

身長伸びが低下し、診断時の身長は -1.27 ± 0.07 SDS で目標身長との差は -0.65 ± 0.17 SDS としている⁶⁾。

おわりに

今回 AN の内分泌異常、その成長障害について概説した。低身長が診断のきっかけになる場合もあるので、食行動とともに、成長の評価が必要である。今後、わが国でも AN の長期観察に基づいた、身長予後についての検討が必要である。

Key Points

- ① 食行動とともに成長の評価が必要である。
- ② AN では内分泌系の異常が存在するが、ホルモン補充の適応ではない。

文献

- 1) Misra M : Long-term skeletal effects of eating disorders with onset in adolescence. *Ann N Y Acad Sci* **1135** : 212-218, 2008
- 2) 厚生労働省内分泌疾患調査研究班 : 中枢性摂食異常に関する研究報告書, 2005
http://www.nanbyou.or.jp/sikkan/072_i.htm
- 3) Misra M, Miller KK, Almazan C, et al : Alterations in cortisol secretory dynamics in adolescent girls with anorexia nervosa and effects on bone metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* **89** : 4972-4980, 2004
- 4) 久保千春, 河合啓介, 野崎剛弘 : 神経性食欲不振症の内分泌代謝異常. *ホルモンと臨* **54** : 299-309, 2006
- 5) Prabhakaran R, Misra M, Miller KK, et al : Determinants of height in adolescent girls with anorexia nervosa. *Pediatrics* **121** : e1517-1523, 2008
- 6) Horikawa R, Ikema S, Ikuta N : Stunted growth and hypothalamic-pituitary dysfunction before and after eating disorders in children and adolescents. *Clin Pediatr Endocrinol* **14** (Suppl 4) : 59-62, 2005
- 7) Nussbaum M, Baird D, Sonnenblick M, et al : Short stature in anorexia nervosa patients. *J Adolesc Health Care* **6** : 453-455, 1985
- 8) Danziger Y, Mukamel M, Zeharia A, et al : Stunting of growth in anorexia nervosa during the prepubertal and pubertal period. *Isr J Med Sci* **30** : 581-584, 1994
- 9) Lantzouni E, Frank GR, Golden NH, et al : Reversibility of growth stunting in early onset anorexia nervosa : a prospective study. *J Adolesc Health* **31** : 162-165, 2002
- 10) Roze C, Doyen C, Le Heuzey MF, et al : Predictors of late menarche and adult height in children with anorexia nervosa. *Clin Endocrinol (Oxf)* **67** : 462-467, 2007
- 11) Siegel IH, Hardoff D, Golden NH, et al : Medical complications in male adolescents with anorexia nervosa. *J Adolesc Health* **16** : 448-453, 1995
- 12) Modan-Moses D, Yaroslavsky A, Novikov I, et al : Stunting of growth as a major feature of anorexia nervosa in male adolescents. *Pediatrics* **111** : 270-276, 2003
- 13) 鈴木真理 : 神経性食欲不振症における骨粗鬆症と低身長. *ホルモンと臨* **54** : 311-318, 2006

* * *

SGA 性低身長症

SGA 性低身長児の二次性徴

田島 敏広

はじめに

SGA 児の視床下部-下垂体-性腺系に及ぼす影響については十分に理解されていない。また最近日本でも承認されたSGA児に対する成長ホルモン(GH)治療だが、その思春期の発来時期、進展に与える効果については、未だ十分なデータは得られていない。そこで、今回SGA児の思春期、GH治療による影響について過去の報告を踏まえて、概説する。

SGA 性低身長の思春期について

SGA 性低身長児の思春期は臨床経験上、発来は早い印象があるが、病院に受診している児のみであるという特殊な状況がある。思春期の発来時期、その進行のテンポについてはいくつかの後方視的研究がある。例えばLienhardtら¹⁾は出生時の身長が在胎週数に比較し、 -2 SD未満で、成人身長が -2 SD以下の症例について検討している。その結果では男子の思春期の発来時期がSGA性低身長男子 14.2 ± 1.0 歳、正常男子 12.1 ± 0.8 歳、SGA性低身長の女子では 12.1 ± 0.8 歳、正常女子で 11.2 ± 0.8 歳であり、逆に思春期の発来時期は遅かったとしている。しかしSGA性低身長の男子の思春期での獲得身長は 23.9 ± 6.1 cmで正常コントロールの 26.9 ± 3.9 cmに比較して少なかった。一方女子では、SGA性低身長で 19.8 ± 4.9 cm、正常コントロールで 20.2 ± 3.9 cmで差はなかったとしている。またLegerら²⁾は体重が在胎

週数の -2 SD未満のSGAで出生した女子の初潮年齢は差がなかったと報告している。さらにVicens-Calvetら³⁾は体重が在胎週数の -2 SD未満のSGA性低身長男子では思春期の開始が 13.1 ± 1.9 歳で、正常男子は 11.3 ± 1.2 歳、SGA性低身長女子では思春期の開始が 10.8 ± 1.1 歳で、正常女子は 9.8 ± 1.1 歳であり、やや思春期開始が遅かったと報告されている。しかしSGA性低身長男子、女子では成人身長はそれぞれ、 -2.0 SD、 -2.1 SDであった。この低身長の原因についてであるが、思春期の獲得身長はSGA性低身長男子、女子とも正常コントロールに比較し差がなかったが、思春期開始時期の身長が低かったことによる。

一方思春期の発来時期が早いとする報告もある。例えばPerssonら⁴⁾は出生体重が在胎週数の -2 SD未満のSGA児について思春期の発現時期を検討している。その結果では男子においては正常コントロールと比較し差はなかったが、思春期開始時期の身長についてはSGAで出生した男子のほうが4 cm低かった。一方女子ではSGAの場合には思春期の開始時期が5カ月早期であった(SGA女子平均10.7歳、正常女子平均11.1歳)。またこの時点で、SGAで出生した女児は正常コントロールに比較し、3 cm身長が低かった。さらに初潮年齢も同じく5カ月早かった(SGA女子12.7歳、正常女子13.1歳)。SGA女子のみの報告であるが、在胎40週で出生した体重が -2 SD未満の症例の場合は、乳房発育の平均がSGA女子で9.9歳、正常女子で10.4歳、初潮年齢はSGA女子で11.9歳、正常女子で12.3歳であり、SGA女子がどちらも早期であった⁵⁾。またIbáñezら⁶⁾は出生体重が在胎週数の -1.5 SD未満のSGA女子について思春期開始年齢、初潮年齢を報告してい

たじまとしひろ 北海道大学小児科
〒060-8638 北海道札幌市北区北15条西7丁目
E-mail address : tajeari@med.hokudai.ac.jp

る。その結果は思春期開始年齢には差がなかったが、開始年齢での身長はSGA女子で4 cm低かった。さらに初潮開始年齢は、SGA女子で 12.9 ± 0.2 歳、正常出生体重女児で 11.3 ± 0.3 歳であった。したがって思春期開始時期は低身長であり、思春期の進展は正常人より速く進み、その結果成人身長が5 cm低下するとした。

日本ではSGA性低身長児の縦断的データを集めることが非常に難しいため、多数例の報告はない。田中ら⁷⁾が出生時の身長または体重が在胎週数の標準-1.5 SD以下の場合で低身長の児を胎内発育不全性低身長(IUGR)と定義し、7歳時点での身長が-2.0 SD以下、成人身長も-2.0 SD未満にとどまった症例を、7歳時点での身長が-2.0 SD以下、しかし成人身長-2.0 SD以上になった症例と比較検討している。成人身長が-2.0 SD未満にとどまった症例にはIUGRも14名含まれているが、ほかに家族性低身長も含まれていた。この群の中で女子のスパート開始年齢は 8.35 ± 1.03 歳、成人身長が-2.0 SDを超えた群は 10.58 ± 0.16 歳であった。またスパート開始時の身長はそれぞれ 112.8 ± 4.7 cm, 124.1 ± 1.1 cmであった。男子ではスパート開始年齢が 10.04 ± 1.27 歳、成人身長が-2.0 SDを超えた群では 11.33 ± 0.71 歳、スパート開始時の身長はそれぞれ 119.9 ± 5.8 cm, 127.9 ± 2.1 cmであった。したがって低身長のまま思春期の成長スパートが始まり、最終的に低身長になったと結論づけている。しかしこのデータは筆者らも指摘しているが、IUGRに加えて、家族性低身長の症例も含まれていること、1施設という限定された対象であるため、普遍的なものかは断言できない。しかし、日本の報告、諸外国の報告を含めても、思春期開始時期にかかわらず、その開始時期においてSGA児は低身長であり、その結果成人身長が低下するというSGA性低身長の特有な成長パターンが存在するようである。

