

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461640

研究課題名(和文)先天性中枢性低換気症候群の病態解明

研究課題名(英文)Pathophysiology of congenital central hypoventilation syndrome

研究代表者

佐々木 綾子 (Sasaki, Ayako)

山形大学・医学部・准教授

研究者番号：60333960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：PHOX2B変異(25-33PARMs 86例，NPARMs 6例)を有する日本人先天性中枢性低換気症候群(CCHS)を解析した。罹患率は出生14.8万人に1人以上であった。25PARMにおいてのみ性差を認め、男児は女児と比べ約3倍多かった。羊水過多やApgarスコアの低値を認める症例も存在し、特徴の一つであると考えた。伸長数の大きいPARMsやNPARMs有する症例は重篤で合併症も多かった。精神運動発達の遅延は、全例で約30%に、25PARMで40%に認められた。25PARMでは、非典型例が多く、診断・治療が遅延するためと推察される。早期診断・治療を可能とする遺伝子診断の利用が求められる。

研究成果の概要(英文)：We examined the genotype-phenotype relationship in 92 Japanese patients with congenital central hypoventilation syndrome (CCHS) carrying PHOX2B mutations; 86 cases with PARMs and 6 with NPARMs. The estimated incidence of CCHS was greater than one case per 148 000 births. In 25 PARM, the male-to-female ratio was ~ 3 and mental retardation was frequently accompanied. In 26 or more PARMs or NPARMs, the male-to-female ratio was equal and the patients were frequently complicated with Hirschsprung disease and had hypoventilation in the neonatal period. The patients carrying 25 PARM frequently had mental retardation likely because they were not able to receive appropriate ventilation support following a definitive diagnosis owing to subtle and or irregular hypoventilation. Molecular diagnosis provides a definitive diagnosis and enables to receive appropriate ventilator support.

研究分野：新生児呼吸学

キーワード：先天性中枢性低換気症候群 PHOX2B

## 1. 研究開始当初の背景

先天性中枢性低換気症候群は肺病変や心臓疾患，神経筋疾患及び明らかな脳幹の異常は認めず，呼吸中枢の先天的な異常により睡眠中に低換気を来し著明な低酸素血症，高炭酸ガス血症をもたらす疾患である．稀な疾患であるが，周産期医療の進歩と共に的確に診断・治療される症例も増加してきている．本症はヒルシュスブルグ病や神経芽細胞腫と合併することがあり，neurocristopathy（神経堤細胞の分化や移動の異常により生ずる疾患）のひとつであり，2003年，フランスの Amiel ら，日本の私達，米国の Weese-Mayer らにより，呼吸中枢の形成および RET の発現に關与する PHOX2B の遺伝子異常が確認された．約 90% の症例では，ポリアラニンの伸長変異 (polyalanine repeat expansion mutations: PARMs) を，約 10% の症例では，点変異 (non PARMs: NPARMs) が確認されている．

PHOX2B のポリアラニンの伸長変異の約 90% は *de novo* の変異と考えられ，ポリアラニンの伸長機構としては，2007 年，私達は informative な 6 家系を解析し，全て父親由来の PHOX2B が伸長していることを確認し，更に，informative な 4 家系では，精子の不等姉妹染色体分体交換により，伸長していることを明らかにした．また，PHOX2B のポリアラニン伸長変異では，7 アラニン伸長変異が最も多いが，私達は 7 アラニン伸長変異では rs17884724 の SNP が高頻度に検出し，7 アラニン伸長変異の発症機序と深く關与していることを報告した．即ち，rs17884724 の SNP が存在すると，姉妹染色体分体間の相同性が高まり，不等姉妹染色体分体交換が高頻度に発生することが推察された．

私達は，国内の小児医療機関より紹介された中枢性低換気症候群の多数の症例を解析し，臨床的特徴を明らかにしてきた．特に 5 アラニン伸長変異では，典型的に新生児に発

症するものから，成人に至り発症する症例 (late-onset central hypoventilation syndrome: LO-CHS) そして呼吸器症状を認めない保因者 (不完全浸透) まで，存在すること，新生時期には呼吸器装着を要したが，以後は呼吸器を不要とし，学童期に感染症を契機に中枢性低換気が顕在化する症例などを明らかにしてきた．国内の CCHS の不明な点として，疫学，遺伝子型と臨床型の関係そして予後があり，明らかにすることが求められる．

