

## ・研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
鈴木康之	フェノバルビタール	川真田樹人	麻酔科医のための周術期の薬物使用法	中山書店	東京都	2015年	306 - 308
鈴木康之	小児救急医療における鎮静	水口雅、市橋光、崎山弘	今日の小児治療指針	医学書院	東京都	2015年	2 - 3

### 雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
長谷川久弥	細径気管支鏡開発の歴史と小児気道病変の診断と治療	日本小児呼吸器学会雑誌	26	35-51	2015
長谷川久弥	乳幼児の内視鏡 - 上気道病変 -	呼吸	34	56-64	2015
長谷川久弥	乳幼児の内視鏡 - 気管・気管支病変 -	呼吸	34	172-179	2015
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	60	473-477	2015
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	26	52-56	2015
山田洋輔、長谷川久弥、邊見伸英、他	先天性中枢性低換気症候群に横隔膜電氣的活動 (Electrical activity of Diaphragm: Edi) モニタリングを行った3症例の検討.	日本小児呼吸器学会雑誌	26	233-238	2015
山田洋輔、長谷川久弥	早産児の呼吸機能の観察ポイント.	ネオネイタルケア	28	1037-1042	2015

<p>金本匡史，鈴木康之，田村高子，伊東祐之，糟谷周吾，馬場千晶，大杉浩一，蜷川純，小暮泰大，齋藤繁</p>	<p>重症大動脈弁逆流症を合併した酵素補充療法中のHunter症候群に対して大動脈弁置換術を施行した一症例</p>	<p>日小児麻酔会誌</p>	<p>21</p>	<p>186 - 189</p>	<p>2015</p>
<p>馬場千晶，田村高子，小暮泰大，糟谷周吾，伊東祐之，鈴木康之</p>	<p>診断から腫瘍摘出まで7か月連続してフェンタニルのintravenous patient controlled analgesia (IVPCA)で鎮痛管理を行った小児肝悪性ラブドイド腫瘍の1例．</p>	<p>日小児麻酔会誌</p>	<p>21</p>	<p>190-194</p>	<p>2015</p>

・研究成果の刊行物・別刷

# 先天性中枢性低換気症候群(CCHS)診療手引き(案)

## 厚生労働省 C C H S 研究班

代表研究者 長谷川久弥（東京女子医科大学東医療センター新生児科）  
分担研究者 早坂清（山形大学小児科）  
分担研究者 佐々木綾子（山形大学小児科）  
分担研究者 鈴木康之（国立成育医療研究センター集中治療部）  
分担研究者 山田洋輔（東京女子医科大学東医療センター新生児科）

# 目次

## 第1章 概念

- A 概念 (早坂清, 佐々木綾子)
- B 疫学 (早坂清, 佐々木綾子)
- C 病態 (早坂清, 佐々木綾子)

## 第2章 症状

- A 呼吸中枢障害 (山田洋輔, 長谷川久弥)
- B 呼吸中枢障害以外の合併症 (山田洋輔, 長谷川久弥)

## 第3章 診断

- A 総論 (早坂清, 佐々木綾子)
- B 遺伝子検査 (早坂清, 佐々木綾子)
- C 呼吸生理学的検査 (山田洋輔, 長谷川久弥)

## 第4章 治療

- A 総論 (山田洋輔, 長谷川久弥)
- B 呼吸管理法
  - 1 気管切開による人工換気療法 (鈴木康之)
  - 2 非侵襲的人工呼吸療法 (鈴木康之)
  - 3 横隔膜ペーシング (鈴木康之)
  - 4 呼吸管理法の定期的な見直し (山田洋輔, 長谷川久弥)
- C 薬物療法 (鈴木康之)

## 第5章 予後

- A 発達予後 (早坂清, 佐々木綾子)
- B 生命予後 (早坂清, 佐々木綾子)

(執筆担当者, 敬称略)

## 第1章

### A 概念

#### Key point

- ・先天性中枢性低換気症候群 (CCHS) は neurocristopathy のひとつで，呼吸の調節と自律神経系の障害を特徴とする．
- ・呼吸の化学的調節機構の障害により睡眠時低換気を呈する．
- ・Hirschsprung 病，神経芽細胞腫，自律神経障害を合併することがある．
- ・*PHOX2B* 遺伝子変異による優性遺伝性疾患で，多くは de novo の変異である．

## 【概念】

先天性中枢性低換気症候群 (congenital central hypoventilation syndrome: CCHS) は neurocristopathy(神経堤関連疾患)のひとつで，呼吸の調節と自律神経系の障害を特徴とする．呼吸の調節は，覚醒時には血中の炭酸ガスや酸素濃度および pH などに対応した化学的な調節機構，肺伸展受容器を介する調節機構，および大脳を含む上位構造からの調節機構により制御され，Non-REM (Non-rapid eye movement) 睡眠時には，主として化学的調節機構により制御される．CCHS は，1970 年に Mellins らによつてはじめて報告され<sup>1)</sup>，呼吸の化学的調節機構の遺伝的な障害により肺泡低換気を呈する疾患である．睡眠時の低換気もしくは無呼吸を特徴とし，循環・呼吸器疾患，神経筋疾患，代謝性疾患，先天奇形などが除外される．新生児期に睡眠時低換気で気付かれることが最も多いが，換気障害に気付かれず，肺高血圧や心不全で気付かれたり，apparent life threatening event (ALTE)を呈する例も存在する．多くは新生児期に発症するが，乳児期～成人期に発症する遅発性 (later-onset CCHS: LO-CCHS) の症例も存在する<sup>2-4)</sup>．

神経堤細胞の分化異常から Hirschsprung 病 (約 20%)，神経芽細胞腫 (約 6%)，自律神経系の異常などの合併症を伴う場合があり、自律神経系の異常としては，心拍の呼吸性変動低下，洞結節不全，房室ブロック等の不整脈，便秘，胃食道逆流症，低体温，発汗異常，体温調節障害，痛覚異常，瞳孔異常，涙液分泌異常などがある<sup>2-4)</sup>．また，低血糖や食後高血糖などの報告もあり，前者は高インスリン血症，後者は自律神経障害による血糖調節機構の障害が考えられている<sup>5)</sup>．

*PHOX2B* 遺伝子変異による優性遺伝の疾患であり，多くは de novo の変異である．2003 年，Amiel らにより神経堤細胞の分化・誘導および RET 遺伝子の発現に関わる調節因子，*PHOX2B* 遺伝子の変異が報告された<sup>6)</sup>．同年，Sasaki ら<sup>7)</sup> および Amiel ら<sup>8)</sup>により，同遺伝子の変異であることが確認された．当初，検査法の問題から変異が検出されない症例も存在したが，約 90%の症例には *PHOX2B* 遺伝子のポリアラニン伸長変異，約 10%には frameshift 変異や点変異などの非ポリアラニン伸長変異が検出される．

診断は呼吸機能検査を用いた炭酸ガス換気応答試験もしくは遺伝子解析に基づく．

治療は，睡眠時もしくは覚醒時も含めた呼吸管理が基本である．合併症には個別に対応する．呼吸管理が適切に行われれば，生命発達予後は概ね良好である．

## (文献)

1)Mellins RB, et al: Failure of automatic control of ventilation (Ondines' curse): report of an infant born with this syndrome and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1970; 49: 487-504.

2)Weese-Mayer DE, et al: An official ATS clinical policy statement: Congenital central hypoventilation syndrome Genetic basis, diagnosis, and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181: 626-644.

3)Weese-Mayer DE, et al: Congenital central hypoventilation syndrome. *Genereviews* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1427/>

4)Rand CM, et al: Congenital central hypoventilation syndrome: a neurocristopathy with disordered respiratory control and autonomic regulation. *Clin Chest Med.* 2014; 35: 535-545.

- 5) Gelwane G, et al: Intermittent hyperglycemia due to autonomic nervous system dysfunction: a new feature in patients with congenital central hypoventilation syndrome. *J Pediatr* 2013; 162: 171-176.
- 6) Amiel J, et al: Polyalanine expansion and frameshift mutations of the paired-like homeobox gene *PHOX2B* in congenital central hypoventilation syndrome. *Nat Genet* 2003; 33: 459-461.
- 7) Sasaki A, et al: Molecular analysis of congenital central hypoventilation syndrome. *Hum Genet* 2003; 114: 22-26.
- 8) Weese-Mayer DE, et al: Idiopathic congenital central hypoventilation syndrome: analysis of genes pertinent to early autonomic nervous system embryologic development and identification of mutations in *PHOX2B*. *Am J Med Genet A* 2003; 123: 267-278.



## B 疫学

### Key point

- ・欧米では約 5～20 万出生児当たり一人
- ・我が国では少なくとも約 15 万出生児当たり一人

### 【疫学】

欧米の報告によると，罹患率は約 5～20 万出生児当たり一人と推定されている<sup>1)</sup>．日本における罹患率は少なくとも約 15 万出生児当たり一人と推定される<sup>2)</sup>．遅発性など診断されない症例も存在し，罹患率はより高いと考える．民族間の差はないと考える．

(文献)

- 1)Vanderlaan M, et al: Epidemiologic survey of 196 patients with congenital central hyperventilation syndrome. *Pediatr Pulmonol* 2004; 37: 217-229.
- 2)Shimokaze T et al: Genotype-phenotype relationship in Japanese patients with congenital central hypoventilation syndrome. *J Hum Genet* 2015; 60: 473-477.

## C 病態

### Key point

- ・ CCHS の病態は *PHOX2B* 遺伝子変異により，呼吸中枢と自律神経系が障害される．
- ・ ポリアラニン伸長変異 (PARM) が約 90% に，非ポリアラニン伸長変異 (NPARM) が約 10% に検出される．
- ・ PARM では伸長数に比例し重症となり，NPARM の殆どは重症である．

### 【病態】

覚醒時の呼吸は，血中の炭酸ガスや酸素濃度および pH などに対応した化学的な調節機構，肺伸展受容器を介する調節機構および大脳を含む上位構造からの調節機構により制御されるが，Non-REM 睡眠時には，主として化学的調節機構により制御される．本症の基本的な病態は，呼吸中枢における血中の炭酸ガス，酸素濃度および pH の情報の統合および換気応答の障害と考えられる<sup>1)</sup>．

病因は，染色体 4p12 に位置する *PHOX2B* 遺伝子 (MIM 603851) 変異である<sup>2)</sup>．この遺伝子は約 5Kb の大きさで，3 つのエクソンから構成され，9 個と 20 個のアラニンからなる 2 つのポリアラニン鎖および homeobox を一個有する転写調節因子をコードしている．この遺伝子は RET 遺伝子の発現調節および後脳の形成，特に呼吸中枢を含めた自律神経系の分化や発達において重要な役割を担っている．中枢神経系では呼吸の化学的調節に関与する脳幹部のニューロン (最後野や孤束核)，ノルアドレナリン神経系，第 VI, XI 神経を除く脳運動神経など，末梢神経系では第 1, 2, 3 脳神経の遠位感覚神経節，自律神経系 (交換神経，副交感神経，内臓神経) の神経節 (血中酸素分圧をモニタする頸動脈小体を含む) などに発現している．本症例の MRI 検査では，視床下部，後部視床と中脳，尾部縫線と青斑核，外側延髄，傍小脳脚核橋と小脳，島皮質と帯状回皮質など，それぞれ呼吸や自律神経系の調節に連携して作用する部位の変化が報告されている<sup>3)</sup>．

症例の約 90% には *PHOX2B* 遺伝子の 20 個のポリアラニン鎖における 4~13 個のポリアラニン伸長変異 (polyalanine repeat mutation: PARM) が検出される．残り約 10% には frameshift 変異や点変異の非ポリアラニン伸長変異 (non-polyalanine repeat mutation: NPARM) が検出される．症例は，変異のヘテロ接合体であり，優性遺伝形式をとる．PARM ではアラニン伸長数に比例して重篤であり，伸長数の大きい PARM と NPARM も概ね重篤であり，これらの変異は完全浸透を示す．重篤な症例では，新生児期に発症し，巨大結腸症および不整脈などの自律神経系の障害を合併する頻度も高く，覚醒時にも呼吸管理を要することがある．一方，24PARM (4 個のアラニン伸長変異)，25PARM (5 個のアラニン伸長変異) および一部の NPARM では，不完全浸透浸透を示し，即ち変異を有していても必ずしも発症しない．また，新生児期以降に発症する (LO-CCHS) 症例もある<sup>1, 2)</sup>．

PARM の多くは de novo の変異であるが，約 25% はモザイクの親からの遺伝である<sup>4, 5)</sup>．de novo 変異の殆どは父親由来であり，精子形成時の不等姉妹染色体分体交換によると考えられてきた<sup>6)</sup>．しかし，一部の變異およびモザイクは単なる組み換えでは説明されず，ポリアラニンをコードする反復配列が二次構造をとり，複製時や修復時に複製フォークの停止，異なる部位からの再開という生成機構が推測される<sup>7)</sup>．

