

5. 誤差の原因の追求に有用。
6. 検査レベルの全国統一に有用。
7. 統一ソフトへの対応が可能。
8. 標準操作法を用いた通信手順の簡略化。
9. セキュリティーの向上。

今回、我々が新しく準備した第三世代の「精度管理システム」は、現在の最も汎用的な技術の利用を心がけて作成しており安定性・将来性の面からも十分実稼働システムとして運用可能である。このシステムのホストコンピュータは、その性格上、公正な運用を行える精度管理機関に設置するのが望ましい。このシステムを利用し、経時的に他施設の測定結果を参照することで、試薬ロット変更時の測定値特性の変化、検査施設における測定値の変動の発生を、早期に把握させることが可能で、見逃しのないスクリーニングシステムの確立に有用である。しかし一方、ネットワークの使用に当たり問題となるのはセキュリティの問題であろう。最近、政府機関のホームページが破壊されるなどネットワークへの妨害事件が報じられているが、本システムの特徴とする「クローズドネット」方式は、「インターネット」方式に比較して安全面でより優れている。今後、このシステムの管理組織、運用規則、最新セキュリティ技術の応用など広範囲な研究の継続と展開が望まれる。

参考文献

1. 稲岡一考他：スクリーニング・データ処理システムのネットワーク化への可能性,平成10年厚生科学研究（子ども家庭総合研究事業）, p18-22,1999

2. 富士勝他：新生児マススクリーニングのデータ解析・内部精度管理プログラムの開発,平成10年厚生科学研究（子ども家庭総合研究事業）, p15-17,1999
3. 芦田信之他：スクリーニング施設間ネットワークによる情報交換のためのインフラ整備とその可能性,厚生省心身障害研究「精度管理に関する研究」平成9年度研究報告書,p162-165,1998
4. 芦田信之他：ネットワークによる外部精度管理の方法,厚生省心身障害研究「スクリーニングの継続的精度管理に関する研究」平成8年度研究報告書,p57-59,1997
5. 稲岡一考他：マススクリーニング精度管理におけるネットワーク構想,厚生省心身障害研究「スクリーニングの精度管理のあり方に関する研究」平成7年度研究報告書,p185-187,1996
6. 芦田信之他：小規模施設の内部精度管理の一方法,厚生省心身障害研究「スクリーニングの精度管理のあり方に関する研究」平成7年度研究報告書, p175-177,1996
4. 菊地由生子他：新生児スクリーニング検査実施機関における精度管理指針(案)の作成,厚生省心身障害研究「スクリーニングの精度管理のあり方に関する研究」平成7年度研究報告書, p178-184,1996
8. 稲岡一考他：内部精度管理の現状と問題点,厚生省心身障害研究「スクリーニングの精度管理のあり方に関する研究」平成6年度研究報告書, p130-132,1995

