC-MS/MSで測定を行った。測定は、高速液体クロマトグラフィー（LC）の部分に逆相カラム（Unison UK C18, 150×3 mm: Imtakt, Kyoto, Japan）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。MS/MSは、トリプル四重極型質量分析計“Triple Quad 4500: TQ4500”（Sciex, Framingham, MA, USA）を用いた。測定は、市販の標準物質を用いて調製した50 ng/mLの3種T2を用い、個別あるいは3種T2を混合した溶液を用いて行った。

2. 血清中のT2の定量

次に3種T2の標準物質を段階希釈（0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 ng/mL）して、市販のホルモン除去血漿（DDC Mass Spect Gold® ultra-low hormones, steroids, and other analytes, and human plasma: Golden West Biologicals, Temecula, CA, USA）200 μLに添加して検量線を作成した。この検量線を用いて、成人ボランティアの血清3人分について、甲状腺ホルモン6種類（トータルテトラヨードサイロニン：TT4, トータルトリヨードサイロニン：TT3, rT3, 3,5-T2, 3,3'-T2および3',5'-T2）の定量を行った。サンプルは、血清200 μLを用い、固相抽出プレート（EVOLUTE® EXPRESS ABN, Biotage Japan: Tokyo, Japan）で前処理を行ったものを使用した。

結果

カラムを用いて分析した結果のクロマトグラムを、T2標準物質を個別で分析（図1A）および3種を混合して分析（図1B）した結果で示した。個別

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

の分析では、それぞれ異なった溶出時間 (3.92: 3,5-T2, 4.39: 3,3'-T2, 4.46: 3',5'-T2) でピークが観察された。3種を混合した解析では、3つとも同じ分子量のためクロマトグラムは3種類一緒の状態が表示される。そのため検出されたピークがどのT2であるかは、溶出時間 (1番目 3.87: 3,5-T2, 2番

目 4.34: 3,3'-T2, 3番目 4.41: 3',5'-T2) で判断した。しかし、3,3'-T2と3',5'-T2については、独立した2つのピークとして検出されず、1つのピークが割れた状態で検出されたため、想定される溶出時間として適用した (図1B)。

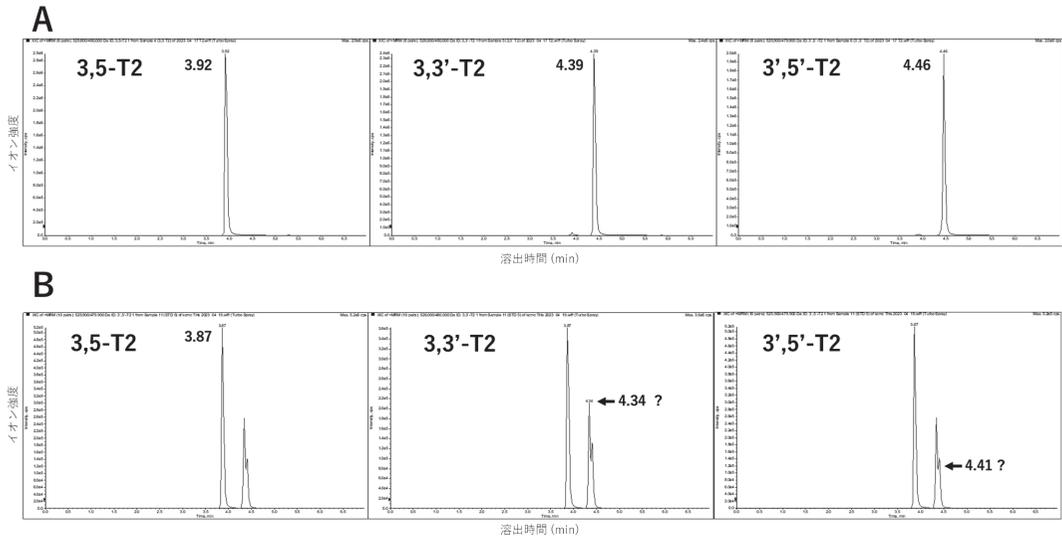


図1 3種類のジヨードサイロニン標準物質を個別あるいは3種混合で解析したクロマトグラム

LC-MS/MSを用いて50 ng/mLのジヨードサイロニン(T2)を解析した結果をクロマトグラムで示す。AはT2を個別に解析した結果で、Bは3種類のT2を混合して解析した結果を示す。各T2の溶出時間は、(A)3,5-T2: 3.92 min, 3,3'-T2: 4.39 min, 3',5'-T2: 4.46で、(B)3,5-T2: 3.87 min, 3,3'-T2: 4.34 min, 3',5'-T2: 4.41であった。なお、3,3'-T2および3',5'-T2に関しては予想された溶出時間で示している。

図は、縦軸にイオン強度、横軸は溶出時間を示している

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および3',5'-T2: 3',5'-ジヨードサイロニン

次に、成人ボランティア検体3人分 (C1, C2 およびC3) の血清中のT2のクロマトグラムを、図2に示した。3検体とも3,5-T2は溶出時間3.87 minにピークが観察されたが、3,3'-T2および

3',5'-T2については、図1Bで観察された結果同様に1つのピークが分割した状態で検出された。特にC3に関しては、3,3'-T2と思われるピークのみが観察された。

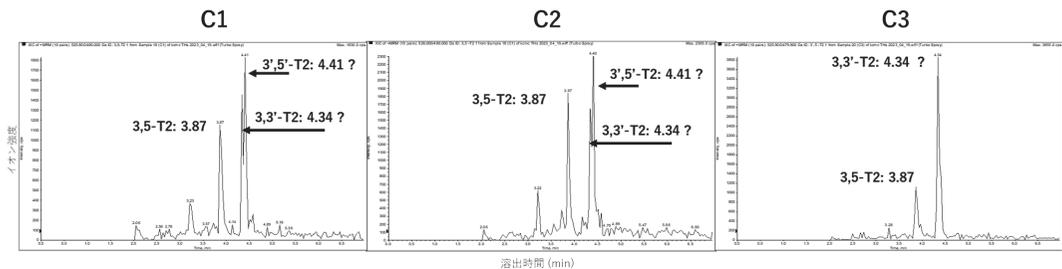


図2 血清中の3種類のジヨードサイロニン(T2)のクロマトグラム

各T2の溶出時間は、3,5-T2: 3.87 min, 3,3'-T2: 4.34 min, 3',5'-T2: 4.41であった。なお、3,3'-T2および3',5'-T2に関しては予想された溶出時間で示している。

図は、縦軸にイオン強度、横軸は溶出時間 (min) を示している

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および3',5'-T2: 3',5'-ジヨードサイロニン C1-C3: 成人ボランティア検体1-3

表1 成人ボランティア3検体血清中の各種甲状腺ホルモン濃度

	Serum concentration (ng/mL)			
	TT3	rT3	TT4	3,5-T2
C1	1.22	0.21	104	0.006
C2	1.03	0.14	80.8	0.009
C3	1.48	0.19	127	0.001

TT3: トータル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, TT4: トータルテトラヨードサイロニン, 3,5-T2: 3,5-ジヨードサイロニン C1-C3: 成人ボランティア検体 1-3

検量線(データ記載なし)は, 3,5-T2 は $y = 0.65524x + 0.01361$ ($r = 0.99477$) で直線性を得られた。検量線から算出した検体中の各種甲状腺ホルモン濃度を表1に示した。すでに測定方法が確立していたTT3, rT3 および TT4 については, 文献で報告されている値²⁾の範囲内であった。一方, 3,5-T2 については, LC-MS/MS で定量している報告がほとんどなく, 定量しても検出限界以下の報告²⁾で, 参考になる値は見つからなかった。3,3'-T2 および 3',5'-T2 については, 観察されたピークが目的とした T2 のピークであるか判別できなかったため, 定量できなかった。

考察

6種類の甲状腺ホルモンを同時に測定することを目的に検討を行っている。昨年度に引き続き3種類のT2を同時測定できる方法を検討した。3,5-T2については1つのピークとして検出され,

微量であったが3検体とも定量できた。しかし, 3,3'-T2 および 3',5'-T2 については, どのピークが該当するか判断できなかったため定量できなかった。個別に分析したときは, 異なる溶出時間で3,3'-T2 と 3',5'-T2 がそれぞれ分離されたので, 測定目的物の選択は正しく行われていると思われる。混合したときにピークが分かれていない要因のひとつとして下記のように考えた。ピークは2つあるが, 重なっており1つのピークが割れたような状態で観察されている, ということである。上記のことを確認するための方法のひとつとして, 3,3'-T2 を一定の濃度にしてそこに段階希釈した3',5'-T2 をそれぞれ添加して検量線を作成する。3',5'-T2 のみが段階的に濃度が増えていく状態であれば, ピークは2つのピークが重なったものであると確認できる。今回の報告には間に合わなかったので, 次年度以降の課題として検討する予定である。

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.