病因が判明し，分子病態が明らかにされて来ている．27PARM 導入マウスでは，自律呼吸に重要な役割を果たしている延髄腹側における *PHOX2B* 陽性グルタミン酸作動性ニューロンの脱落が認められる<sup>8)</sup>．また，PARM の in vitro の発現実験では伸長した *PHOX2B* の転写因子としての作用の低下，凝集，核内移行の障害，野生型 *PHOX2B* に対する dominant-negative な作用が認められる<sup>9)</sup>．*PHOX2B* 遺伝子変異により，機能的な呼吸中枢の形成が障害されるものと考えられる．

(文献)

- 1)Weese-Mayer DE, et al: An official ATS clinical policy statement: Congenital central hypoventilation syndrome Genetic basis, diagnosis, and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181: 626-644.
- 2)Amiel J, et al: Polyalanine expansion and frameshift mutations of the paired-like homeobox gene PHOX2B in congenital central hypoventilation syndrome. *Nat Genet* 2003; 33: 459-461.
- 3)Patwari PP, et al: Congenital central hypoventilation syndrome and the PHOX2B gene: a model of respiratory and autonomic dysregulation. *Respir Physiol Neurobiol* 2010; 173: 322-335.
- 4)Bechtti T, et al: Low amounts of PHOX2B expanded alleles in asymptomatic parents suggest unsuspected recurrence risk in congenital central hypoventilation syndrome. *J Mol Med (Berl)* 2011; 89 505-513: 505-513.
- 5)Meguro T, et al: Inheritance of polyalanine expansion mutation of PHOX2B in congenital central hypoventilation syndrome. *J Hum Genet* 2012; 57: 335-337.
- 6)Arai H, et al: De novo polyalanine expansion of PHOX2B in congenital central hypoventilation syndrome: unequal sister chromatid exchange during paternal gametogenesis. *J Hum Genet* 2007; 52: 921-925.
- 7)Mirkin SM: Expandable DNA repeats and human disease. *Nature* 2007; 447: 932-940.
- 8)Dubreuil V, et al: A human mutation in Phox2b causes lack of CO<sub>2</sub> chemosensitivity, fatal central apnea, and specific loss of parafacial neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 1067-1072.
- 9)Trochet D, et al: Molecular consequences of PHOX2B missense, frameshift and alanine expansion mutations leading to autonomic dysfunction. *Hum Mol.Genet* 2005; 14: 3697-3708.

## 第2章 症状

### A 呼吸中枢障害

#### Key point

- ・ CCHS の低換気は，延髄の呼吸中枢における先天的な障害によるものである．呼吸の化学性調節が障害されているため，低換気が生じていても呼吸困難は認めず，呼吸賦活は起こらない．
- ・ 低換気は軽症例では睡眠時のみであるが，重症例では覚醒時にも認める症例がある．特に 26PARM 以上の遺伝子変異型を有する患児では，覚醒時低換気がないか詳細な評価が必要である．
- ・ 低換気の重症度を正確に把握し適切な換気サポートが得られなければ，低換気によるダメージが蓄積し，神経・生命予後に大きな影響を与える．

#### 【CCHS における低換気の特徴】

CCHS の低換気は延髄の呼吸中枢における先天障害，主に呼吸の化学性調節の障害が原因である．低換気は呼吸中枢が呼吸調節のメインとなる睡眠時に認めることが多く，覚醒時は呼吸中枢以外にも大脳などの上位中枢が働くために低換気が生じにくい．化学性調節の障害であり，高炭酸ガス血症，低酸素血症となっても CCHS には呼吸困難がなく，さらに呼吸賦活も生じないため，ひとたび低換気が生じると自力では回復できず進行し続ける症例も多い．

CCHS の低換気は，成長や全身状態によって変化する．典型例は新生児期発症であり，重篤な無呼吸発作のために気管挿管され，その後抜管困難となり疑われる．急性期は無呼吸発作となるが，新生児期をすぎ乳児期に入ると無呼吸は認めなくなり，一回換気量の低下する低換気へと症状が変化する．幼児期になると，テレビやゲームなど意識が集中する際に低換気を生じる症例を認める．また，運動時や呼吸器疾患罹患時にはより多くの換気量が必要になるが，CCHS ではその換気量を増やすことができないため，覚醒時でも低換気となることや睡眠時の低換気が重症になる．



高CO<sub>2</sub>血症などによるfeedbackがかからず、呼吸苦は感じないまま低換気が進行し続ける

図 CCHS における低換気の特徴

#### 【低換気の重症度と評価法】

低換気の重症度は，低換気による換気状態の程度と低換気がいつ起きているか，を評価することが重要である．双方ともに，遺伝子変異型に影響を受け，PARM を有する症例では数が大きいほど，PARM よりはNPARM の方が重症度が高いことがわかっている．

換気状態の評価には SpO<sub>2</sub> や TcPCO<sub>2</sub>，EtCO<sub>2</sub> の時間単位での連続モニタリングが有用である．ごく短時間のモニタ装着やワンポイントの血液ガス分析では，全体の状態を把握することはできない．SpO<sub>2</sub> は睡眠時でも 90%台で推移する軽症から，80%台で推移する

症例，SpO<sub>2</sub> の低下が止まらず呼吸管理を速やかに開始する必要がある重症例がある．TcPCO<sub>2</sub> や EtCO<sub>2</sub> のモニタリングでは，軽症例であっても低換気となつてからは CO<sub>2</sub> が上昇し続ける症例がほとんどである．

低換気がいつ起きているかについては，軽症例では低換気は睡眠時のみに起こるが，重症例は覚醒時にも低換気を認める．CCHS では呼吸困難がないため，覚醒時の低換気があるかどうかの判定は困難である．換気状態同様に連続モニタリングが重要である．CCHS10 例の覚醒時モニタリングを行ったところ，それまでではないとされていた覚醒時の低換気を 4 例に認めたと報告もある．26PARM 以上の症例では，覚醒時低換気の有無について慎重な評価が必要である．

#### 【低換気による全身への影響】

低換気時の換気状態と低換気がおきるタイミングを把握し，適切な呼吸管理を行うことができれば，低換気の影響を最小限にとどめることができる．しかしそうでない場合には，低換気の蓄積により全身への影響がでる．詳細は後の項にも記載するが，不適切な呼吸管理のために低酸素血症による直接的な障害や高炭酸ガス血症による慢性的なアシドーシスによる全身の臓器障害が進む．その結果，成長発達障害や，特に肺高血圧からの心不全は生命予後に大きく影響する．呼吸管理が向上した現在は全身への影響は緩やかに進行することが多く，近年では青年期に肺高血圧を発症する症例が散見されている．

#### (文献)

- 1) Weese-Mayer DE, et al: An official ATS clinical policy statement: Congenital central hypoventilation syndrome. AmJ Respir Crit Care Med 2010; 181: 626-644.
- 2) 早坂清，他：先天性中枢性低換気症候群における PHOX2B 遺伝子異常について．日本小児科学会雑誌 2011; 115, 769-776.
- 3) 長谷川久弥，他：先天性中枢性低換気症候群診療ガイドラインにおける呼吸ドックに関する研究．厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業「先天性中枢性低換気症候群の診断・治療・管理法の確立」に関する研究．平成 26 年度総括研究報告書．PP23-28.

## B.呼吸中枢障害以外の合併症

### Key point

- ・ CCHS では、*PHOX2B* 遺伝子が自律神経の分化・誘導に与するため自律神経障害を合併することがある。
- ・ 合併症としては Hirschsprung 病，神経堤由来の腫瘍，不整脈などがある。合併率は大きい PARM 数，NPARM の方が高いことが明らかになっている。
- ・ 国内ではこれまで憤怒痙攣の合併が多いとされていたが，その中に気管軟化症であり積極的な呼吸器管理を必要とする症例があることがわかってきた。
- ・ CCHS の診断時には合併症を疑わせる症状がなくとも検索を行うべきであり，重要な合併症については定期的に検査を行う必要がある。

### 【Hirschsprung 病】

海外のデータでは約 20% が合併するとされ，PARM より NPARM の方が罹患率が高く報告によっては 87 から 100% とされている。国内では，2007 年の全国調査においては，全体で 35% の合併率であった。PARM の中では 25PARM には Hirschsprung 病の合併はなく，26PARM でわずかに認め，27PARM 以上では合併率が高くなっている。Hirschsprung 病の合併やその重症度によって，頻回の手術，在宅中心静脈栄養，発達への影響などの CCHS の予後や QOL (quality of life) が左右されている。また，Hirschsprung 病の診断には至らなくとも，便秘は多くの CCHS に認める症状である。

### 【神経芽細胞腫】

神経堤由来の腫瘍である神経芽細胞腫などを合併する。PARM では 1% の合併率であるのに対して NPARM では 50% でという報告がある。NPARM と PARM の中では 28PARM 以上で合併の報告があるため，そういった症例では胸腹部の画像検索が必要である。

### 【不整脈】

洞停止の合併があり，3 秒以上の洞停止は注意が必要である。26PARM で 25%，27PARM では 67% の合併率となっている。海外ではペースメーカーの挿入が多く，27PARM では 67% に挿入されているという報告がある。国内では報告例は少ない。突然死の原因となるため，注意すべき合併症である。ホルター心電図では 72 時間の検査が推奨されている。

### 【その他の自律神経障害】

瞳孔異常などの眼科的合併症，体温調節異常，発汗障害などがある。低血糖や甲状腺異常などの内分泌異常の報告もある。

### 【気道病変】

これまで国内では，啼泣時の低酸素発作，失神発作が憤怒痙攣であると診断された症例が多く対症療法がおこなわれてきた。しかし，CCHS10 例に対して気管支鏡を行ったところ，6 例に気管軟化症を認め，そのうち 3 例は high PEEP 療法などの積極的な呼吸管理を必要とした。6 例のうち 3 例は憤怒痙攣と診断されており，啼泣時の低酸素発作などがある症例では鑑別するべき疾患である。

### (文献)

- 1) Weese-Mayer DE, et al: An official ATS clinical policy statement: Congenital central hypoventilation syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181: 626-644.
- 2) Hasegawa H, et al: Epidemiologic survey of patients with congenital central hypoventilation syndrome in Japan. *Pediatrics Int* 2012; 54, 123-126.
- 3) 長谷川久弥，他：先天性中枢性低換気症候群診療ガイドラインにおける呼吸ドックに関する研究。厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業「先天性中枢性低換気症候群の診断・治療・管理法の確立」に関する研究。平成 26 年度総括研究報告書。PP23-28.



## 第3章 診断

### A 総論

#### Key point

- ・ 新生児期の呼吸障害の鑑別疾患として念頭に置く。
- ・ neurocristopathy としての合併症も参考となる。
- ・ 診断は遺伝子検査と呼吸機能検査に基づく。

#### 【総論】

CCHS の殆どは新生児期に発症することから，新生児期の呼吸障害の鑑別疾患として念頭に置くことが大切である<sup>1)</sup>。睡眠時に低換気およびチアノーゼを認める症例や高炭酸ガス血症を認めるにもかかわらず，呼吸努力が認められない症例では，最初に循環器疾患，呼吸器疾患，神経・筋疾患，代謝性疾患，感染症，先天奇形を除外する。鑑別のために，血液ガス，X線検査，超音波検査，頭部MRI，脳波，聴性脳幹反応，アミノ酸分析，有機酸分析等の検査を行う。

乳児期以降に発症する LO-CCHS では，1) 全身麻酔または中枢神経の抑制後，2) 重篤な肺感染症の罹患，3) 閉塞性無呼吸発作などを契機として睡眠時低換気が顕症化することがある。

呼吸障害の特徴として，覚醒時には呼吸状態は安定し，血中炭酸ガス分圧も正常である。しかし，睡眠時には低換気となり，血中炭酸ガス分圧が上昇するが，換気応答（呼吸促進反応）が認められない。睡眠時低換気は REM 期に軽減する。重症例では，覚醒時にも低換気が持続する。

CCHS は neurocristopathy のひとつであり，Hirschsprung 病は約 20% に合併が認められ，神経芽細胞腫などの神経堤細胞由来の腫瘍，喉頭軟化症，胃食道逆流症，対光反射消失，斜視・輻輳障害などの眼症状，不整脈などの自律神経系の障害を合併する。

確定診断は遺伝子検査もしくは呼吸機能検査に基づく。遺伝子診断では，*PHOX2B* 遺伝子変異を確認し，呼吸機能検査では，標準的な検査に加え，炭酸ガス換気応答試験を行い呼吸中枢の炭酸ガス負荷に対して換気量が増加する反応の異常を確認する。遺伝子検索では，変異により重症度が推定される。

#### (文献)

1) Weese-Mayer DE, Berry-Kravis EM, Zhou L, et al: Idiopathic congenital central hypoventilation syndrome: analysis of genes pertinent to early autonomic nervous system embryologic development and identification of mutations in *PHOX2B*. *Am J Med Genet A* 2003; 123: 267-278.