図1. マススクリーニングネットのホームページ

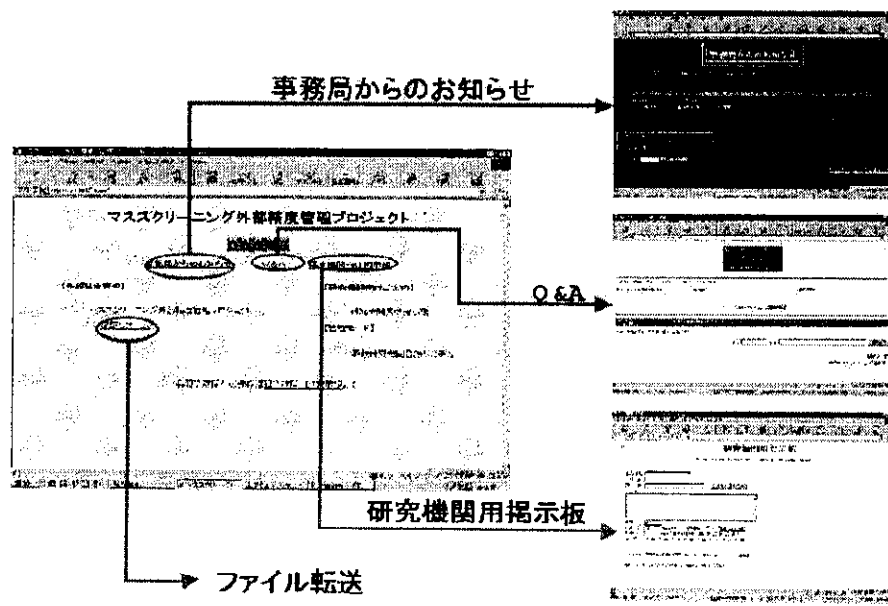


図2. ネットの概要

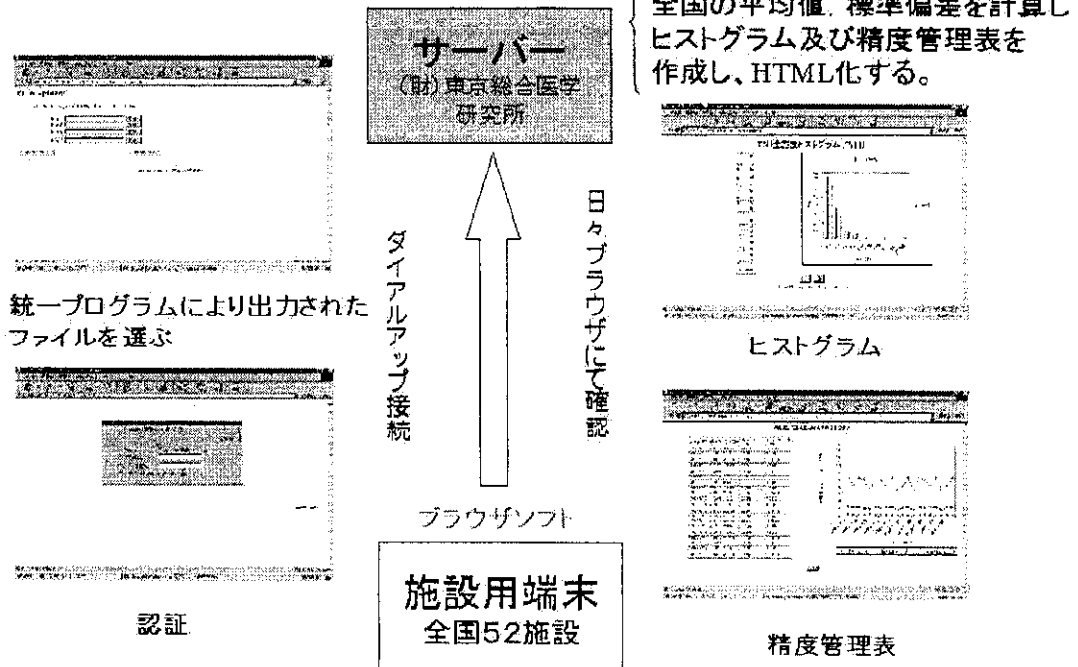


表1. マススクリーニング検査項目・試薬コード一覧

ファイル略号	コード	項目名	試薬装置コード*1	試薬名・装置名
A	10	神経芽	51~90	高速液体クロマトグラフィ分析法
B	20	PKU	11~50	マイクロプレート酵素法 (市販キット)
			51~90	高速液体クロマトグラフィ分析法
C	30	MSUD	11~50	マイクロプレート酵素法 (市販キット)
			51~90	高速液体クロマトグラフィ分析法
D	40	HCU	11~50	マイクロプレート酵素法 (市販キット)
			51~90	高速液体クロマトグラフィ分析法
E	50	GAL	11~50	マイクロプレート酵素法 (市販キット)
			91~99	マイクロプレート酵素法 (自家調整試薬)
F	55		91~99	ポイトラー定量法 (自家調整試薬)
G	60	TSH	11~50	酵素免疫測定法 (市販キット)
H	65	FT4	11~50	酵素免疫測定法 (市販キット)
I	70	17OHP	11~50	酵素免疫測定法 (市販キット)
J	75	コルチゾール	11~50	酵素免疫測定法 (市販キット)

*1: 試薬・装置コードは装置製造会社、試薬販売会社毎に体系化。

分担研究：マススクリーニングの精度保証システムの確立に関する研究

クレチン症スクリーニングの精度管理に関する研究

－再採血要求率の増加傾向について－

研究要旨

外部標準検体を用いての新生児スクリーニング（先天性代謝異常症(IEM)、先天性甲状腺機能低下症(CH)、先天性副腎過形成症(CAH)）の正確度をみる精度管理については、1999年1月から12月の見逃しはCAHで1検体だが、記入の誤りはIEM3件、CH1件、CAH2件あった。この問題の対応が必要である。また近年、クレチン症について、スクリーニング施設より定期的に報告されている再採血要求率が、増加する傾向にあるので、この問題の分析を行った所、1998年度の再採血要求率は1994年度に比べ、有意に増加していることがわかった。1年間の内で、再採血要求率が最も高くなる1月から3月をみると、1999年度では2.14%と無視できないレベルであった。この増加に、地域差が存在するか否か、その他詳しい現状の分析が重要である。また、この件は、環境ホルモンによる、甲状腺機能低下と関係があるという可能性もあるので、原因追求も重要である。

