



## A Case of Congenital Central Hypoventilation Syndrome with a Novel Mutation of the *PHOX2B* Gene Presenting as Central Sleep Apnea

Yuko Amimoto, M.D.<sup>1</sup>; Kenji Okada, Ph.D.<sup>1</sup>; Hiroshi Nakano, Ph.D.<sup>2</sup>; Ayako Sasaki, Ph.D.<sup>3</sup>; Kiyoshi Hayasaka, Ph.D.<sup>3</sup>; Hiroshi Odajima, Ph.D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Fukuoka National Hospital, Fukuoka, Japan; <sup>2</sup>Sleep Disorders Center, Fukuoka National Hospital, Fukuoka, Japan; <sup>3</sup>Department of Pediatrics, Yamagata University School of Medicine, Yamagata, Japan

Congenital central hypoventilation syndrome (CCHS) is a rare disease characterized by abnormal autonomic control of breathing resulting in hypoventilation. We report an infant girl with CCHS who presented with central sleep apnea, which was first demonstrated by polysomnography when the infant was 5 months old. She was heterozygous for the novel 590delG mutation of *PHOX2B*, which is classified as a non-polyalanine repeat mutation (NPARM). This mutation is considered to be

associated with a relatively mild phenotype.

**Keywords:** Central sleep apnea, congenital central hypoventilation syndrome (CCHS), *PHOX2B*

**Citation:** Amimoto Y; Okada K; Nakano H; Sasaki A; Hayasaka K; Odajima H. A case of congenital central hypoventilation syndrome with a novel mutation of the *PHOX2B* gene presenting as central sleep apnea. *J Clin Sleep Med* 2014;10(3):327-329.

Congenital central hypoventilation syndrome (CCHS), which was first described by Mellins et al. in 1970, is a rare congenital disease characterized by hypoventilation.<sup>1</sup> Amiel et al., Sasaki et al., and Weese-Mayer et al. identified the paired-like homeobox 2B (*PHOX2B*) gene mutation in CCHS patients.<sup>2-4</sup> Subsequently, Weese-Mayer and colleagues identified mutations in exon 3 of the *PHOX2B* gene in all patients with the CCHS phenotype.<sup>5</sup> Currently, identification of a *PHOX2B* mutation is required to confirm the diagnosis of CCHS. CCHS patients characteristically demonstrate alveolar hypoventilation with diminutive tidal volumes and monotonous respiratory rates during sleep, and in severe cases, also during wakefulness.<sup>5</sup> Affected individuals have diffuse autonomic nervous system dysregulation (ANSD), with anatomical manifestations such as the risk of tumor development. Mcconville et al. identified two *PHOX2B* mutations (600delC, a frameshift mutation and G197D, a missense mutation) as a rare cause of non-syndromic neuroblastoma, which indicates that the underlying *PHOX2B* mutational mechanism influences the risk of tumor and suggests that the position of missense mutations may influence the resulting phenotype.<sup>6</sup>

We report an infant with CCHS who presented with central sleep apnea, which was first demonstrated by polysomnography (PSG) when the infant was 5 months old. She was heterozygous for the novel 590delG mutation of *PHOX2B*.

### REPORT OF CASE

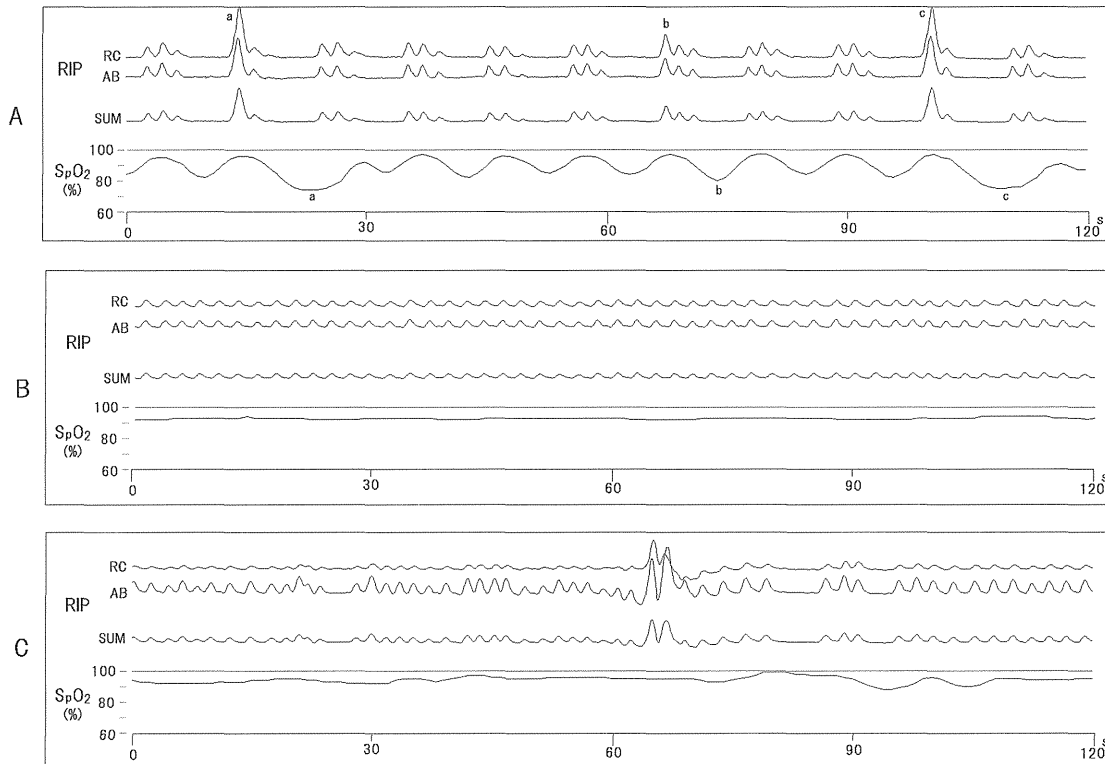
The patient was a 5-month-old girl delivered by Cesarean section performed for obstructed labor at 40 weeks of gestation without any other complication during pregnancy and delivery. The Apgar scores were 8 at 1 min and 9 at 5 min. She was born to healthy parents without consanguinity: a 33-year-old father

and a 23-year-old mother. No relatives of either parent suffered from sleep disorders. Three of the infant's grandparents had undergone surgery under anesthesia without any problems of respiratory management. Neither the parents nor the siblings showed any signs of Hirschsprung disease, tumors of neural crest origin, or other symptoms suggestive of ANSD.