## B 遺伝子検査

### Key point

- ・ CCHS の遺伝子診断では *PHOX2B* 遺伝子変異の有無を検索する。
- ・ ポリアラニン伸長変異が約 90% , 非ポリアラニン伸長変異が約 10% を占める。
- ・ 遺伝子変異型により , 重症度が推定される。

### 【遺伝子検査】

病因遺伝子 *PHOX2B* の変異の有無について検索する。約 90% の症例にはポリアラニン伸長変異 (PARM) , 約 10% には frameshift 変異 (欠失や挿入) , ミスセンス変異 , ナンセンス変異などの非ポリアラニン伸長変異 (NPARM) が検出される。遺伝子診断は , 検査機関があれば検体 (血液) を郵送することで解析されるために簡便な方法である。現時点では , 国内では山形大学医学部小児科学教室にて行われている。

検査手順としては , 事前に依頼し , 本人ないし保護者から書面にて遺伝子解析の承諾を得て , サマリーとともに EDTA 血液約 2 ml を 4℃ で郵送する。解析には約 2~3 週間を要する。

現在行われている解析では , *PHOX2B* の 3 つのエクソン部分を PCR で増幅し , 各エクソンの塩基配列を決定する。解析波形より PARM および NPARM が明らかにされる。症例は変異のヘテロ接合体であり , 複雑な変異では判読が困難となり , PCR で増幅した DNA 断片をプラスミッドにサブクローンし , 塩基配列を決定する。

PARM では , 4~13 ポリアラニン伸長変異 (24~33PARM) が検出され , 中でも 25~27 PARM が多い変異である<sup>1,2)</sup>。国内では 24PARM は検出されていない。遺伝子型と臨床型との関係では , 伸長数が長いものほど重症で合併症も多く , 完全浸透を示す。26PARM では , Hirschprung 病の合併頻度が高く , 覚醒時にも呼吸管理を必要とする症例も存在する。生命予後に関わるものとして不整脈の合併頻度も高くホルター心電図などによる検査が必要である。一方 , 25PARM では , Hirschprung 病の合併は認めず , 自律神経障害も稀である。但し , 症状が非典型的なことがあり , 新生児期に発症しても経過中 , 睡眠時低換気が改善したり , 遅発性 (LO-CCHS) の症例も存在し , 適切な治療が行われず精神運動発達の障害を呈する症例も多い。不完全浸透を示し無症状の保因者も存在することもあり , 家族内検索が求められる。

NPARM では , frameshift 変異が約 8 割を占め , 残りはミスセンス変異 , ナンセンス変異が報告されている<sup>2)</sup>。少数の例外を除き重症型で , 覚醒時にも呼吸管理を必要とする症例や神経芽細胞腫の合併例も多い。

変異の由来について , PARM 変異の約 75% が de novo の変異で , 約 25% はモザイクや保因者の無症状の親もしくは罹患した親からの遺伝である。モザイクに関して , 末梢血 (体細胞) のゲノム DNA を用いて , 鋭敏なフラグメント解析で検出されるが , 完全な性腺モザイクの一報告があり<sup>3)</sup> , 体細胞を使った解析では性腺モザイクの可能性は否定できない。

(文献)

1) Weese-Mayer DE, et al: An official ATS clinical policy statement: Congenital central hypoventilation syndrome Genetic basis, diagnosis, and management. Am J Respir Crit Care Med 2010; 181: 626-644.

2) Rand CM, et al: Congenital central hypoventilation syndrome: A neurocrestopathy with disordered respiratory control and autonomic regulation. Clin Chest Med 2014; 35: 535-545.

3) Rand CM, et al: Germline mosaicism of *PHOX2B* mutation accounts for familial recurrence of congenital central hypoventilation syndrome (CCHS). Am J Med Genet A

2012; 158A: 2297-2301.

## C 呼吸生理学的検査

### Key point

- ・適切な呼吸管理を行うためには遺伝子診断だけでなく、呼吸生理学的評価を行うことが重要である。診断だけでなく低換気の重症度評価につながり、呼吸管理に有用な情報が得られる。
- ・ポリソムノグラフィーなどのスリープスタディ、炭酸ガス換気応答試験などがあるが、低換気の重症度やそれぞれの検査の特徴に合わせて、検査法を選択する必要がある。

#### 【呼吸生理学的評価の必要性】

現在の CCHS 診断のほとんどは簡便な遺伝子検査で行われる。遺伝子型によって臨床的な重症度も推定できるため、詳細な呼吸生理学的評価がなされていない症例もある。しかし、実際の重症度は症例ごとに大きくことなり、不適切な管理が行われていることも少なくないため、呼吸管理の決定には呼吸生理学的評価が必須である。実際に呼吸生理学的評価を行うことにより、呼吸管理が変更となる症例が報告されている。現状では、専用の検査機器や経験のある検者が必要な検査が多いが、専門施設と連携して可能な限り検査を行うことが望ましい。

#### 【ポリソムノグラフィー(polysomnography: PSG)】

睡眠障害を調べる検査装置であり、酸素飽和度、脳波、眼電図、頤筋電図、口鼻の気流、胸腹部の呼吸運動、心電図などを同時に連続モニタリングすることにより、睡眠ステージ、呼吸状態の評価が可能である。呼吸イベント（無呼吸、低呼吸）の判定および、各イベントの原因（中枢性、閉塞性）が解析可能であり、EtCO<sub>2</sub> の同時測定もできるため、CCHS の評価にも有用な検査装置である。多くの CCHS では入眠直後から重度な低換気がみられ、酸素飽和度は 70%～80% 台まで低下するため正確な入眠時間の判定が重要となるが、PSG では脳波、眼電図、頤筋電図により睡眠段階におけるレム睡眠、ノンレム睡眠（N1-N3）を判定するため、入眠開始時間を正確に判定可能である。しかし PSG は装着する電極やセンサー数が多いため、新生児や乳児における検査が容易ではない。新生児、乳児期には、上記の full PSG ではなく SpO<sub>2</sub> と EtCO<sub>2</sub> にチャンネル数の少ない脳波などを加えた簡易型での実施が考慮される。国内では診断に用いた報告は少なく、比較的軽症で検査に協力できる症例の経過観察にはよい適応であると考えられる。また、CCHS の低換気は重篤であることが多いため、モニタする時間の検討や医師による観察下で行うことなどに留意する。

#### 【炭酸ガス換気応答試験 (Ventilatory Response to CO<sub>2</sub>: VRCO<sub>2</sub>)】

呼吸中枢の炭酸ガスに対して換気量を増加させる反応性を評価する検査である。閉鎖回路内で炭酸ガスを再呼吸させ体内に蓄積させた際に、どの程度換気量が増加するかを測定し、両者の関係を一次直線に近似した際の傾きから定量評価することができる。CCHS では、正常新生児と比較してこの反応が極めて不良であり、さらに定量的に呼吸中枢を評価できるため、診断や重症度評価に有用と考えられている。CCHS 10 例の平均は 3.8 mL/min/kg/mmHg であり、正常児の基準値である 40.4 ± 14.8 mL/min/kg/mmHg と比較して有意に低値であった。さらに、CCHS の炭酸ガス換気応答は経年的に低下する可能性が示されており、経過観察のためにも定期的に行う意義がある。

検査時間は睡眠時の 10 分程度で完了することや、再呼吸時に 5% 炭酸ガスと 95% 酸素を用いることで SpO<sub>2</sub> 低下がおきにくいいため、新生児や重症の CCHS にも検査可能である。有用な検査ではあるが、炭酸ガス換気応答試験ができる呼吸機能検査装置は少ないため、専門施設に依頼して行うことが多い。これまでに、国内症例の約 20% が検査を受け、診断基準や呼吸管理法に反映するためのデータの蓄積が行われている。

$$VR\ CO_2 = \Delta MV / \Delta EtCO_2 / kg$$

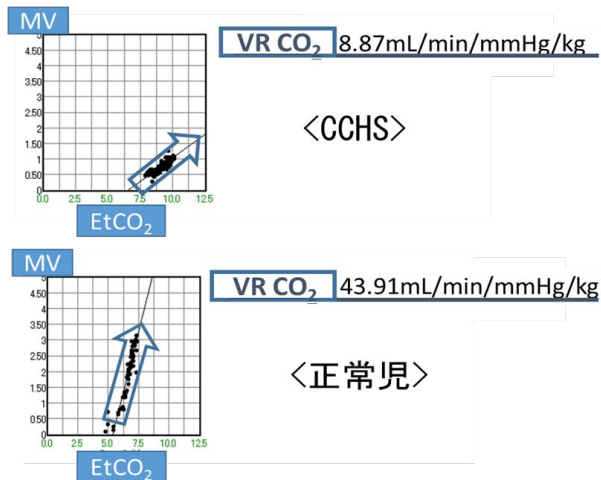


図 CCHSと正常児の炭酸ガス換気応答試験

上段がCCHSのVRCO<sub>2</sub>であり、下段の正常児と比較してEtCO<sub>2</sub>(横軸)の増加に対するMV(縦軸)の増加が緩やかであり、VRCO<sub>2</sub>が低値となっている。

(正常児の基準値:40.4±14.8 mL/min/kg/mmHg)

#### 【横隔膜電気的活動 (Edi) モニタリング】

まだ診断において確立された検査ではないが、CCHSの新しい呼吸中枢の検査法である。神経調節性の人工呼吸モードであるNAVA(Neurally Adjusted Ventilatory Assist)モードで使用される横隔膜電気的活動(Electrical activity of diaphragm)をモニタする検査である。Ediは呼吸中枢から横隔神経を通じて横隔膜に出る電気信号であり、呼吸の頻度(呼吸数)や呼吸の強さ(換気量)を反映しており、高炭酸ガスや低酸素のような呼吸困難がある際には信号が増強する。その一方で過換気状態や、麻酔による呼吸中枢抑制、CCHSなどでは信号が減弱する。先端に電極のついた専用の経鼻胃管を挿入して、電位を測定する。CCHSで覚醒時から睡眠時に連続的にEdiをモニタリングすると、入眠後にEdiが下がり低換気が生じる。その後、低換気によって血中炭酸ガス分圧が上昇するが、それに応じたEdiの上昇は認めない。CCHSの病態が再現され呼吸中枢の評価に有用である。

Ediモニタリングは新生児期でも気管挿管中でも行うことができるが、現在は人工呼吸器Servo®シリーズのみで測定可能である。Servo-i®までのシリーズではオプションとしてNAVAモードが搭載可能であり、Servo-U®, Servo-n®シリーズではNAVAが標準装備されている。炭酸ガス換気応答試験同様、専門施設に依頼して行っているのが現状であるが、NAVAモードはNICU領域を中心に普及が始まっており、遺伝子検査と並行して行うことでより早期の診断に結びつく可能性がある。

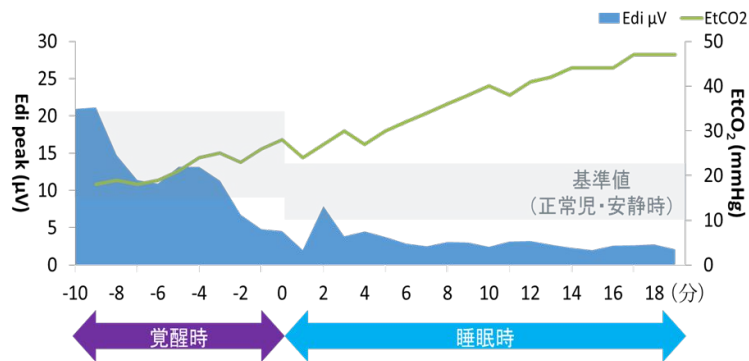


図 CCHSのEdiモニタリング結果

横軸が時間で、0分が入眠したと判断した時点、それより前の10分を覚醒時、後の20分を睡眠時とした。睡眠時にEdiが低下(自発呼吸の減弱)し低換気となり、その後EtCO<sub>2</sub>が上昇してもEdiの上昇(呼吸努力)を認めない、というCCHSの病態と一致した。(灰色のエリア: 正常児の覚醒時と睡眠時の基準値)

(文献)

- 1)山田洋輔, 他: 先天性中枢性肺胞低換気症候群における炭酸ガス換気応答試験の検討. 日本小児呼吸器学会雑誌 2013; 24: 125-131.
- 2)長谷川久弥, 他: 先天性中枢性低換気症候群における炭酸ガス換気応答試験の診断基準, 重症度評価への応用に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業 「先天性中枢性低換気症候群の診断・治療・管理法の確立」に関する研究. 平成 26 年度総括研究報告書. PP10-15.
- 3)Howerd M, et al: Electrical activity of the diaphragm in a small cohort of term neonates. Respiratory Care 2012; 57: 1483-1487.
- 4)山田洋輔, 他: 先天性中枢性低換気症候群に横隔膜電気的活動(Electrical activity of Diaphragm: Edi)モニタリングを行った 3 症例の検討. 日本小児呼吸器学会雑誌 2015; 26: in press.