研究協力者

成瀬浩、鈴木恵美子、渡辺倫子、
五十嵐優子、夏井裕子、橋本延代

(東京総合医学研究所)

今井秀樹

(国立環境研究所)

研究目的

精度管理機関として、全国のスクリーニング施設において、発見もれにつながる様な問題の有無を検討する。またクレチン症スクリーニングに関しては、再採血要求率の増加が目立ち、実際に処理上の問題となりうる程度となって来たので、その状況を分析した。

研究方法

我々は精度管理機関として、種々の業務を行っているが、今回はその中の、外部精度管理検体を用いた、正確度テストの資料を用いた。また、全スクリーニング施設の協力を得て、3ヶ月毎に、クレチン症と副腎過形成症スクリーニング項目での、再採血要求率の資料が送付されている。この中の、TSH測定による再採血要求率の資料を用いて、現状の分析を行った。この問題を掘り下げるため、あるメーカーのTSH測定試薬のみを、93年から今迄継続使用している施設に対し、より詳しい資料を提出して頂くための調査も行った。

研究結果

①精度管理検体の見逃しの現状

表1は、99年1月から12月までの、外部標準

検体を用いた正確度テストの結果である。1年間で見逃された検体は、CAHスクリーニングの1検体のみであった。見逃しの原因は、初回検査で異常として拾い上げたが、台帳に記入しなかったため、確認検査である抽出法を実施せず、最終報告では正常という判断であった。記入の誤りについては、IEM3件、CH1件、CAH2件であった。今回の記入の誤りは、正しく異常検体を拾い上げたにもかかわらず、記入欄を間違えて報告したのが5件、送付した検体の番号を記入しなかったのが1件であった。今回繰り返し誤りをした施設はなかった。

②CHの再採血要求率の増加

表2は、使用施設数が比較的一定しており、我々の品質管理の資料から、過去数年間キャリブレーターの力価の変動が少ないと考えられる、A社試薬を使用している、23施設の再採血要求率の変化である。94年より再採血要求率は増加の傾向にあり、98年度1.81%と比較すると、94年度、95年度は危険率1%で有意、96年度も5%で有意に差があった。また、再採血要求率は季節変動があり、各年も同様に、冬に高くなる傾向がある。

表3は、再採血要求率が最も高くなる、1月から3月のみの、年度別の変化を示した。96年1.58%と、99年2.14%では、有意に差があった。

年間総検体数が少ない施設では、再採血要求数のわずかな変化でも、率の変動が大きくなるので、年間総検体数の比較的多い施設だけを集計すると、表2の結果と異なることが予想された。そこで、93年度より、A社試薬を継続して使用している施設に協力を求めた。14施設によりまとめられた、年間

再採血要求率を、表4に示した。カッコ内は表2に示した数字であるが、少し異なっている。しかし増加の傾向は同様で、93年度0.85%と98年度1.66%では有意に差がみられた。なお、各施設の設定しているカットオフ値については、93年度よりほとんど変更はない。個々の施設を見ると、再採血要求率が、以前と比べても増加が目立たない施設と、著明な増加の見られている施設とが混在している。また、他のメーカーの試薬を使っている施設にも同様な傾向が見られるが、種々の原因から、A社の場合のように明確ではない。

考察

外部精度管理検体を用いた調査では、CAHの見逃しも、事務処理上のエラーが原因であった。記入の誤りも、まだ存在している。この様な事務処理上のエラーが、患者の発見もれにつながりうることを考えると、この問題への対応は重要である。今回、当研究班で、スクリーニングの結果処理の統一ソフトの作成が課題となっているが、この統一ソフトをつくる際に、この様な事務的エラーの対策も考慮して欲しい。

