

栄研IRMAの傾き β が0.8648と1よりやや離れた値となるが、他の4種のキットによる測定値は1にかなり近い値となる。相関係数も東ソーIEMAでほんの少し小さくなるが、他の測定キットではより1に近くなった。

最後に、理論的には正しくはないが、6種キットの平均値を縦軸の従属変数、各キットの測定値を独立変数として線形回帰式モデルによって算出した直線の傾きと切片と、線形関係式モデルにて算出した結果との比較検討結果に触れる。表3にその結果を示す。表1の線形関係式モデルで算出した直線の傾き β と切片 α とほぼ同じ値となり、その違いは極めて小さかった。

表2. 5種のキットと線形関係式モデルの結果

	栄研IRMA	第一IRMA	東ソーIEMA	日立CLEIA	住友CLIA	ヤトロンCLEIA
α	-0.0458	-0.1521	-0.2077	0.2201	0.2925	-0.1100
SE	0.0766	0.0859	0.0513	0.0458	0.0360	0.0380
β	0.8648	0.5764	1.0702	0.9917	1.0035	1.0726
SE	0.0761	0.0615	0.0724	0.0748	0.0743	0.0720
相関						
r	0.9900	0.9874	0.9955	0.9964	0.9978	0.9975
r^2	0.9950	0.9937	0.9977	0.9982	0.9989	0.9987

表3. 6種キットと線形回帰式モデルの結果

	栄研IRMA	第一IRMA	東ソーIEMA	日立CLEIA	住友CLIA	ヤトロンCLEIA
α	0.0156	-0.1268	-0.1685	0.3206	0.3959	-0.0512
SE	0.1251	0.1056	0.0792	0.0915	0.0646	0.0776
β	0.9613	0.6444	1.1921	1.1022	1.1170	1.1927
SE	0.0221	0.0123	0.0169	0.0193	0.0139	0.0169

D. 考察

この研究は、成長ホルモン治療の可否の判定に際し測定キットによってかなり値が異なることへの対処として始められたものである。測定キットによって大きく異なる値を標準値ともいうべきものに変換して統一を計り、成長ホルモン治療可否の判定が、用いる測定キットに左右されないよう変換式を作成することにあつた。従来はこの変換式として線形回帰式モデルによって作成したものが用いられていたが、線形回帰式を用いることには理論的には問題があるので、線形関係式モデルを用いた変換式を作成することにした。

この観点からみて、いくつか考察すべき点と問題は残っている。

線形回帰式モデルではなく線形関係式モデルを用いて変換式を作成したことは一步の改善といえる。結果で示したように、線形回帰式モデルと線形関係式モデルで算出した変換式の傾きと切片の間にはほとんど差はなかった。その結果からだけ言えば、線形回帰式モデルを使用してきたことに大きな問題があったとは言えない。しかし、理論的に誤っているという指摘はあるし、これからもそういう指摘がされる可能性はある。そういう批判を免れるという点から、当研究はそれなりに意味がある。

大きな統計的な問題として、6種のキット測定値の平均値への変換式を求めたことがある。線形関係式モデルで算出した直線の傾きおよび切片、ならびに相関係数の算出結果とそれらの解釈に問題が残ることになる。6種のキット

測定値の平均値には6種のキットそれぞれの測定値が含まれるので、算出された傾き、切片、相関係数には自身の値への関係、相関が含まれてしまっている。言い換えれば、傾きがより1に近づき、切片はより0へ近づき、相関は1により近づくことになる。また、自身の値が含まれた平均値と自身と値との線形関係式における傾き、切片、加えて相関係数の定義と解釈をやや困難なものとする。この問題については線形関係式に限らず、線形回帰式モデルでも同様のことが言える。

各キットの測定値にかなりの違いがある訳だが、その理由として当解析結果から以下のように考えることができる。相関係数はかなり大きく、線形関係式の傾きの標準誤差がかなり小さいことから、用いる測定キットによる測定値の大きな違いは、各測定法の精密度 (precision) すなわち何回か計った場合の再現性にあるのではなく、正確度 (Accuracy) すなわち測定値が真の値にどれだけ近いかに帰因するのではないかと推測できる。

この問題の根本はどこにあるかと言えば、ゴールドスタンダードともいうべきものがないことにある。見方を変えれば、これらの測定キットの正確度 (Accuracy) が明らかになっていない点にある。それは各測定キットを開発するのに用いられた標準サンプルの成長ホルモン濃度が一定ではない、あるいは既知でないことに帰因する。各測定キットの作成では世界保健機関 (WHO) が提供する基準品を一次標品とし、各測定キットを作成する各社はそれをもとに