小児涙道疾患に対する涙道内視鏡を用いた診断と治療

松村 望

1. 研究目的と背景

乳幼児に流涙や眼脂はよくみられる症状であるが, 先天鼻涙管閉塞はその主な原因である。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, 新生児科, 小児科, 眼

科などでみる機会が多い。自然治癒率が高いが、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。この治療で必ずしも治癒しない場合があるが、手探りの感触で行っている治療のため、なぜ上手くいかなかったのかが不明のまま、ブジー治療を何度も繰り返すことが過去にはしばしばあった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が広まり、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、エビデンスに基づくシステム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」を2022年11月に発表し、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⁾。筆者は本ガイドラインを統括委員およびシステムティックレビュー委員長として作成を担当した（作成委員は日本涙道・涙液学会の理事の医師を中心とする11施設14名）⁴⁾。このガイドラインに、本研究の結果として発表された論文が複数採用されている。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標準治療として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。

2. 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。2024年3月までに、延べ224

例の涙道内視鏡手術を全身麻酔下で行った。このうち、先天鼻涙管閉塞に関しては、治癒率はほぼ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も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3か月以下の乳幼児に対し、外来にて局所麻酔下での涙道内視鏡を用いた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比較試験の一環として行っており、これらの結果が得られれば、ガイドライン改訂の際のエビデンスレベルの向上に役立つものと思われる。

2) 研究内容とその発表

2012年に本研究を開始して以来、多数の学会発表および国内紙、国際誌への論文投稿を行った。学会発表42回（うち3回は国際学会）、講演会50回、論文発表36篇（うち国際誌7編）、著書15冊（うち1冊は編集）、を行った。涙道内視鏡を用いた治療のみならず、保存的治療としての涙嚢マッサージの効果や、涙道閉塞症の小児の涙液中サイトカイン分析⁶⁾、涙道造影を用いた涙道の解剖学的構造の研究、先天鼻涙管閉塞と視機能の関連など、涙道閉塞症の病態と治療について、さまざまな角度からの研究を続けている。

国際的にみても、涙道内視鏡を用いた治療は注目されつつある。本年度中国で行われたアジア太平洋眼形成再建外科学会（AAPOS）で行った招待講演に続いて、来年度も韓国で行われるAAPOSでの招待講演を予定している。また、来年度は、国際涙道・涙液学会（ISD-DE）に参加して発表を予定している。2025年には、筆者が第13回日本涙道・涙液学会総会の総会長を担う予定となっており、その際に、ISD-DE理事長のJane Olver医師を特別講演に招聘し、国際的な交流を深め、涙道内視鏡を用いた診療がさらに国際的に普及することを目指している。

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・涙液学会を中心として筆者が統括担当となり、「先天鼻涙管閉塞診療ガイドライン」を2022年に発表した。クリニカルクエスチョン（以下CQ）を7つ設定し、それらに対してシステム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、CQ4が涙道内視鏡を用いたプロービングに関する推奨である。日本で使用されているペントタイプ（先端が屈曲している形状）のプローブの使用で成功率が高く、どの報告でも100%近い成功率と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提案されるものの、まだ使用できる施設に限りがあることを述べている。この治療をより詳細に評価する目的で、日本涙道・涙液学会を中心とし、われわれの施設が主施設となって研究プロトコルの作成と倫理委員会による審査を行い、筆者が研究事務局を担当し、5施設で症例エントリーを行い、無作為化比較試験を現在実施中である。

4) ガイドラインの改訂に向けた研究

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。エビデンスが不足しているということは、介入研究が不足しているということになる。

このエビデンスの不足に対し、まず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、この結果を学会発表および論文として発表した⁷⁾。このテーマに関して近代的なRCTが行われたのは初めて（RCTとしては3回目、30年ぶり）であり、今後のガイドラインの改定や本テーマの検討において、重要な意味を持つ論文になったと考えている。

次に、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、上述のように、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た「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」を実施中である。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を用いてプロービングを行うかを無作為に割り付け、治療成績や所要時間、満足度などを調べるものである。予定症例数が408例のところ、1年目を終了した時点で138例のエントリーと、順調に進んでおり、本研究を通して、涙道内視鏡を先天鼻涙管閉塞の治療に使用することの意義が明らかになることが期待される。

3. まとめと今後の課題

本研究開始から13年の間に、さまざまな角度から小児の涙道閉塞の病態と治療の研究を行った。特に、先天鼻涙管閉塞の治療に、「涙道内視鏡を用いたプロービング」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、本研究のひとつの成果であると考えている。しかしまだ、十分なエビデンスがあると言えない部分もあるため、これらの詳細を研究するために、涙道内視鏡を用いた先天鼻涙

管閉塞の手術における無作為化比較試験を行っている。また、先天鼻涙管閉塞の保存的治療としての涙嚢マッサージに関する無作為化比較試験の発表を終え、ガイドライン改定の際に推奨のエビデンスレベルを上げるために役立っていくと思われる。

研究開始当初は、「涙道内視鏡を使って涙道内を観察しながら治療することは、先天鼻涙管閉塞の診療に役立つに違いない」と思って研究を始めたが、現在では「涙道内視鏡を先天鼻涙管閉塞の治療に推奨することのエビデンスを確立する」という段階にまで進歩している。今後は、涙道内視鏡そのものの改良も検討課題である。

本研究の中で、小児医療基金を用いて涙道内視鏡の購入、研究会への参加、論文執筆や投稿などを行うことができた。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診断と治療をさらに進歩させていけるよう、研究を継続していく所存である。

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. Dacryoendoscopy-assisted incision of Hasner's valve under nasoendoscopy for membranous congenital nasolacrimal duct obstruction after probing failure: a retrospective study. *BMC Ophthalmol* 2021;126:991-1021.
- 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 dacryoendoscopy for observation for pediatric lacrimal duct obstruction. *Am J Ophthalmol Case Rep* 2016;21:23-25.
- 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.
- 7) Asano M, Takeuchi M, Ohno T et al. Lacrimal sac massage for congenital nasolacrimal duct obstruction: a multicentre randomised controlled trial. *Br J Ophthalmol* 2024. [bjo-2023-324595](https://doi.org/10.1136/bjo-2023-324595). doi: 10.1136/bjo-2023-324595. Online ahead of print.

在胎32週または1,500g未満で出生したダウン症候群の児の予後

下 風 朋 章

はじめに

現在のダウン症候群の児の平均余命は約60年、乳児死亡率は4-6%であり、これらは国によって大きな違いはない¹⁻⁴⁾。

また、先進国では、妊娠24週で生まれた早産児の生存退院率は、50%であるが、妊娠28週では90%に上昇する。

これらの統計データが示すようにダウン症候群

の児と早産児のいずれも新生児医療における生存退院率は、高い値である。しかしながら、ダウン症候群の早産児の新生児医療における生存予後は明らかにされていない。これまでに散見されるデータベース研究では、ダウン症候群の早産児または低出生体重児の生存転帰が不良であることが示されている⁷⁻⁸⁾。

この研究では、当施設のNICUに入院したダウ

ン症候群の児の在胎週数別の死亡頻度と死因を調べた。

方法

1995年1月から2021年12月までに神奈川県立こども医療センターの新生児科に入院した在胎32週未満または極低出生体重のダウン症候群の児を対象にした。染色体モザイク21トリソミーの乳児は除外された。

帝王切開の理由は、胎児あるいは母体要因に分けた。先天性心疾患に治療を必要とする動脈管開存症を含んだ。一過性骨髄異常増殖は、末梢血に芽球が5%を超える場合に診断された。

主要アウトカムは、出生から退院までの死亡と死因であった。

すべての値は中央値および四分位範囲または範囲で示した。

結果(表)

在胎32週未満での生存(10名)vs死亡(10名)に関して、それぞれ、男児7vs3名、在胎週数:30.4vs29.4週、出生体重:1,065vs852g、SGA:4vs6名、5分のApgarスコア8vs8点、先天性心疾患7vs4名、消化器疾患5vs2名、一過性骨髄異常増殖1vs3名であった。

患者背景と予後

	<32週 (n=20)
体重(g)	884 (657-1268)
SGA	50%
男児	50%
帝王切開	100%
胎児機能不全	95%
Apgar スコア5分	8 (3-9)
合併症	
先天性心疾患	55%
消化管疾患	30%
一過性骨髄異常増殖	20%
乳び胸腹水	0%
死亡	40%
死亡日齢(日)	122 (91-194)
死因	慢性肺疾患, 4名 一過性骨髄異常増殖, 2名, その他