CHスクリーニングの再採血要求率が増加している問題は、無視出来ないレベルになりつつある。再採血要求率の増加は、いくつかの理由で発生する。例えばTSHのカットオフ値を下げる事、技術者の水準の低下による見かけ上の再採血要求率の増加、試薬のキャリブレーションのロット変更による一定方向への変動などである。しかし、外部標準検体を用いた正確度テストの結果、および各社試薬の品質管理の結果から、これらの要因は否定できる。また、ヨード含有消毒剤を使用する産科、新生児科が増加していれば、一過性甲状腺機能低下症を示す新生児が増える可能性がある。しかし、原田・市原らの報告以後、日本母性保護産婦人科医会による、各産科医への働きかけもあり、ヨード含有消毒剤使用が増えているとは考えにくい。

この、かなり高い再採血要求率をどうするか、採血をする医師を含め、多方面からの討議が必要であり、日本マス・スクリーニング学会は、関連学会と

共に、慎重な討議が必要である。

特に、この現象に地域差があるかどうかに関しては、詳しい現状分析が必要である。この問題を全国規模で検討を続ける場合、TSHをより正確に測定する事が重要となる。そのためには、測定試薬のメーカー間差を少なくし、ロット差を少なくすることが大切であり、我々としては、TSHのキャリブレーションの統一が第一歩と考える。

更に、再採血要求率を減少させることが要求されるとすると、そのためにはTSHのカットオフ値を引き上げることが、最も簡単な解決法に見える。しかし、原田らの報告した軽症クレチン症の問題と遅発上昇型の存在、あるいは、スクリーニングで発見され患者と確定したなかで、初回検体中のTSH値が15 μ U/ml以下の例が25%あったという事実からみて、この解決策が正しいとは考えられない。それならばどうすべきか、検討が必要である。

最近、いわゆる環境ホルモンの人体に及ぼす影響が報告されている。例えば、アメリカでは、PCBその他による障害児の増加も報告され注目を集めた。更に、いくつかの環境ホルモンは、胎生期の甲状腺機能低下を誘発することが知られている。

ただ、この胎生期の影響を分析するために、生後の母乳中の物質の測定や、新生児・乳児血液中の物質を測定することでは不十分で、妊婦血あるいは臍帯血中の、数種の物質の正確な測定が必要と言われている。しかし、実際に行うことは極めて困難である。環境ホルモンの人体への影響を研究する専門家は、新生児の甲状腺機能の変動に強い関心を持っているので、スクリーニングの分野では、新生児血液中の軽度のTSH増加が存在した例において、出来るだけ詳しくフォローアップする事が大切であると考えている。

文献

- 1) S. Harada et al: Screening 3, 181-192 (1995)
- 2) H. Naruse et al: In Proceeding of Third Meeting of The ISNS, Boston, October, 1996 (Eds H. Levy, R. Hermos, G. Grady) pp 228 - 231, (1997)

表1 精度管理の結果 (1999年1月~12月)

	代謝異常症	クレチン症	副腎過形成症
見逃し	0	0	1
記入の誤り	3	1	2

表2 A試薬を使用した23施設の再採血要求率(%)

年度	再採血要求率 (平均±SD)	
94	1.05 ± 0.57	**
95	1.31 ± 0.73	**
96	1.54 ± 0.90	*
97	1.71 ± 0.98	
98	1.81 ± 0.99	

** : P<0.01 * : P<0.05

表3 各年の1月～3月の23施設の再採血要求率(%)

年度	再採血要求率 (平均±SD)	
96.1～3月	1.58 ± 0.68	*
97. "	1.81 ± 1.15	
98. "	1.79 ± 1.09	
99. "	2.14 ± 1.15	

* : P< 0.05

表4 A試薬を使用した14施設の年間再採血要求率(%)

年度	再採血要求率 (平均±SD)		
93	0.85 ± 0.44	*	表2より
94	1.06 ± 0.58		(1.05)
95	1.15 ± 0.52		(1.31)
96	1.25 ± 0.71		(1.54)
97	1.42 ± 0.80		(1.71)
98	1.66 ± 1.07		(1.81)

* : P< 0.05

A試薬を継続して使用の施設に、各年度毎の総検体数と再採血要求実数を問い、年間再採血要求率を求めた。(14施設回答/20施設)