二次標品を作成、製品となった測定キットはこの二次標品に対しての検定がされている。また、WHO が提供する基準品も同一のものとはなっていない。現在日本で用いられている二次標品は2種のWHOの基準品に基づいている。WHOの基準品は下垂体から抽出されたものであり、必ずしも成長ホルモン濃度が同一とは言えない。

測定キット開発に用いられる基準品の濃度が既知であれば、変換式を作成する場合に線形関係式モデルを使用せず、線形回帰式モデルを使用することができる。通常横軸になる独立変数に測定誤差を伴わない前提が立てられるからである。既知の濃度の基準品を希釈して横軸の独立変数の値を確保し、希釈した各サンプルを測定キットで複数回測定して分布を得ればよい。

これが可能になれば、考察で述べた問題点のほとんどは解決する。現在下垂体抽出品ではなく、リコンビナント成長ホルモンが入手できる状況となっており、WHO が提供する基準品もリコンビナント成長ホルモンになっている。早急に、この成長ホルモン濃度が既知となっている基準品に基づいた測定キットの開発が望まれる。

しかし、血液中の成長ホルモン濃度が正確に計れるようになったからといって、これで成長ホルモン濃度とそれに基づく成長ホルモン治療の可否に関する問題がすべてなくなるわけではない。用いる測定キットによる測定値の差はほとんどなくなると考えられるが、新たな問題も現れる。これまでの成長ホルモン濃度と成長ホルモン治療の基準との整合性がなくなる

ことが考えられる。リコンビナント基準品に基づいた測定キットによる血液中の成長ホルモン濃度は、かなり低い値となることが指摘されているからである。

この新たな問題への対処として、これまでに用いられてきた測定キットと新たに開発された測定キットによって同一標本の測定を行い、換算式を算出しておくことがその一つである。同じ会社の測定キットでも時代によって測定値が異なっていた形跡があるので、できればそれぞれの時代に開発、使用された測定キットについても換算式を作成することが望まれる。

また、新たな測定法で測定された成長ホルモン濃度に基づいて診断、成長ホルモン治療の可否の判断基準作りも早急に検討し直さなければならない。これまでの悩ましい問題が解決される一方、大きな課題が残されたといえる。

E. 結論

成長ホルモン分泌不全症の診断と成長ホルモン治療の可否判定には血中成長ホルモン濃度の測定が欠かせないが、用いる測定キットによって測定値がかなり違っていた。そのため線形回帰式によって各種キットの測定値を標準化するための換算式が作成されてきたが、これは理論的には誤っていた。そこで本来用いるべき線形関係式モデルによって換算式を作成した。線形関係式モデルにて算出された換算式の傾きと切片は、これまで用いられてきた線形回帰式モデルによって算出された傾きと切片の値に極めて近く、理論上はともかく、実用上はさほど問題がなかったといえる。しかし、ここ

1、2年でリコンビナント成長ホルモンを標準としたより正確な測定法が開発されると、これまでの診断基準や治療可否基準との整合性をはかり、それらを見直し、基準を再検討することが早急に求められる。

F. 文献

1. Wakkers PJM et al. Application of statistics in clinical chemistry: a critical evaluation of regression lines. *Clinica Chimica Acta* 64: 173-184, 1975.
2. Cornbleet PJ, Gochman N. Incorrect least-squares regression coefficients in method-comparison analysis. *Clinical Chemistry* 25: 432-438, 1979.
3. 大櫛陽一、丹後俊郎。XYとも誤差を含む場合の直線関係式。医用電子と生体工学 24(特別号): 168, 1986.

平成13年度厚生科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

「成長ホルモン治療の適正化に関する研究」

分担研究「Prader-Willi 症候群の診断と成長ホルモン治療基準に関する研究」

分担研究者 藤枝憲二 旭川医科大学小児科教授

研究要旨

成長ホルモン治療の適正化を計るために、成長ホルモン治療の適応となるべき Prader-Willi 症候群患者の診断基準並びに治療基準の策定を試みた。本症は年齢特異的に多彩な臨床症状を呈するため臨床徴候だけからの診断では見逃し例でてくる。そのため、ほぼすべての患者で認められる必要最小限の徴候と染色体異常を指標にして本症の同定が可能となる診断基準を策定した。本症は、加齢及び成長ホルモン療法で肥満・糖尿病の発症が危惧されることから、治療については低身長がありかつ食事療法、運動療法が十分実施されているものを治療対象とする治療基準を策定した。