SGA性低身長に対するGH治療の 思春期発来への影響

GHが視床下部-下垂体-性腺系の働きに重要であることは、動物実験やヒトの研究から示されて

いる⁸⁾。現在までのSGA性低身長症に対するGH治療の思春期発来あるいは進展のテンポへの影響についていくつかの報告がある。de Zegherら⁹⁾はベルギー、フランス、ドイツ、北欧諸国からのSGA性低身長症のGH治療についてエビデンス解析し報告している。女子64人中36人で、思春期の開始年齢は 10.7 ± 0.2 歳、男子75人中28人で思春期開始年齢は 11.7 ± 0.2 歳であり、特に思春期早発傾向を認めず、GH治療は思春期開始時期を早めることはない結論している。Boonstra¹⁰⁾はGH治療の思春期発来に与える影響、思春期開始から成人身長に到達する期間、この時期の獲得身長について詳細な検討を行っている。GH治療の開始年齢は 7.3 ± 2.2 歳で、0.033 mg/kg/日投与群は男子29名、女子10名、0.067 mg/kg/日投与群は男子21名、女子15名である。思春期開始は男子で精巣容量4 mL、女子では乳房がTanner II度としている。その結果は0.033 mg/kg/日投与群で男子 12.0 ± 1.0 歳、女子で 10.9 ± 1.1 歳、0.067 mg/kg/日投与群では男子 11.6 ± 0.7 歳、女子で 10.6 ± 1.2 歳で、この群間では差が認められなかった。また正常オランダ小児とも差が認められなかった。女子について月経の発来年齢が0.033 mg/kg/日投与群で 12.9 ± 0.8 歳、0.067 mg/kg/日投与群で 13.1 ± 1.3 歳と投与量による差はなく、正常オランダ人女子と比較しても差異を認めなかった。さらに乳房の発達から月経開始期間も 2.0 ± 0.9 年、 2.3 ± 0.9 年と両者群間に差がなく、正常オランダ人女子と比較しても差がなかった。この研究では46名が成人身長にすでに到達したが、0.033 mg/kg/日投与群は思春期開始以降、成人身長に到達するまでの期間は男子で 5.0 ± 1.3 年、女子で 3.9 ± 1.0 年、0.067 mg/kg/日投与群の男子で 5.4 ± 0.8 年、女子で 4.1 ± 1.1 年であった。獲得身長は0.033 mg/kg/日投与群は男子で 27 ± 8.0 cm、女子で 19.0 ± 7.3 cm、0.067 mg/kg/日投与群の男子で 31.4 ± 4.1 cm、女子で 18.9 ± 5.7 cmとなり、GH投与量によって有意差を認めなかった。しかしこの成人身長に至るまでの期間や思春期の獲得身長については、オランダの正常コントロールデータがないため比較がなされていない。

以上のように諸外国の報告によれば、SGA性低身長症に対するGH治療は思春期のタイミング、テンポに影響を与えないようである。日本では田中ら¹¹⁾がSGA性低身長症に対するGH治療の有効性を報告しているが、解析対象は前思春期であり、いまのところ日本人SGA性低身長患者に対するGH治療が思春期へ与える影響についてはデータはない。

おわりに

今回取り上げたように、SGA児の思春期については正常あるいは早いとする報告があり、結論づけられてはいない。しかし低身長のまま思春期が開始し、成人身長が低下することがあるので、注意深い経過観察が必要である。

GH治療による影響については、現在までの検討では早まるとの結果は得られていない。しかし解析された症例数は十分に多くはないので、結論を出すのは時期尚早であろう。日本でのSGA児に対するGH治療は開始されたばかりで、思春期の進展具合に十分に注意し、診療を行う必要がある。

文献

- 1) Lienhardt A, Carel JC, Preux PM, et al : Amplitude of pubertal growth in short stature children with intra-uterine growth retardation. *Horm Res* **57** (suppl 2) : 88-94, 2002
- 2) Leger J, Levy-Marchal C, Bloch J, et al : Reduced final

- height and indications for insulin resistance in 20 year olds born small for gestational age : regional cohort study. *BMJ* **315** : 341-347, 1997
- 3) Vicens-Calvet E, Espadero RM, Carrascosa A : Spanish SGA Collaborative Group : Small for gestational age. Longitudinal study of the pubertal growth spurt in children born small for gestational age without postnatal catch-up growth. *J Pediatr Endocrinol Metab* **15** : 381-388, 2002
- 4) Persson I, Ahlsson F, Ewald U, et al : Influence of perinatal factors on the onset of puberty in boys and girls : implications for interpretation of link with risk of long term diseases. *Am J Epidemiol* **1** (150) : 747-755, 1999
- 5) Ghirri P, Bernardini M, Vuerich M, et al : Adrenarche, pubertal development, age at menarche and final height of full-term, born small for gestational age (SGA) girls. *Gynecol Endocrinol* **15** : 91-97, 2001
- 6) Ibáñez L, Ferrer A, Marcos MV, et al : Early puberty : rapid progression and reduced final height in girls with low birth weight. *Pediatrics* **106** (5) : E72, 2000
- 7) 田中敏章, 他 : 前思春期低身長児または最終身長低身長者の縦断的成長の解析 第2編 病院における経過観察の検討. *日児誌* **101** : 617-623, 1997
- 8) Chandrashekar V, Zaczek D, Bartke A : The consequences of altered somatotrophic system on reproduction. *Biol Reprod* **71** (1) : 17-27, 2004
- 9) de Zegher F, Albertsson-Wikland K, Wollmann HA, et al : Growth hormone treatment of short children born small for gestational age : growth responses with continuous and discontinuous regimens over 6 years. *J Clin Endocrinol Metab* **85** : 2816-2821, 2000
- 10) Boonstra V, van Pareren Y, Mulder P, et al : Puberty in growth hormone-treated children born small for gestational age (SGA). *J Clin Endocrinol Metab* **88** : 5753-5758, 2003
- 11) 田中敏章, 他 : SGA性低身長症におけるGH治療のガイドライン. *日児誌* **111** : 641-646, 2007

* * *

3. 先天性副腎不全の診断とその病態

北海道大学医学部 小児科 田島敏広

たじまとしひろ



KEY WORDS

副腎
過形成
遺伝子
P450オキシドレダクターゼ (POR)



Toshihiro Tazima

はじめに

先天性の副腎皮質機能低下症はその多くが急性副腎不全として発症するが、慢性副腎不全の症状、例えば皮膚の色素沈着が診断の契機になることもある。また一部の先天性副腎皮質過形成症の場合は男子や女子の外性器異常により副腎不全の診断に至ることもある。先天性副腎不全の成因は原発性と続発性に大きく分類される¹⁾²⁾。表1に主な成因、現在判明している責任遺伝子を示した。先天性副腎不全の症状、さらに遭遇する頻度の高い疾患についてその病態と成因、副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班の診断の手引きについて概説する。

I. 副腎不全の診断

表2に副腎不全の症状をまとめたが、症状および所見は非特異的であり、他の病態と鑑別が難しいことも多い²⁾。副腎外の症状として、外性器異常や性腺機能異常を伴うこともある。例えば酵素欠損により先天性副腎過形成症の場合には副腎皮質ステロイドホルモンの産生が低下した結果、ACTH 過剰分泌のために副腎皮質が過形成となり、中間代謝産物が過剰分泌を来す。副腎アンドロゲンの過剰を引き起こすような場合は46,XX 女性の外性器の男性化を引き起こす。先天性リポイド過形成症や17-水酸化酵素欠損症では精巣でのテストステロン合成障害のため46,XY

表1 先天性副腎不全を起こす疾患

成因	原因遺伝子
原発性	
<u>先天性副腎皮質過形成症</u>	
21-水酸化酵素欠損症	P450C21
先天性リポイド過形成症	StAR*, P450scc**
3β-HSD 欠損症#	P450C17
17α-水酸化酵素欠損症	
11β-水酸化酵素欠損症	P450C11
P450オキシドレダクターゼ (POR) 欠損症	POR
<u>先天性副腎低形成症</u>	
X-連鎖性	DAX-1
常染色体劣性	不明
AD 4 BP/SF-1 異常	NR 5 A 1
IMAGE症候群	不明
<u>ACTH 不応症</u>	
ACTH 受容体異常	ACTH 受容体
MRAP 異常症##	MRAP##
<u>副腎出血</u>	
<u>感染症</u>	
<u>原因不明</u>	
続発性	
ACTH 欠損	POMC, TPIT, PC-1 [§]
複合型下垂体前葉ホルモン欠損症	PROP1, HESX1, LHX3, LHX4, OTX2, ETC

*StAR ; steroidogenic acute regulatory protein.

**P450scc ; cholesterol side chain cleavage enzyme.

3β-HSD ; 3β-hydroxysteroid dehydrogenase.

##MRAP ; melanocortin 2 receptor accessory protein (文献15).

[§]PC-1 ; protein convertase-1.