分担研究：マススクリーニングの精度保証システムの確立に関する研究

軽症クレチン症の診断・治療についての全国調査

研究要旨

日本小児内分泌学会評議員80名を対象に、軽症クレチン症の診断・治療に関するアンケート調査を行い、62名（77.5%）から回答を得た。クレチン症マススクリーニングで要精密検査（精検）となった児の取り扱いについて、各質問項目への最多の回答はそれぞれ以下の通りであった。1）無治療で経過観察すると判断する精検時の血清TSH値：30.9%が $10\mu\text{U/ml}$ と回答。2）経過観察中の治療開始基準となる血清TSH値：3ヵ月時では33.3%が $10\mu\text{U/ml}$ 、6ヵ月時43.3%が $10\mu\text{U/ml}$ 、1歳時41.7%が $5\sim 10\mu\text{U/ml}$ 、2歳時36.8%が $5\sim 10\mu\text{U/ml}$ と回答。3） $1-T4$ （チラジゲンS）による初期治療量は、47.5%が $5\mu\text{g/kg/日}$ と回答。4）病型診断の時期は、27.6%が5、6歳時と回答。5）病型診断時の検査項目は70%以上がほぼ共通していたが、ヨード唾液血清比は約半数の施設で選択されなかった。軽症クレチン症の診断・治療については、小児内分泌専門医の中でも統一した考え方がないことが明らかとなった。それぞれの施設で管理する症例の長期経過（身体発育、知能発達）を比較検討することで、Evidence-Based Medicineを実践するための、適切な診断・治療基準を導き出すことが可能と考えられる。そのためには、今後、各治療管理施設での共同研究が進められるべきことが強く示唆された。

研究協力者

松浦信夫
原田正平

（北里大学医学部小児科）
（池田町立病院小児科）

研究目的

クレチン症マススクリーニングで要精密検査（精検）となった児は、それぞれの精検医療機関で、直ちに治療が必要と判断される群（重症から中等症のクレチン症および一過性甲状腺機能低下症）と無治療で経過観察される群とに大別される。後者には、いずれかの時点で甲状腺ホルモン剤補充療法が開始され、最終的にクレチン症の診断がつけられる、いわゆる「軽症クレチン症（仮称）」が含まれている。「先天性甲状腺機能低下症マススクリーニングのガイドライン（1998年版）」¹⁾では、クレチン症の中で中等症以上の症例の診断・治療に関して、ある程度のコンセンサスが得られているものとして記述されているが、軽症例（軽症クレチン症）については次のように述べられているにとどまっている。

「臨床症状もなく、血中甲状腺ホルモン値も正常範囲で、血清TSHが軽度高値のもの扱いには統一意見はない。治療を行って後年に病型診断を行う方法もあり、無治療で経過を慎重に追う方法もある。但し、血清TSHが高値（例えば乳児期で $30\mu\text{U/ml}$ 以上）とか甲状腺ホルモン値が年齢相当の正常平均値（例えば遊離T4で 1.5ng/dl 以下）であったら治療を優先すべきであろう」¹⁾。

しかし、軽症クレチン症の一部については、一過性高TSH血症などと診断され、長期にわたり無治療で放置されることが憂慮されており²⁾、その診断・治療の指針（ガイドライン）の作成が待たれている。そこで我々は、ガイドラインを作成する資料とするため、小児内分泌専門医を対象に、軽症クレチン症患児が実際にどのように取り扱われているかの全国調査を行うこととした。

研究方法

日本小児内分泌学会評議員を小児内分泌専門医を代表するものと考え、80名に軽症クレチン症の診断・治療についてのアンケート（表1）を送付した。62名（77.5%）から回答が得られた。

表1：軽症クレチン症の診断・治療に関するアンケート

質問1（定義）：軽症クレチン症の定義を「濾紙血TSH値がカットオフ値以上で要精密検査（精検）となり、精検時にクレチン症を思わせる臨床症状がなく、血中甲状腺ホルモン値も正常範囲で、血清TSHが軽度高値* のものであって、比較的長期間**（例えば生後3～6ヵ月以降まで）の無治療での経過観察後、甲状腺ホルモン剤補充療法が開始された症例」とした場合、軽度高値*とは血清TSH値でどの程度と考えられるでしょうか。

→直ちに治療を開始しない血清TSH値は
() $\mu\text{U/ml}$ 以下

→精検時のTSH値が軽度高値でも、まず治療を始めて、後年病型 診断を行う場合は、質問4に進んで下さい。

→上記以外に、「軽症クレチン症」の定義として必要なこと、あるいはご自身の定義がありましたら、お書き下さい。

()