## 第4章 治療

### A 総論

#### Key point

- ・現在のところ呼吸中枢障害を改善する治療法はないため、適切な人工呼吸管理を行い低換気によるダメージの蓄積を防ぐことが最も重要である。
- ・乳幼児期は気管切開からの人工呼吸管理が推奨される。幼児期後半以降は、児の状態により鼻マスクなどからの人工呼吸管理も適応となる。
- ・人工呼吸器設定は SpO<sub>2</sub> や EtCO<sub>2</sub> などの連続モニタリングを元に決定する。特に、覚醒時の低換気がある症例では呼吸管理について慎重な対応が求められる。
- ・呼吸器感染のみならず発熱や胃腸炎など急性疾患罹患時には、人工呼吸器設定を変更する必要があることに留意する。

#### 【呼吸中枢障害の治療】

現在のところ、呼吸中枢障害を改善する治療法は確立されていない。そのため、CCHS では生涯にわたって人工呼吸管理が必要となる。適切な呼吸管理を行い低換気によるダメージの蓄積を防ぐことが、唯一の有効な対症療法である。蓄積したダメージは取り除けないため、CCHS は低換気の蓄積によるダメージをいかに減らすかという考え方で呼吸管理を行う。また、CCHS の本態は低換気、つまり高炭酸ガス血症があるため、酸素投与のみ行うことは有効な呼吸管理ではない。

#### 【呼吸管理法の決定】

人工呼吸管理法には、気管切開からの人工呼吸、鼻マスクなどからの人工呼吸、横隔膜ペーシングがある。それぞれの特徴は各論で解説するが、乳幼児期は気管切開からの人工呼吸が推奨される。乳児は一日の中で睡眠の占める割合が多く、また睡眠回数も多い。低換気の予防のためには睡眠の度に人工呼吸器を装着する必要があり、呼吸器の着脱が容易な気管切開が有効である。CCHS では呼吸困難がないため、鼻マスクからの人工呼吸は呼吸器の装着をいやがることも少なくない。その結果、児へのストレスの増大や、保護者の呼吸器装着のコンプライアンスが低下することがある。さらに、乳幼児期は成長発達に最も重要な時期であり、この時期の低換気の蓄積は予後に大きく影響するため、この観点からも気道確保や換気効率の最も良い気管切開からの人工呼吸管理が適していると考えられる。鼻マスクからの人工呼吸は、人工呼吸器をつける意義を本人が理解でき装着の負担が減る幼児期後半以降では適応となる。どの呼吸管理を行うにせよ、メリットデメリットがあるため、児、保護者と十分に話し合い選択する。

海外の報告においても乳幼児期は気管切開が第一選択であり、国内でもそれを支持するいくつかの報告がある。苛原らは、国内症例においては、早期の気管切開が発達予後により影響を与える可能性を報告した<sup>2)</sup>。下風らは、国内の CCHS は臨床的に軽症のはずの 25PARM の児においても発達予後が芳しくなく、それが不適切な呼吸管理による可能性を報告している<sup>3)</sup>。

呼吸管理法 (推奨時期)	利点	欠点
気管切開 (新生児～)	最も確実かつ簡便な気道確保 ⇒低換気を起こしにくい	下気道感染、発声の問題 日常生活の制限がある
鼻マスク フェイスマスク (幼児、学童～)	日常生活の制限が少ない	顔面骨変形 乳幼児や感冒時は装着困難 ⇒低換気が助長されやすい
横隔膜ペーシング (保険適応外)	デバイスとしては最小 覚醒時も簡便に呼吸補助が可能	デバイスの不安定さ 上気道狭窄に注意

表 呼吸管理法の比較

### 【呼吸管理の実際】

CCHS では、睡眠時の人工呼吸管理中は完全に呼吸器に同調する例が多い。そのため、自発呼吸をサポートするモードは適さない。強制換気のモードで必要量の換気ができるような設定が基本であり、それに覚醒度が上がった際に加わる自発呼吸をサポートする設定を加える。実際の呼吸器設定は、ワンポイントの SpO<sub>2</sub> の値や血液ガスのみで判断せず、長時間の連続モニタリングを経て決定する必要がある。モニタリングの際は、EtCO<sub>2</sub> や TcPCO<sub>2</sub> などの炭酸ガスのモニタも行うことが望ましい。安全域を考慮して、わずかに過換気になる設定にしておくことで、状態が悪化した際の低換気の影響を減らすことができる。CCHS ではガス交換能は障害されないため、換気量が保たれていれば酸素投与は不要である。安全のために在宅酸素濃縮器を設置することは必要だが、平時の設定は酸素投与が不要な換気量にする。

在宅人工呼吸を行う際は、他の疾患同様に在宅医療のマニュアルに従うべきであるが、いくつかの CCHS 特有の病態に注意して管理することが重要である。最低限パルスオキシメータの装着は必須である。人工呼吸器のアラーム設定では、低換気に呼吸賦活が起きないため回路はずれ、換気量アラームなどは必要であると考えられる。

覚醒時低換気がある症例では、さらに慎重な呼吸管理が求められる。理想は低換気が起きているその都度、人工呼吸を行うことであるが、日中の人工呼吸管理は児の QOL に大きく影響する。覚醒時の低換気について詳細に評価し、低換気の頻度、程度と QOL を天秤にかけて、どの場面は人工呼吸器を装着する、あるいはしない、という決定を行うべきである。このような症例は、管理に難渋することが多いため、経験の豊富な専門医と連携し診療にあたることが望ましい。

### 【急性疾患罹患時の呼吸管理】

これまでの解説のように、CCHS では呼吸困難がなく、呼吸賦活が起きず人工呼吸器に同調する。そのため、感冒など軽度の呼吸器感染症にかかっても、CCHS ではない児が無意識に行っている換気量増やすことができない。その結果、軽度の呼吸器感染症でも著明な SpO<sub>2</sub> 低下、EtCO<sub>2</sub> 上昇などが起きていることをしばしば経験する。呼吸困難がないため、その発見自体が困難であるため、平時よりこのことを意識して、低換気を見逃さないことが重要である。また、呼吸器感染でなくても、活気不良の時には普段の自発呼吸より換気量が落ち低換気になること、嫌気性代謝が進む病態がある際に自分では呼吸性代償ができないことにも留意する。

(文献)

1) Weese-Mayer DE, et al: An official ATS clinical policy statement: Congenital central hypoventilation syndrome. AmJ Respir Crit Care Med 2010; 181: 626-644.

- 2) 苛原香, 他: 本邦における先天性中枢性低換気症候群の精神発達予後と呼吸管理 . 脳と発達 . 2015; 47: 343-347.
- 3) Simokaze T, et al: Genotype-phenotype relationship in Japanese patients with congenital central hypoventilation syndrome. Journal of Human Genetics 2015; 60: 473-477.
- 4) 長谷川久弥, 他: 先天性中枢性低換気症候群診療ガイドラインにおける呼吸ドックに関する研究 . 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業「先天性中枢性低換気症候群の診断・治療・管理法の確立」に関する研究 . 平成 26 年度総括研究報告書 . PP23-28.



## B 呼吸管理法

### 1. 気管切開による人工換気療法

#### Key point

- ・人工呼吸管理は酸素化と換気を維持する生命維持の治療で生涯必要となる。
- ・低換気の程度により，日中人工呼吸から離脱できる患者もいる。
- ・気管切開による人工呼吸管理は最も確実な長期の人工呼吸管理方法である。
- ・小児ではカフなし気管切開チューブの方が発語などのメリットが大きい。
- ・夜間の PaCO<sub>2</sub> を 30-35mmHg に維持する事が日中のガス交換も改善する。

CCHS 患者の人工呼吸管理の目的は酸素化と換気の維持である。CCHS の呼吸病態は通常回復せず，また薬物療法に反応しないため生涯を通じて人工呼吸管理が必要となる<sup>1)2)</sup>。従来，気管切開による陽圧人工呼吸が用いられている。また人工呼吸管理が必要な時間は症状の程度により，夜間のみ患者と1日24時間必要な患者とがいる。

人工呼吸器の換気モード設定は無呼吸や低換気でも換気量が保障される強制換気が重要である。また気管切開チューブはカフなしの気管切開チューブを用いる。カフなし気管切開チューブの利点はカフによる気管のダメージや肉芽形成が少ないことや細めの気管切開チューブの使用は気管軟骨の成長を妨げないため，気管切開に続発する気管軟化症を予防することができる。細めのカフなしチューブはリークが多いため，発声しやすいという利点もある。一方で気管切開チューブ周囲のリークが多くなるため，陽圧換気はチューブリークを保証できるような換気量と最大吸気圧を設定する。

CCHS 患者の夜間の換気条件として PaCO<sub>2</sub> が 30-35mmHg になるような過換気が推奨されている。夜間の過換気が日中の自発呼吸によるガス交換を改善する効果がある。

ATS（米国胸部疾患学会）の提言では出生後数年間は気管切開による人工呼吸管理を推奨している。非侵襲的人工呼吸管理への移行は夜間のみ人工呼吸管理が必要な患者で入眠時の呼吸管理が安定している6から8歳時<sup>3)</sup>としている。

#### （文献）

1) Weese-Mayer DE, et al: Idiopathic congenital central hypoventilation syndrome: diagnosis and management. American Thoracic Society. Am J Respir Crit Care Med 1999; 160: 368–373.

2) Beckerman RC: Home positive pressure ventilation in congenital central hypoventilation syndrome: more than twenty years of experience. Pediatr Pulmonol 1997; 23: 154–155.

3) Weese-Mayer DE, et al: Trang H. An official ATS clinical policy statement: Congenital central hypoventilation syndrome Genetic basis, diagnosis, and management. Am J Respir Crit Care Med 2010; 181: 626-644.

## 2. 非侵襲的人工呼吸療法

### Key point

- ・非侵襲的人工呼吸管理は鼻マスク，鼻プロング，鼻口マスクによる陽圧人工呼吸管理と陰圧式人工呼吸管理とがある．
- ・鼻マスクによる呼吸管理は有効かつ家族の受け入れが良く患者数は増加している．
- ・マスクによる圧迫は顔面骨の成長する乳児期，小児期に長時間使用すると顔面骨の成長障害をおこす．
- ・CCHS に対するマスクによる非侵襲的人工呼吸管理は小児においては，現時点での推奨年齢は7～8歳以上である．

非侵襲的人工呼吸療法は鼻マスク，鼻プロング，鼻口マスクによる陽圧人工呼吸管理である．

フルフェイスマスクや鼻口マスクの欠点は，嘔吐したものを気道へ吸引する可能性があるため注意が必要である．マスク人工呼吸器はプロアーモーターによる連続流があり，吸気と呼気に2相性（バイレベル）に陽圧をかけ，その差圧で換気する．回路に呼気を排出するポートがあり，呼吸器が高流量を発生し，マスク周囲からのリークにたいしても代償しながら，換気が可能である．吸気圧はおよそ14cmH<sub>2</sub>O程度までが良く，自発呼吸にトリガーして陽圧換気をおこなうが，睡眠時に自発呼吸がなくてもタイムサイクルモードで強制換気が可能である．吸気圧設定が高くと空気嚥下，腹部膨満などの原因となる．

マスクによる人工呼吸が7～8歳以上の夜間のみ人工呼吸管理が必要なCCHSの患者において，非侵襲的で効果があることが証明されている<sup>1-9)</sup>．非侵襲的人工呼吸管理は有効であるばかりでなく，侵襲的人工呼吸管理から短期間で変更した患者や家族への受け入れが良い<sup>10)</sup>．

新生児や乳児期よりマスクによる非侵襲的人工呼吸管理が試されている症例も存在するが，気管切開に比べて気道確保が不安定であり，確実に，安全な長期的呼吸管理の方針として推奨できない．マスクのずれなどにより換気不良を起こす可能性もあり，換気量や酸素化のモニタリングが必須である．

新生児期から気管切開せずにマスクによる非侵襲的人工呼吸管理を継続して成長した患者においてはマスク装着部位の顔面骨の発育不全の報告がある<sup>11),12)</sup>．マスクの装着開始時期に関しては顔面骨の成長発達途中ではなく，ほぼ形状が固定した7-8歳以降の年齢がのぞましい．

CCHS患者に陰圧式人工呼吸の報告がある<sup>13),14)</sup>．胸部シェル(キューラス)，ラップ(キューラスシール)を用い，胸郭や腹部を入れて，陰圧で胸郭を膨らませる人工呼吸器である．装置が大型，装着の手間や装置の調整が必要，仰臥位に限られるなどの理由により世界的にも少数にとどまり，普及していない．また陰圧人工呼吸は乳幼児においては睡眠時の上気道閉塞をおこしうるため気管切開が必要なことがあり，長所が少ない．さらに，陰圧式人工呼吸は患者の胸郭の可動性が重要であり，胸郭変形のあるような患者には適さない．

### (文献)

1) Marcus CL: Ventilator management of abnormal breathing during sleep: continuous positive airway pressure and nocturnal noninvasive intermittent positive pressure ventilation. New York: Marcel Dekker, Inc.; 2000.