中央値および四分位範囲で示した。

考察

死因は、妊娠29週未満では慢性肺疾患、妊娠28-31週では一過性骨髄異常増殖であった。

過去の報告では133人の超低出生体重児(平均在胎29週)を対象としたアメリカのデータベースの分析で、死亡率が62%であることが示された。死因は明らかではないが、動脈管開存、壊死性腸炎、遅発性敗血症の組み合わせが死亡の危険因子であった⁸⁾。

本研究では、妊娠29週未満の児では、絨毛膜羊膜炎を伴わない慢性肺疾患により死亡していた。妊娠29週未満の生存と死亡例を比較すると、呼吸管理・動脈管の治療・糖質コルチコイドや肺血管拡張剤の投与は同様であった。同時期のダウン症ではない妊娠29週未満の児の慢性肺疾患による死亡は0.6%であった。病態は不明であるが、何らかの免疫学的特徴が関与しているかもしれない。

早産に一過性骨髄異常増殖を合併すると死亡リスクが増加した。

ダウン症候群の早産児では、単純に生命予後が不良なわけではなく、出生週数と合併疾患により大きく異なる可能性がある。

文献

- 1) Englund A, Jonsson B, Zander CS, et al. Changes in Mortality and Causes of Death in the Swedish Down Syndrome Population. *Am J Med Genet A* 2013;161A:642-649.
- 2) Yang Q, Rasmussen S A, Friedman J M. Mortality Associated with Down's Syndrome in the USA from 1983 to 1997: A Population-Based Study. *Lancet* 2002;359:1019-1025.
- 3) Weijerman ME, van Furth AM, Vonk Noordegraaf A, et al. Prevalence, Neonatal Characteristics, and First-Year Mortality of Down Syndrome: A National Study. *J Pediatr* 2008;152:15-19.
- 4) Chua GT, Tung KTS, Wong ICK, et al. Mortality among Children with Down Syndrome in Hong Kong: A Population-Based Cohort Study from Birth. *J Pediatr* 2020;218:138-145.
- 5) Platt M J. Outcomes in Preterm Infants. *Public Health* 2014;128:399-403.

- 6) Isayama T. The Clinical Management and Outcomes of Extremely Preterm Infants in Japan: Past, Present, and Future. *Transl Pediatr* 2019;8:199-211.
- 7) Glasson EJ, Jacques A, Wong K, et al. Improved Survival in Down Syndrome over the Last 60 Years and the Impact of Perinatal Factors in Recent Decades. *J Pediatr* 2016;169:214-220.
- 8) Kucik, JE, Shin M, Siffel C, et al. Trends in Survival among Children with Down Syndrome in 10 Regions of the United States. *Pediatrics* 2013;131:e27-36.

小児神経筋性側弯症手術 周術期サポートチーム導入の効果検証

中村 直行, 河邊 有一郎, 百瀬 たか子
大庭 真俊, 横山 弓夏

はじめに

Enhanced recovery system after surgery (ERAS) は、除痛、早期栄養、早期離床の三大柱からなる術後早期回復を促す治療付加プランで、1990年代後半に Kehlet らにより提唱されたとされる¹⁾。小児脊柱変形手術に対する ERAS の導入は、まず思春期特発性側弯症に対して Fletcher らによって行われた²⁾。それ以後、何人かの研究者により同様の研究がなされ入院期間の短縮を達成している³⁻⁴⁾。

小児神経筋性側弯症は思春期特発性側弯症と比較し、対象患者の全身的脆弱さが明らかである。小児神経筋性側弯症 (NMS) に対する手術治療は、その有効性が多くの先行研究により報告され⁵⁻⁸⁾、両親や介護者はこの手術が「子供の人生で最も有益な介入」であると報告している⁹⁾。しかしその一方で、一般的な思春期特発性側弯症手術と比べると多くの合併症に悩まされ、その解決のために入院期間も長くなる。われわれは、そのような問題に対する解決の一助として、2018年4月より本手術に対する術後早期回復プログラム (ERAS) を導入している。今回その効果を検証した。

対象と方法

対象は、当科で側弯症手術を受けた NMS 児とした。全例、単一術者、単独後方アプローチで

あった。比較する対象の2群は、ERAS 導入前に当たる2017年3月から2018年3月までの一連の27例 (Pre-ERAS group) と、変更を経てプログラムが安定した2022年3月から2023年5月までの27例 (Post-ERAS group) とした。

患者背景については、表1に示す。ERAS 導入前群、後群を比較すると、性別、手術時年齢、体重、BMI、原疾患、術前検査での血中ヘモグロビン値、総蛋白値、Preoperative comorbidities、GMFCS レベルに統計学的有意差はなかった。また、画像計測値として、主側弯角、骨盤傾斜 (SPO) にも統計学的有意差はなかった。

これらにおいて、周術期データ、合併症、併診を要した他科、入院期間、退院後90日以内の再入院を調査し、統計解析を行った。

結果

画像および周術期データを表2に示す。ERAS 導入前群、後群を比較すると、麻酔導入時間、固定椎関数、骨盤固定の有無、手術時間、術後主側弯角およびその矯正率、術後 SPO およびその矯正率、術中低体温持続時間、手術終了時体温に統計学的有意差はなかったが、V-flap テクニックの利用率、術中出血量に統計学的有意差がみられた。

術後合併症は麻痺性イレウスや肺炎などが見

られたが、ERAS 導入前後で統計学的有意差はなかった。また、併診を要した他科に対しても統計学的有意差はなかった。(表 3)

入院期間が ERAS 導入前 27 日に対し、ERAS 導入後 20 日に短縮されており(表 2, 図 1)、これは統計学的有意差を認めた ($p=0.00$)。90 日以内の再入院例は 3; 2 例 ($p=1$) で統計学的有意差はなかった。(表 4)

V flap 法の有無と入院期間の間には統計学

的有意差はなく(マンホイットニー U 検定; $p=0.265$)、術中出血量と入院期間に弱い相関関係を認めた(スピアマンの順位相関係数; $\rho=0.432$, $p=0.001$)。入院期間を目的変数、ERAS 有無と術中出血量を説明変数として、これらを Scale 関数による標準化後に重回帰分析したところ、入院期間への影響は ERAS 有無の方が大きかった。(ERAS の回帰係数絶対値 3.9; $p=0.009$, 術中出血量の回帰係数絶対値 2.9; $p=0.8$)

表 1 患者背景

	Pre-ERAS (N=27)	Post-ERAS (N=27)	p
性別(女児)	17	18	1
年齢; 中央値(レンジ)	14.2 (13-18)	13.6 (9-17)	0.06
体重(kg); 中央値(レンジ)	28.3 (18.5-50.4)	27.7 (19.3-57.7)	0.5
BMI (kg/m ²); 中央値(レンジ)	15.4 (10.6-21.8)	13.7 (11.1-23.4)	0.294
診断名			
脳性麻痺	23	21	0.727
中枢運動ニューロン障害*	1	1	
筋ジストロフィー	2	1	
他†	1	4	
ヘモグロビン (g/dl); 中央値(レンジ)	13.5 (10.0-15.7)	13.4 (10.1-15.1)	0.952
総タンパク (g/dl); 中央値(レンジ)	7.1 (6.1-8.0)	7.3 (5.7-8.2)	0.445
術前併存疾患			
てんかん	19	20	1
胃ろう	10	14	0.412
気管切開	1	2	1
VP シヤント	2	2	1
GMFCS			
Level4,5	20	23	0.501

*レット症候群, リー脳症.

† 脊髄空洞症, ビルビン酸脱水素酵素複合体欠損症, 抗 NMDA 受容体脳炎, GABA トランスアミナーゼ欠損症, 遺伝性痙性対麻痺, 脳腫瘍, BMI; Bodymassindex. ERAS; enhancedrecoveryaftersurgery. GMFCS; grossmotor functionscale.