The patient was admitted to NICU because of frequent episodes of respiratory arrest for a few seconds at the onset of sleep on the day of birth. There were no rales or heart murmurs. The muscle tone was good. Venous blood gas analysis revealed a PvCO<sub>2</sub> of 32.7 mm Hg in room air. There were no abnormalities on x-ray examination of the chest/abdomen, examination of the cerebrospinal fluid, or ultrasound examination of the brain and heart. The patient was discharged from the NICU one month after birth under home oxygen therapy; supplemental oxygen by nasal cannula (2 L/m) during sleep with SpO<sub>2</sub> monitoring was prescribed at discharge. She was brought to the hospital in which she was born at 5 months of age with a history of frequent episodes of apnea and hypoxemia (lowest SpO<sub>2</sub> ≈ 70%) observed during sleep, and was hospitalized at the Fukuoka National Hospital for investigation of the etiology of her condition.

Initial vital signs at admission revealed an SpO<sub>2</sub> of 96% (room air), pulse rate of 134 beats/min, respiratory rate of 34/min, and body temperature of 36.0°C. Physical examination was unremarkable; the color and tone were good. Arterial blood gas analysis was normal (SaO<sub>2</sub> 96.2%, PaO<sub>2</sub> 85.2 mm Hg, PaCO<sub>2</sub> 44.0 mm Hg, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 25.4 mmol/L, and pH 7.379) while awake in room air. The complete blood cell count and blood chemistry profile were within normal limits. There were no abnormalities on chest x-ray, ultrasound examination of heart, abdomen or brain, electrocardiogram, laryngoscopy, electroencephalogram, brain MRI, or examination of vanillylmandelic acid (VMA)/

**Figure 1**—Representative traces of the respiratory pattern during sleep.



SpO<sub>2</sub> was measured with a toe probe. Therefore, there is a lag time between change in RIP signal and change in SpO<sub>2</sub> (≈ 10s). (A) NREM sleep. Frequent central apnea episodes are seen. Marked increase in tidal volume associated with profound desaturation was observed (a-c). (B) NREM slow wave sleep. Regular breathing pattern is seen. The SpO<sub>2</sub> is slightly reduced. (C) REM sleep. Irregular breathing and sporadic central apnea episodes are seen.

homovanillic acid (HVA) excretion in the urine. These results suggested the absence of any primary pulmonary, cardiac, or neuromuscular disease, or brainstem disorder.

Diagnostic PSG was performed without supplemental oxygen administration. The PSG revealed almost normal sleep architecture except for relatively frequent awakenings during night. The respiratory signals showed frequent central apnea episodes, with an apnea-hypopnea index (AHI) of 161/h. The mean apnea duration of the central apnea episodes was 5 s (range 3-24 s). The apnea events caused recurrent SpO<sub>2</sub> drops without associated arousal response. The lowest SpO<sub>2</sub> recorded was 45%. The frequency of central apnea episodes was greater during NREM sleep than during REM sleep (178/h vs. 96/h). During NREM sleep, the frequency of central apnea episodes and desaturation were the severest at sleep onset (Figure 1A), becoming milder as time went by. There were also stable NREM slow wave sleep periods with a regular respiratory rhythm and a slightly reduced oxygen saturation level (SpO<sub>2</sub> 91% to 93%) (Figure 1B), suggesting the existence of only mild hypoventilation. The mean SpO<sub>2</sub> during PSG was 93.2%.

Genetic study was performed using peripheral blood cells. On amplification and sequencing of the *PHOX2B* gene, heterozygosity for a novel 590delG mutation of *PHOX2B* was detected; on this basis, the infant was diagnosed as having CCHS. Although we recommended a genetic study of the

patient's family, only the patient's mother gave consent for such a study, which yielded a normal result.

We introduced noninvasive positive pressure ventilation (NIPPV) for the treatment of central sleep apnea. The initial settings for the NIPPV were: inspiratory positive airway pressure (IPAP) 8 cm H<sub>2</sub>O, expiratory positive airway pressure (EPAP) 4 cm H<sub>2</sub>O, respiratory rate (RR) 20 breaths/min, inspiration time 0.6 seconds. PSG under NIPPV revealed a marked decrease in the frequency of the central apnea episodes; the AHI was 10.5 and the mean SpO<sub>2</sub> during the PSG was 98.0%. The mean apnea duration was 7 s (range 4-12 s). The lowest SpO<sub>2</sub> recorded was 85%. However, three-fourths of the apnea-hypopnea episodes were classified as obstructive or mixed type, indicating inadequate NIPPV settings. Therefore, the pressure setting was increased.

## DISCUSSION

We report a case of CCHS presenting as severe central sleep apnea with a novel mutation of the *PHOX2B* gene. Previous studies have reported various types of *PHOX2B* gene mutations in patients with CCHS. The present case had a novel mutation, namely, a 590delG mutation, of the *PHOX2B* gene.

It is reported that central sleep apnea is a relatively common phenomenon in normal infants.<sup>7</sup> However, the frequency of

central apnea events in this case was extremely high, suggestive of an unusual etiology, which was the reason for our considering genetic testing for CCHS.