2) Kerbl R, et al: Congenital central hypoventilation syndrome (Ondine's curse syndrome) in two siblings: delayed diagnosis and successful noninvasive treatment.

Eur J Pediatr 1996; 155: 977–980.

3)Costa Orvay JA, et al: Non-invasive ventilation in neonates with Ondine syndrome: a real indication? An Pediatr (Barc) 2005; 63: 441–443.

4)Fauroux B, et al: Long-term noninvasive mechanical ventilation for children at home: a national survey. Pediatr Pulmonol 2003; 35: 119–125.

5)Paditz E: Nocturnal nasal mask ventilation in childhood. Pneumologie 1994; 48: 744–749.

6)Simonds AK, et al: Outcome of paediatric domiciliary mask ventilation in neuromuscular and skeletal disease. Eur Respir J 2000; 16: 476–481.

7)Teague WG: Non-invasive positive pressure ventilation: current status in paediatric patients. Paediatr Respir Rev 2005; 6: 52–60.

8)Tibballs J, Henning RD: Noninvasive ventilatory strategies in the management of a newborn infant and three children with congenital central hypoventilation syndrome. Pediatr Pulmonol 2003; 36: 544–548.

9)Villa MP, et al: Bi-level positive airway pressure (BIPAP) ventilation in an infant with central hypoventilation syndrome. Pediatr Pulmonol 1997; 24: 66–69.

10)Ramesh P, Boit P, Samuels M: Mask ventilation in the early management of congenital central hypoventilation syndrome. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2008; 93: F400-3.

11)Li KK, Riley RW, Guilleminault C: An unreported risk in the use of home nasal continuous positive airway pressure and home nasal ventilation in children. Chest 2000; 117: 916–918.

12)Villa MP,et al: Mid-face hypoplasia after long-term nasal ventilation. Am J Respir Crit Care Med 2002; 166: 1142-1143.

13)Kajiura Y, et al: A case of primary alveolar hypoventilation syndrome with a good response to nocturnal low-flow oxygen inhalation and negative pressure ventilation. Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi 1992; 30: 2151–2157.

14)Hartmann H, et al: Negative extrathoracic pressure ventilation in central hypoventilation syndrome. Arch Dis Child 1994; 70: 418–423.

### 3 . 横隔膜ペーシング

#### Key point

- ・横隔神経ペーシングは横隔神経，肺，胸郭に問題のない患者が適応となる。
- ・気管切開を抜去できる可能性があり，ペースメーカーは携帯性にすぐれ，生活の質を改善する。
- ・手術は頸部アプローチと胸腔内アプローチがある。
- ・横隔膜のみ収縮する人工呼吸のため，睡眠時の閉塞呼吸が問題となることがある。
- ・横隔膜ペーシングは心臓ペースメーカーに影響しない。
- ・本邦の健康保険では未承認の治療方法である。

横隔膜ペーシングは患者の横隔膜を呼吸のポンプとし動かす人工呼吸管理である<sup>1-13)</sup>。電池駆動の体外式トランスミッターがパルス波をアンテナに送り，アンテナがラジオ波を両側の皮下に植え込んだレシーバーに送る。レシーバーはラジオ波を電流に変換し，横隔神経に装着したプラチナ製の単極電極に送り，神経を電気刺激することにより横隔膜を収縮させ，呼吸運動となる。対象となる患者には肺に疾患がない，肥満がない，横隔神経から横隔膜に至る部分の障害がない，導入時には気管切開があるなどの条件が必要である。

両側の頸部横隔神経に植え込む方法と胸腔内横隔神経に植え込む方法とがある。胸腔鏡下に両側横隔神経に植え込む非侵襲的外科手術で良い成績が報告されている<sup>9), 11)</sup>。横隔膜ペーシング治療は気管切開で 24 時間人工呼吸管理が必要な患者の日中の活動性をあげることができる。横隔膜ペーシングはこのような患者の日中の換気および酸素化を保ち，長期間の予後は良好で特に生活の質を改善する<sup>9)</sup>。CCHS で夜間のみ人工呼吸が必要な患者においては夜間の横隔膜ペーシングが用いられ，気管切開を抜去でき，マスクによる人工呼吸管理も不要となる。

横隔膜ペーシングは横隔膜収縮の呼吸運動のみであり，上気道の筋肉の収縮による気道が開通する生理的な運動がおこらないため，胸腔内が強く陰圧になることにより，閉塞性無呼吸がおこることがある。この閉塞性無呼吸に関しては横隔膜ペーシングの設定を調整し，横隔膜収縮力を低下させ，収縮時間（吸気時間）を長くすることにより改善させることが可能である。

横隔膜ペーシングの問題点は機器やシステム不良による再度植え込み手術が必要となるかもしれないことである。横隔膜ペーシングは手術後導入初期から横隔膜のペーシングの時間を徐々に長くするという訓練期間が必要であり，多くの小児患者では 12 - 14 時間の継続が可能である。現在 4 極の電極の開発はより長時間の使用を可能とし，また神経損傷や横隔膜疲労などの問題を解決し，運動時のペーシング増加にも対応できるような開発が進んでおり，機器の開発により再挿入の頻度は減少する可能性がある。

CCHS 患者で横隔膜ペーシングの患者で，完全房室ブロックなどの不整脈を合併し心臓ペースメーカーも同時に必要な患者がいるが，心臓ペースメーカーが双極であれば相互に影響はない<sup>1), 11), 12)</sup>。

海外では CCHS，高位脊椎損傷患者を適応に 2000 例以上の使用実績があるが，本邦ではまだ保険診療が認められていないため，数例しかない。今後の認可および導入が期待される。

(文献)

- 1) Weese-Mayer DE, et al: Diaphragm pacing in infants and children. J Pediatr 1992; 120: 1-8.
- 2) Weese-Mayer DE, et al: Diaphragm pacing with a quadripolar phrenic nerve electrode: an international study. Pacing Clin Electrophysiol 1996; 19: 1311-1319.
- 3) Weese-Mayer DE, et al: Diaphragm pacing in infants and children. A life-table

- analysis of implanted components. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 974–979.
- 4)Chen ML, et al: Diaphragm pacers as a treatment for congenital central hypoventilation syndrome. *Expert Rev Med Devices* 2005; 2: 577–585.
  - 5)Glenn WW, et al: Diaphragm pacing by electrical stimulation of the phrenic nerve. *Neurosurgery* 1985; 17: 974–984.
  - 6)Glenn WW, et al: Fundamental considerations in pacing of the diaphragm for chronic ventilator insufficiency: a multi-center study. *Pacing Clin Electrophysiol* 1988; 11: 2121–2127.
  - 7)Hunt CE, et al: Diaphragm pacing in infants and children. *Pacing Clin Electrophysiol* 1988; 11: 2135–2141.
  - 8)Alonso Calderon JL, et al: Simultaneous, bilateral and permanent ventilation with a diaphragm pacing in childhood: The implantation technique and indications. *Cir Pediatr* 1994; 7: 3–7.
  - 9)Shaul DB, et al: Thoracoscopic placement of phrenic nerve electrodes for diaphragmatic pacing in children. *J Pediatr Surg* 2002; 37: 974–978.
  - 10)Hyland RH, Hutcheon MA, Perl A, Bowes G, Anthonisen NR, Zamel N, Phillipson EA: Upper airway occlusion induced by diaphragm pacing for primary alveolar hypoventilation: implications for the pathogenesis of obstructive sleep apnea. *Am Rev Respir Dis* 1981; 124: 180–185.
  - 11)Nicholson KJ, et al: Thoracoscopic placement of phrenic nerve pacers for diaphragm pacing in congenital central hypoventilation syndrome. *J Pediatr Surg* 2015; 50: 78-81.
  - 12)Movahed MR, et al: Absence of device-device interaction (DDI) in a patient with cardiac and diaphragmatic pacemakers for congenital central hypoventilation syndrome. *Pacing Clin Electrophysiol* 2005; 28: 1238–1239.
  - 13)Kolb C, et al: Cardiac pacing in a patient with diaphragm pacing for congenital central hypoventilation syndrome (Ondine’s curse). *J Cardiovasc Electrophysiol* 2006; 17: 789–791.

## 4 呼吸管理法の定期的な見直し

### Key point

- ・成長に伴う生理的变化である 1 回換気量の増加，呼吸数の減少などが起きないため，定期的に換気状態を評価し呼吸管理法を見直す必要がある．
- ・呼吸中枢障害についても定期的に評価する．呼吸中枢障害が進行し，睡眠時の低換気が重症化することや，乳児期には明らかでなかった覚醒時低換気が幼児期以降に顕在化することがある．
- ・定期的な呼吸管理の見直し，成長段階に合わせた呼吸管理への変更には，専門施設との連携が望ましい．

### 【呼吸状態の定期的な評価】

CCHS では睡眠時の人工呼吸では呼吸器に完全に同調することが多いため，成長に合わせて呼吸器の設定を変更する必要がある．乳児期の設定を続けると，圧力が不足し一回換気量の低下が起きることや，年齢相応より早い呼吸数で換気することになる．成長段階に合わせた呼吸状態になるように調整する．設定を変更する際には，再度 SpO<sub>2</sub>，EtCO<sub>2</sub> 等の連続モニタリングを行う．

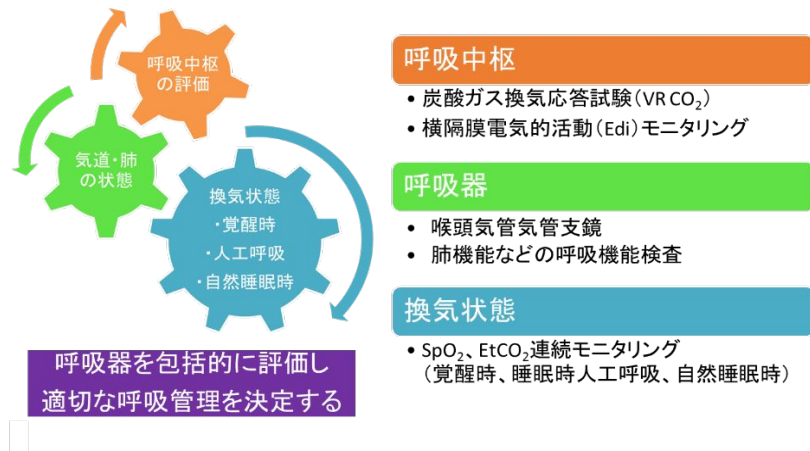
呼吸中枢障害についても定期的な評価を行うことが望ましい．定期的に連続モニタリングを行うと，睡眠時の低換気が重症化している症例もあり，出生後の低換気の蓄積により呼吸中枢障害が進行している可能性がある．また，幼児期になりテレビ，絵本を読むなど意識を集中するようになると，その時点で初めて覚醒時の低換気に気が付く症例がある．覚醒時の低換気は予後に影響するためその有無を慎重に見極めることが重要である．さらに幼児期後半に入ると，活動性が高まり運動量が増加する．運動による炭酸ガス負荷に対しても呼吸賦活は起きないと考えられるが，現時点ではその運動時の換気状態については詳細が明らかになっていない．

成長に伴う人工呼吸器設定の変更と同様に，呼吸管理法の検討を行う．気管切開からの呼吸管理を行っていた症例をいつ鼻マスク等からの呼吸管理に変更するかということについては，定まった見解はないが，考慮する一つのタイミングは就学時であると考えられる．このころには，発達が進んでいれば，人工呼吸器をつける必要性を理解しマスクの装着が容易になり，さらにマスク換気による顔面骨変形は起きにくくなっている．しかし，覚醒時の低換気がある症例では日中のマスク換気が困難であるため気管切開の継続が望ましい場合や，マスク換気の呼吸管理の不安定さからあえて気管切開を継続するという場合もある．個別性の高い問題であるため，初めに呼吸管理法を決定する時同様，保護者とそしてこの時期には児とも十分に話し合い決定すべきである．

### 【専門施設との連携】

このような呼吸管理の調整は，漏れのないように一定のプロトコルに基づいて行われることが望ましい．海外では以前より検査間隔，内容など一定のプロトコルに基づいて行われている施設がある．国内でも，その動きが始まっており，本ガイドライン作成時点では東京女子医科大学東医療センター新生児科を中心に，呼吸器を包括的に評価し呼吸管理を決定するプログラムである CCHS 呼吸ドックが行われている．これまでに国内症例の約 20% が何らかの形で検査を受けている．CCHS 呼吸ドックを行ったことで初めて明らかになる気道病変や覚醒維持低換気がある．その結果，呼吸管理が変更となる症例も少なくない．専門施設と連携し専門的な評価と平時の管理を分担することで，CCHS 診療の質の向上，自施設の負担軽減，複数の評価者が入ることで見逃しが減ることなどの効果も期待できるため，積極的な連携が望ましいと考えられる．

## CCHS呼吸ドックのイメージ



(文献)

- 1) Weese-Mayer DE, et al: An official ATS clinical policy statement: Congenital central hypoventilation syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181: 626-644.
- 2) 長谷川久弥, 他: 先天性中枢性低換気症候群診療ガイドラインにおける呼吸ドックに関する研究. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業「先天性中枢性低換気症候群の診断・治療・管理法の確立」に関する研究. 平成 26 年度総括研究報告書. PP23-28.