質問2(経過観察期間)定義で、「比較的長期間
**|無治療で経過観察するものとしましたが、
具体的には、どの程度の血清TSH 値であれば、
生後何ヵ月までを経過観察期間とするでしょうか。

a. 生後3ヵ月まで:TSH () $\mu\text{U/ml}$ 以下,
b. 生後6ヵ月まで:TSH () $\mu\text{U/ml}$ 以下,
c. 生後1歳まで:TSH () $\mu\text{U/ml}$ 以下,
d. 生後2歳まで:TSH () $\mu\text{U/ml}$ 以下,
e. それ以外 () ヵ月まで:
TSH () $\mu\text{U/ml}$ 以下

質問3(TRH試験)治療を始める場合、血清TSH基礎値だけでなく、TRH試験も治療開始基準とするでしょうか。

a. 基礎値だけで判断する

b. TRH試験の反応も基準とする

→b. の場合は、その施行時期:生後 () ヵ月、
その際に治療開始とするTSH頂値:() $\mu\text{U/ml}$ 以上

質問4(初期治療量)治療開始時のl-T4(チラジンS)の投与量はどの程度でしょうか。

→ () $\mu\text{g/kg/日}$

質問5(病型診断)軽症クレチン症として治療を継続した場合、その病型診断の時期は何歳くらいでしょうか。

→ () 歳頃

また、その際の検査項目全てに○をつけて下さい。

→血中(f)T4, (f)T3, TSH, サイログロブリン、
甲状腺シンチ(正面, 側面), 放射性ヨード摂取率,
ロダンカリ(またはパークロレイト)放出試験,
ヨード唾液血清比, TRH試験, 甲状腺超音波検査,
甲状腺CT, その他 ()

研究結果

1. 精検時に異常高値と判断されず、無治療で経過

観察すると判断される血清TSH値: 5~50 $\mu\text{U/ml}$ とまちまちであり、10 $\mu\text{U/ml}$ とする回答が30.9%と最も多く、次いで20 $\mu\text{U/ml}$ が25.5%であった。以下、30 $\mu\text{U/ml}$ 16.4%, 15 $\mu\text{U/ml}$ 14.5%, 5~10 $\mu\text{U/ml}$ 10.9%であった。精検時のTSH値の結果を待たずに、ほぼ全例を治療するとの回答は1名だけであった。

2. 経過観察後、治療開始を判断する月齢とその時の血清TSH値:月齢1ヵ月~2歳時までに様々なTSH値を基準として判断されていた。月齢3ヵ月を最多(33名)に6ヵ月(30名), 1歳(24名)と漸減したが、2歳時まで無治療で経過観察する場合のあることが19/45(42.2%)から回答された。

基準となる血清TSH値も月齢3, 6ヵ月は精検時と類似し、10 $\mu\text{U/ml}$ 以下がそれぞれ42.4%, 63.3%と最多であったが、1歳時でも比較的高値の15~30 $\mu\text{U/ml}$ を基準とする場合が、6/24(25.0%)にみられた。

3. 治療開始時にTRH(Thyrotropin-releasing hormone)試験を参考とするとの回答は、21/50(42.0%)であった。

4. l-T4(チラジンS)の初期治療量:1~10 $\mu\text{g/kg/日}$ と様々であったが、5 $\mu\text{g/kg/日}$ が27/57(47.5%)と最多であった。次いで5~10 $\mu\text{g/kg/日}$ 17.5%, 3~5 $\mu\text{g/kg/日}$ 14.0%, 10 $\mu\text{g/kg/日}$ 10.5%, 1~3 $\mu\text{g/kg/日}$ 7.0%であった。

5. 病型診断の時期:1~6歳以上と様々であり、5, 6歳時が27.6%と最多であった。ついで3歳時22.4%, 3~5歳時20.7%, 1~3歳時15.5%, 1歳時12.1%であった。

6. 病型診断の検査項目:(f)T3, (f)T4, TSH測定は施行率95%以上、サイログロブリン測定、甲状腺シンチグラフィは80%以上と大部分の施設で行われていたが、放射性ヨードを用いる他の検査で施行率が低下し、特にヨード唾液血清比は約半数であった。TRH試験、甲状腺超音波検査も70~80%の施行率であった。甲状腺CTについては数施設が試みていた。