*PHOX2B* is the disease-defining gene for CCHS. Approximately 90% of individuals with the CCHS phenotype are heterozygous for a polyalanine repeat expansion mutation (PARM), and the remaining approximately 10% of individuals with CCHS are heterozygous for a non-PARM (NPARM) (including missense, nonsense, and frameshift mutation) in the *PHOX2B* gene.<sup>5</sup> In this case, 590delG, a frameshift mutation (NPARM), was found in exon 3 of the *PHOX2B* gene. In contrast to the PARMs, the majority of NPARMs occur *de novo* and are associated with very severe phenotypes, including Hirschsprung disease with extensive gut involvement, need for continuous ventilatory support, and increased tumor risk.<sup>5</sup> Most NPARMs are considered to act in a dominant-negative and gain-of-function manner and to be associated with severe phenotypes. However, at present, our patient does not have any severe complications, except the need for ventilatory support during sleep. A few similarly located frameshift mutations (618delC, 577delG) were detected in families with milder phenotypes showing variable penetrance.<sup>8</sup> The 590delG mutation is expected to produce p.G197Afs\*111, which may have a milder pathogenic effect than other NPARMs. We could not confirm the penetrance because the father refused to provide a specimen.

CCHS patients usually present with hypoventilation and hypoxemia. They lack both the hypercapnic ventilatory response and hypoxic ventilatory response.<sup>9,10</sup> In this case, while the central sleep apnea was severe, the hypoventilation seemed relatively mild, even during sleep. Although we did not perform tests for ventilatory responses, we think that the patient had a relatively preserved ventilatory response to hypercapnia or hypoxia, because she showed repetitive short desaturation-resaturation cycles, and not sustained severe desaturation during sleep. Moreover, the patient responded to severe desaturation with marked increase in the tidal volume, which also suggested preserved ventilatory responses. These observations and the presumably normal ventilatory control in the awake state, suggested by the normal PaCO<sub>2</sub>, indicate that the degree of hypoventilation in this patient was considerably mild in the spectrum of CCHS. This notion was also supported by the absence of overt respiratory arrest in the first 5 months of life in the absence of any ventilatory support. We speculate that the incompletely preserved ventilatory response was the reason why this patient presented with central sleep apnea rather than severe hypoventilation.

Although positive pressure ventilation via tracheostomy is recommended during the first several years of life when brain growth and development requiring normoxia occurs,<sup>5</sup> we

selected NIPPV for the treatment of central apnea because of the family's strong desire to avoid tracheostomy and the above-mentioned relatively preserved ventilatory responses. However, there are a few risks associated with this line of management that should be borne in mind during the follow-up period: the risk of development of mid-face hypoplasia and the uncertainty of prevention of central apnea.<sup>5</sup> Therefore, careful follow-up of the respiratory status and also monitoring for possible complications of NIPPV as well as emergence of neural crest tumor.<sup>5</sup>

This case had a novel mutation of *PHOX2B* NPARM, and suggested that the severe central sleep apnea is a phenotype of this genotype. This case experience suggests that children with severe central sleep apnea need not only neurological examination, but also genetic testing for mutations of the *PHOX2B* gene.

## REFERENCES

1. Mellins RB, Balfour HH Jr, Turino GM, Winters RW. Failure of autonomic control of ventilation (Ondine's curse). *Medicine (Baltimore)* 1970;49:487-526.
2. Amiel J, Laudier B, Attie-Bitach T, et al. Polyalanine expansion and frameshift mutations of the paired-like homeobox gene *PHOX2B* in congenital central hypoventilation syndrome. *Nat Genet* 2003;33:459-61.
3. Sasaki A, Kanai M, Kijima K, et al. Molecular analysis of congenital central hypoventilation syndrome. *Hum Genet* 2003;114:22-6.
4. 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;123:267-78.
5. Weese-Mayer DE, Berry-Kravis EM, Ceccherini I, Keens TG, Loghmanee DA, Trang H. An Official ATS Clinical Policy Statement: Congenital Central Hypoventilation Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:626-44.
6. McConville C, Reid S, Baskcomb L, Douglas J, Rahman N. *PHOX2B* analysis in non-syndromic neuroblastoma cases shows novel mutations and genotype-phenotype associations. *Am J Med Genet A* 2006;140:1297-301.
7. McNamara F, Sullivan CE. Sleep-disordered breathing and its effects on sleep in infants. *Sleep* 1996;19:4-12.
8. Weese-Mayer DE, Rand CM, Berry-Kravis EM, et al. Congenital central hypoventilation syndrome from past to future: model for translational and transitional autonomic medicine. *Pediatr Pulmonol* 2009;44:521-35.
9. Fleming PJ, Cade D, Bryan MH, Bryan AC. Congenital central hypoventilation and sleep state. *Pediatr Res* 1980; 66: 425-8.
10. Guillemainault C, McQuitty J, Ariagno RL, et al. Congenital central alveolar hypoventilation syndrome in six infants. *Pediatrics* 1982;70:684-94.

## SUBMISSION & CORRESPONDENCE INFORMATION

Submitted for publication May, 2013

Submitted in final revised form October, 2013

Accepted for publication October, 2013

Address correspondence to: Yuko Amimoto, M.D., Department of Pediatrics, Fukuoka National Hospital, 4-39-1, Yakatabaru, Minami-ku, Fukuoka-city, Fukuoka, 811-1394, Japan; Tel: +81-92-565-5534; Fax: +81-92-566-0702; E-mail: yuyuyun0101@yahoo.co.jp

## DISCLOSURE STATEMENT

This was not an industry supported study. The authors have indicated no financial conflicts of interest.