A 研究目的

Prader-Willi 症候群は、染色体 15q11-13 領域に存在する複数の父性発現遺伝子（刷り込み遺伝子）の発現が失われることにより発症し、筋緊張低下、低身長、肥満、性腺機能不全などの内分泌異常、精神遅滞、特異顔貌など種々の奇形徴候そして特徴的な行動障害を呈する遺伝性疾患である。本症は、小児慢性特定疾患として認定されており、また平成14年1月に成長ホルモン療法が保険適応となった疾患である。本症に対する成長ホルモン療法により身長増加、肥満度の改善などが期待される。しかし、一方過食に伴った糖尿病の発症が危惧される。このため、有害事象の発生がなく安全にかつ有効に治療が行われるためには治療を受けるべき患者が適正に特定されることが望ましい。そこで、従来報告されている本症の診断基準並びに治療法について文献的に考察し、それに基づき治療を受けるべき患者の特定のための診断基準と治療基準の設定を試みた。

B. 研究方法

国内、国外において策定された本症の診断基準、治療基準について文献を検索し、これらの報告例を参考にして成長ホルモン治療適応となる患者の診断基準、治療基準を策定する。

C. 研究結果

従来本症の診断基準については、1981年Holmによって提唱された。その後、1993年にコンセンサスを得て本症の臨床診断基準が作成された（表1）が、この診断基準は本症の多彩な臨床徴候をほぼすべてを網羅しており、臨床の現場において臨床医が本症の診断や除外に役立つことを主眼として作成されたものである。しかし、その後本症の確定診断が遺伝子検査によって可能になったことから、再度2001年にGuanay-Aygun Mらによりこの臨床診断基準の精度、および妥当性が再評価された。この検討により必ずしも臨床徴候だけから患者を特定することが十分ではないことが明らかされた。そのため診断時の

年齢にあった必要最小限の臨床徴候の評価項目だけで患者を特定し、それに基づき遺伝子検査で最終的に確定診断できるように改訂された(表2)。そこで、我々もこの基準を参考にして診断基準を作成した(表3)。主症候として、年齢区分で特徴的な徴候ではほぼ100%に患者に認められる徴候を採用した。染色体異常については、染色体分析にて15q11-13上におけるPrader-Willi症候群責任領域の欠失もしくはDNAメチル化異常などが存在するものとした。この主症候と検査所見両方とも満たすものを本症の確実例とすることで患者の同定は可能であると考えられる。治療基準については、低身長があり、かつ食事療法、運動療法が十分行われているものを治療対象者とした(表4a, 4b)。

D. 考察

Prader-Willi症候群の臨床像は年ごとに変化し、哺乳障害を特徴とする筋緊張低下の乳児期の後に食欲亢進、過食、肥満が出現する2相型の経過が典型的である。このうち、遺伝子検査で同定された症例での症状の出現率をみると必ずしもすべての症状が同定される訳ではなく従来の臨床診断基準では見逃される可能性が示唆される(表5)。従って、患者である可能性があるものを見落としなく同定するために必要最小限の臨床徴候を診断項目として採用すべきと考えられる。また本症の遺伝的基盤としてはすでに約70%が父由来の染色体15q11-13の欠失、約25%が15番染色体双方が母由来である母性片親

性ダイソミー、約2-3%が刷り込み変異、約1%が染色体15q11-13に切断点を有する染色体転座などのその他の異常によることが明らかにされている。従って、現在えられる診断技法により遺伝的異常の同定は可能である。しかし、遺伝的異常の同定のためのDNAメチル化試験は保険適応となっていないことから早急に保険適応とすることを望みたい。

臨床徴候と遺伝的異常の同定により確定診断を行い成長ホルモン療法の適応となる患者の同定は十分可能であると考えられるが、治療において、本症は、年齢が長じるに従い過食に伴った肥満そして糖尿病の発症が多くなることが知られている。このため成長ホルモン療法が安全に有害事象の発生がなく有効に行われるには十分な食事療法、運動療法が実施されていることが必須であると考えられる。そのため、本症における成長ホルモン療法を実施するに当たり低身長である基準とこの項目を付け加えた。

E. 結論

成長ホルモン治療の対象となるべきPrader-Willi患者の診断基準、治療基準を策定した。

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

なし

表 1. Prader-Willi 症候群の臨床診断基準(Holm VA et al , Pediatrics 91:398, 1993 より引用)