表2 副腎不全の症状

急性副腎不全	慢性副腎不全
食欲低下	易疲労感
哺乳力低下	皮膚色素沈着
脱水	食欲不振
意識障害	嘔吐, 下痢
低血糖	腹痛
低ナトリウム血症	
高カリウム血症	
吐気, 嘔吐	
易疲労感	
腹痛	
発熱	

個体で外性器の女性化あるいは不完全な男性化を来す。時に ambiguous な外性器を示し、性別判定が難しい場合もある。また X-連鎖性の副腎低形成症, IMAGE 症候群でも性腺機能障害, そのため男子では小陰茎, 停留精巣などを伴うことがある。

表2の症状で副腎不全を疑ったような場合は治療前に可能な限り血清コルチゾル, 血漿 ACTH, 血漿レニン, アルドステロン等の測定を行う。画像検査ではエコー, CT, MRI などで副腎の腫大, あるいは低, 無形成を検討する。

II. 先天性副腎不全を起こす疾患 原発性副腎皮質機能低下症

原発性は表1にあるように先天性副腎皮質過形成症、副腎低形成症、ACTHへの不応、副腎出血、感染症などが成因である。先天性副腎皮質過形成症の95%は21-水酸化酵素欠損症である。次に先天性副腎皮質過形成症の中で日本人に頻度が高いのは先天性リポイド過形成症である。最近では新しい先天性副腎皮質過形成症としてPOR欠損症が新たに追加された。

1. 21-水酸化酵素欠損症

本症は21-水酸化酵素 (CYP21) 遺伝子の異常によって引き起こされる常染色体劣性の疾患で、その発症頻度は約15,000~20,000人に1人である。本症ではこの酵素欠損によってグルココルチコイドとミネラルコルチコイドの不足が生じ、低Na血症、高K血症、低血圧、低血糖などの副腎不全を起こす。低血圧、低血糖などの症状は副腎髄質の形成不全によるカテコールアミンの不足によりさらに助長される可能性がある。胎児期の水分・電解質のコントロールは胎盤、ならびに母親の腎臓によって行われているため、塩喪失症状は出生後2週目以降に出現することが多い。また女兒では胎児期の過剰な副腎アンドロゲンにより外性器の男性化を起こす。日本では1989年より新生児マススクリーニングの対象疾患となっている。本症の場合、新生児マススクリーニングで17-ヒドロキシprogステロン (以下17-OHP) 高値で、副腎不全の症状、皮膚の色素沈着、女兒の場合の外性器異常などが認められる典型例の診断は容易である。新生児期における21-水酸化酵素欠損症の診断のための手引きが報告されている³⁾。診断の手引きにも記載されているが、男児の陰莖長については増大の判断が難しいことが多い。検査では血清電解質のほか、17

-OHPの上昇、その尿中代謝産物であるpregnantriol (PT)の上昇は有用である。低出生体重児で一過性に17-OHPが上昇し、21-OHDと鑑別が難しいことはよく知られている。その場合特に血清21-deoxycortisol (21-DOF)、その尿中代謝物であるpregnantriolone (PTL)の測定が有用であるが、血清21-DOFの測定が保険適用外であり、尿中PTLの測定は限られた施設でのみ測定が可能である⁴⁾。副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班の診断の手引きを示す(表3)。

2. 先天性リポイド過形成症

本疾患はコレステロールのミトコンドリアへの輸送を行うSteroidogenic acute regulatory protein (StAR) 遺伝子の異常がほとんどであるが、コレステロール側鎖切断酵素異常による場合もある⁵⁾。本症では副腎、性腺でのステロイド合成が欠如する。性ステロイド合成の障害により46,XYあるいは46,XXの核型であれ、ほぼ全例で女性型外性器所見を示す。しかし外性器の一部男性化、完全な男性化を示した症例も報告されている。副腎不全の症状、全身皮膚色素沈着に加え、画像診断では副腎の腫大、特に副腎CTにおけるfat densityを伴う副腎腫大の診断的価値が高い。副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班の診断の手引きを示す(表4)。

3. P450 oxidoreductase (POR) 欠損症

以前より17-水酸化酵素と21-水酸化酵素の複合欠損の存在が知られていた。また別に頭蓋早期癒合症、上腕一橈骨癒合、大腿骨の弓状変形を示すAntley-Bixler症候群の一部に女兒の陰核肥大、陰唇癒合の症状、血清17-OHPの高値、コルチゾールの低値が認められていたが、これらの疾患はPORの異常によって発症することが明らかにされた⁶⁾。PORはマイクロゾーム分画に存在するすべてのチトクロームP450に電子伝達を行

表3 21-水酸化酵素欠損症

臨床症状

1. 副腎不全症状
哺乳力低下，体重増加不良，嘔気・嘔吐，脱水，意識障害，ショックなど。
2. 男性化徴候
女兒における陰核肥大，陰唇癒合，共通泌尿生殖洞，女性における多毛。
男子における伸展陰茎長の増大。男性における無精子症。
3. 皮膚色素沈着
全身のび漫性の色素沈着。
口腔粘膜，口唇，乳輪，臍，外陰部に強い色素沈着。
4. 低身長
男女とも副腎アンドロゲンの過剰は早期身長発育を促すが，早期骨端線閉鎖により最終的には低身長を来す。

検査所見

血清17-OHP の高値

参考検査所見

1. 尿中 PT 高値 (注1)
2. 尿中 Pregnanetriolone (Ptl) 高値
11-hydroxyandrostosterone (11-OHAn)/Pregnanediol (PD) 高値 (注2)
3. 尿中17KS 高値，尿中17-OHCS 高値 (注3)
4. 血漿 ACTH 高値
5. PRA 高値
6. 低 Na 血症，高K血症

染色体検査

遺伝子診断

P450c21遺伝子 (CYP21A2) の異常

除外項目

- ・ 3β水酸化ステロイド脱水素酵素欠損症
- ・ P450オキシドレダクターゼ (POR) 欠損症
- ・ 11β-水酸化酵素欠損症

(注1) 新生児期においては特異性が低い。

(注2) 国内では尿 Ptl はガスクロマトグラフ質量分析—選択的イオンモニタリング法による尿ステロイドプロファイル (保険未収載) で測定可能であり，診断に有用である。一方，ガスクロマトグラフ法では偽高値となる。

(注3) 新生児において基準値はなく，特異性も低い。

〈診断基準〉

除外項目を除外したうえで，

- 臨床症状を認め，新生児マススクリーニングで17-OHP 高値が認められれば診断可能。
- 副腎不全，塩喪失状態を認めない男性化徴候を認める女兒では血清17-OHP 高値であれば診断可能。ただし，血清17OHP-RIA 法の在胎週数別，年齢別基準範囲は必ずしも確立していない。
- 副腎不全，塩喪失状態を認めない男児では血清17-OHP 高値で色素沈着を認める場合は診断可能。ただし，血清17OHP-RIA 法の在胎週数別，年齢別基準範囲は必ずしも確立していない。
- 新生児期に臨床症状を認めない男児，女兒において血清17-OHP 上昇のみの場合には，偽陽性，一過性高17-OHP 血症，あるいは非古典型の可能性がある (とくに早期産児の場合偽陽性が多いことに注意)。ガスクロマトグラフ質量分析—選択的イオンモニタリング法による尿 Ptl により鑑別診断可能である。

表4 先天性リポイド過形成症

臨床症状

1. 副腎不全症状
哺乳力低下, 体重増加不良, 嘔吐, 脱水, 意識障害, ショックなど.
2. 皮膚色素沈着
全身のび漫性の色素沈着.
口腔粘膜, 口唇, 乳輪, 臍, 外陰部に強い色素沈着.
3. 外性器所見 (注1)
ほぼ全例女性型外性器.

参考検査所見

1. 画像検索による副腎皮質の腫大 (注2)
2. 血漿 ACTH 高値
3. PRA 高値
4. 尿中ステロイドプロフィールにおいて, ステロイド代謝物の全般的低下. 特に新生児期の胎生皮質ステロイド異常低値 (注3)
5. 低 Na 血症, 高 K 血症

染色体検査

遺伝子診断

- Steroidogenic acute regulatory protein (StAR) 遺伝子の異常 (90%以上の症例で同定される)
- コレステロール側鎖切断酵素 (P450scc) 遺伝子 (CYP11A) の異常

除外項目

- 先天性副腎低形成症
- ACTH 不応症
- 21-水酸化酵素欠損症
- 3 β 水酸化ステロイド脱水素酵素欠損症

(注1) 本症では殆どが外性器は女性型であるが, 一部外性器の軽度の男性化を示す46,XY女性例 (StAR 異常, P450scc異常), 外性器が完全な男性型を示す46,XY男子例 (StAR 異常症) が存在する.

(注2) 先天性リポイド過形成症 (とくに P450scc 異常) でも副腎の腫大を認めない場合があり, その場合先天性副腎低形成との鑑別は難しい. 特に治療開始後に副腎の腫大を認めない際に, 本症を否定することはできない. 遺伝子診断を参考に診断する.

(注3) 国内ではガスクロマトグラフ質量分析—選択的イオンモニタリング法による尿ステロイドプロフィール (保険未収載) が可能であり, 診断に有用である (ただし本検査のみで先天性リポイド過形成症と先天性副腎低形成症との鑑別は不可能).