表 2 画像, 周術期パラメーター

	Pre-ERAS (N=27)	Post-ERAS (N=27)	p
麻酔導入時間(分); 中央値(レンジ)	45 (28-224)	43 (28-71)	0.979
固定椎間数; 中央値(レンジ)	16 (11-17)	16 (12-18)	0.479
骨盤固定	13	16	0.586
V-flap 法	13	5	0.041
手術時間(分); 中央値(レンジ)	429 (292-577)	402 (306-571)	0.18
術中出血 (mL); 中央値(レンジ)	1626 (410-5156)	656 (254-3047)	0.001
術前主側弯角(度); 中央値(レンジ)	94 (48-133)	95 (61-131)	0.809
術後主側弯角(度); 中央値(レンジ)	32 (4-75)	34 (15-65)	0.959
主側弯角矯正率(%); 中央値(レンジ)	61.9 (35.8-92.3)	61.7 (38.6-81.4)	0.91
術前 SPO(度); 中央値(レンジ)	18 (1-62)	30 (0-73)	0.373
術後 SPO(度); 中央値(レンジ)	6 (0-41)	6 (0-23)	0.849
SPO 矯正率(%); 中央値(レンジ)	50 (21-100)	72 (20-100)	0.267
術中体温 35.5 度未満持続時間(分); 中央値(レンジ)	30 (0-450)	90 (0-510)	0.154
手術終了時体温(度); 中央値(レンジ)	36.3 (33.7-37.9)	36.7 (35.2-37.8)	0.197
術創感染例	2	0	0.49
入院期間(日)	27 (10-113)	20 (7-38)	0.001
90 日以内の再入院例	3	2	1

SPO: Spino-Pelvic Obliquity

表3 合併症, 併診他科

	Pre-ERAS (N=27)	Post-ERAS (N=27)	p
合併症			
麻痺性イレウス	5	6	1
嚥下障害	0	0	1
肺炎	4	2	0.688
尿路感染	3	0	0.235
SMA	2	1	1
感染性腸炎	0	0	1
術後せん妄	2	0	0.49
肝機能障害	1	0	1
併診他科			
小児神経内科	7	8	1
総合診療科	5	0	0.051
一般外科	5	4	1
集中治療科	9	6	0.544
泌尿器科	2	1	1
リハビリテーション科	1	2	1
感染科	4	1	0.35
精神科	2	0	0.49
耳鼻科	1	0	1
形成外科	2	0	0.49

SMA : 上腸間膜動脈症候群

表4 再入院原因

	Pre-ERAS (N=27)	Post-ERAS (N=27)	p
計	3	2	1
原因			
肺炎	3	1	
尿路感染症		1	

ERAS : enhanced recovery after surgery.

Discussion

新生児および小児集中治療の進歩は、重度神経筋疾患児の生存期間を大幅に変更し、医療的複雑性を抱えながら生きる患儿の数を増加させている。多くの場合、この長寿化は後天的な罹患率や医学的脆弱性と関連している。重症で未治療の神経筋性側弯症は、ますます顕在化している問題である¹⁰⁾。脊柱側弯症は時間の経過とともに硬くなり、その結果、適切な社会生活を続けるために頭部を正中線上に維持することの困難さ、座位能力の喪失、褥瘡、肺機能の低下などが生じる。脊柱側弯症はまた、痛みを引き起こすことも多い¹¹⁻¹²⁾。

神経筋性側弯症児に対する脊椎矯正固定術の有効性は明らか^{9, 13-14)}だが、その術後合併症率の高さや全身管理の必要性は、脊椎外科医を萎縮させる。また、入院期間の長期化は、限られた医療資源を有効に活用するという視点からも主治医とし

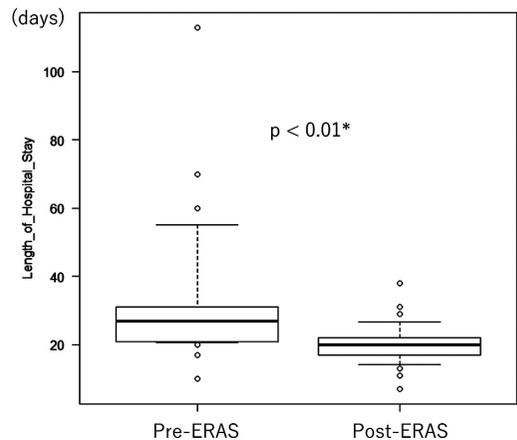


図1

ては心苦しくなる局面がある。神経筋性側弯症手術の希望者が増えてくると、如何に手術患者を安定して入院から退院までより短期間で回していくかが1つの患者管理、入院病棟管理の重要なポイントになってくる。

神経筋性側弯症手術には多職種チームアプローチが有用である¹⁵⁻¹⁶⁾とされるが、当科では、2018年より神経筋性側弯症手術の多職種アプローチが開始されている。このチームアプローチがNSTを中心に立ち上げられたとき、当初から率先して導入されたのがERASであった。当院では先んじて外科手術後に利用されており、そ

れらがNMS手術にも導入された。当初はその脆弱な全身状態の術前からの管理、術後の立ち上がりの悪さを少しでも改善したいと言う目的であった。症例を重ねながらプログラムの改編を重ね、現在の運用にほぼ固定化している。

神経筋性側弯症手術患者へのERAS導入報告は近年散見され始めている¹⁷⁻¹⁸⁾。しかし、それらの先行研究と体重(38 kg vs 27 kg)や主カーブ(65 degrees vs 95 degrees)を比較しても、本対象群の方が明らかに重症度は高い。われわれの対象2群における手術パラメータは、術中出血を除けば統計学的有意差はなかった。患者の診療記録や他の採血データ、手術手技などを検討したが、このことについての上手く説明できる要素は得られなかった。同様に先行研究対象群でも経時的に出血量の減少がみられている¹⁷⁻¹⁸⁾。Tøndevoldらは、手術時間のわずかな減少に着目し、術中低血圧も考慮したがこれらに相関性はなかった、とした¹⁸⁾。脊椎手術において術中出血量と合併症の関係性は良く知られる¹⁹⁾が、術中出血量とLOSの相関性を述べた報告は見つからなかった。バイポーラシーラーの効果を検討したLanらによるメタアナリシスでは、単独要因としての出血量はLOSに影響を与えないことを示している²⁰⁾。われわれの研究において、単変量解析ではERASの有無と術中出血量がLOSと関係している結果となった。しかし、標準化した重回帰分析により、その影響度は術中出血量よりERASの有無の方が強かった。

退院後90日以内の再入院率は諸家と比べて差は無かったが、われわれのケースの多くが肺炎ないし尿路感染症であり、他の著者でみられる創感染ではなかった¹⁸⁾。われわれの感染率自体が諸家報告より低いかもしれない^{12, 21-23)}。そもそも、欧米の入院日数と本邦の入院日数には極端な乖離がある。主に保険制度による違いと考えるが、NMS手術に関する論文において、その入院日数は7-8日である事が多い²⁴⁻²⁵⁾。BellaireらはERAS導入により平均入院期間が4.9日から4日になったとする報告をしている。他の類似報告と比べると、ERAS前よりその入院期間が驚異的に短い事に驚かされるが、一方で30日以内の再入院が24%ある。Fletcherらは入院期間が長いほど術後再入院率が高い傾向が見られ、7日以上

者では27%の再入院率であった²⁴⁾。われわれの対象患者の入院期間は諸家の報告と比較すると長いものになるが、それらと比較して再入院率が高い傾向はなかった(ERAS前11%, ERAS後7%)。Kahokehrら²⁶⁾は病棟でのERAS導入の重要性と労苦を述べているが、本研究の結果を見てもその有用性は支持されるであろう。

ERASの早期離床と早期栄養開始に重点を置くことがLOS短縮の主な理由である¹⁸⁾とする考えにわれわれも同意する。ERAS導入以前は聴音聴取後に栄養開始をイメージしており、栄養開始前に数日を要していた。しかし、現在は術翌日より聴音聴取関係なく経腸栄養剤を開始しており、術後患者の回復が早いことを実感している。

結果的に、このような取り組みにより、再入院率を上げることなく入院期間を26%減少することができた。同様の結果は他の著者によっても支持されており¹⁷⁻¹⁸⁾、NMS手術へのERAS導入は非常に有用であると考えられる。

まとめ

小児神経筋性側弯症手術に対してERAS導入することにより、合併症の増加や退院後90日以内の再入院増加無く、入院期間の短縮化が得られた。

文献

- 1) Fearon K. C, Ljungqvist O, Von Meyenfeldt M, et al. Enhanced recovery after surgery: a consensus review of clinical care for patients undergoing colonic resection. *Clin Nutr* 2005;24:466-477.
- 2) Fletcher ND, Shourbaji N, Mitchell PM, et al. Clinical and economic implications of early discharge following posterior spinal fusion for adolescent idiopathic scoliosis. *J Child Orthop* 2014;8:257-263.
- 3) Gornitzky AL, Flynn JM, Muhly WT, et al. A Rapid Recovery Pathway for Adolescent Idiopathic Scoliosis That Improves Pain Control and Reduces Time to Inpatient Recovery After Posterior Spinal Fusion. *Spine Deform* 2016;4:288-295.
- 4) Shah SA, Guidry R, Kumar A, et al. Current Trends in Pediatric Spine Deformity Surgery: Multimodal Pain Management and Rapid Recovery. *Global Spine J* 2020;10:346-352.