主要診断基準

1. 新生児期および乳児期の哺乳力を伴う中心性 central 筋緊張低下、加齢にしたがい徐々に改善される。
2. 特殊な食餌を必要とする乳児期の哺乳障害および体重増加不良/成長不良。
3. 治療介入を行わない場合、体重の対身長比チャートについて、12 カ月齢から 6 歳での過剰な、もしくは急激な体重増加（過剰とは、2 パーセントイルに相当）。
4. 特徴的顔貌：乳児期長頭症、顔の幅、もしくは額の前の部分が狭い、アーモンド型の目、上唇が薄く、唇が小さくみえる、口の両端が下がっている（3 項目以上の該当が条件）。
5. 以下の性腺機能低下、年齢別
 - a. 性器発育不全、
 - 男性：陰囊発育不全、停留睾丸、小陰茎/小精巣（年齢に比べ、< 5 パーセントイル）
 - 女性：小陰唇またはクリトリスの無形成もしくは重度発育不全）
 - b. 16 歳以降の未治療患者において、思春期徴候遅延を伴う性腺成熟遅延もしくは不全（男性：小精巣、ひげおよび体毛が少ない、声変わりが無い；女性：16 歳以降で無月経/稀発月経）。
6. 6 歳未満における全体的発育遅延；軽度?中等度精神遅滞、もしくは年長小児における学習障害
7. 過食/食物に対する飽くなき欲求 (food foraging) /食物に対する強迫観念
8. 高分解能による 15q11-13 欠失 (>650 バンド)、もしくは母親性ダイソミーなどの Prader-Willi 染色体領域におけるその他の細胞遺伝子分子異常

副次的診断基準

1. 胎児活動量減少、乳児期傾眠、もしくは乳児期の弱い号泣、加齢にしたがい改善
2. 特徴的な行動問題-かんしゃく、乱暴な感情の爆発、および強迫行為；論争好き、敵対、厳格 rigid、巧みな所有欲、および頑固；固執、盗癖、嘘をつく（これらの症状のうち 5 つ以上が必要）
3. 睡眠障害および睡眠無呼吸
4. 15 歳までの遺伝的背景による低身長（成長ホルモン未治療の場合）
5. 低色素症-家族に比べ皮膚の色が白い、また、髪の毛の色が茶色い(薄い)。
6. 身長年齢に対して、手 (<25 パーセントイル)、足 (<10 パーセントイル) が小さい
7. 真っ直ぐな尺骨縁を伴う細い手
8. 眼異常（内斜視、近視）
9. 濃くねばねばした唾液および口の両端における痂皮形成
10. 構音障害
11. 皮膚搔破 skin-picking

支持所見

1. 疼痛閾値が高い（痛みに鈍感）
2. 嘔吐が少ない
3. 乳児期の体温不安定もしくは高齢小児および成人における体温感度異常
4. 側弯症および後弯(症)
5. 早期副腎皮質機能亢進性思春期徴候
6. 骨粗鬆症
7. ジグソーパズルのスキルが異常
8. 神経筋試験が正常

主要診断基準は、各項目1ポイント、副次的診断項目は、各1/2ポイントとして、スコアを合計する。支持所見は、診断確実性が高まるが、スコア評価は行なわない。3歳児以下では、(PWS診断には)5ポイントが必要で、そのうち4ポイントは、主要診断基準が占めなくてはならない。4歳児以上および成人では、総スコア8が必要で、そのうち5ポイント以上を主要診断基準が占めなくてはならない。

表2:Prader-Willi 症候群に対する遺伝子診断への基準
(Gunay-Aygun M, et al Pediatrics 105:e92, 2001より引用)

診断時の年齢	遺伝子診断のための臨床徴候
出生時～2歳	1. 哺乳障害を伴う筋緊張低下
2歳～6歳	1. 哺乳障害の既往を伴う筋緊張低下 2. 全般的発達遅滞
6歳～12歳	1. 哺乳障害の既往を伴う筋緊張低下 2. 全般的発達遅滞 3. 過食（過食；食物に対する強迫観念）およびコントロール不良の場合の中心性肥満
13歳以上	1. 認知障害；通常、軽度の精神発達遅滞 2. 食欲過剰（過食、食物への異常な執着）およびコントロール不良の場合の中心性肥満 3. 視床下部性腺機能低下症および典型的な行動障害（癩癩、強迫的で強制的な所見など）