## C 薬物療法

### Key point

- ・ CCHS の呼吸不全に対する薬物療法では未だ有効なものはない。

CCHS の呼吸を安定させる呼吸賦活薬などの薬物治療は現在ない<sup>1)</sup>。経口避妊薬のプロゲステロンを内服した CCHS 患者の炭酸ガスに対する換気応答が改善した症例報告<sup>2)</sup>により薬物療法として期待され、Straus 等により CCHS 女性患者 desogestrel を 112 日間投与の臨床研究が行われたが、未だ有効性は証明されていない<sup>3)</sup>。

また、インビトロの研究では腫瘍の治療薬である 17-AAG および curcumin が *PHOX2B* の変異遺伝子のクリアランスを推進し、ポリアラニンの活動性を回復する働きが証明されており<sup>4)</sup>、今後の検討が期待される。

(文献)

1) Ramanantsoa N, Gallego J: Congenital central hypoventilation syndrome. *Respir Physiol Neurobiol* 2013; 189: 272-279.

2) Straus C, et al: Chemosensitivity recovery in Ondine's curse syndrome under treatment with desogestrel. *Respir Physiol Neurobiol* 2010; 171: 171-4.

3) <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT01243697>

4) Di Zanni E, et al: In vitro drug treatments reduce the deleterious effects of aggregates containing polyAla expanded *PHOX2B* proteins. *Neurobiol Dis* 2012; 45: 508-18.

## 第 5 章 予後

### A 発達予後

### Key point

- ・ 気管切開の上、適切な人工呼吸管理を行うと発達予後は概ね良好である。

【発達予後】



CCHS における発達に関しては、低酸素による影響を除外できず、疾患自体による障害の評価は困難であった。しかし、病因遺伝子が判明したことから、早期診断・早期治療が可能となり、新生児期から適切に管理された 20 症例で検討が行われ、全検査 IQ  $84.9 \pm 23.6$  (平均  $\pm$  SD) と学童期における軽度の認知機能の低下が報告された<sup>1)</sup>。更に、2015 年、乳幼児 31 症例 (平均月齢  $25.0 \pm 8.5$  か月, 6-40 か月) が解析され、Bayley 発達検査では、心的尺度  $83.35 \pm 24.75$ 、運動尺度  $73.33 \pm 20.48$  と有意な低下が確認されたことから、疾患自体に基づく中枢神経系の障害が推定される<sup>2)</sup>。心的尺度および運動尺度の低下は、重症な息とめ発作、長時間の洞停止および 24 時間の呼吸管理との関連、運動尺度の低下はけいれんの合併との関連が確認された<sup>2)</sup>。

国内の報告では、苛原らは学齢期以上の 17 例に後方視的に調査を行い、気管切開症例は正常から重度発達遅滞まで認めたが、気管切開の時期が遅いほど遅滞が重篤である傾向を認め、非侵襲的人工呼吸管理を行った症例には全例境界域～中等度の発達遅滞を認めたと報告している<sup>3)</sup>。また、Shimokaze らは 25PARM の 19 例について調査し、8 例 (42%) に精神運動発達遅延を認めた<sup>4)</sup>。25PARM では発症時期が新生児期以降であったり、症状が非典型的であったりしたことから、診断が遅れ、適切な治療が行われずに中枢神経系が障害を受けたことが考えられた。

予後の改善のためには、新生児期の呼吸障害の鑑別疾患として CCHS を念頭に置き、速やかな診断のもと、気管切開を行い、適切に呼吸管理を行うことが発達予後の改善をもたらすものと考えられる。

#### (文献)

1)Zelko FA, et al: Congenital central hypoventilation syndrome: neurocognitive functioning in school age children. *Pediatr Pulmonol* 2010; 45: 92-98.

2)Charnay AJ, et al: Congenital Central Hypoventilation Syndrome: Neurocognition Already Reduced in Preschool-Age Children. *Chest* 2015. doi:10.1378/chest.15-0402

3)苛原香, 他:本邦における先天性中枢性低換気症候群の精神発達予後と呼吸管理. *脳と発達* 2015; 47: 343-347.

4)Simokaze T, et al: Genotype-phenotype relationship in Japanese patients with congenital central hypoventilation syndrome. *J Hum Genet* 2015; 60: 473-477.

## B 生命予後

### Key point

- ・適切な管理が行われれば，生命予後は良好である．

### 【生命予後】

安全で確実な呼吸管理と不整脈等の管理が行われれば，生命予後は良好である<sup>1)</sup>．

(文献)

1)Weese-Mayer DE, et al: An official ATS clinical policy statement: Congenital central hypoventilation syndrome Genetic basis, diagnosis, and management. Am J Respir Crit Care Med 2010; 181: 626-644.

< 相談窓口 >

佐々木綾子（山形大学小児科）

鈴木康之（国立成育医療研究センター集中治療部）

山田洋輔（東京女子医科大学東医療センター新生児科）

ORIGINAL ARTICLE

## Genotype–phenotype relationship in Japanese patients with congenital central hypoventilation syndrome

Tomoyuki Shimokaze<sup>1</sup>, Ayako Sasaki<sup>1</sup>, Toru Meguro<sup>1</sup>, Hisaya Hasegawa<sup>2</sup>, Yuka Hiraku<sup>3</sup>, Tetsushi Yoshikawa<sup>4</sup>, Yumiko Kishikawa<sup>1</sup> and Kiyoshi Hayasaka<sup>1,5</sup>

Examine the genotype–phenotype relationship in Japanese congenital central hypoventilation syndrome (CCHS) patients and estimate the incidence of CCHS in Japan. Subjects were 92 Japanese patients with *PHOX2B* mutations; 19 cases carried 25 polyalanine repeat expansion mutations (PARMs); 67 cases carried 26 or more PARMs; and 6 had non-PARMs (NPARMs). We collected clinical data in all patients and estimated the development or intelligent quotients only in the patients carrying 25 PARM. The estimated incidence of CCHS was greater than one case per 148 000 births. Polyhydramnios was observed in three cases. Twelve infants exhibited depressed respiration at birth. In 19 cases carrying 25 PARM, the male-to-female ratio was ~3, no cases had Hirschsprung disease; 7 cases (37%) developed hypoventilation after the neonatal period, and 8 cases (42%) had mental retardation. In other 73 cases carrying 26 or more PARMs or NPARMs, male-to-female ratio was equal; patients frequently complicated with Hirschsprung disease and constipation, and all patients presented with hypoventilation in the neonatal period. Clinical symptoms were severe in most patients carrying long PARMs and NPARMs. In 25 PARM, additional genetic and/or epigenetic factors were required for CCHS development and male sex is likely a predisposing factor. 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.

*Journal of Human Genetics* (2015) 60, 473–477; doi:10.1038/jhg.2015.65; published online 11 June 2015

### INTRODUCTION

Congenital central hypoventilation syndrome (CCHS; OMIM209880) is a disorder that is characterized by a failure of the automatic control of breathing. Hypoventilation develops mainly during sleep, but can also be present during both wakefulness and sleep in severe cases.<sup>1,2</sup> CCHS is a neurocristopathies (a failure of the migration or differentiation of neural crest-derived precursor cells) and is frequently accompanied by Hirschsprung disease, neuroblastoma and dysregulation of the autonomic nervous system.<sup>2–13</sup> A report from France described an estimated incidence of CCHS of one per 200 000 live births.<sup>14</sup>

CCHS is caused by a mutation in *PHOX2B*, which is essential for the development of the respiratory center and for the differentiation and induction of the autonomic nervous system.<sup>15–18</sup> The *PHOX2B* gene is mapped on chromosome 4p12 and encodes a highly conserved homeobox transcription factor of 314 amino acids with two short and stable polyalanine repeats of 9 and 20 residues.<sup>19</sup> Over 90% of patients with CCHS are heterozygous for polyalanine repeat expansion mutations (PARMs) in *PHOX2B* that can range from 24 to 33 alanines, and remaining 10% of patients have heterozygous non-PARMs (NPARMs) that include missense, nonsense and

frameshift mutations in *PHOX2B*.<sup>20</sup> Approximately 25% of the PARMs is inherited from the parents with somatic mosaicism or constitutive mutation, and the rest of ~75% is *de novo* during spermatogenesis.<sup>21–23</sup>

Disease severity in the patients carrying PARMs increases with increasing expansion of the alanine repeats.<sup>20,24,25</sup> The patients carrying long PARMs or most NPARMs present with severe phenotype in neonatal period.<sup>26</sup> In contrast, the individuals carrying 25 PARM or 24 PARM exhibit hypoventilation during the neonatal period or after the neonatal period and occasionally have no symptoms.<sup>2,20</sup>

Our facilities have provided a molecular diagnostic service for the majority of CCHS patients in Japan. Herein, we report an estimate of the incidence of CCHS in Japan and an analysis of the genotype–phenotype relationship.

### METHODS

#### Subjects

We analyzed the genotype–phenotype relationship of a total of 92 CCHS patients (male-to-female ratio, 49:43) who were diagnosed in the past 12 years including 11 cases previously reported.<sup>16,27–29</sup> The median gestational age (GA)

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Yamagata University School of Medicine, Yamagata, Japan; <sup>2</sup>Division of Neonatal Intensive Care, Tokyo Women's Medical University Medical Center East, Tokyo, Japan; <sup>3</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Gifu Municipal Hospital, Gifu, Japan; <sup>4</sup>Departments of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake, Aichi, Japan and <sup>5</sup>Department of Pediatrics, Miyukikai Hospital, Kamioyama, Japan

Correspondence: Professor K. Hayasaka, Department of Pediatrics, Yamagata University School of Medicine, 2-2-2 Iida-nishi, Yamagata 990-9585, Japan.  
Email: hayasaka@med.kiyamagata-u.ac.jp

Received 22 February 2015; revised 7 May 2015; accepted 12 May 2015; published online 11 June 2015

Table 1 Overview of *PHOX2B* coding sequence status and clinical features

<i>PHOX2B</i> status	Number of cases	Male: female	Apgar score <sup>a</sup>		Age at presentation of CH		Constipation without HSCR		Ventilation support during wakefulness
			1 min	5 min	Neonatal period	After neonatal period	HSCR	HSCR	
25 PARM	19	14:5	9 (8–9)	10 (9–10)	12	7	0	1	0
26 PARM	25	12:13	7 (5–8)	8 (7–9)	25	0	2	7	1
27 PARM	31	16:15	8 (6–9)	9 (9–10)	31	0	10	13	1
> 30 PARM	11	5:6	6 (5–7)	8 (7–9)	11	0	3	7	0
NPARM	6	2:4	8 (6–9)	9 (6–10)	6	0	4	4	4

Abbreviations: CH, central hypoventilation; HSCR, Hirschsprung disease; NPARM, non-PARM; PARM, polyalanine repeat expansion mutation.

<sup>a</sup>Values are expressed as median (IQR). Differences in Apgar score among the five *PHOX2B* groups were significant at 1 min ( $P < 0.01$ ) and 5 min ( $P < 0.05$ ), respectively.

was 39 weeks (interquartile ranges: IQR 38–40 weeks, these data were available in 81 cases), and the median birth weight was 2857 g (IQR 2602–3104 g, these data were available in 78 cases). Six cases were born at preterm delivery, one case was delivered at 33 weeks and five cases were delivered at 35–36 weeks of GA. Six cases were born post-term at 42 weeks of GA. One infant was heavy for date, and nine infants were light for date (data from 73 cases).