# 先天性中枢性低換気症候群の現況と展望

Congenital central hypoventilation syndrome: paradigm shifts and future prospects

早坂 清 佐々木綾子

## Abstract

Congenital central hypoventilation syndrome (CCHS) is characterized by a failure of the automatic control of breathing during sleep, and is caused by the dominant *PHOX2B* mutation. *PHOX2B* encodes a highly conserved homeobox transcription factor with two short polyalanine tracts. More than 90 % of patients carry polyalanine expansion mutations (PARM) in the polyalanine tract of 20 residues and less than 10 % of the patients have missense, nonsense, or frameshift mutations (non-PARM). Approximately 25 % of the patients with PARM inherited the mutation from asymptomatic parents with somatic mosaicism or few affected parents. Molecular analysis can provide the definite diagnosis and clinically useful information. Model mouse experiments and MRI study of the patients will contribute to understanding the pathogenesis and development of new treatment strategy.

**Key words:** congenital central hypoventilation syndrome, *PHOX2B*, polyalanine, late onset central hypoventilation syndrome

## はじめに

覚醒時における呼吸は、血中の炭酸ガスや酸素濃度およびpHを感知する化学受容器や肺の伸展受容器などからのシグナルが呼吸中枢で統合され、更に大脳を含む上位構造からの制御も受け調節されている。一方、睡眠時(特にnon-REM期)における呼吸は、主として化学的調節機構により制御されている(図1)。

先天性中枢性低換気症候群(congenital central hypoventilation syndrome: CCHS) (MIM 209880)は、呼吸中枢の化学的調節機構の先天的な異常により、主に睡眠中に、重症型では覚醒時にも低換気をきたす疾患である。有病率は、欧米の報告では、出生5万-20万人に1人と推

定されている。国内の詳細なデータはないが、著者らの解析からは我が国でも少なくとも出生約10万人に1人検出されている。

病因遺伝子*PHOX2B*が解明され、本症の概要が明らかにされるとともに、*PHOX2B*遺伝子改変マウスの解析から病態が解明され始めている。本稿では、これらを踏まえて解説する。

## 1. 臨床

### 1) 症 状

典型的な症例では新生児期より睡眠時に認められる中枢性の無呼吸・低換気の特徴とし、重症例では、覚醒時にも低換気が認められる。病因が*PHOX2B*変異と確認されたことから、乳児期~成人期に発症する非典型的な症例、late

Kiyoshi Hayasaka, Ayako Sasaki: Department of Pediatrics, Yamagata University School of Medicine 山形大学医学部 小児科学教室

0047-1852/14/¥60/頁/JCOPY

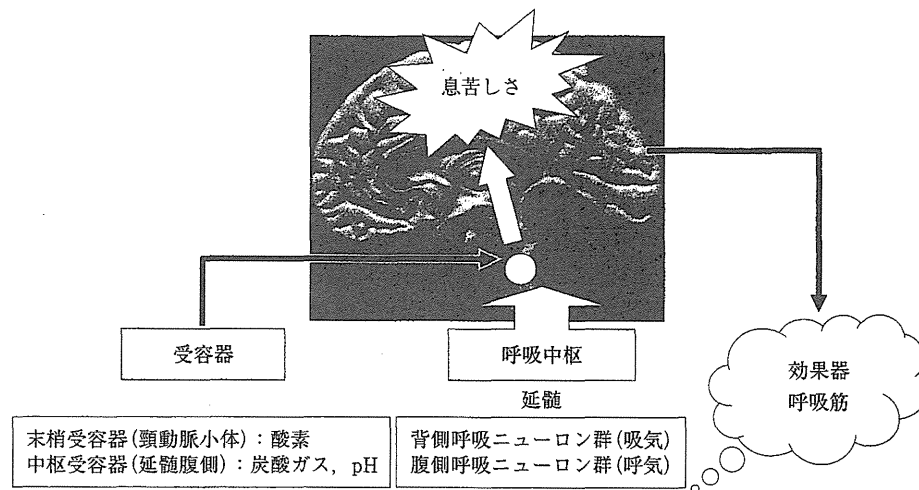


図 1 呼吸の化学的調節機構

onset central hypoventilation syndrome (LO-CHS) の存在も明らかにされた。ただし、LO-CHS の約 30% には *PHOX2B* 変異が検出されない。CCHS では、明らかな循環器・呼吸器疾患、筋・神経疾患、代謝性疾患、先天奇形などが認められないことが定義となっている。換気障害に気づかれず、換気障害の結果として生じた肺高血圧や心不全と診断されたり、apparent life threatening event (ALTE) を呈する症例も存在する<sup>1)</sup>。

合併症としては、巨大結腸症 (Hirschsprung 病) (約 20%)、神経芽細胞腫 (約 6%)、自律神経系の異常 (心拍の呼吸性変動の低下、洞結節不全や房室ブロックなどの不整脈、便秘、食道蠕動異常、胃食道逆流症、低体温、痛覚異常、瞳孔異常、涙液分泌異常、発汗異常、体温調節障害など) があり、これらは神経堤の分化異常により説明される。加えて、低血糖や食後高血糖の報告もあり、前者は高インスリン血症、後者は自律神経の障害による血糖の調節機構の障害が考えられている<sup>1,2)</sup>。

中枢神経系の症状として軽度の精神発達障害や視覚認知障害が報告されている。MRI では脳幹および小脳から前脳にわたる多くの部位の構造異常が報告され、拡散強調画像では中脳、大脳脚、橋、外側延髄、小脳、上小脳脚交差や小脳脚の軸索、上下小脳脚などの髄鞘形成障害が

表 1 睡眠時無呼吸症候群の分類

1) 中枢性睡眠時無呼吸症候群
(1) 一次性
congenital central hypoventilation syndrome
late-onset central hypoventilation syndrome
Arnold-Chiari 奇形
特発性視床下部機能不全
(2) 二次性
外傷
梗塞
感染
腫瘍
頭蓋内圧亢進 など
2) 閉塞性睡眠時無呼吸症候群
アデノイド (口蓋扁桃肥大) など
3) 混合性睡眠時無呼吸症候群
生理学的には閉塞性の亜型と考えられる

報告されている。また、脳梁における運動、認知、会話、眼球運動調節にかかわる神経線維の減少が報告されている<sup>3)</sup>。これらの中枢神経系の障害では、低換気による低酸素障害に基づく二次的病変を念頭に置く必要がある。