- 5) Jones KB, Sponseller PD, Shindle MK, et al. Longitudinal parental perceptions of spinal fusion for neuromuscular spine deformity in patients with totally involved cerebral palsy. *J Pediatr Orthop* 2003;23:143-149.
- 6) Larsson EL, Aaro SI, Normelli HC, et al. Long-term follow-up of functioning after spinal surgery in patients with neuromuscular scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)* 2005;30:2145-2152.
- 7) Mercado E, Alman B, Wright JG. Does spinal fusion influence quality of life in neuromuscular scoliosis?. *Spine (Phila Pa 1976)* 2007;32:S120-125.
- 8) Watanabe K, Lenke LG, Daubs MD, et al. Is spine deformity surgery in patients with spastic cerebral palsy truly beneficial?: a patient/parent evaluation. *Spine (Phila Pa 1976)* 2009;34:2222-2232.
- 9) Miyajima F, Nasto LA, Sponseller PD, et al. Assessing the Risk-Benefit Ratio of Scoliosis Surgery in Cerebral Palsy: Surgery Is Worth It. *J Bone Joint Surg Am* 2018;100:556-563.
- 10) Berry JG, Poduri A, Bonkowsky JL, et al. Trends in resource utilization by children with neurological impairment in the United States inpatient health care system: a repeat cross-sectional study. *PLoS Med* 2012;9:e1001158
- 11) Mckinnon CT, Meehan EM, Harvey AR, et al. Prevalence and characteristics of pain in children and young adults with cerebral palsy: a systematic review. *Dev Med Child Neurol* 2019;61:305-314.
- 12) Sewell MD, Malagelada F, Wallace C, et al. A Preliminary Study to Assess Whether Spinal Fusion for Scoliosis Improves Carer-assessed Quality of Life for Children With GMFCS Level IV or V Cerebral Palsy. *J Pediatr Orthop* 2016;36:299-304.
- 13) Bohtz C, Meyer-Heim A, Min K. Changes in health-related quality of life after spinal fusion and scoliosis correction in patients with cerebral palsy. *J Pediatr Orthop* 2011;31:668-673.
- 14) Jain A, Sullivan BT, Shah SA, et al. Caregiver Perceptions and Health-Related Quality-of-Life Changes in Cerebral Palsy Patients After Spinal Arthrodesis. *Spine (Phila Pa 1976)* 2018;43:1052-1056.
- 15) Sedra F, Shafafy R, Sadek AR, et al. Perioperative Optimization of Patients With Neuromuscular Disorders Undergoing Scoliosis Corrective Surgery: A Multidisciplinary Team Approach. *Global Spine J* 2021;11:240-248.
- 16) Tipper GA, Chiwera L, Lucas J. Reducing Surgical Site Infection in Pediatric Scoliosis Surgery: A Multidisciplinary Improvement Program and Prospective 4-Year Audit. *Global Spine J* 2020;10:633-639.
- 17) Bellaire LL, Bruce RW Jr, Ward LA, et al. Use of an Accelerated Discharge Pathway in Patients With Severe Cerebral Palsy Undergoing Posterior Spinal Fusion for Neuromuscular Scoliosis. *Spine Deform* 2019;7:804-811.
- 18) Tøndevold N, Bari TJ, Andersen TB, et al. The Collateral Effect of Enhanced Recovery After Surgery Protocols on Spine Patients With Neuromuscular Scoliosis. *J Pediatr Orthop* 2023;43:e476-e480.
- 19) Lange N, Stadtmüller T, Scheibel S, et al. Analysis of risk factors for perioperative complications in spine surgery. *Sci Rep* 2022;12:14350.
- 20) Lan T, Hu SY, Yang XJ, et al. The efficacy of bipolar sealer on blood loss in spine surgery: a meta-analysis. *Eur Spine J* 2017;26:1796-1802.
- 21) Mohamed Ali MH, Koutharawu DN, Miller F, et al. Operative and clinical markers of deep wound infection after spine fusion in children with cerebral palsy. *J Pediatr Orthop* 2010;30:851-857.
- 22) Samdani AF, Belin EJ, Bennett JT, et al. Major perioperative complications after spine surgery in patients with cerebral palsy: assessment of risk factors. *Eur Spine J* 2016;25:795-800.
- 23) Vivas AC, Pahys JM, Jain A, et al. Early and late hospital readmissions after spine deformity surgery in children with cerebral palsy. *Spine Deform* 2020;8:507-516.
- 24) Fletcher ND, Bellaire LL, Dilbone ES, et al. Variability in length of stay following neuromuscular spinal fusion. *Spine Deform* 2020;8:725-732.
- 25) Rumalla K, Yarbrough CK, Pugely AJ, et al. Spinal Fusion for Pediatric Spondylolisthesis: National Trends, Complications, and Short-Term Outcomes. *Neurosurgery* 2018;82:701-709.
- 26) Kahokehr A, Sammour T, Zargar-Shoshtari K, et al. Implementation of ERAS and how to overcome the barriers. *Int J Surg* 2009;7:16-19.

左房機能の未熟児動脈管開存症の手術予測能について

森田 雄介, 豊島 勝昭, 下風 朋章

背景

未熟児動脈管開存症 (PDA) の治療は早産児の循環管理においてきわめて重要であり, 生命予後や発達予後に大きく影響を及ぼしうる。治療には内科的治療と外科治療があり, 内科的治療で効果が不十分な場合や内科的治療が行えないような全身状態では外科治療が行われる。PDA が重症化すると, 肺血流増加による心不全や肺出血, また, 臓器血流減少に伴う消化管穿孔, 壊死性腸炎, 腎不全等を発症する。内科的治療で効果が不十分なことを予見できれば, 合併症をきたす前に手術を行うことができるかもしれない。

PDA の重症度を評価する指標は多くあるが, 治療基準について明確なものはない。国内の全国 34 施設共同前方視的観察研究 (PLASE 研究) では, 生後 3 日目の左房拡大や PDA 径, 左肺動脈拡張末期速度 (LPAedv) が, 将来的な手術の必要性を予測する可能性があることを報告した¹⁾。左房拡大と PDA 重症度の関連性について報告はある²⁾が, 左房機能について評価した研究は少ない。

本研究の目的は, 生後早期の左房機能が将来的な PDA 手術と関連性があるか検討することである。

方法

2021 年 4 月から 2023 年 3 月に当院で出生した 在胎 30 週未満の極低出生体重児を対象とした。染色体疾患や多発奇形を有する児, 先天性心疾患の児, 研究にふさわしくないと考えられるような臨床経過の児を除外した 61 名について検討した。

診療録をもとに背景因子, 生後 3 日目の心エコーデータを収集した。心エコー指標は, 左房容積 (LAV/kg), 左房大動脈径 (LA/Ao), PDA 径, LPAedv に加えて, 左房機能として LAEF (LA Emptying Fraction) と左房ストレイン (LASr, TOMTEC 社の Auto Strain を用いて 2D スペック

ルトラッキング法で測定) を抽出した。生後 3 日目で PDA がみられた児のうち, 入院中に PDA 手術を行った群と行わなかった群において, 上記の心エコー指標を比較した。

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。全ての統計解析には EZR (ver1.65) を使用した。

結果と進捗

生後 3 日目で PDA がみられた児で入院中に PDA 手術を行ったのは 11 名, 行わなかったのは 23 名であった。

左房機能の指標である LAEF, LASr は, 2 群間で差はみられなかった。左房容積を反映する LA/Ao, LAV/kg については, 手術を行った群の方が生後 3 日目で大きい傾向であったが, 有意な差はみられなかった。また, 手術予測能の可能性について過去に報告がある PDA_d, LPAedv についても同様の結果であった。

今後は, 他のエコー指標や検査所見で, 将来的な PDA 手術を早期に予測しうるものについて解析を行う予定である。

文献

- 1) Masutani S, Isayama T, Kobayashi T, et al. Ductus diameter and left pulmonary artery end-diastolic velocity at 3 days of age predict the future need for surgical closure of patent ductus arteriosus in preterm infants: a post-hoc analysis of a prospective multicenter study. *J Cardiol* 2021;78:487-492.
- 2) Toyoshima K, Masutani S, Senzaki H, Kawataki M, et al. Left atrial volume is superior to the ratio of the left atrium to aorta diameter for assessment of the severity of patent ductus arteriosus in extremely low birth weight infants. *Circ J*. 2014;78:1701-1709.