This study was approved by the institutional review board of Yamagata University School of Medicine, and written informed consents were obtained from the parents of all infants. The diagnoses followed the standard of the statement of the American Thoracic Society on CCHS.<sup>26</sup> We collected clinical data including information about complications when the blood samples were received. In the patients with 25 PARMs, the developmental quotients or intelligence quotients were assessed using Eyoji's analytical development test,<sup>30</sup> the revised version of the Kyoto Scale of psychological development (K-test),<sup>31</sup> or the Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence.<sup>32</sup> The intelligence quotients were assessed with the Wechsler Intelligence Scale for Children-Third Edition.<sup>33</sup> The frequency of CCHS from 2008 to 2013 years was estimated comparing to the numbers of births each year in Japan, which were reported by the Ministry of Health and Labor and Welfare of Japan.

#### Molecular analysis

We extracted genomic DNA from peripheral blood using a standard method. The entire coding region and intron-exon boundaries of *PHOX2B* were sequenced after polymerase chain reaction amplification as described previously.<sup>16,18,27,28</sup> The sequence reactions were analyzed on an ABI PRISM 3100 Genetic Analyser (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) with the BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).<sup>16,24</sup>

#### Statistics

Clinical data are expressed as median and IQR or range. The Pearson  $\chi^2$ -test was used to compare the proportions of male infants in the patients carrying 25 PARM and the patients carrying other genotypes. Differences between the two groups were compared with the Mann-Whitney *U*-test. The Kruskal-Wallis test was used for comparison of more than two groups. Spearman's correlation coefficients were used to identify the relationships within and between the different outcome measures. A *P*-value of  $< 0.05$  was considered to be statistically significant. The statistical analyses were performed using SPSS software, version 22 (IBM, Armonk, NY, USA).

#### RESULTS

A total of 92 (including with two pairs of siblings) CCHS patients were studied. Molecular analyses of the *PHOX2B* gene revealed that 86 cases had PARMs and six cases had six different NPARMs including the previously reported c.590delG and c.866InsG mutations<sup>16,26</sup> and the novel c.609\_616del8, c.678\_693dup16, c.733\_762dup30 and c.941\_945del5 mutations (Table 1). The patient carrying 24 PARM was not found probably owing to low gene frequency and/or low penetrance.

The minimum estimated incidence of CCHS in Japan was one per 148 000 births on average for the years of 2008–2013 (range 1 per 119 000–206 000 births).

Polyhydramnios was observed in three cases (25 PARM, 26 PARM and c.678\_693dup16). The median Apgar score at one min was 8.0 (IQR 6.0–9.0, data were available in 69 cases) and at 5 min the median was 9.0 (IQR 7.5–9.5, data were available in 63 cases). Twelve infants (three with 25 PARM, five with 26 PARM, two with 27 PARM, one with 32 PARM and one with NPARM) were found to be depressed at birth (defined by an Apgar score below 4 at 1 min and/or 6 at 5 min). The correlation coefficients (*r*) between the alanine repeat expansions and the Apgar score were  $-0.32$  ( $P < 0.01$ ) at 1 min, and  $-0.10$  ( $P = 0.44$ ) at 5 min, respectively.

Among the patients with 25 PARM, the male:female ratio was 14:5; i.e., approximately threefold more males than females were affected (Table 1). In contrast, there were no gender differences in the patients with the other genotypes; i.e., those with 26 or more PARMs and those with NPARMs. There was a significant difference in male dominance between the patients with 25 PARM and the patients with the other genotypes ( $P = 0.045$ ).

Among the patients with 25 PARM, 12 of 19 patients (63%) developed hypoventilation during the neonatal period, and the other seven cases (37%) exhibited hypoventilation in the infantile period or childhood (Table 2). Four cases (the data for one case were not available) were diagnosed as CCHS in the neonatal period, and the median age of diagnosis was 4 months (IQR 1–33 months). No cases with 25 PARM had Hirschsprung disease.

All 73 cases carrying 26 or more PARMs or NPARMs exhibited apparent hypoventilation during the neonatal period. Ventilation support was required even during wakefulness in six cases carrying 26 PARM, 27 PARM and NPARMs except for the c.590delG mutation. Thirty-three of the 69 cases (the data for four cases were not available) were diagnosed as CCHS during the neonatal period, and the median age of diagnosis was one month (IQR 0–3 months). There was a significant difference in the age of diagnosis between the patients with 25 PARM and the other genotypes ( $P < 0.01$ ). There was a correlation between the length of the alanine repeats and the incidence of Hirschsprung disease ( $r = 0.327$ ,  $P < 0.01$ ) or the rate of complication of constipation without Hirschsprung disease ( $r = 0.370$ ,  $P < 0.001$ ). The patients with NPARMs except for the c.590delG mutation had Hirschsprung disease (Table 1).<sup>27</sup>

The median age of diagnosis of the patients with 25 PARM was 4 months, which was greater than that of the patients with other mutations. We were impressed that many patients carrying 25 PARM were mentally retarded and developmental quotients or intelligence quotients scores were assessed in the patients carrying 25 PARM as



**Table 2** Clinical features of the cases with 25 polyalanine repeat expansion mutations

Case	sex	GA (wk)	Birth weight (g)	Apgar score 1 min/5 min	Age at presentation of CH	Age at diagnosis of CCHS	Ventilatory management (period)	DQ or IQ (assessed method) age	Other clinical features
1	M	40	3046	9/na	1 mo	5 mo	CPAP (1 mo–10 mo) Tracheostomy and IMV (10 mo–4 yr) BIPAP (4 yr–)	DQ 99 (K-test) 5.6 yr	
2	M	39	2900	8/na	10 mo	15 yr	LTOT and IMV (10 mo–11 mo) Tracheostomy and IMV (11 mo–)	DQ 71 (Enjoji) 10 mo	
3	M	38	2902	9/10	<1 mo	1 mo	Intubation and IMV (<1 mo–)	na	
4	M	33	2282	8/9	<1 mo	<1 mo	BIPAP (<1 mo–)	IQ 85 (WISC-III) 8.1 yr	Familial case
5	F	38	3000	9/na	<1 mo	1.6 yr	Intubation & IMV (<1 mo–2 mo) Tracheostomy & IMV (2 mo–7 yr) BIPAP (7 yr–)	DQ 88 (WPPSI) 5.7 yr	
6	F	41	2786	9/10	<1 mo	1 mo	Intubation and IMV (day 7–1 mo) Tracheostomy and IMV (1 mo–)	DQ 117 (Enjoji) 3 yr	
7	M	37	na	na/na	1.2 yr	1.2 yr	HOT (1.2 yr–5 yr) BIPAP (5 yr–)	DQ 48 (K-test) 5 yr	Cor pulmonale reported case (ref. 25)
8	F	39	2758	9/10	<1 mo	2 mo	HOT (<1 mo–3 yr) BIPAP (3 yr–)	DQ 51 (K-test) 3.6 yr	
9	M	39	2802	na/na	1 mo	4 yr	BIPAP (1 mo–)	na	Pulmonary hypertension, cor pulmonale
10	M	39	2450	9/9	<1 mo	3 mo	CPAP (<1 mo–3 mo) Tracheostomy and IMV (3 mo–)	normally developed	Ventricular septal defect
11	M	40	3436	Asphyxia	<1 mo	<1 mo	HOT (<1 mo–3 yr) BIPAP (3 yr–)	IQ 60 (WISC-III) 8 yr	Pulmonary hypertension, constipation
12	M	37	3312	5/6	<1 mo	3 mo	HOT (<1 mo–)	MR	Hyoxic-ischemic encephalopathy
13	M	36	2600	Asphyxia	<1 mo	10 yr	HOT (<1 mo–1 yr) BIPAP (10 yr–)	IQ 60 (WISC-III) 6.9 yr	Autism
14	M	na	na	na/na	<1 mo	11 yr	CPAP (<1 mo–1 mo) CPAP (11 yr–)	IQ 85 (WISC-III) 15.6 yr	
15	M	na	na	na/na	1 mo	na	BIPAP (6 mo–)	MR	Perseverative developmental disorder, familial case
16	M	37	2740	8/9	<1 mo	<1 mo	NPPV (<1 mo) HOT (4 yr–12 yr) BIPAP (12 yr–)	DQ 67 (K-test) 6 yr	Acute encephalopathy (12 yr 5 mo)
17	F	40	3050	9/10	3 yr	3 yr	BIPAP (3 yr–)	IQ <45 (WISC-III) 5.5 yr	
18	F	na	na	na/na	2 yr	2 yr	HOT (2 yr–2.8 yr) LTOT and BIPAP (2.8 yr–)	DQ 78 (K-test) 3.4 yr	
19	M	38	2705	9/10	<1 mo	<1 mo	Intubation and IMV (<1 mo–1 mo) Tracheostomy & IMV (1 mo–)	DQ 81 (Enjoji) 10 mo	Polyhydramnios

Abbreviations: BIPAP, biphasic positive airway pressure; CPAP, continuous positive airway pressure; CH, central hypoventilation; DQ, developmental quotient; Enjoji, Enjoji's analytical development test; GA, gestational age; HOT, home oxygen therapy; IMV, intermittent mandatory ventilation; IQ, intelligence quotient; K-test, the revised version of Kyoto Scale of psychological development; LTOT, long-term oxygen therapy; mo, month; MR, apparently mentally retarded but not scored by a standardized method; na, n/d available; NPPV, noninvasive positive pressure ventilation; WPPSI, Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence; WISC-III, Wechsler Intelligence Scale for Children-third edition; yr, year.

shown in Table 2, and 8 of the 19 cases (42%) with 25 PARM were complicated by mental retardation (Table 2).

**DISCUSSION**

We detected 92 cases of *PHOX2B* mutation-confirmed CCHS in Japan, estimated an incidence of >1 per 148 000 births. And in the cases carrying 25 PARM we found a male dominance and the frequent complication of mental retardation.

There had not been previous epidemiological data about CCHS in Japan. Our 6-year analysis estimated the incidence of CCHS in Japan to be >1 case per 148 000 births, which was not significantly different from the estimated incidence of 1 case per 200 000 births that has been previously reported in France.<sup>14</sup> The cases that underwent genetic diagnosis seemed to represent nearly all of the patients in Japan because our facilities provide a unique genetic screening service for the molecular diagnosis of CCHS in Japan. However, this study was not based on clinical phenotype surveillance, and the cases that were only

diagnosed clinically and those that were diagnosed molecularly in other countries were not included.

Notably, the number of male patients with 25 PARM was three times greater than the number of female patients with 25 PARM. The individuals carrying 25 PARM exhibited hypoventilation during the neonatal period or after the neonatal period and occasionally had no symptoms. In contrast, the patients with 26 or more PARMs did not show any sex differences and exhibited hypoventilation during the neonatal period. PARMs in *PHOX2B* have been shown to impair transcriptional function, and transcriptional impairment increases with expansion length for polyalanine repeat.<sup>18</sup> The 26 or more PARMs definitely impair the function of *PHOX2B*, have complete penetrance, and cause CCHS in both male and female infants. However, 25 PARM exhibited incomplete penetrance, which suggests that other genetic and/or epigenetic factors are possibly involved in the clinical onset of CCHS. One study reported that two women carrying 25 and 26 PARMs experienced improvements in hypoventilation

following the use of contraceptive pills that contained desogestrel, which is a potent progestin.<sup>35</sup> Progesterone derivatives are known to exert stimulatory effects on the respiration.<sup>36</sup> Prepubertal females have higher estrogen and lower testosterone and 17OH-progesterone levels than the prepubertal males.<sup>37–39</sup> In addition, in immature rats, there are gender differences in the estrogen levels in the cortex and hypothalamus despite the equivalent blood estrogen levels.<sup>40</sup> The possible mechanisms by which sex hormones might modulate breathing include direct or indirect effects on regulatory gene expression in respiratory neurons. Our study was small and thus cannot completely exclude sampling bias. The male dominance among patients with 25 PARM should be confirmed in more patients.

Eight cases with 25 PARM (42%) displayed apparent mental retardation. Before the disease-causing gene was identified, intellectual and cognitive deficits were commonly reported in CCHS patients.<sup>41–43</sup> Zeiko et al.<sup>43</sup> assessed the intellectual and cognitive abilities of 20 patients with PHOX2B mutation who had been diagnosed at neonates and placed under respiratory control. These authors found that the general Intelligence Index (full-scale intelligence quotients) of these patients was  $84.9 \pm 23.6$  (mean  $\pm$  s.d.) and that the PHOX2B genotype and disease severity indicators were unrelated to neurocognitive indices.<sup>43</sup> Our seven cases were observed to exhibit central hypoventilation in the infantile period or childhood. However, developmental or intellectual deficits were not always associated with the age of onset or the age at diagnosis of CCHS as shown in Table 2. Five of the eight patients with intelligence deficits received home oxygen therapy. Patients with 25 PARM might be under-diagnosed owing to subtle and/or irregular hypoventilation and thus not receive appropriate ventilatory support, which might frequently cause the complication of mental retardation due to hypoxic encephalopathy. Early and definitive diagnoses based on PHOX2B analysis are convenient and useful for preventing neurological sequelae.