<診断基準>

除外項目を除外したうえで,

- 3つの臨床症状, 副腎の腫大を認めた場合は, 診断可能. 特に副腎 CT における fat density を伴う副腎腫大は診断的価値が高い.
- 注1, 注2にあるように非典型例では臨床症状, 各種検査所見を組み合わせで診断を行う. ただし副腎不全を来しているときは治療が優先される. ステロイド補充は各種内分泌検査, 染色体検査の結果を待たずに行う. 症状が落ち着いてから, 各種検査結果を総合して診断を確定する. 必要であれば遺伝子診断を行う.

う補酵素である。この異常によりマイクロゾーム分画に存在する17-水酸化酵素欠損, 21-水酸化酵素の両者の機能が阻害される。臨床症状は46,XX 女児の陰核肥大, 陰唇の癒合などの男性化, 46,XY 男児では停留精巣, 小陰茎, 尿道下裂などの不完全な男性化が認められる。そのほか骨症状として上記の症状のほか関節拘縮, くも状指を認める。稀に骨症状を認めない症例も存在する。出生後重篤な副腎不全に陥ることはないが, 感染などのストレスを契機に副腎不全を発症する場合がある。診断は上記の外性器異常, 骨症状などで本疾患を疑う。新生児マススクリーニングの17-OHP の軽度上昇によって診断に至る場合もある。確定のためには17-水酸化酵素活性と21-水酸化酵素活性の両者の低下を証明することが必要であるが, 尿中ステロイドプロファイルの測定による生化学的診断が有用である⁷⁾。副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班の診断の手引きを示す(表5)。

4. 3 β -水酸化ステロイド脱水素酵素欠損症

本疾患ではこの酵素欠損により大量のDHEA が産生され, そのごく一部が副腎外でテストステロンに変換されるため, 46,XX 女児で軽度の男性化を認める場合がある。46,XY 男児においては外性器の完全な男性化に必要な十分量のテストステロンは産生されないため, 停留精巣, 尿道下裂などの不完全な男性化を示す。グルココルチコイドとミネラルコルチコイドは重度に欠損し, 出生後早期に副腎不全を示す。副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班の診断の手引きを示す(表6)。

5. 先天性副腎皮質低形成

X-連鎖性副腎低形成症は組織学的には胎児副腎皮質の残存と永久副腎皮質の欠如を特徴とする。この疾患はXp21に存在するDosage-sensitive sex reversal adrenal hypo-

plasia congenita critical region on the X-chromosome, gene-1 [DAX-1 (NR 0 B 1)] の異常によって発症する⁸⁾。この領域の微小欠失は隣接遺伝子症候群としてグリセロールキナーゼ欠損症, Duchenne 型筋ジストロフィー, 精神発達遅延を伴う複合型グリセロールキナーゼ欠損症を発症する。

X-連鎖性副腎低形成の多くは新生児期に副腎不全を発症する。しかし幼児期や学童期, さらには成人での発症も報告されている。さらに低ゴナドトロピン性性腺機能低下症を合併し, 停留精巣, 小陰茎を伴うことがある。また精子形成は十分には起こらず, 本症での妊孕性の報告はない。日本での発生頻度は約12,500人に1人と比較的多い。常染色体劣性形式の先天性副腎低形成症も報告されているが, その成因については不明である。副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班の診断の手引きを示す(表7)。

6. IMAGE 症候群

この症候群は1990年に最初に Vilain らによって子宮内発育遅延 (IUGR), 骨幹端異形成 (metaphyseal dysplasia), 副腎低形成 (adrenal hypoplasia congenital), 外性器異常 (genital anomalies) を特徴とする疾患として報告, その後何例かが続いて報告された⁹⁾。副腎不全は新生児期に認められることが多い。本邦においても濱嶋らが新生児期に副腎不全, 尿道下裂, 停留精巣にて診断, それを契機に兄, 姉の診断に至った家族例を報告している¹⁰⁾。本症の原因は同定されていない。副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班の診断の手引きを示す(表8)。

III. 続発性副腎皮質機能低下症

続発性の原因としては ACTH 分泌不全がある。ACTH によって分泌をコントロールされているグルココルチコイドの生合成, 分泌が障害される。原発性との鑑別はしばしば

表5 P450オキシドレダクターゼ (POR) 欠損症

臨床症状

主症状

1. 外性器異常
 女児における陰核肥大, 陰唇の癒合などの外陰部の男性化。
 男児における小陰茎, 尿道下裂, 停留精巣などの不完全な男性化。
2. 骨症状 (注1)
 頭蓋骨癒合症, 顔面低形成, 大腿骨の彎曲。
 関節拘縮, くも状指。

副症状

1. 二次性徴の欠如, 原発性無月経
2. 母体の妊娠中期からの男性化と児出生後の改善
3. 副腎不全

検査所見

血清17-OHP の高値 (注2)

参考検査所見

1. ACTH 負荷試験: CYP21と CYP17酵素活性の複合欠損の生化学診断 (注3)
 ACTH 負荷試験後のプロゲステロン, 17-OH pregnenolone, 17-OH progesterone, deoxycorticosterone, corticosterone の上昇。
 dehydroepiandrosterone (DHEA), androstenedione (Δ4A) の上昇は認めない。
2. 尿中ステロイドプロフィールによる CYP21と CYP17酵素活性の複合欠損の生化学診断 (注4)。新生児期～乳児期早期: 尿中 Pregnanetriolone (Ptl) 高値, および11-hydroxyandrostosterone (11-OHAn)/Pregnanediol (PD) 低値。乳児期後期以降: pregnenolone・progesterone・DOC・corticosterone・17OHP・21-deoxycortisol 代謝物高値。
3. 特徴的骨レントゲン所見 (橈骨上腕骨癒合症, 大腿骨彎曲など)

染色体検査

遺伝子診断

POR 遺伝子の異常

除外項目

- ・21-水酸化酵素欠損症
- ・17α-水酸化酵素欠損症
- ・3β水酸化ステロイド脱水素酵素欠損症
- ・アロマトラーゼ欠損症

(注1) 稀に骨奇形が軽度, あるいは認めない症例が存在する。その場合は内分泌検査や遺伝子診断を行い診断する。

(注2) 新生児期においては正常上限付近のことが多い。

(注3) CYP21と CYP17活性の低下を証明する必要がある。いくつかの検査項目は保険収載されていないが, 一部の民間検査機関で測定可能である。ただし生後6カ月までは, 免役化学的測定直接法による血中ステロイドホルモン測定は胎生皮質ステロイドの影響を受け, 生化学診断は必ずしも有用ではない。

(注4) 国内ではガスクロマトグラフ質量分析—選択的イオンモニタリング法による尿ステロイドプロフィール (保険未収載) が可能であり, 診断に有用である。

〈診断基準〉

- 主症状をすべて認め, 血清17-OHP が上昇している場合は診断可能。
- 骨症状および特徴的骨レントゲン所見を認めない場合は検査所見, 参考所見を検討し診断する。
- グルココルチコイドの補充方法, 量については各症例によって異なる。突然死の報告もあるので, ストレス時のグルココルチコイドの補充について症例ごとに必要性を検討すべきである。

表 6 3β-水酸化ステロイド脱水素酵素欠損症

臨床症状

1. 副腎不全症状
哺乳力低下, 体重増加不良, 嘔吐, 脱水, 意識障害, ショックなど.
2. 皮膚色素沈着
全身のび慢性の色素沈着.
口腔粘膜, 口唇, 乳輪, 臍, 外陰部に強い色素沈着.
3. 外性器所見
46,XY 症例では尿道下裂, 停留精巣などの不完全な男性化.
46,XX 症例では正常女性型から軽度の陰核肥大, 陰唇癒合 (軽度の男性化).

参考検査所見

1. 血漿 ACTH 高値
2. PRA の高値
3. Pregnenolone/Progesterone, 17-OH pregnenolone/17-OH progesterone, DHEA/Δ4-androstenedione 比の上昇 (注1)
4. 低 Na 血症, 高 K 血症

染色体検査

遺伝子診断

タイプII 3βHSD 遺伝子 (HSD3B2) の異常

除外項目

- ・ 21-水酸化酵素欠損症
- ・ 11β-水酸化酵素欠損症
- ・ 17α-水酸化酵素欠損症
- ・ POR 欠損症

(注1) 内分泌学的にΔ5-/Δ4-ステロイド比の上昇がマーカーになるが17-OHP, Δ4-androstenedione の上昇を認める場合もある。いくつかの検査項目は保険収載されていないが、一部の民間検査機関で測定可能である。ただし生後6カ月までは、免役化学的測定一直接法による血中ステロイドホルモン測定は診断に必ずしも有用ではない (測定に胎生皮質ステロイドの影響を受けるからである)。

〈診断基準〉

除外項目を除外したうえで

- 3つの臨床症状を認める場合は診断可能。
- 染色体検査は時間がかかるため、副腎不全を来している場合は治療が優先される。この場合症状が落ちついてから、各種検査結果を総合して診断を確定する。必要があれば遺伝子診断を行う。