摂食障害診療における神奈川県内小児医療機関と 神奈川県立こども医療センター児童思春期精神科との連携の現状 ～小児科における摂食障害治療指針作成に向けて～

尾野 美奈子, 庄 紀子

はじめに

新型コロナウイルス感染症流行後の2020年度以降、国内外で小児の神経性無食欲症（Anorexia Nervosa：AN）患者が増加した。児童思春期精神科（以下、当科）も2020-2021年度は新規外来患者が約1.5倍、新規入院患者が約1.7倍に増加し、2022年度もその傾向が続いた。当科にて入院患者全体（40床）のうちANを主とする摂食障害患者が占める割合は約4割から約6割に増加し、身体的に緊急対応を要する摂食障害患者の病床確保が課題となった。神奈川県内で小児の摂食障害に経管栄養の実施も含めて対応できる精神科医療機関は極めて少なく、精神科医療機関に限定した地域連携だけでは全ての患者に対応できなくなった。そのため、小児科病棟を有する医療機関との連携が必須となり、当科入院前から当科の主治医やソーシャルワーカーが神奈川県内の小児医療機関と連絡を取り合うなど連携を模索してきた。

これまで実施した実際の取り組みは下記のとおりである。

- 1) 摂食障害患者の身体管理を患者が居住する地域の小児科病棟を有する医療機関に依頼する。
- 2) できるだけ早急（おおむね2週間以内）に当科の外来受診を設定し、診断と今後の治療方針を見立て、小児科病棟での診療を後方支援する。
- 3) 小児科病棟で対応困難な患者を転院で当科（こころの診療病棟）に受け入れる。

目的

入院治療が必要な摂食障害患者の増加に対して逼迫した病床という現実があり、当科と小児医療機関との現実的な連携を確立する必要がある。そ

こで、摂食障害患者が当科入院前にどのような医療機関を受診し、どのような治療を経て当科入院に至ったのか、またその間当科と直接的な連携があったのであれば、その内容がどのようなものであったか、などを検討し今後の当科と小児医療機関との連携に活用することを目的として本調査を実施した。

対象と方法

2020年4月1日から2023年3月31日に当科に初回入院した国際疾病分類第10版（ICD-10）による診断でF50（摂食障害）に該当する小中学生の患者について、診断、紹介元病院種別（小児科、精神科、有床、無床）、当科入院前の小児科での入院治療の有無、経管栄養導入の有無、当科への直接転院の有無などを診療録から後方視的に検討した。なお、F50（摂食障害）は神経性無食欲症（F50.0とF50.1に該当、以下AN）、および、嘔吐・嚥下恐怖などによる食事量低下や原因不明の食事量低下（F50.8とF50.9に該当、以下非AN）を含む。

結果

摂食障害の入院患者は2020年度28例、2021年度27例、2022年度21例であった。対象76例の性別は男児2例、女児74例、主診断はAN61例、非AN15例で、平均年齢12.6歳（8-15歳）、平均入院時標準体重比68.7%（47-114%）であった。紹介元医療機関は大学病院小児科5機関、同精神科3機関、一般病院小児科16機関、同精神科3機関、小児科診療所（無床）19機関、精神科診療所（無床）9機関、その他1機関の計

56 機関であった。うち 10 機関から複数回の紹介があり、その他の 46 機関は 1 回のみで紹介であった。

当科入院前に紹介元医療機関での入院治療歴があるのは 28 例で、紹介元以外の医療機関での入院治療歴があるものは 13 例、76 例中計 41 例 (53.9 %) であり AN31 例、非 AN10 例であった。41 例中 13 例が経管栄養を導入され 11 例が当科へ直接転院した。

年度前期 (4-9 月) と後期 (10-3 月) を比較すると、当科に入院した前期 30 例、後期 46 例のうち、直接転院は前期 5 例、後期 19 例であり、うち後期 11 例が経管栄養を導入していた。

実際の連携内容

●当科入院待機中に小児科で経管栄養が開始された例

非 AN 女児。体重減少が止まらず近医小児科 (無床) から地域小児科 (有床) を紹介された。不食となり受診当日に入院した。入院中に当科初診となるも、当科は満床であった。主治医が小児科主治医に電話をし、さらに 2 週間ほどの入院継続と経管栄養の開始を依頼した。小児科で経管栄養が開始され、体重を維持しながら当科へ転院となった。

●ソーシャルワーカーが当科初診前から相談を受け、適切な医療受診につないだ例

AN 女児。近医小児科 (無床) から当科ソーシャルワーカー (以下、SW) へ入院依頼がなされるも、初診までの待機期間 (約 10 日間) で急変する可能性が考えられた。そのため、SW から母に電話連絡し、急変時には地域小児科 (有床) を受診するよう助言した。その後、不食となり小児科を受診し、入院となった。入院中に予定どおり当科を初診。当科満床のためさらに 10 日間ほどの入院継続を依頼した。小児科にて点滴と経口摂取を行ったが摂取量は少なかった。転院時、体重は初診時よりさらに減少していたが、低血糖や脱水はなかった。

●希死念慮のため小児科病棟での治療継続が困難であった例

AN 女児。体重減少が著しく地域小児科 (有床) を受診し、即日入院となった。入院中に当科を初診し、双方の主治医が診断と方針を共有し、

引き続き小児科病棟で治療を行うことになった。小児科主治医の判断で行動制限が必要であると伝えたところ、患者が希死念慮を訴えて不穏となり病棟が対応に苦慮した。これ以上の小児科での診療継続は困難と判断され、当科へ転院となった。

●患者の持つ発達特性のために、小児科病棟での治療が困難であった例

非 AN 男児。体重低下を認め小児科 (有床) を受診し、即日入院となった。経管栄養と経口摂取を併用して治療を行うも、こだわりの強さや感覚過敏のために経口摂取ができなくなり、常同性の保持などから胃管の抜去が困難となった。また、入院生活のさまざまな場面で発達特性に由来する生活上の困難さが目立ち、病棟が対応に苦慮した。小児科から当科に転院依頼がなされた。

●入院依頼を紹介元小児科とは別の小児科 (有床) に依頼し、協働した例

AN 女児。体重減少のため近医小児科 (有床) を受診後、外来診療を継続中に当科紹介初診。診断と治療方針を共有し病状が悪化した際の入院治療を依頼したが、過去に摂食障害患者の対応に苦慮した経験があるため小児科での入院治療は難しいとのことであった。そのため、当科と複数回連携した経験がある地域小児科 (有床) へ緊急時の入院治療を依頼した。その後、病状の悪化があり、地域小児科に入院し、経管栄養が開始された。体重が維持された状態で、当科へ転院となった。

●小児科にて治療が完結できる可能性があった例

AN 女児。体重減少のため小児科 (有床) を受診して入院し、入院中に当科を初診。診断と治療方針を共有し、当科満床のため小児科での治療継続と経管栄養の導入を依頼した。小児科にて経管栄養を導入後、経口摂取量も増え、体重増加が順調だったため一旦退院した。その後、再び体重減少を認め小児科に再入院し、経管栄養を開始したが、治療抵抗により注入量を十分に増やせず、当科に転院となった。

まとめと考察

複数回の紹介がなされた医療機関は 56 機関中 10 機関であり、46 機関は 1 回のみで紹介であった。各医療機関において、摂食障害患者の診療を行う機会は少なく、経験を重ねにくいという現状

があると考えられた。

当科転院前の小児医療機関での経管栄養の導入は年度前期が30例中0例、後期が46例中11例と後期が多かった。前期に空床が多く、徐々に満床になるという当科の病棟事情が影響しており、当科転院までの待機期間が長期化した場合には、当科からの助言を受けて経管栄養を実施する医療機関が増えるためと考えられた。

やせによる身体的危機状態に対して当科入院前に半数以上の患者が小児科での入院治療を受けながらも当科に転院しており、小児科病棟での入院継続には精神症状や問題行動への懸念や長期入院への対応困難など、さまざまな障壁があることが感じられた。実際に、子どもが持つ発達特性や精神症状の強さによっては小児科での治療継続は困難である。過去の経験から入院治療を受け入れられないとする小児科病棟があることも十分理解できる。適時に精神科病床に転院できる体制を整

え、小児科医と児童精神科医が協働することで、摂食障害診療に積極的な小児医療機関が増える可能性があり、当科はそのように務めるべきと考えられた。

今後の展望

これまでの当科と地域小児医療機関との連携から、複数の有床小児医療機関との協力関係が形成されつつあるが、その数はまだ十分ではない。今後、摂食障害患者や家族を対象とした心理教育資料や必要時に当科に転院できることを前提とした摂食障害治療指針の作成、小児医療機関で対応困難な患者が円滑に当科に転院できる体制の構築などにより、小児医療機関における摂食障害診療を支援していきたい。