## 2) 診断

本症の病態は、高炭酸ガス血症と低酸素血症に対する呼吸中枢の換気反応の欠如もしくは低下と考えられており、睡眠ポリソムノグラフィを用いて睡眠時の中枢性の低換気を確認する。表 1 に鑑別上重要な睡眠時無呼吸症候群の分類

を示す。呼吸機能検査では、標準的な検査に加えて、炭酸ガスに対する換気応答試験を行い診断される。新生児における呼吸機能検査には熟練を要し、近年、病因の解明に伴い、*PHOX2B* 遺伝子解析により診断される症例が増加している。

### 3) 治療

安全な呼吸管理が求められる。欧米における治療指針では、生後数年は気管切開のもと陽圧式人工呼吸器を用いて管理する。その後バイパップ(bilevel positive airway pressure: BiPAP)、胸郭外陰圧式人工呼吸器(continuous negative extrathoracic pressure ventilation: CNEP)や横隔膜ペーシングなどを用いて管理する<sup>1)</sup>。低換気が睡眠時のみに認められる症例では睡眠時のみに、覚醒時にも認められる症例では覚醒時にも呼吸を管理する。国内では、新生児期からBiPAPを用いることが少なくなく、外見を気にする保護者の日本人気質による影響が考えられる。しかし、安全面および顔面骨の変形をきたすことから推奨されない。横隔膜ペーシングは、患者の行動範囲を広げ生活の質を高めるが、国内では一般的でなく、欧米で施術された1例のみ存在する。

### 4) 予後

フランスからの報告では、死亡率は38%、死亡例の中央値は3カ月であり、主な死因は肺性心、肺炎、窒息である<sup>4)</sup>。長谷川らによる国内の37症例の報告では、7例(19%)が死亡しており、22例では診断後の障害は進行せず、8例には障害を認めていない<sup>5)</sup>。今後、診断法および呼吸管理法の向上により予後の改善が期待される。

## 2. 病態

### 1) 病因遺伝子 *PHOX2B* と変異

*PHOX2B* と病因が特定される前には、神経堤の分化誘導にかかわる多くの遺伝子、*RET*、*GDNF*、*EDN3*、*BDNF*、*HASH1*、*PHOX2A*、*GFRA1*、*BMP2*、*ECE1* などの変異が報告されていた。しかし、いずれも少数であり、伸長変異検出法の改善により *PHOX2B* 変異も検出さ

れたことから、これらの変異の有無にかかわらず、*PHOX2B* 変異がCCHSの一次的病因であることが明らかにされた<sup>1,6,7)</sup>。

*PHOX2B*(MIM 603851)は、染色体4p12に位置し、約5Kbの大きさで、3つのエクソンから構成される。この遺伝子は、9個と20個のアラニンからなる2つのポリアラニン鎖を各1個、homeoboxを1個有する転写調節因子をコードしている(図2)。アミノ酸配列は、チンパンジー、ラット、マウスまで100%一致しており、哺乳動物における重要な役割を示唆している。後述するように、*PHOX2B* は、呼吸中枢の形成および自律神経系の分化・誘導に重要な役割を有している。

症例は変異のヘテロ接合体であり、優性遺伝形式をとる。90%以上の症例には、20ポリアラニン鎖における4-13アラニンの伸長変異(24-33ポリアラニン変異)(polyalanine repeat expansion mutation: PARM)が検出され、約10%には、ミスセンス、ナンセンス、フレームシフト変異などの非アラニン伸長変異(nonpolyalanine repeat expansion mutation: NPARM)が検出される(図2)<sup>1,6,7)</sup>。

伸長変異の遺伝について、ほとんどの変異は *de novo* の変異と考えられてきた。しかし、感度の高いフラグメント解析を用いて両親のゲノムDNAを解析すると、伸長変異の約25%はモザイクの親や遺伝子変異を有する無症状の親(不完全浸透を示す24もしくは25ポリアラニン変異を有する)およびLO-CHSに罹患している親からの遺伝であることが明らかにされた<sup>8,9)</sup>。フラグメント解析は、モザイク率2%まで検出可能な鋭敏な方法であり、本解析により次子への遺伝の危険性が判明すると考えられたが、最近、性腺モザイクの一報告があり、末梢血のゲノムDNAを用いた方法では、検出できない性腺モザイクの存在が明らかにされた<sup>10)</sup>。

伸長変異の由来について、アラニンのコドンGCNであり、ポリアラニン配列はGC塩基の多い反復配列で、健康な人に短縮配列が多型として検出されることから、減数分裂時における不等交差により生成されたと考えられてきた。