困難である。ACTH の分泌不全としては視床下部-下垂体障害などによる複合型下垂体前葉ホルモン欠損症に伴うものと ACTH の単独欠損によるものがある。

複合型下垂体前葉ホルモン欠損症に伴う ACTH 欠損では新生児期に低血糖による症状, チアノーゼ, 無呼吸, 呼吸障害, 重症な低血糖を認める。その他黄疸を認め, 新生児肝炎と類似した症状を呈する場合もある¹¹⁾。

男児では LH の欠損により精巣の発生が障害され, 停留精巣, 小陰茎を認める場合もある。

ACTH 単独欠損では, pro-opiomelanocortin (POMC) 欠損症がある。POMC のペプチドが分解をうけて ACTH と αMSH を産生するが, この POMC 遺伝子の常染色体劣性の異常により ACTH 分泌が起こらず, 副腎不全に加え, 乳児期早期から始まる

表7 先天性副腎低形成症診断の手引き

A. DAX-1 異常症 (X 連鎖性)

I. 臨床症状

1. 副腎不全症状：発症時期は新生児期から成人期までさまざまである。哺乳力低下，体重増加不良，嘔吐，脱水，意識障害，ショックなど。
2. 皮膚色素沈着
全身のび漫性の色素沈着
3. 低ゴナドトロピン性性腺機能不全
停留精巣，マイクロペニス，二次性徴発達不全（年長児）（注1）
4. 精子形成障害

II. 検査所見

1. すべての副腎皮質ホルモンの低下
 - (1) 血中コルチゾールの低値
 - (2) 血中アルドステロンの低値
 - (3) 血中副腎アンドロゲンの低値
 - (4) 尿中17-OHCS/コルチゾール，17-KS の低値
 - (5) ACTH 負荷試験ですべての副腎皮質ホルモンの分泌低下
 - (6) 尿中ステロイドプロファイルにおいて，ステロイド代謝物の全般的低下，特に新生児期の胎児皮質ステロイド異常低値（注2）
2. 血中 ACTH, PRA の高値
3. 血中ゴナドトロピン低値
4. 画像診断による副腎低形成の証明

III. 遺伝子診断

DAX-1 (NR0B1) 遺伝子の異常

IV. 除外項目

SF-1/AD4BP 異常症
ACTH 不応症（コルチゾール低値，アルドステロン正常）
先天性リポイド過形成症

V. 副腎病理所見

永久副腎皮質の形成障害と空胞形成を伴う巨大細胞で形成された胎児副腎皮質の残存とを特徴とする cytomegalic form を示す。

VI. 参考所見

Duchene 型筋ジストロフィー症に先天性副腎低形成を合併することがある。
精神発達遅滞，成長障害，glycerol kinase 欠損症を伴う，DAX-1 遺伝子欠失による。

(注1) 例外的にゴナドトロピン非依存性の思春期早発を来した症例の報告がある。

(注2) 国内ではガスクロマトグラフ質量分析—選択的イオンモニタリング法による尿ステロイドプロフィール（保険未収載）が可能であり，診断に有用である（ただし本検査のみで先天性副腎低形成症と先天性リポイド過形成症との鑑別は不可能）。

【診断基準】

確実例：I, II, IIIおよびIVを満たすもの
ほぼ確実例：I, IIおよびIVを満たすもの
疑い例：I, IVおよびIIの一部を満たすもの

肥満，毛髪の色素異常（赤毛）を伴う¹²⁾。肥満，毛髪の色素異常は α MSH も同時に分泌が障害されるためである。また下垂体のコルチコトロフの分化，増殖に必須で，かつ

POMC 遺伝子のプロモーター領域に結合し，発現を調節する転写因子として TPIT が2001年に同定された¹³⁾。この遺伝子は常染色体劣性遺伝を示し，ACTH 欠損が起こる。

表8 IMAGE 症候群 (原因不明)

I. 臨床症状

1. 子宮内発育遅延 (intrauterine growth retardation : IUGR)
2. 骨幹端異形成症 (metaphyseal dysplasia)
3. 先天性副腎低形成 (adrenal hypoplasia congenital) 副腎不全症状, 皮膚色素沈着
4. 外性器異常 (genital anomalies) ミクロペニス, 尿道下裂など

II. 検査所見

1. すべての副腎皮質ホルモンの低下: 軽症例の報告がある.
 - (1) 血中コルチゾールの低値
 - (2) 血中アルドステロンの低値
 - (3) 血中副腎アンドロゲンの低値
 - (4) ACTH 負荷試験ですべての副腎皮質ホルモンの分泌低下
2. 血中 ACTH の高値
3. 画像診断による副腎低形成の証明
4. X線による長管骨の骨幹端異形成
5. 高カルシウム尿症を認める場合がある.
6. 骨年齢の遅延

III. 除外項目

- DAX-1 異常症
- SF-1/AD4BP 異常症
- ACTH 不応症 (コルチゾール低値, アルドステロン正常)
- 先天性リポイド過形成症

【診断基準】

- 確実例: Iのすべて, IIおよびIIIを満たすもの
- ほぼ確実例: Iの一部, IIおよびIIIを満たすもの
- 疑い例: I, IIの一部, およびIIIを満たすもの

新生児期に低血糖, 哺乳不全などの症状を示した27人の ACTH 欠損症のなかで17人に TPIT の異常を認めたという報告もある¹⁴⁾。

おわりに

先天性の副腎不全の症状, 診断, 病態について概説した。また最近報告された副腎ホルモン産生異常に関する調査研究班の診断の手引きを示した。

成因は様々であり症状も非特異的なことも多いため, タイミングを逸せず副腎不全を疑い, まずその治療を行う必要がある。

文 献

1) Fujieda K et al : Molecular basis of adrenal

insufficiency. *Pediatr Res* 57, 62~69 37 2005

2) 田島敏広: 副腎皮質機能低下症. *周産期医学* 35:1651~1653, 2005

3) 税所純敬他: 先天性副腎皮質過形成症 (21-水酸化酵素欠損症) 新生児マススクリーニング陽性者の取り扱い基準-診断の手引き. *日児誌* 103:695~697, 1999

4) 長谷川奉延: 古典型21水酸化酵素欠損症. *周産期医学* 35:1645~1650, 2005

5) Tajima T et al : Heterozygous mutation in the cholesterol side chain cleavage enzyme (p450scc) gene in a patient with 46, XY sex reversal and adrenal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 86:3820~3825, 2001

6) Fluck CE et al : Mutant P450 oxidoreductase causes disordered steroid genesis with and without Antley-Bixler syndrome : *Nat Genet* 36:228~230, 2004

7) Homma K et al : Urine steroid hormone profile analysis in cytochrome P450 oxidor-

- eductase deficiency : implication for the back-door pathway to dihydrotestosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 91 : 2643~2649, 2006
- 8) Muscatelli F et al : rise to both X-linked adrenal hypoplasia congenital and hypogonadotropic hypogonadism.
- 9) Vilain E et al : IMAGE, a new clinical association of intrauterine growth retardation metaphysical dysplasia, adrenal hypoplasia congenital and genital abnormalities. *J Clin Endocrinol Metab* 84 : 4335~4340, 1999
- 10) 濱嶋直樹他 : IMAGE syndrome と考えられた兄弟姉妹例. 第38回日本小児内分泌学会抄録集 p. 114, 2004
- 11) Tajima T et al : Sporadic heterozygous frameshift mutation of HESX1 causing pituitary and optic nerve hypoplasia and combined pituitary hormone deficiency in a Japanese patient. *J Clin Endocrinol Metab.* 88 : 45~50, 2003
- 12) 鬼形和道他 : POMC 変異. *日本臨牀* 28 : 255~259, 2006
- 13) Lamolet B et al : A pituitary cell-restricted T-box factor, Tpit, activates POMC transcription in cooperation with Pitx homeoproteins. *Cell* 104 : 849~859, 2001
- 14) Kasic-Vallette S et al : Congenital isolated adreno-corticotropin deficiency : an underestimated cause of neonatal death, explained by TPIT gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab* 90 : 1323~1331, 2005
- 15) Metherell LA et al : Mutations in MRAP encoding a new interacting partner of the ACTH receptor, cause familial glucocorticoid deficiency type 2. *Nat Genet* 37 ; 166~170, 2005



Elevated Free Thyroxine Levels Detected by a Neonatal Screening System

TOSHIHIRO TAJIMA, WAKAKO JO, KAORI FUJIKURA, MASARU FUKUSHI, AND KENJI FUJIEDA

Department of Pediatrics [T.T., W.J.], Hokkaido University School of Medicine, Sapporo, Hokkaido 060-8635, Japan; Sapporo City Institute of Public Health [K.F., M.F.], Sapporo, Hokkaido 003-8505, Japan; Department of Pediatrics [K.F.], Asahikawa Medical College School of Medicine, Asahikawa, Hokkaido 078-8510, Japan