In addition, we observed depression at birth in 12 cases and polyhydramnios in 3 cases. The number of infants who exhibited low Apgar scores at 1 min was correlated with an increased number of polyalanine repeats, suggesting one of the symptoms of CCHS. The pregnancies of three cases (3.3%) were complicated by polyhydramnios. Polyhydramnios accompanied by a Chiari I malformation has been reported in one CCHS patient.<sup>44</sup> Faure et al.<sup>4</sup> observed esophageal dysmotility in seven cases via esophageal manometry and speculated that the underlying mechanism might be dysfunctions of the central structures that control swallowing. The complication of polyhydramnios might be derived from a dysfunction of swallowing control that is similar to that observed in congenital myotonic dystrophy.

In summary, we studied 92 Japanese patients with CCHS, estimated an incidence of CCHS and found a male dominance and the frequent complication of mental retardation in the cases carrying 25 PARM. Male sex is likely a predisposing factor for the patients carrying 25 PARM, who frequently had mental retardation likely because they presented subtle and/or irregular hypoventilation and could not receive appropriate ventilation support following a definitive diagnosis.

#### CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported in part by a Grant-in-Aid for Scientific Research (C) from the Ministry of Education, Science, Culture and Sports of Japan and by a Grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare in Japan. We appreciate Dr H. Kawawaki, Dr K. Matsuyama, Dr T. Fujiwaki,

Dr H. Sakamoto, Dr H. Ushiku, Dr R. Kakimura, Dr T. Kimura, Dr R. Suzuki, Dr N. Fueda, Dr R. Nogami, Dr M. Kai, Dr Y. Itohe, Dr M. Kajita, Dr M. Yoshii, Dr T. Yamachi, Dr K. Tanda, and Dr M. Kibida for providing patient information.

- Mellins, R. B., Balfour, H. H. Jr, Turiso, G. M. & Winters, R. W. Failure of automatic control of ventilation (Ondine's curse). Report of an infant born with this syndrome and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* **49**, 487–504 (1970).
- Weese-Mayer, D. E., Shannon, D. C., Keers, T. G. & Silvestri, J. M. Idiopathic congenital central hypoventilation syndrome: diagnosis and management. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **160**, 368–373 (1999).
- Gedberg, D. S. & Ludwig, I. H. Congenital central hypoventilation syndrome: ocular findings in 37 children. *J. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus* **33**, 175–180 (1996).
- Faure, C., Varma, F., Cargil, G., Nawro, J., Gaultier, C. & Trang, H. Abnormal esophageal motility in children with congenital central hypoventilation syndrome. *Gastroenterology* **122**, 1258–1263 (2002).
- Silvestri, J. M., Weese-Mayer, D. E. & Flanagan, E. A. Congenital central hypoventilation syndrome: cardiorespiratory responses to moderate exercise, stimulating daily activity. *Pediatr. Pulmonol.* **20**, 89–95 (1995).
- Patel, J. Y., Swaminathan, S., Sargent, C. W., Hawkeath, A. & Keers, T. G. Ventilatory response to exercise in children with congenital central hypoventilation syndrome. *Am. Rev. Respir. Dis.* **147**, 1185–1191 (1993).
- Shea, S. A., Andres, L. P., Shannon, D. C., Gu, A. & Benzel, R. B. Respiratory sensations in subjects who lack a ventilatory response to CO<sub>2</sub>. *Respir. Physiol.* **99**, 203–219 (1998).
- Spangler, C. M., Benzel, R. B., Szyron, D. M., Shannon, D. C. & Shea, S. A. Respiratory sensations during heavy exercise in subjects without respiratory chemosensitivity. *Respir. Physiol.* **114**, 65–74 (1998).
- Tang, H., Grand, A., Laude, D. & Elghorri, J. L. Short-term blood pressure and heart rate variability in congenital central hypoventilation syndrome (Ondine's curse). *Clin. Sci. (Lond)* **108**, 225–230 (2005).
- O'Brien, L. M., Holbrook, C. R., Vanderlaan, M., Amiel, J. & Gzal, D. Autonomic function in children with congenital central hypoventilation syndrome and their families. *Chest* **128**, 2478–2484 (2005).
- Grani, J. O., Santucci, B. A., Leurgans, S. E., Berry-Kravis, E. M. & Weese-Mayer, D. E. Congenital central hypoventilation syndrome: PHOX2B genotype determines risk for sudden death. *Pediatr. Pulmonol.* **43**, 77–86 (2008).
- Silvestri, J. M., Hanna, B. D., Volgman, A. S., Jones, P. J., Barnes, S. D. & Weese-Mayer, D. E. Cardiac rhythm disturbances among children with idiopathic congenital central hypoventilation syndrome. *Pediatr. Pulmonol.* **29**, 351–358 (2000).
- Woo, M. S., Woo, M. A., Gzal, D., Jensen, M. T., Keers, T. G. & Harper, R. M. Heart rate variability in congenital central hypoventilation syndrome. *Pediatr. Res.* **31**, 291–296 (1992).
- Trang, H., Dehan, M., Beaufrès, F., Zaccaria, I., Amiel, J. & Gaultier, C. The French Congenital Central Hypoventilation Syndrome Registry: general data, phenotype, and genotype. *Chest* **127**, 73–79 (2005).
- Amiel, J., Laudier, B., Attia-Blach, T., Trang, H., de Pontual, L., Geyer, B. et al. Polyalanine expansion and frameshift mutations of the paired-like homeobox gene PHOX2B in congenital central hypoventilation syndrome. *Nat. Genet.* **33**, 459–461 (2003).
- Sasaki, A., Kana, M., Kijima, K., Akaba, K., Hashimoto, M., Hasegawa, H. et al. Molecular analysis of congenital central hypoventilation syndrome. *Hum. Genet.* **114**, 23–26 (2003).
- Weese-Mayer, D. E., Berry-Kravis, E. M., Zhou, L., Maher, B. S., Silvestri, J. M., Curnin, M. E. et al. Idiopathic congenital central hypoventilation syndrome: analysis of genes pertinent to early autonomic nervous system embryologic development and identification of mutations in PHOX2B. *Am. J. Med. Genet. A* **123A**, 267–278 (2003).
- Maher, L., Bachetti, T., Puppo, F., Di Duca, M., Morandi, F., Gearing, G. M. et al. PHOX2B mutations and polyalanine expansions coincide with the severity of the respiratory phenotype and associated symptoms in both congenital and late onset Central Hypoventilation Syndrome. *J. Med. Genet.* **41**, 373–380 (2004).
- Yokoyama, M., Watanabe, H. & Nakamura, M. Genomic structure and functional characterization of NBPhox (PHOX2B), a homeodomain protein specific to catecholaminergic cells that is involved in second messenger-mediated transcriptional activation. *Genomics* **59**, 40–50 (1999).
- Weese-Mayer, D. E., Rand, C. M., Berry-Kravis, E. M., Jennings, L. J., Luftmanek, D. A., Pawari, P. P. et al. Congenital central hypoventilation syndrome from post to future: model for translational and translational autonomic medicine. *Pediatr. Pulmonol.* **44**, 521–535 (2009).
- Arai, H., Otajiri, T., Sasaki, A., Hashimoto, T., Umehira, K., Tokunaga, K. et al. De novo polyalanine expansion of PHOX2B in congenital central hypoventilation syndrome: unequal sister chromatid exchange during paternal gametogenesis. *J. Hum. Genet.* **52**, 921–925 (2007).
- Bachetti, T., Renzi, S., Di Duca, M., Santamaria, G., Ravazzolo, R. & Ceccherini, I. Low amounts of PHOX2B expanded allele in asymptomatic parents suggest unsuspected recurrence risk in congenital central hypoventilation syndrome. *J. Med. Genet.* **48**, 505–513 (2011).



- 23 Meguro, T., Yoshida, Y., Hayashi, M., Toyota, K., Otagiri, T., Mochizuki, N. et al. Inheritance of polyalanine expansion mutation of *PHOX2B* in congenital central hypoventilation syndrome. *J. Hum. Genet.* **57**, 335–337 (2012).
- 24 Trochet, D., O'Brien, L. M., Gossel, D., Trang, H., Nordenskjöld, A., Lardier, B. et al. *PHOX2B* genotype allows for prediction of tumor risk in congenital central hypoventilation syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* **76**, 421–426 (2005).
- 25 Bery-Kravis, E. M., Zhou, L., Rand, C. M. & Weiss-Meyer, D. E. Congenital central hypoventilation syndrome: *PHOX2B* mutations and phenotype. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **174**, 1130–1144 (2006).
- 26 Weiss-Meyer, D. E., Bery-Kravis, E. M., Caccherini, I., Keers, T. G., Logthmanee, D. A. & Trang, H. An official ATS clinical policy statement: Congenital central hypoventilation syndrome: genetic basis, diagnosis, and management. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **182**, 626–644 (2010).
- 27 Arimoto, Y., Otsuda, 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.* **10**, 327–329 (2014).
- 28 Horuchi, H., Sasaki, A., Otsuda, M., Kijima, K., Iino, Y., Matsuda, R. et al. Sensitive detection of polyalanine expansions in *PHOX2B* by polymerase chain reaction using bisulfite-converted DNA. *J. Mol. Diagn.* **7**, 638–640 (2005).
- 29 Fujisaki, T., Hasegawa, H., Arai, H., Hayasaka, K. & Ohta, S. Slowly progressive sleep apnea in late-onset central hypoventilation syndrome. *Pediatr. Int.* **54**, 200–202 (2012).
- 30 Enjōji, M. *Analytical Development Test of Infants*, (Kyo-Toshin, Tokyo, Japan, 1962).
- 31 Britten, M. The WPPSI: a Midlands study. *Brit. J. Educ. Psychol.* **39**, 14–17 (1969).
- 32 Koyama, T., Otsuda, H., Tsuji, H. & Kurita, H. Utility of the Kyoto scale of psychological development in cognitive assessment of children with pervasive developmental disorders. *Psychiatry Clin. Neurosci.* **63**, 241–243 (2009).
- 33 Wechsler, D. *Wechsler Intelligence Scale for Children—Manual*, 3rd edn (The Psychological Corporation, San Antonio, TX, 1997).
- 34 Trochet, D., de Pontual, L., Strioux, C., Gossel, D., Trang, H., Landrieu, P. et al. *PHOX2B* germline and somatic mutations in late-onset central hypoventilation syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **177**, 906–911 (2008).
- 35 Strioux, C., Trang, H., Bequaemin, M.H., Touraine, P. & Simitsek, T. Chemoresistivity recovery in Ondine's curse syndrome under treatment with desogestrel. *Respir. Physiol. Neurobiol.* **171**, 171–174 (2010).
- 36 Behan, M. & Weninger, J. M. Sex steroidal hormones and respiratory control. *Respir. Physiol. Neurobiol.* **164**, 213–221 (2008).
- 37 Sulzova, J., Hill, M., Hampf, R. & Starke, L. Age and sex related differences in serum levels of unconjugated dehydroepiandrosterone and its sulphate in normal subjects. *J. Endocrinol.* **154**, 57–62 (1997).
- 38 Winter, J. S., Hughes, I. A., Reyes, F. I. & Faiman, C. Pituitary-gonadal relations in infancy 2. Patterns of serum gonadal steroid concentrations in men from birth to two years of age. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **42**, 679–686 (1976).
- 39 Klein, K. O., Baron, J., Gull, M. J., McDonnell, D. P. & Cutler, G. B. Jr. Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive combinatorial cell bioassay. *J. Clin. Invest.* **94**, 2475–2480 (1994).
- 40 Amateau, S. K., Alt, J. J., Stamps, C. L. & McCarthy, M. M. Brain estradiol content in newborn rats: sex differences, regional heterogeneity, and possible de novo synthesis by the female brain. *Endocrinology* **145**, 2906–2917 (2004).
- 41 Oron, J., Kelly, D. H. & Shannon, D. C. Long-term follow-up of children with congenital central hypoventilation syndrome. *Pediatrics* **80**, 375–380 (1987).
- 42 Marcus, C. L., Jansen, M. T., Poubert, M. K., Keers, S. E., Nield, T. A. & Lipkier, L. E. et al. Medical and psychosocial outcome of children with congenital central hypoventilation syndrome. *J. Pediatr.* **119**, 888–895 (1991).
- 43 Zalko, F. A., Nelson, M. N., Leurgans, S. E., Bery-Kravis, E. M. & Weiss-Meyer, D. E. Congenital central hypoventilation syndrome: neurocognitive functioning in school age children. *Pediatr. Pulmonol.* **45**, 92–98 (2010).
- 44 Bachetti, T., Ribbiano, A., Rend, S., Mabini, I., Menillo, E., Capra, V. et al. Brainstem anomalies in two patients affected by congenital central hypoventilation syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **174**, 706–709 (2006).