本研究は、神奈川県立こども医療センター倫理委員会の承認を得ている。承認番号 149-18。

遺伝学的検査が小児遺伝カウンセリングに与える影響

黒田 友紀子

近年遺伝学的検査が広く用いられるに従って、先天異常症候群をはじめさまざまな小児遺伝性疾患に対して遺伝学的に確定診断を行うことが可能となった。遺伝学的診断を行うことは、正確な予後推定、適切な医学的管理指針、治療計画の上で非常に重要である。さらに、遺伝学的診断により両親の次子再発率（同胞罹患）の推定、患者本人の次世代への遺伝について正確な情報を提供できるといった遺伝カウンセリングの点でも影響がある。

マイクロアレイ染色体検査が令和3年度に保険収載されたことで、染色体異常症に対して詳細かつ正確な遺伝学的診断を行うことができるようになった。マイクロアレイ染色体検査は、染色体の

数的変化（コピー数異常）を検出することに優れた検査である。収載前にはG-band染色体検査での異常核型例で、従来のFISH検査や両親染色体分析を行っても詳細な診断が困難な例があった。マイクロアレイ染色体検査その他の追加遺伝学的検査による詳細な診断確定は、正確な情報提供や疾患管理、遺伝カウンセリングがより充実につながり、遺伝医療の質向上に貢献すると考えられる。

そこで今回、マイクロアレイ染色体検査、その他追加の研究的検査により染色体異常などの先天異常症候群に焦点をあてて遺伝診療、遺伝カウンセリングへ与えた影響を実例をもとに検証することとした。

対象・方法

2022年4月から2024年2月末までの23か月に、当施設でおこなった保険収載マイクロアレイ染色体検査239件を対象とした。全例が多発先天異常(MCA)あるいは発達遅滞・知的障害(DD/ID)を合併した症例であり、次世代シーケンサー解析で検出したCNV確認例を除いた。診断例において遺伝診療や遺伝カウンセリング上のような影響が生じたのかを検討した。

結果・考察

合計で実施件数は239件であった(図1)。G-band染色体検査で異常核型(陽性)が38例あり、そのうち31例が病原性のあるCNVを検出して診断に至った。残り7例は均衡型相互転座が3例、逆位が1例、低頻度マーカーモザイクが1例、多型が2例であった。いずれもマイクロアレイ染色体検査(CMA)で検出が困難な例であった。G-band陽性例はマイクロアレイ染色体検査陽性例、陰性例ともにほぼ全例で遺伝カウンセリングに影響を与えた。

G-band陽性でマイクロアレイ染色体検査陽性例では、染色体構造異常を詳細に把握することができた(図2)。端部の欠失、重複では、付加染色体の有無や由来により、両親の染色体均衡型転座保因者である確率が異なってくる。中間部欠失では、両親は保因者でない突然の変化である可能性が高いものの両親解析の適応はあり、その場合

にはFISH検査が必要である。予想外の染色体異常が検出された例では、検査前と異なる次子再発リスクとなるばかりか、自然歴の推定が大きく変わった。またG-band陽性マイクロアレイ染色体検査陰性例であっても、遺伝カウンセリングに影響を与えた例が多かった。均衡型相互転座の場合には、CNV(数的異常)を伴わない転座であることがわかった場合に、病原性の判定のため両親由来かどうか(同じ均衡型転座をもつ両親が非罹患の場合には病原性がないと判断することが一般的)を調べる必要がある。よって、遺伝カウンセリングにおいて両親解析の意義を説明する必要が出てくる。G-bandでアクロセントリック染色体のサテライト構造多型かユークロマチン付加染色体(染色体異常)かの判断がつかなかった例があった。マイクロアレイ染色体検査でCNVを伴わず多型であることが判明した例では、原因検索に必要な他の遺伝学的検査を推奨することができた。しかし、1例の低頻度マーカーモザイクでは、マイクロアレイ染色体検査陰性の結果をもって、ユークロマチン染色体を含まない(病原性のない)マーカーであるのか低頻度モザイクであることから陰性なのか(マイクロアレイ染色体検査の限界である)判断がつかず、遺伝カウンセリングには影響がなかった。

G-bandで核型正常、あるいは未施行例は201例中40例(20%)でCNVを検出した(図3)。そのうち15例は認識可能な症候群(recognizable

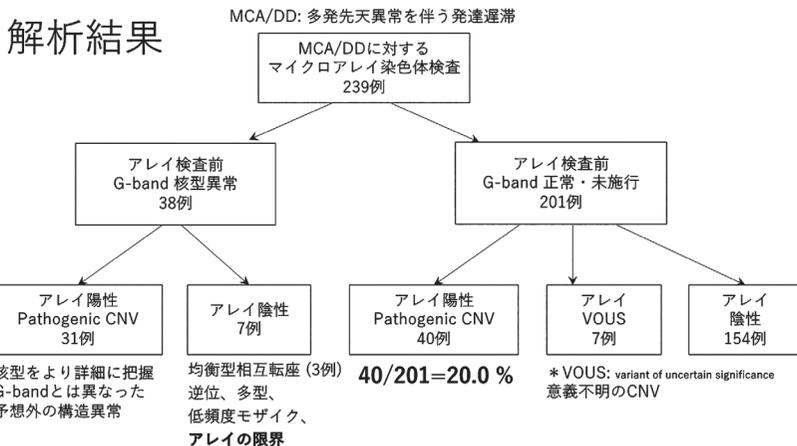


図1 当施設での保険収載マイクロアレイ染色体検査実施例(2022年4月から2024年2月まで)と解析結果

検査前G-band陽性例

<8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
 Angelman syndrome, inv dup(8p)
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

その他の症例：染色体由来・構造特定(add, del, dup)

2例：複雑な染色体構造異常

G-bandより詳細に把握

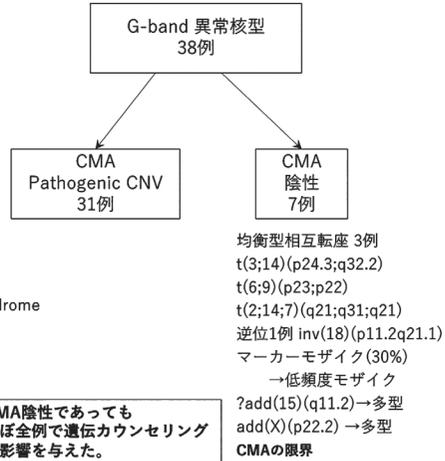


図2 検査前 G-band 陽性例のマイクロアレイ染色体検査結果

G-band陰性・未施行例

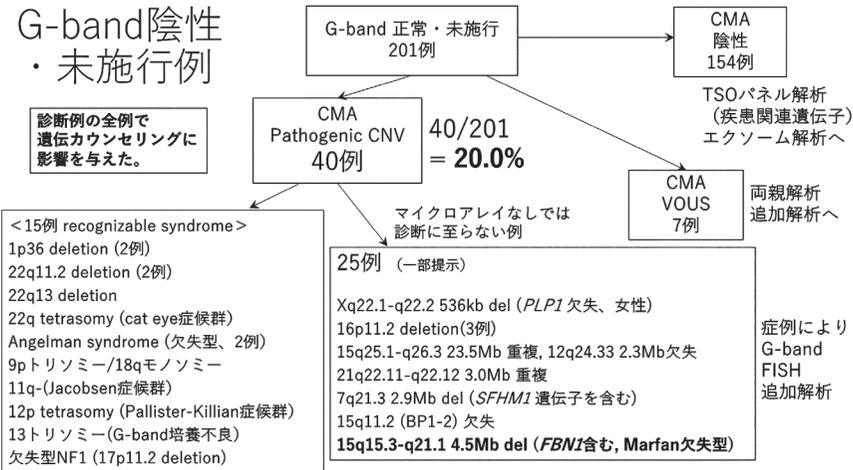


図3 検査前 G-band 陰性・未施行例のマイクロアレイ染色体検査結果

syndrome) であり、検査前からある程度の遺伝学的情報が伝えられる例であった。一方、25例では、表現型から認識が不可能であり、CNVが検出されて初めて遺伝学的診断の情報が得られた。

認識可能な症候群では多くは確定診断が得られると同時に欠失範囲が判明する。自然歴推定や情報提供が多く行える点で、遺伝カウンセリング上はG-band陽性マイクロアレイ染色体検査陽性例と同様であった。その中で1家系で欠失型Angelman症候群(15q近位部分モノソミー)と13番染色体長腕(13q)近位部分トリソミーを認めた。同一家系内にPrader-Willi症候群を認めて