ABSTRACT: In Sapporo city of Japan, neonatal screening for congenital hypothyroidism has used the measurement of free thyroxine (T4) and thyroid-stimulating hormone (TSH) in the filter-paper blood spot. This system has enabled us to identify hyperthyroxinemic diseases. Filter papers were collected from neonatal infants born at 4–6 d of age and neonates who showed elevated free T4 (>4.0 ng/dL, 4 SD above the mean) were studied. Between January 2000 and December 2006, 83,232 newborns were screened. Eleven infants demonstrated persistent hyperthyroxinemia. One patient with slightly elevated free T4 and normal TSH was diagnosed as having familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia (FDH). The other two patients with elevated free T4 without suppressed TSH were considered as having resistance of thyroid hormone (RTH), and analysis of thyroid hormone receptor (TR) β gene confirmed the diagnosis. The remaining eight patients were diagnosed as having neonatal Graves' disease (NGD). Seven of eight pregnant women were treated with antithyroid drug and thus only one unrecognized NGD during pregnancy was detected by screening. Our screening system enables for early awareness of RTH and FDH. Regarding Graves' disease, the benefit of elevated free T4 screening is small, because most pregnant women with Graves' disease were managed. (*Pediatr Res* 66: 312–316, 2009)

Congenital hypothyroidism is the most prevalent endocrine disorder in the newborn, with a rather constant worldwide incidence of permanent congenital hypothyroidism of 1:3000 to 1:4000 newborns (1,2). The main purpose of neonatal mass screening for congenital hypothyroidism is early detection and treatment to hypothyroidism. During the past three decades, this screening has been very successful with the vast majority of patients with congenital hypothyroidism achieving normal neurologic outcome (1–3). Two methods for the screening system are now used. Most screening programs in Europe and Asia, including Japan, use primary thyroid-stimulating hormone (TSH) screening. Another program is thyroxine (T4) or free T4-based neonatal screening (4–6). T4 or free T4 screening enables the detection of hyperthyroxinemia in addition to congenital hypothyroidism. In hyperthyroxinemic disorders, neonatal Graves' disease (NGD) is thought to be the most prevalent and the occurrence is estimated as one in 10,000 to 50,000 newborn infants (7–9). Activating mutation of TSH receptor mutations and gain of function mutations

of Gs α protein McCune-Albright syndrome has been also reported to cause hyperthyroidism in neonatal period (10,11).

LaFranchi *et al.* (12) have reported the first systematic study to screen neonatal hyperthyroxinemia using T4 screening in Oregon. According to their study, any case with NGD among 80,884 infants was not detected. Instead, 10 had thyroxine-binding globulin excess, five were thought to be familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia (FDH), and two had resistance of thyroid hormone (RTH). After this report, the study of differential diagnosis of neonatal hyperthyroxinemia detected by neonatal screening is scarce (12,13).

In Sapporo of Japan, neonatal screening for congenital hypothyroidism has been based on simultaneous TSH and free T4 measurements and was effective for the identification of primary and central congenital hypothyroidism (6). As free T4 measurement could also identify hyperthyroxinemic disorder, we have determined the type of diseases detected by elevated free T4 in neonatal screening between 2000 and 2006 in Sapporo of Japan.

METHODS

A neonatal screening for congenital hypothyroidism and thyroid hormone measurement. In Sapporo of Japan, ~10,000 infants were born annually. Almost 100% of these newborns were subjected to neonatal screening. The neonatal screening program for congenital hypothyroidism was based on simultaneous TSH and free T4 measurements in dried blood on filter paper specimens. Dried blood samples on filter paper were collected from neonatal infants born in Sapporo City at 4–6 d of age from maternity and parturition clinics to screening center. Whole blood was drawn by heel prick, and TSH and free T4 were then measured from one punched 3.2-mm circle, which corresponded to 3.5 μ L of whole blood. TSH and free T4 were measured by ELISA kits (Bayer Medical Enzplate Neo-TSH and Enzplate N-FT4 kits, Japan). In free T4 measurement, intraassay coefficient variation was 7.6–8.1% and interassay coefficient variation was 9.4–18%. To detect infants who were at risk for hyperthyroxinemic disorders, we determined the upper cutoff values for free T4 as 4.0 ng/dL. This cutoff value represented >4 SD above the mean. If infants had free T4 values >4.0 ng/dL, then second heel puncture was requested.

In one family of FDH, serum T4, triiodothyronine (T3), free T4, free T3, and TSH were measured using commercial RIA kits (Dinabot, Matsudo, Japan). Serum free T4 and free T3 were also measured by one-step labeled antibody radioassay (Amerlex MAB free T4 and free T3 kits, Trinity Biotech, Ireland).

Gene analysis. DNA analysis of thyroid diseases was approved by the ethical committee of Hokkaido University School of Medicine, and informed consent for DNA analysis was obtained from their parents. To examine the

Received February 9, 2009; accepted April 29, 2009.

Correspondence: Toshihiro Tajima, MD, PhD, Department of Pediatrics, Hokkaido University School of Medicine, N15, W7, Sapporo, Japan; e-mail: tajeari@med.hokudai.ac.jp

Abbreviations: FDH, Familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia; RTH, Resistance of thyroid hormone; TR β , Thyroid hormone receptor; TSH, Thyroid stimulating hormone; T4, Thyroxine; T3, Triiodothyronine

mutation (R218P) in exon 7 of the albumin gene, the endonuclease digestion/allele-specific primer method was used as described previously (14). For the thyroid hormone receptor (TR) β gene analysis, each exon was amplified by PCR according to a previous report (15) and directly sequenced.

RESULTS

From January 2000 to December 2006, a total of 83,232 infants were screened. During this period, 28 infants demonstrated elevated free T4 at first screening. Of 28 infants, 11 infants showed persistent increased free T4, whereas the second screening sample of 17 infants decreased to normal levels. Values of the first screening in the 11 infants with persistent hyperthyroxinemia who were subjected to further evaluation were shown in Table 1.

Cases of NGD. Of these 11 infants, eight infants were diagnosed as having NGD. Therefore, the estimated incidence of NGD is one in 10,404 during this period. Thyroid function of these patients was summarized in Table 2. Because our city had several central hospitals for maternal and neonatal care, mothers of patient 2, 4, 5, and 6 were referred to our city for further follow-up and treatment for maternal Graves' disease from other district. Among these patients, Graves' disease of only patient 1 was detected by neonatal screening. The mother was not known to have Graves' disease, but after her neonates' diagnosis, she was also diagnosed with Graves' disease. The other patients were closely observed and evaluated periodically after birth and were diagnosed as having NGD.

In patient 2, at gestational age of 27 wk, persistent fetal tachycardia was identified, and the mother was referred to our hospital. Maternal thyroid function test revealed maternal Graves' disease and fetal thyrotoxicosis was suspected. Antithyroid drug of propylthiouracil 150 mg/d, via maternal oral administration was initiated. The mother of patient 3 was diagnosed as having Graves' disease at gestational age of 15 wk for the first time and propylthiouracil (150 mg/d) was started. Mothers of patient 4, 5, 6, 7, and 8 were diagnosed as having Graves' disease before pregnancy and they received propylthiouracil or methimazole.

All eight neonates with Graves' disease were required for methimazole treatment. Of eight neonates, four patients demonstrated normal cord blood or mild low free T4 with low or normal TSH levels (Table 2). Treatment of antithyroid drug was stopped in all these neonates and they need no further intervention of hyperthyroidism. Among eight neonates, we

are continuing to follow-up six neonates. They have normal neuropsychological development.

During this screening period, central hypothyroidism due to maternal Graves' disease was not observed.

A case of FDH. The first screening of case 9 with FDH showed mildly elevated free T4 (4.88 ng/dL) and normal TSH levels. As mildly elevated free T4 (4.02 ng/dL) at 23 d of age were observed in the second screening test, he was referred to our hospital at 45 d of age. At the referral, he grew well and did not show any sign of hyperthyroidism. Thyroid function of case 9 and his family was summarized in Table 3. He revealed the extremely high total T4 and T3 levels (Table 3). Serum free T4 and free T3 were also high using T4 and T3 analog RIA kit (Table 3). By using one labeled antibody radioassay kit, serum free T4 was normal (1.0 ng/dL) but free T3 was elevated (82.3 pg/mL) (Table 3). It is known that the measurements of the free T3 and free T4 concentrations in serum may give spurious results in FDH, especially in assay using iodothyronine analogs that bind to the abnormal albumin (16,17). His thyroid binding globulin (TBG) level was within the normal range. On the basis of these findings, he was suspected to have FDH. From the interview, his father had been treated with antithyroid drug, but he had no symptom and stopped medication. His father and his elder brother also showed similar results to the infants. Because R216P of the albumin gene has been identified in a Japanese FDH family (14), we investigated this mutation. The result of the albumin gene analysis was shown in Figure 1. The infant, his father, and the elder brother had the mutant and normal bands. On the other hand, the mother had only normal band. Therefore, we confirmed the diagnosis of FDH in this family.