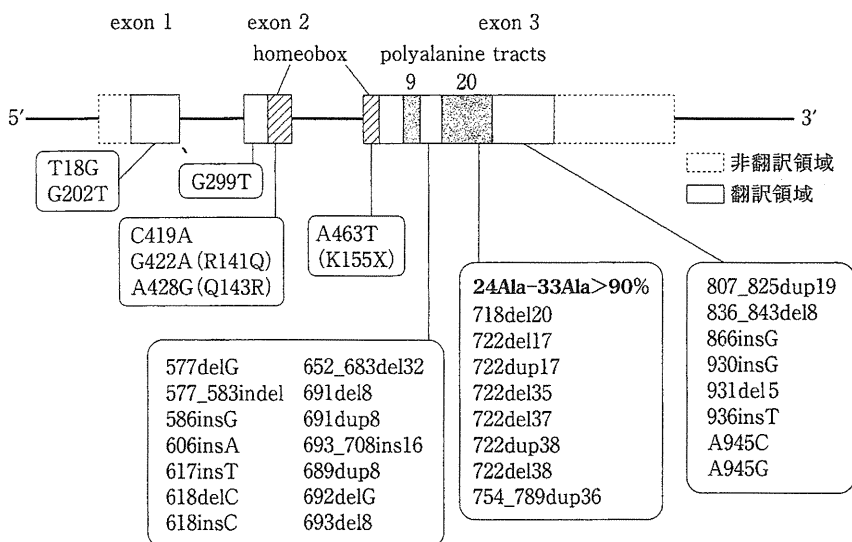


図2 PHOX2Bの構造と変異

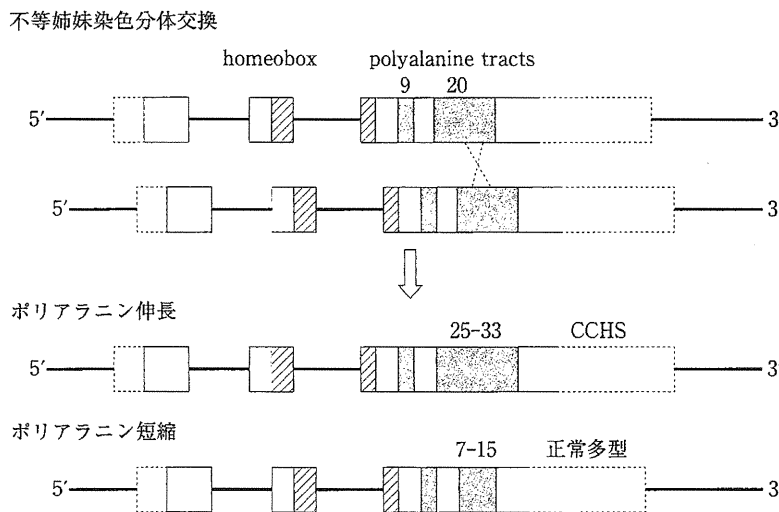


図3 PHOX2Bのポリアラニン伸長・短縮機構

しかし、著者らの解析から、*de novo*の変異は、父親の精子形成時における不等姉妹染色体分体交換により生成することが明らかにされた(図3)<sup>11)</sup>。一方、変異の一部には姉妹染色体分体間の組換えでは説明できない変異が存在する。また、伸長アリのモザイク例では、正常アリと伸長アリのみが検出され、短縮アリの検出されず、不等姉妹染色体分体交換による生成機構では説明されない。ポリアラニン配列はGC塩基の多い三塩基の反復配列であることか

ら二次構造をとりやすく、一部の症例やモザイク例においては、DNAの複製や修復時における複製フォークの停止そして異なる部位からの再開という生成機構が推定される<sup>12)</sup>。

2) 遺伝子型と臨床型について

25ポリアラニン変異および一部の非アラニン伸長変異(NPARM)では、不完全浸透を示し、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-CHS)症例、呼吸器感染症罹患時や麻酔時に低換気が顕在化する

症例も存在する<sup>1)</sup>。合併症に関しては、巨大結腸症の合併は認めず、他の自律神経障害もほとんど認めない。最近、24 ポリアラニン変異のホモ接合体およびヘテロ接合体の症例が検出されており、25 ポリアラニン変異と同様に LO-CHS の発症や不完全浸透を示すことが推測される。26 以上のポリアラニン変異では、完全浸透を示し、すべて新生児期に発症する。また、巨大結腸症の合併頻度が高く、巨大結腸症の合併を認めなくとも、慢性の便秘を訴える症例が多く、胃食道逆流症を認める症例も存在する。一方、断端吻合術を施行した巨大結腸症においても、残存する腸管の神経叢の発達が悪い症例では術後も通過障害を認める。26 ポリアラニン変異では 25%、27 ポリアラニン変異では 67% の症例に、不整脈のためにペースメーカーの装着を要したという報告もある。伸長の長さ に比例し、他の自律神経系の異常を合併する頻度が高い。また、29 以上のポリアラニン変異では、神経節細胞芽腫、神経節細胞腫の報告があり注意を要する。

ミスセンス変異、ナンセンス変異やフレームシフト変異などのほとんどの非アラニン伸長変異(NPARM)を有する症例では、26 以上のポリアラニン変異を有する症例と同様に重症であることが多く、不整脈、巨大結腸症や神経芽細胞腫の合併も多く、心電図モニターや定期的な神経芽細胞腫のマーカー測定などによる経過観察が重要である。

### 3) モデルマウスおよび *in vitro* における 発現実験

#### a. *Phox2b* ノックアウトマウス

*Phox2b* ノックアウトマウスのホモ接合体では、末梢化学受容器から呼吸の調節にかかわる中枢の形成が障害され、胎仔期に死亡する<sup>13)</sup>。ヘテロ接合体では、新生仔期に高炭酸ガスや低酸素に対する換気応答の低下を一過性に認めるが、生後 10 日までには消失し成長する。CCHS としての症状を認めないことから、CCHS に検出される *PHOX2B* 変異は loss-of-function としてではなく、gain-of-function として作用することを示唆している。

#### b. Constitutive *Phox2b*<sup>27Ala/+</sup>マウス

*Phox2b* アリルに 27 ポリアラニン変異をノックインしたマウスのヘテロ接合体では、生後間もなくからチアノーゼを呈し数時間で死亡する<sup>14)</sup>。出生後の呼吸は、個体差が大きく、喘ぎ呼吸、無呼吸の混じる不安定な呼吸、浅く緩徐な呼吸など様々なパターンを示し、長時間の無呼吸が高頻度に認められる。炭酸ガスに対する換気応答を認めず CCHS 類似の症状を呈する。胎生 12.5 日には、pre-Böttinger 複合体の機能は認められるが、retrotrapezoid nucleus(RTN)/parafacial respiratory group(pFRG)における *Phox2b*<sup>+</sup>ニューロンの脱落が認められる(図 4)。後期胎仔においては RTN/pFRG が呼吸リズムの形成にも関与し、*Phox2b*<sup>27Ala/+</sup>マウスの不安定な呼吸は、化学刺激による換気応答の障害と呼吸リズム形成の障害によると考えられる。