また，アラニン伸長変異の約 25% は変異のモザイクの親，稀には罹患者の親からの遺伝であることが，イタリアおよび私達から報告されており，多くの症例における確認が必要である．

## 2. 研究の目的

先天性中枢性低換気症候群の病因は，PHOX2B 遺伝子変異により，約 90% はポリアラニン伸長変異 (PARM) であり，約 10% の症例では，点変異 (NPARM) による．私達は，国内の殆どの症例の遺伝子診断に關与しており 臨床的データも有している．今回の研究では，疫学，遺伝子型と臨床型の関係および発達予後について明らかにすることを目的とした．また，PARM の約 25% は親からの遺伝によることが報告されているが，多くの症例における確認が必要であり，追加の解析を目的とした．

## 3. 研究の方法

(1) 国内の医療機関より依頼された先天性中枢性低換気症候群疑いの症例について，遺伝子解析を施行した．ゲノム DNA を用いて，PCR で増幅し，直接塩基配列を決定した．

(2) PHOX2B 遺伝子に変異を有する症例を検討し，疫学および遺伝子型と臨床型の関係について解析した．疫学は，2008 - 13 年の出生数と比較し推計した．出生数は厚生労働省の統計を利用した．臨床型については，主

治医からの紹介状およびアンケート調査を施行した。

(3) 精神運動発達の予後に関しては、遠城寺式乳幼児発達検査、新版 K 式発達検査および Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence により評価した。

(4) ポリアラニン伸長変異を有する症例の両親について、フラグメント解析によりモザイクの有無を調べた。

#### 4. 研究成果

日本人 CCHS 92 症例(2組の同胞例を含む)に検出した *PHOX2B* 変異の内訳は、PARMs 86 例(25PARM 19 例, 26PARM 25 例, 27PARM 31 例, 30PARM 3 例, 31PARM 3 例, 32PARM 2 例, 33PARM 3 例), NPARMs 6 例であった。NPARMs に関しては、c.590delG と c.866InsG 変異は既に報告しており、c.609\_616del8, c.678\_693dup16, c.733\_762dup30 と c.941\_945del5 変異は新規の変異であった。24PARM は検出されなかった。

日本に於ける罹患率は遺伝子診断の情報が普及し、検索依頼数が安定した 2008-2013 年のデータをもとに算出し、少なくとも出生 14.8 万人に 1 人(11.9~20.6 万人に 1 人)と推定した。

罹患者の性差に関しては、25PARM における男女比は 14 対 5 で、男児は女児に比べて約 3 倍多く検出された。他の変異型(26-33 PARMs と NPARMs)では性差を認めず、25 PARM では、他の変異型(26-33 PARMs および NPARMs)と比較して男児の比率が有意に高頻度であった ( $P = 0.045$ )。

患児の周産期異常に関しては、胎児期に羊水過多が 3 例; 25PARM, 26PARM と NPARM (c.678\_693dup16), に認められた。Apgar score に関しては、1 分の中央値(69 例)は 8.0(四分位範囲: 6.0-9.0), 5 分の中央値は(63 例) 9.0(四分位範囲: 7.5 - 9.5)であった。生後の落ち込み(1 分 4 点以下または 5 分 6 点以下、呼吸補助をすると心拍と皮膚

色で達し得る 4 点と一般的な新生児仮死の基準 5 分値 6 点以下で定義した)は 12 例(25 PARM 3 例, 26PARM 5 例, 27PARM 2 例, 32PARM 1 例, NPARM 1 例)で認められた。アラニン伸長数と Apgar score の相関関係は 1 分値  $r = -0.32$  ( $P < 0.01$ ), 5 分値  $r = -0.10$  ( $P = 0.44$ )であった。