Cases of RTH. Thyroid function tests of two infants (case 10 and 11) with RTH were summarized in Table 4. In these two patients, there was no family history of thyroid disease. Serial thyroid function testing up to 3 y old in both infants continued to show elevated serum free T4 and free T3 with nonsuppressed TSH concentrations. They have not shown any abnormal findings except tachycardia (heart rate, 120–140 beats per minute at rest) so far. We analyzed the TR β gene from two patients. Case 10 was heterozygous for transition of 1114 C>T in exon 8. This results in the substitution of threonine (ACA) by isoleucine (ATA) at position 277 (T277I) (Fig. 2A). Thirty normal Japanese individuals did not harbor this base change of the TR β gene. In Case 11, a heterozygous single-base insertion (C) in codon 446–447, which resulted in a frameshift (c.1627_1628insC) was found in exon 9 (Fig. 2B). This mutation was previously reported (15). Thus, the diagnosis of RTH of two individuals was confirmed.

DISCUSSION

Our newborn screening program of free T4 measurement identified 11 infants with persistent elevated free T4 levels during 2000 to 2006. Our main purpose of detection of infants with elevated free T4 by neonatal screening is early diagnosis and medical intervention of some kinds of hyperthyroidism. These conditions include NGD, hyperthyroidism of McCune-Albright syndrome, and activating TSH receptor mutations.

Table 1. Results of first neonatal screening

Patient	Sex	TSH (mU/L)	Free T4 (ng/dL)	Age (days after birth)	Final diagnosis
1	F	<0.5	8.24	6	NGD
2	M	<0.5	>12	5	NGD
3	F	<0.5	>12	5	NGD
4	F	<0.5	4.12	4	NGD
5	F	<0.5	8.78	5	NGD
6	F	<0.5	9.01	5	NGD
7	M	<0.5	>9.8	5	NGD
8	M	12	4.13	5	NGD
9	M	2.9	4.88	5	FDH
10	M	1.4	4.45	5	RTH
11	M	1.7	5.72	6	RTH

Table 2. Serum thyroid test results in eight infants with neonatal Graves' disease

Patient	Sex	Gestational week	Birth weight	Free T4 (ng/dL)		Free T3 (pg/mL)		TSH (mU/L)		TSI* (%)	
				Cord blood†	Serum (days after birth)‡	Cord blood†	Serum (days after birth)‡	Cord blood†	Serum (days after birth)‡	Cord blood	Serum (days after birth)
1	F	36	2252	ND	6.9 (14)	ND	13.4 (14)	ND	0.46 (14)	ND	450 (14)
2§	F	32	1840	1.82	>15.0 (3)	2.46	>20.0 (3)	<0.05	<0.05 (3)	1313	ND
3§	F	33	1918	ND	9.5 (2)	ND	>20.0 (2)	ND	<0.05 (2)	1222	ND
4§	F	35	2730	ND	5.3 (5)	ND	17.8 (5)	ND	0.06 (5)	ND	ND
5§	M	37	2308	ND	4.6 (14)	ND	10.4 (14)	ND	0.07(14)	ND	ND
6§	F	38	3656	1.47	17.4 (12)	1.53	>20.0 (12)	3.19	<0.05 (12)	325	ND
7§	M	38	3520	1.96	>12.0 (5)	1.05	>20.0 (5)	<0.05	<0.05 (5)	ND	530 (5)
8§	M	37	2520	0.96	>12.0 (14)	1.60	>16.3 (14)	7.88	<0.05 (14)	245	418 (14)

* TSI, thyroid stimulating immunoglobulin, normal range <180%.

† Normal range of cord blood: TSH (mU/L), 3.0–30.6; Free T4 (ng/dL), 1.0–1.7; Free T3 (pg/mL), 1.3–2.4.

‡ Normal range of serum levels after birth. Normal range of 2–3 d: TSH (mU/L), 0.8–12.9; Free T4 (ng/dL) 1.7–4.6; Free T3 (pg/mL), 3.4–8.5. Normal range of 5 d: TSH (mU/L), 0.4–6.0; Free T4 (ng/dL), 1.6–3.2; Free T3 (pg/mL), 2.2–5.0. Normal range of 7–30 d of age: TSH (mU/L), 0.5–4.6; Free T4 (ng/dL), 1.8–2.9; Free T3 (pg/mL), 2.7–4.6.

§ Except patient 1, mothers were diagnosed as having Graves' disease and receiving antithyroid drug therapy until and after birth. Mothers of patient 2, 3, 4, and 6 were referred to specific centers in our city for maternal or fetal management of Graves' disease from other district.

|| ND, not determined.

Table 3. Serum thyroid test results in a family of FDH

	Total T4 (µg/dL)	Total T3 (ng/dL)	Free T4 (ng/dL)		Free T3 (pg/mL)		TSH (mU/L)	TBG (µg/mL)
			One-step labeled antibody radioassay	T4 analog RIA	One-step labeled antibody radioassay	T3 analog RIA		
Patient*	30<	387	1.0	37.5	82.5	18.5	2.6	19
Father	30<	502	1.2	50.9	51.4	24.3	0.82	18
Mother	11.2	198	1.1	1.6	3.2	3.6	1.7	22
Brother	30<	620	1.1	35.3	78.3	14.3	3.1	21

* Normal range at this age: TSH (mU/L), 0.34–3.5; T4 (µg/dL), 9.71–13.45; T3 (ng/dL), 142–204; Free T4 (ng/dL), 1.40–2.64; Free T3 (pg/mL), 3.29–4.90. Normal range of adult: TSH (mU/L), 0.55–3.55; T4 (µg/dL), 5.09–12.7; T3 (ng/dL), 95.7–192; Free T4 (ng/dL), 0.80–1.54; Free T3 (pg/mL), 2.73–3.98; TBG (thyroid binding globulin) (µg/mL), 14.5–28.0.

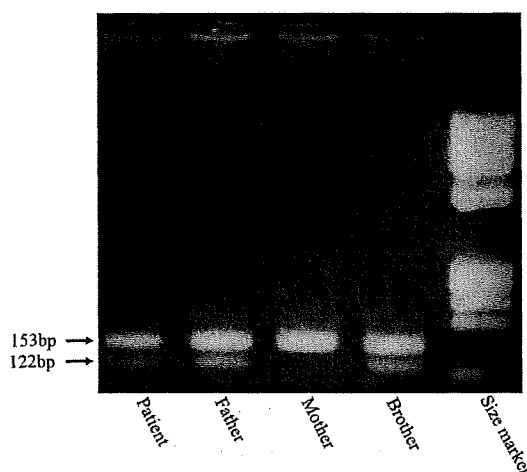


Figure 1. The result of the albumin gene analysis. This figure demonstrated agarose gel electrophoresis of case 9 and his family with FDH. The patient, the father, and the elder brother had both mutant (122 bp) and normal bands (153 bp), indicating that they were heterozygous for R218P mutation. On the other hand, the mother had only the normal band.

The latter two diseases were not found in our screening system, consistent with rarity of two diseases. Instead, our study detected eight neonates with Graves' disease. The first systematic neonatal screening for hyperthyrotoxic disease did not detect any case of NGD among 80,884 infants (12). Different from early screening program in the United States

(1–3 d of age), we collected blood specimen at 4–6 d of age. Early screening program may have missed some neonates born to mothers on higher doses of antithyroid drugs, because these neonates might have transient hypothyroidism. As far as we know, there were no such babies with NGD not detected by our screening during this period.

Concerning NGD, its occurrence has been estimated one in 10,000 to 50,000 (7–9). By contrast, the estimated occurrence of NGD of our study was 1 in 10,404. For Japanese population, accurate incidence of Graves' disease during pregnancy is not available; however, the prevalence is reported to be similar among whites and Asians (18). Therefore, our study may overestimate the prevalence of NGD. One reason for this is presumably high rate of maternal referral to center hospitals for maternal care in our city. As our city has several specific centers for maternal and neonatal intensive care, severe patients with maternal Graves' disease may have been referred from other regions. Indeed, among eight neonates with NGD, four mothers were referred to center hospitals in our city for management of maternal and fetal Graves' disease.

LaFranchi *et al.* (12) revealed that FDH could be detected by T4 neonatal screening for the first time. Our study was the second to report that FDH could be also detected by neonatal free T4 screening. Patients with FDH usually show normal free T4 levels, but free T4 levels of FDH can be artificially increased when they are measured by standard immunoassay methods (14,16,17). FDH was estimated to occur in approxi-

Table 4. Serum thyroid test results of patients with RTH and their parents

	Case 10	Mother	Father	Case 11	Mother	Father
Genotype	T277I	—*	—*	c.1627_1628insC	—*	ND
Age at examination	30 d†	29 y	25 y	32 d†	26 y	28 y
TSH (mU/L)	3.21	0.78	1.00	11.34	1.15	ND
T4 (μg/dL)	ND	7.80	8.31	23.6	ND	ND
Free T4 (ng/dL)	3.68	1.13	1.61	4.77	2.91	ND
T3 (ng/dL)	ND	139	108	354	ND	ND
Free T3 (pg/mL)	8.03	2.88	3.95	13.95	2.95	ND

ND, not determined.

* The mutation of the TRβ gene was not identified.