#### c. Conditional *Phox2b*<sup>27Ala/+</sup>(=*Egr2*<sup>cre/+</sup> *Phox2b*<sup>27Alack/+</sup>)マウス

RTN に限局した 27 ポリアラニン変異導入マウスでは、RTN が形成されず、炭酸ガスに対する換気応答が認められない<sup>15)</sup>。しかし、pCO<sub>2</sub> は正常に保たれ成長する。酸素に対する換気応答が認められることから、末梢化学受容器による調節機構が作動していることが考えられる。炭酸ガスに対する換気応答は、生後 3 週間では正常の約 20%、生後 4 カ月では約 40% と改善してくることから、頸動脈小体や脳の他の化学受容器(セロトニンニューロンやグリア細胞など)による代償機構の作動が推察される。constitutive *Phox2b*<sup>27Ala/+</sup>マウスは、新生仔期に死亡することから、*Phox2b* は生命維持に重要な網様体などの形成にも重要な役割を果たしていることが推測される。

#### d. Constitutive *Phox2b*<sup>del5/+</sup>および *Phox2b*<sup>del8/+</sup>マウス

NPARM 変異を有する症例では、巨大結腸症や神経芽細胞腫を合併する頻度が高い。NPARM 変異のモデルである *Phox2b*<sup>del5/+</sup> および *Phox2b*<sup>del8/+</sup>マウスは、生後自発呼吸は認めず、数時間で死に至る<sup>16)</sup>。RTN/pFRG ニューロンの欠失に加えて、*Phox2b* 依存性の顔面神経運動



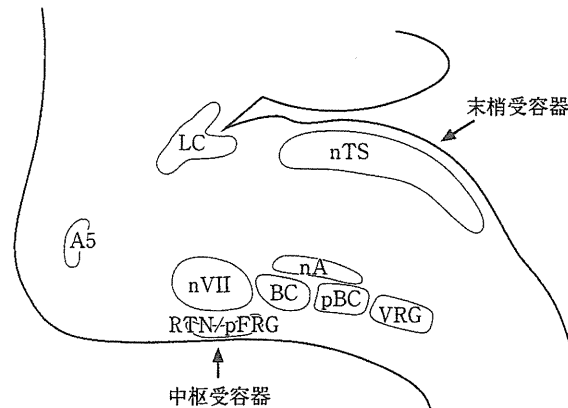


図4 *Phox2b*<sup>27Ala/+</sup>マウス脳幹における  
*Phox2b*<sup>+</sup>ニューロンの脱落

*Phox2b*<sup>27Ala/+</sup>マウスでは、RTN/pFRGにおける*Phox2b*<sup>+</sup>ニューロンの脱落が認められる。

RTN/pFRG: retrotrapezoid nucleus/parafacial respiratory group,  
BC: Bötzing complex, pBC: pre-Bötzing complex, VRG: ventral respiratory group, nA: nucleus ambiguus, nVII: nucleus facialis, nTS: nucleus of the solitary tract, LC: locus coeruleus.

(文献<sup>14)</sup>より改変)

核と迷走神経背側運動核の低形成～欠失も認められ、腸管の自律神経節についても低形成～欠失が認められる。胎仔における腸管および交感神経節の前駆細胞では、Sox10の発現が持続し、増殖が抑制され、グリア細胞系への分化が促進している。野生型*Phox2b*によるdopamine  $\beta$ -hydroxylaseに対する転写促進作用をdominant-negativeに抑制し、Sox10に対する転写抑制作用を打ち消し、促進的に作用する。*Phox2b*によるSox10の発現調節機構は、自律神経節の正常発達に重要な役割を果たしていると考えられる。

#### 4) PHOX2Bの発現と機能

PHOX2Bは、神経細胞の分化誘導に重要な役割を果たしている転写因子であり、呼吸、循環、消化管の調節にかかわる自律神経の中核の形成に関与している。呼吸とのかかわりでは、末梢および中枢の化学受容器からのシグナルの伝達および統合に関与する一連のニューロンに発現しており、これらのニューロンには頸動脈小体、化学受容器からの求心路、孤束核から延髄腹外側への投射路、RTNに位置する中枢化学受容器も含まれる。*Phox2b*遺伝子改変マウスの解析

から、RTN/pFRGの*Phox2b*<sup>+</sup>ニューロンは、グルタミン酸作動性でCO<sub>2</sub>感受性を示し、中枢化学受容器として重要な役割を果たしていることが明らかにされた。このニューロンは、少なくとも齧歯類の新生仔では、呼吸リズムジェネレーターにも関与していることが明らかにされた。

### 3. 将来への展望

#### 1) 診断

新生児における呼吸機能検査には熟練を要し、小児を対象とした簡便な方法の開発が求められる。

鑑別に関して、表1に示す疾患群が挙げられる。*PHOX2B*遺伝子の解析は比較的容易であり、遺伝子型と表現型の関係を更に明らかにする必要がある。一方、病因不明な疾患群も存在し、特にLO-CHSでは約30%の症例で変異が検出されず、新たな病因の解明が待たれる。

#### 2) 病態

モデルマウスの解析から病態に関して多くの情報が得られているが、致死的事であること、サイズが小さいことから生理学的な解析が困難で

ある。近年、MRIを用いたCCHSの脳の構造解析および機能的MRIを用いた呼吸時の脳の活動部位の解析が進んでいる<sup>3)</sup>。症例の解析においては、低酸素による二次的な障害を除くことが重要であり、今後、幼少時から十分な呼吸管理が施行されている症例を対象として、遺伝子型のデータとともに解析することにより病態の解明が進展するものと考えられる。成長に伴う変化の解析やプロゲステロンなど新たな治療法の開発においても有用な情報を提供するものと考えられる。なお、pre-Bötzinger複合体は呼吸リズムジェネレーターとして知られているが、最近、この領域のアストロサイトがニューロンとともにリズム形成に重要な役割を果たしていることが明らかにされた<sup>17)</sup>。