遺伝子型と出生後の臨床症状の関係について検討すると、25 PARM での低換気症状の出現は 19 例中 12 例(63%)が新生児期に、7 例(37%)は乳児期以降に認められた。CCHS の臨床診断は、新生児期に 4 例が診断され、診断の中央値は 4 か月であった(四分位範囲: 1-33 か月)。Hirschsprung 病の合併は認めなかった。26PARMs および NPARMs の 73 例では、全て新生児期に明らかな低換気を認めている。26PARM 1 例, 27PARM 1 例, NPARMs (c.866InsG, c.609\_616del8, c.733\_762dup30, c.941\_945del5)の 4 例では、覚醒時にも低換気があり人工呼吸器による管理を必要とした。診断の中央値(69 例)は 1 か月(四分位範囲: 0-3 か月)で、33 例は新生児期に診断された。25PARM とその他の遺伝子型では診断時期に有意差を認めた ( $p < 0.01$ )。アラニン伸長数と Hirschsprung 病の合併には関連( $r = 0.33$ ,  $p < 0.01$ )を認め、Hirschsprung 病を伴わない便秘 ( $r = 0.37$ ,  $p < 0.01$ )についても同様に関連を認めた。NPARMs では、c.590delG を除く 5 例に Hirschsprung 病の合併を認めた。

精神運動発達予後に関して、調査可能な 83 症例について検討した。25PARM では 19 例中 8 例(42%)で精神運動発達遅滞(DQ あるいは  $IQ < 70$  および検査不能な明らかな発達遅滞)を認め、26PARM では 24 例中 6 例(25%), 27PARM では 35 例中 9 例(26%), NPARM では 5 例中 2 例(40%)に精神運動発達遅滞を認めた。25PARM とそれ以外の変異における発達遅滞の合併頻度は、42%対 27% ( $p = 0.26$ )であった。25PARM では、発達遅滞の合併頻度が高い

ことから，詳細な検討を試みた．中枢性低換気の発症時期も遅く，中枢性低換気に対する適切な呼吸管理が施行されていない症例も存在し，診断の遅れと不適切な呼吸管理の問題が示唆された．

ポリアラニン伸長変異の遺伝に関して，5家族を検索し1家族は LO-CHS 罹患の親からの遺伝を確認した．

CCHS の治療予後の改善および効果的な遺伝カウンセリングのために，早期診断・治療を可能とする遺伝子診断のより多い利用が求められる．

#### 5．主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

Shimokaze T, Sasaki A, Meguro T, Hasegawa H, Hiraku Y, Yoshikawa T, Kishikawa Y, Hayasaka K, Genotype-phenotype relationship in Japanese patients with congenital central hypoventilation syndrome. J Hum Genet 査読有, 60 巻, 2015, 473-477.

早坂 清. 先天性中枢性低換気症候群の臨床と病態. 日本小児呼吸器学会雑誌, 査読有, 26 巻, 2015, 52-56.

早坂 清, 佐々木綾子. 先天性中枢性低換気症候群の現況と展望. 日本臨床, 72 巻, 2015, 363-370.

Amimoto Y, Okada K, Nakano H, Sasaki A, Hayasaka K, Odajima H: A case of congenital central hypoventilation syndrome with a novel mutation of the *PHOX2B* gene presenting as central sleep apnea. J Clin Sleep Med 査読有 15 巻, 2014, 327-329.

[学会発表](計 2 件)

早坂清, 他: 日本における先天性中枢性低換気症候群について: 疫学および遺伝

子型と臨床型の関係. 第 119 回日本小児科学会学術集会, 札幌: 2016 年 5 月 13 日 ~ 15 日

佐々木綾子, 他. 先天性中枢性低換気症候群における神経学的予後について.

第 61 回日本新生児成育医学会・学術集会, 大阪, 2016 年 12 月 1 日 ~ 3 日

#### 6．研究組織

##### (1) 研究代表者

佐々木 綾子 (SASAKI Ayako)

山形大学・医学部・准教授

研究者番号: 60333960

##### (2) 研究分担者

早坂 清 (HAYASAKA Kiyoshi)

山形大学・医学部・名誉教授

研究者番号: 20142961

##### (4) 研究協力者

岸川 由美子 (KISHIKAWA Yumiko)