† Normal range at this age: TSH (mU/L), 0.34–3.5; T4 (μg/dL), 9.71–13.45; T3 (ng/dL), 142–204; Free T4 (ng/dL), 1.40–2.64; Free T3 (pg/mL), 3.29–4.90. Normal range of adult: TSH (mU/L), 0.55–3.55; T4 (μg/dL), 5.09–12.7; T3 (ng/dL), 95.7–192; Free T4 (ng/dL), 0.80–1.54; Free T3 (pg/mL), 2.73–3.98; TBG (thyroid binding globulin) (μg/mL), 14.5–28.0.

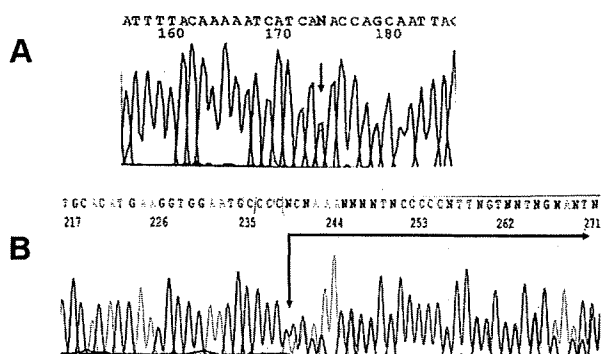


Figure 2. Mutations in the TRβ gene. (A) Case 10 was heterozygous for transition of 1114 C>T in exon 8. This changes threonine (ACA) to isoleucine (ATA) at position 277 (T277I). The mutation site was indicated by an arrow. (B) Sequence chromatograph in case 11. An arrow indicated the mutation site of one base insertion (C) (c.1627_1628insC) in exon 9. Note that after the insertion site, double bands were present (underline).

mately one in 83,000 individuals in our study. The prevalence of FDH is considered to be one in 7000 to one in 16,000 neonates in Caucasian. Our lower frequency may be due to the ethnic background of the population (19,20). Alternatively, it is plausible that free T4 screening may miss some individuals with FDH, because free T4 levels of FDH are sometimes within normal range. We prefer the latter speculation.

Regarding RTH, two mutations of the TRβ gene were identified. Of two mutations, case 10 had a novel mutation of T277I. We did not perform the functional study of this mutant TRβ. However, this base change was not found in 60 alleles from normal Japanese individuals. Furthermore, previously, a substitution of threonine 277 to alanine was reported in a patient with RTH (21). According to the literature, T277A mutant impaired transactivation function *in vitro*. Based on these findings, our mutant of T277I is not likely to be merely polymorphism.

It has been reported that RTH could be identified by neonatal screening (12,22,23). Weiss *et al.* (22) reported the detection of elevated blood T4 level with nonsuppressed TSH level on a newborn screening system, whose mother was diagnosed as having RTH. In addition, routine neonatal cord blood screening for congenital hypothyroidism could detect one infant with RTH (23). Previous systematic screening for hyperthyroxinemic diseases demonstrated that two patients with RTH were identified (12). The authors estimated the

frequency of RTH is approximately one in 40,000. Our study identified two patients with RTH and thus the occurrence was estimated to one in 41,618, consistent with the results of a previous report.

In summary, follow-up of newborns with persistent elevated free T4 concentrations enables us to detect FDH and RTH. This may be helpful to avoid mistakenly considering patients to have a hyperthyroid state. In addition, early intervention is possible for RTH. Concerning NGD, if pregnant women and fetus with Graves' disease are adequately followed, thyroid status of neonate should be evaluated periodically. Neonatal screening for elevated free T4 is beneficial for identification of NGD, if maternal Graves' disease is unrecognized during pregnancy. Furthermore, as there have been few studies of long-term psychomotor development of NGD after recovery, it is important to follow-up these patients continuously.

REFERENCES

1. Fisher DA, Dussault JH, Foley TP Jr, Klein AH, LaFranchi S, Larsen PR, Mitchell ML, Murphy WH, Walfish PG 1979 Screening for congenital hypothyroidism: results of screening one million North American infants. *J Pediatr* 94:700–705
2. Fisher DA 1983 Second International Conference on Neonatal Screening: progress report. *J Pediatr* 102:653–654
3. Fisher DA 2002 Congenital hypothyroidism. *Thyroid Int* 3:3–10
4. Hunter MK, Mandel SH, Sesser DE, Miyabira RS, Rien L, Skeels MR, LaFranchi SH 1998 Follow-up of newborns with low thyroxin and nonelevated thyroid-stimulating hormone-screening concentrations: results of the 20-year experience in the northwest regional newborn screening program. *J Pediatr* 132:70–74
5. van Tijn DA, de Vijlder JJ, Verbeeten B Jr, Verkerk PH, Vulsma T 2005 Neonatal detection of congenital hypothyroidism of central origin. *J Clin Endocrinol Metab* 90:3350–3359
6. Fujiwara F, Fujikura K, Okuhara K, Tsubaki J, Fukushi M, Fujita K, Fujieda K, Tajima T 2008 Central congenital hypothyroidism detected by Neonatal Screening in Sapporo, Japan (2000–2004): it's prevalence and clinical characteristics. *Clin Pediatr Endocrinol* 17:65–69
7. Zimmerman D 1999 Fetal and neonatal hyperthyroidism. *Thyroid* 9:727–733
8. LaFranchi SH, Hanna CE 2000 Graves' disease. In: Braverman L, Utiger RD (eds) *Werner and Ingbar's the Thyroid*. 8th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp 989–997
9. Weetman AP 2000 Graves' disease. *N Engl J Med* 343:1236–1248
10. Yoshimoto M, Nakayama M, Baba T, Uehara Y, Niikawa N, Ito M, Tsuji Y 1991 A case of neonatal McCune-Albright syndrome with Cushing syndrome and hyperthyroidism. *Acta Paediatr Scand* 80:984–987
11. Schwab KO, Gerlich M, Broecker M, Söhlemann P, Derwahl M, Lohse MJ 1997 Constitutively active germline mutation of the thyrotropin receptor gene as a cause of congenital hyperthyroidism. *J Pediatr* 131:899–904
12. LaFranchi SH, Snyder DB, Sesser DE, Skeels MR, Singh N, Brent GA, Nelson JC 2003 Follow up of newborns with elevated screening T4 concentrations. *J Pediatr* 143:296–301
13. Fisher DA 2003 Neonatal hyperthyroid screening. *J Pediatr* 143:285–287
14. Wada N, Chiba H, Shimizu C, Kijima H, Kubo M, Koike T 1997 A novel missense mutation in codon 218 of the albumin gene in a distinct phenotype of familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia in a Japanese kindred. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3246–3250

15. Adams M, Matthews C, Collingwood TN, Tone Y, Beck-Peccoz P, Chatterjee KK 1994 Genetic analysis of 29 kindreds with generalized and pituitary resistance to thyroid hormone. *J Clin Invest* 94:506–515
16. Pohlenz J, Sadow PM, Koffler T, Schönberger W, Weiss RE, Refetoff S 2001 Congenital hypothyroidism in a child with unsuspected familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia caused by a mutation (R218H) in the human albumin gene. *J Pediatr* 139:887–891
17. Pannain S, Feldman M, Eiholzer U, Weiss RE, Scherberg NH, Refetoff S 2000 Familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia in a Swiss family caused by a mutant albumin (R218P) shows an apparent discrepancy between serum concentration and affinity for thyroxine. *J Clin Endocrinol Metab* 85:2786–2792
18. Vanderpump MT, Tunbridge WM 1999 The epidemiology of autoimmune thyroid disease. In: Volpe R (ed) *Contemporary Endocrinology*, Vol 15: Autoimmune Endocrinopathies. Human Press, Totawas, pp 141–162
19. Arevalo G 1991 Prevalence of familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia in serum samples received for thyroid testing. *Clin Chem* 37:1430–1431
20. Fisher DA 2002 Thyroid disorders. In: Rimoni DL, Connors JM, Pyeritz RE (eds) *Principles and Practice of Medical Genetics*. 4th ed. Churchill-Livingstone, New York, pp 2183–2202
21. Collingwood TN, Wagner R, Matthews CH, Clifton-Bligh RJ, Gurnell M, Rajanayagam O, Agostini M, Fletterick RJ, Beck-Peccoz P, Reinhardt W, Binder G, Ranke MB, Hermus A, Hesch RD, Lazarus J, Newrick P, Parfitt V, Raggatt P, de Zegher F, Chatterjee VK 1998 A role for helix 3 of the TR-beta ligand-binding domain in coactivator recruitment identified by characterization of a third cluster of mutations in resistance to thyroid hormone. *EMBO J* 17:4760–4770
22. Weiss RE, Balzano S, Scherberg NH, Refetoff S 1990 Neonatal detection of generalized resistance to thyroid hormone. *JAMA* 264:2245–2250
23. Wong GW, Shek CC, Lam ST, Tsui MK, Leung SS 1995 Detection of resistance to thyroid hormone by cord blood screening. *Acta Paediatr* 84:335–336