おり、均衡型転座保因者の親から由来する同じ染色体不均衡(15q近位部分モノソミー/13q近位部分トリソミー)が予想された。ただインプリンティングのちがいが(父由来か母由来かにより遺伝子発現パターンが異なること)により、2つの異なる症候群を発症したと考えられた。一般的に欠失型Angelman症候群/Prader-Willi症候群は次子再発は低いと考えられているが、本家系では次子再発や健常同胞が転座保因者であった場合の次世代についても遺伝カウンセリングで情報提供した。マイクロアレイ染色体検査なしでは正確な遺伝カウンセリングは困難であった。

認識不可能な症候群の陽性例では、マイクロアレイ染色体検査によってはじめて遺伝学的診断が得られた例であった。それまで原因不明の先天異常、発達遅滞、知的障害とされてきたが、確定診断を得ることができた。よって自然歴や正確な次子再発率、保因者であった場合に次子妊娠時の出生前検査の情報提供を行うことができた。医学的管理に影響を与えた例として、欠失型 Marfan 症候群があげられた。診断時すでに心エコーでは大動脈基部拡張を認めており、対応可能な所見を発

見することができた。

まとめ

マイクロアレイ染色体検査によって遺伝診療だけではなく遺伝カウンセリングに影響を与えた。これまでの G-band, FISH 検査だけでは正確な遺伝学的診断に至らない例において、保険収載マイクロアレイ染色体検査ができるようになったことは、遺伝医療を大きく変えたと考えられた。

Deep learningによる、乳児股関節単純 X 線における 先天性股関節脱臼診断の試み

大庭 真 俊, 中村 直 行, 百瀬 たか子
河 邊 有一郎, 横山 弓 夏, 津澤 佳代

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⁾。

そこでわれわれは、2021 年度より、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開始した。当初脱臼股の画像と健常例の画像を識別するシステムを開発していたが、「正常」「異常」の二値的な判断を行うシステムは実際の臨床現場では使用しにくい。そのため今回、Deep Learning によるキーポイント検出技術を応用し、乳児股関節単純 X 線画像の計測に必要なキーポイントを自動検出するシステムを開発したので報告する。

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 912 名

を対象とした。

学習データとして、初診時の股関節正面単純 X 線画像 812 枚を jpeg 形式で取得した。この 812 枚画像すべてを学習データ作成用のソフトウェア (COCO Annotator) により図 1 に示す 10 点のキーポイント、および骨盤と股関節を含む領域を設定した。学習データとは別に、無作為抽出した 30 枚の股関節正面単純 X 線画像、20 枚の骨端核未出現である股関節正面単純 X 線画像、および 50 枚の外部施設から持ち込まれた画像を使用した。

人体キーポイント検出用に訓練された Masked-RCNN に、作成した学習データを与えて転移学習を行い、「乳児股関節単純 X 線画像のキーポイント検出を行う」Deep Learning モデルを作成した。このモデルを組み込んだ読影補助システムを作成し、学習データで与えていない新規の乳児股関節画像を与えた時、精度よくキーポイント検出を行うことができることを確認した。(図 2)

その上で、10年以上の経験のある小児整形外科医（深層学習モデル作成者とは別）と、本システムの読影結果の一致率を、次の条件で比較した。

1. 無作為抽出した30枚（60股）
2. 骨端核未出現の20枚（40股）
3. 外部施設で撮影された画像50枚（100股）

検者間信頼性の評価は、臼蓋角（連続データ）は相関係数（ R^2 ）で行い、IHDI分類¹⁾（図3）は重みづけ κ 係数で評価した。



図1 学習データの作成

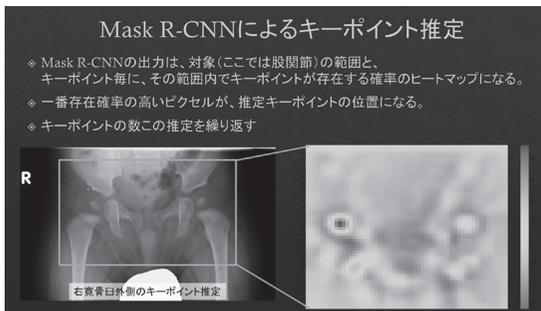


図2 Deep Learningモデルによるキーポイント推定（検出）



図3 IHDI分類³⁾

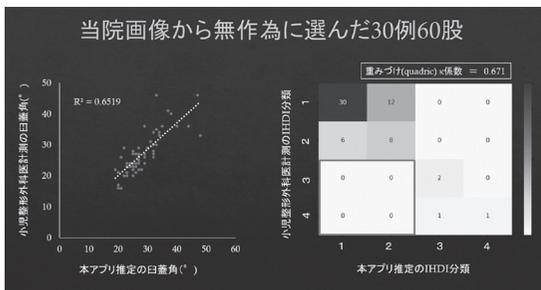


図4 無作為抽出した30例60股を対象とした、小児整形外科医と本システムの検者間信頼性

結果

結果は図4-6に示す。臼蓋角計測については、小児整形外科医の読影結果と良い相関を示した。脱臼危険度を示すIHDI分類については、いずれの条件においても、本システムが小児整形外科医よりも危険度を低く判断することは無かった。

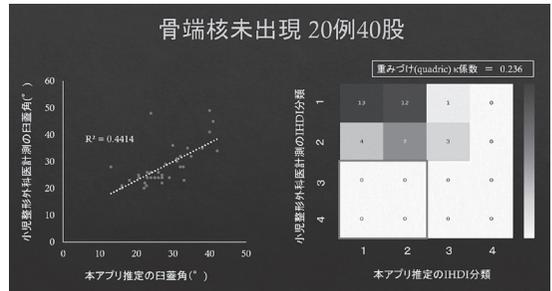


図5 無作為抽出した30例60股を対象とした、小児整形外科医と本システムの検者間信頼性

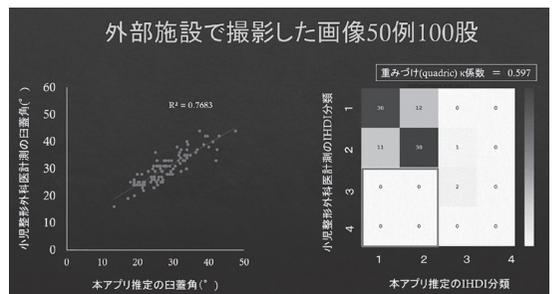


図6 無作為抽出した30例60股を対象とした、小児整形外科医と本システムの検者間信頼性

考察

乳児股関節単純X線画像の自動計測システムの開発についての先行研究は複数あるが、骨端核未出現例の診断精度に課題が残るとされる²⁻³⁾。

本研究で開発したシステムでは、採用した10点のキーポイント（図1）に骨端核を採用していないため、骨端核出現の有無に結果が左右されにくい。しかしこのような月齢の低い症例の股関節単純単純X線画像は未骨化の部分がおおいため、読影結果にばらつきが出やすかった（図5）。

今後、月齢が低い症例をさらに多く学習させることで、本システムの診断能力を向上させられる可能性がある。

それに対し、外部施設で撮影された画像について、本システムはこども医療センター内で撮影された画像と同程度の精度で診断することができて

いた。

これは、学習データ内に1割程度、外部施設で撮影された画像を含んでいたためと思われる。生殖腺保護のための鉛板の形状や、左右を示すマーカーなど、画像に含まれるさまざまな要素が読影結果を左右すると予想されたが、キーポイント検出に特化して訓練された Deep Learning モデルは、これらキーポイントと直接関係しない細部の要素に惑わされることなく、正確にキーポイントを特定していることが予想された。

本システムは、小児整形外科医が不在の施設において、要注意症例の画像を抽出するために用いられる、いわばスクリーニング的な用途を想定している。そのため、常に小児整形外科医より脱臼危険度を軽く読むことが無いという特徴は合目的であると考えられる。

結 論

Deep Learning によるキーポイント検出を応用した乳児股関節単純 X 線画像の読影補助システ

ムは、経験のある小児整形外科医に匹敵する読影制度を示した。今後さらに学習データを増やすことで実用化できる可能性が高いと考える。

文 献

- 1) Singh KA, Ganjwala D, Shah H. A New Radiographic Classification System for Developmental Hip Dysplasia is Reliable and Predictive of Successful Closed Reduction and Late Pelvic Osteotomy. *J Pediatr Orthop* 2022;42(5):e550-e551.
- 2) Park HS, Jeon K, Cho YJ, et al. Diagnostic performance of a new convolutional neural network algorithm for detecting developmental dysplasia of the hip on anteroposterior radiographs. *Korean J Radiol* 2021;22:612-623. doi:10.3348/kjr.2020.0051.
- 3) Zhang SC, Sun J, Liu CB, et al. Clinical application of artificial intelligence-assisted diagnosis using anteroposterior pelvic radiographs in children with developmental dysplasia of the hip. *Bone Joint J* 2020;102(11):1574-1581.