表3 成長ホルモン療法が適応となる Prader-Willi 症候群の診断基準

I 主症候（臨床像は年齢により変化するため、以下の年齢区分での主な特徴的な症状の出現を指標とする。）
・ 出生から2歳頃まで：筋緊張低下とそれに伴う哺乳障害
・ 2歳頃から6歳頃まで：筋緊張低下とそれに伴う哺乳障害の既往、精神運動発達遅滞、過食とそれに伴う中心性肥満（食事、運動療法を行っていない場合）
・ 6歳頃から12歳頃まで：筋緊張低下とそれに伴う哺乳障害の既往、精神運動発達遅滞、過食とそれに伴う中心性肥満（食事、運動療法を行っていない場合）
・ 13歳頃から成人まで：認知障害、過食とそれに伴う中心性肥満（食事、運動療法を行っていない場合）、性腺機能低下、行動障害
II. 検査所見
染色体15q11-13におけるPrader-Willi 症候群責任領域の欠失、もしくは母性片親性ダイソミー、刷り込み変異を示すDNAメチル化異常などを染色体分染法、FISH法もしくはDNAメチル化試験などにより証明する。

[診断基準] Iの年齢区分での症状とIIを満たすものを確実例とする。

表 4a: ヒト成長ホルモン治療開始時の適応基準

-
1. 骨年齢 男子 17 歳未満、女子 15 歳未満
 2. 身長発育 現在の身長が同性、同年齢の「標準値 \pm 2SD」以下、
あるいは年間の成長速度が 2 年以上にわたって「標準成長率 \pm 1.5SD」
以下である場合。(ただし、暦年齢が 9 歳以上の例では、現在の骨年
齢を現在の暦年齢とみなして標準成長率と比較する)
 3. 染色体分析
染色体 15q11-13 上における Prader-Willi 症候群責任領域の欠失もし
くは DNA メチル化異常などが存在する (染色体分染法、FISH 法もし
くは DNA メチル化試験などで証明する。)
 4. 食事療法、運動療法の指導がなされているもの
(肥満度 20%以上であってかつこの 1 年間の肥満度が 20%以上増加し
ているものは食事療法、運動療法がなされていないものとする。)
-

表 4b: ヒト成長ホルモン治療継続の適応基準

-
1. 以下の項目のいずれかを満たしているときを、治療継続の適応あると
判定する。
 - a. 成長率 \geq 4 cm/年
 - b. 治療中 1 年間の成長率と、治療前 1 年間の成長率の差が、1.0
cm/年の場合
 - c. 治療 2 年目以降で、治療中 1 年間の成長率が下記の場合
2 年目 \geq 2 cm/年
3 年目以降 \geq 1 cm/年
 2. 以下の項目のいずれかを満たしたときは、治療継続の適応はないもの
と判定する。
 - i. 上記の治療継続の基準を満たさない場合
 - ii. 骨年齢 男子 17 歳以上、女子 15 歳以上
 - iii. 重篤な副作用が生じたとき
 - iv. 肥満度が増加した場合 (1 年目では 5%以上、2 年目では 10%以上)
-

表5：現行診断基準の感度およびカルテの記録率

(Gunay-Aygun M, et al Pediatrics 105:e92, 2001より引用)

主要評価項目	記録率 (%)	感度 (%)	
新生児筋緊張低下	87.9	97.5	
乳児期哺乳障害	77.8	95.7	
過度の体重増加	66.7	95.0	
特異的顔貌	88.4	49.4	
性腺機能低下症	51.1	95.6	
発達遅滞	98.9	97.8	
過食	84.4	93.4	
副次評価項目	記録率 (%)	感度 (%)	
胎動の減少	62.2	89.3	
行動障害	86.7	82.1	
睡眠障害/睡眠時無呼吸	75.6	36.8	
低身長	63.3	86.0	
低色素症	73.3	47.0	
小さな手足	87.8	74.7	
細い手/真っ直ぐな尺骨縁	82.2	69.0	
眼の異常	67.8	49.2	
粘着性の唾液	88.9	82.5	
構音障害	80.0	93.1	
Skin-picking		83.3	61.3

III 研究成果の刊行に関する一覧表

Tanaka T, Hanew K, Nishi Y, Tachibana K, Yokoya S, Igarashi Y, Hirano T, Fujita K, Saitoh T, Hizuka N, Shimatsu A, Tanaka H, Tanizawa T, Teramoto A, Fujieda K
Final height of growth hormone (GH)-treated short children registered at the Foundation for Growth Science in Jpan: Comparison between the pituitary human GH era and the recombinant human GH era.
Clin Pediatr Endocrinol 10(1):53-62, 2001

田中敏章、藤枝憲二、羽二生邦彦、西 美和、立花克彦、横谷 進、五十嵐 裕、平野岳毅、藤田敬之助、寺本 明、肥塚直美、島津 章、田中弘之、谷澤隆邦、長谷川行洋
成長ホルモン分泌不全性低身長症における遺伝子組換え成長ホルモン治療による最終身長の正常化の割合
日本小児科学会雑誌 105:546-551, 2001