### 3) 治療

国内では気管切開下の呼吸管理は好まれない状況であるが、安全な管理法の周知と非侵襲的人工呼吸の安全な運用およびモニターの開発が期待される。横隔膜ペーシングに関しては、国内における施術および普及が期待される。

新たな治療戦略として、二つの可能性が検討されている。一つは、分子シャペロン療法である。*in vitro*の発現実験で、伸長変異タンパクはfoldingが障害され、細胞質で凝集し核内への移行が妨げられ、転写因子としての作用が低下する。foldingの改善を目的に、熱ショックタンパク質を誘導するgeldanamycinなどの添加により凝集体の形成や転写活性の低下が緩和された<sup>18)</sup>。他の神経疾患に対する治療法の研究をヒントに、*in vitro*の発現実験で17-allylamino-17-demethoxygeldamycin(17-AAG)やターメ

リックの主成分であるcurcuminが伸長変異PHOX2Bの核内移行を促進し、転写活性を高め、凝集変異タンパクの除去を促進することが確認された<sup>19)</sup>。ただし、dominant-negativeに作用する変異では、効果は期待できない。また、CCHSのモデルconstitutive *Phox2b*<sup>27Ala/+</sup>マウスでは、病理学的にRTN/pFRGにおける*Phox2b*発現陽性のグルタミン作動性ニューロンの減少が確認されており、出生後に施行する分子シャペロン療法の効果は疑問視される<sup>16)</sup>。

二つめは、プロゲステロン療法である。契機は、19歳のCCHS女性(25アラニン伸長変異)が経口避妊薬の服用により、炭酸ガスに対する呼吸応答が出現したことによる。その後、30歳CCHS女性(26アラニン伸長変異)において、desogestrel服用半年後に、炭酸ガスに対する換気応答が確認された<sup>20)</sup>。プロゲステロンや誘導体は、肥満による低換気有効な治療薬として使用されており、閉経期女性に対するホルモン補充療法によりPaCO<sub>2</sub>が低下することも報告されている<sup>21)</sup>。プロゲステロンはラット新生仔の無呼吸頻度を減少させ、低酸素への換気応答も改善することが知られている。ただし、女性ホルモンであり、男性患者への応用の問題、効果の持続性、推定される機序など、実用に向けて解決すべき様々な問題を含んでいる。

追加 なお、本疾患は、ゲルマン民族の民話に基づき、‘オンディーヌの呪い’と呼ばれてきたが、同病名は患者に苦痛を与えており、先天性中枢性低換気症候群(CCHS)という正式名称の普及を願う。

### ■ 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* **181**: 626-644, 2010.
- 2) Gelwane G, et al: Intermittent hyperglycemia due to autonomic nervous system dysfunction: a new feature in patients with congenital central hypoventilation syndrome. *J Pediatr* **162**: 171-176, 2013.
- 3) Patwari PP, et al: Congenital central hypoventilation syndrome and the PHOX2B gene: a model of respiratory and autonomic dysregulation. *Respir Physiol Neurobiol* **173**: 322-335, 2010.
- 4) Trang H, et al: Short-term blood pressure and heart rate variability in congenital central hypoventilation syndrome(Ondine's curse). *Clin Sci(Lond)* **108**: 225-230, 2005.

- 5) Hasegawa H, et al: Epidemiologic survey of patients with congenital central hypoventilation syndrome in Japan. *Pediatr Int* **54**: 123–126, 2012.
- 6) Amiel J, 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.
- 7) Sasaki A, et al: Molecular analysis of congenital central hypoventilation syndrome. *Hum Genet* **114**: 22–26, 2003.
- 8) Bachetti 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)* **89**: 505–513, 2011.
- 9) Meguro T, et al: Inheritance of polyalanine expansion mutation of PHOX2B in congenital central hypoventilation syndrome. *J Hum Genet* **57**: 335–337, 2012.
- 10) Rand CM, et al: Germline mosaicism of PHOX2B mutation accounts for familial recurrence of congenital central hypoventilation syndrome (CCHS). *Am J Med Genet A* **158A**: 2297–2301, 2012.
- 11) 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* **52**: 921–925, 2007.
- 12) Mirkin SM: Expandable DNA repeats and human disease. *Nature* **447**: 932–940, 2007.
- 13) Dauger S, et al: Phox2b controls the development of peripheral chemoreceptors and afferent visceral pathways. *Development* **130**: 6635–6642, 2003.
- 14) 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* **105**: 1067–1072, 2008.
- 15) Ramanantsoa N, et al: Breathing without CO<sub>2</sub> chemosensitivity in conditional Phox2b mutants. *J Neurosci* **31**: 12880–12888, 2011.
- 16) Nagashimada M, et al: Autonomic neurocristopathy-associated mutations in PHOX2B dysregulate Sox10 expression. *J Clin Invest* **122**: 3145–3158, 2012.
- 17) Okada Y, et al: Preinspiratory calcium rise in putative pre-Bötzinger complex astrocytes. *J Physiol* **590** (Pt 19): 4933–4944, 2012.
- 18) Trochet D, et al: Molecular consequences of PHOX2B missense, frameshift and alanine expansion mutations leading to autonomic dysfunction. *Hum Mol Genet* **14**: 3697–3708, 2005.
- 19) Di Zanni E, et al: In vitro drug treatments reduce the deleterious effects of aggregates containing polyAla expanded PHOX2B proteins. *Neurobiol Dis* **45**: 508–518, 2012.
- 20) Straus C, et al: Chemosensitivity recovery in Ondine's curse syndrome under treatment with desogestrel. *Respir Physiol Neurobiol* **171**: 171–174, 2010.
- 21) Joseph V, et al: Sex, hormones, and stress: how they impact development and function of the carotid bodies and related reflexes. *Respir Physiol Neurobiol* **185**: 75–86, 2013.