考察

スクリーニング時や精検時の甲状腺機能低下症の程度が比較的軽度であり、一過性高TSH血症と鑑別できないような症例であっても、経過中に著明な機能低下症を来したり、病型診断時に永続的クレチン症と診断される症例があり、軽症クレチン症などとして報告されている³⁾。その一部は、一過性高TSH血症と誤って放置され、長期にわたり無治療で

経過する恐れのあることが憂慮されている²⁾。その一つの理由としては、重症～中等症のクレチン症が早期治療を勧められているのに対し、軽症例では明確な診断・治療指針が、スクリーニングのガイドラインの中であっても示されずにいることが考えられる¹⁾。

1990年代後半の医療界の趨勢として、臨床医学においてEvidence-Based Medicine (EBM) による医学的判断が求められている。

マススクリーニングはそもそも、その有用性の評価などにおいて、EBMを十分意識して展開されているところであるが、軽症クレチン症の診断・治療についてはEBMを実践するに足る資料が手に入らないのが実状である。

そこでEvidenceとしては弱いとされるが、エキスパートの意見を集約することで、診断・治療指針作成の一助とすることを図った。

診断については、経過観察の基準となる血清TSH値は、それぞれの専門医でまちまちであり、また、経過観察期間も1～3ヵ月の早期にTRH試験などを行う場合や2歳時まで経過観察する場合などがあり、一定ではない。

永続的クレチン症かどうかを明らかにするための病型診断の時期も検査項目も、それぞれの施設で異なっている上に、約4分の1の施設で1～3歳時に病型診断が行われており、ヨード濃縮障害や軽度の合成障害の診断が、適切に行われていない恐れもあるものと推測された。

甲状腺ホルモン剤補充療法でのI-T4の初期治療量も、予想外に多様であった。

以上のように、軽症クレチン症の診断・治療については、ほとんど全ての点で、小児内分泌専門医の中でも統一した考え方がないことが明らかとなった。

結論

軽症クレチン症の診断・治療は、我が国では、未だEBMに適合する十分な証拠のない状況で行われている。

今後EBMに役立つデータを得るためには、それぞれの施設で管理する症例の長期経過(身体発育、知能発達)を比較検討するなど、十分適切に計画された共同研究が進められるべきことが強く示唆された。

文献

- 1) クレチン症マススクリーニング・ガイドライン作成委員会：先天性甲状腺機能低下症マススクリーニングのガイドライン(1998年版)。日本小児科学会雑誌，第102巻，817-19，1998
- 2) 松浦信夫：クレチン症。日本マス・スクリーニング学会誌，第8巻(Suppl.2)，82-85，1998
- 3) 原田正平，他：マススクリーニングで発見された軽症クレチン症。ホルモンと臨床，第39巻，1063-68，1991

平成11年度厚生科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

マススクリーニングの見逃し等を予防するシステムの確立に関する研究

分担研究：効果的なマススクリーニング事業の実施に関する研究

分担研究者 青木 継稔（東邦大学医学部第二小児科学教室教授）

研究要旨

効果的なマススクリーニング事業の実施に関する研究として、(1) 現行新生児マススクリーニング対象疾患の一次スクリーニングから確定診断・治療開始期間が適切かどうか、問題点はないか、問題点への対応をいかにすべきか等を①現行アミノ酸代謝異常症の一次・二次スクリーニング法としてHPLC法導入の検討、②フェニルケトン尿症（PKU）におけるテトラヒドロピオプテリン反応性フェニルアラニン水酸化酵素欠損症の疾患概念の確立とマス・スクリーニングにおける問題点、③メープルシロップ尿症（MSUD）の発見から治療開始までの時間差と予後についての検討を行った。(2) 現行新生児マス・スクリーニング実施のフォローアップ（追跡）に関する研究は、今後の追跡調査のあり方について検討した。(3) マス・スクリーニングの新しい対象疾患に関する研究は、①ウイルソン病、②有機酸代謝異常症、③ムコ多糖症、④胆道閉鎖症、の4疾患についてパイロット・スタディを行い、マス・スクリーニング導入等の条件をも検討した。

研究協力者

藤田晃三，福士 勝（札幌市衛生研究所）
田村正秀，市原 侃（北海道立衛生研究所）
高田五郎（秋田大学医学部小児科）
大浦敏博

（東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野）
清水教一（東邦大学医学部第二小児科）
北川照男，鈴木 健（東京都予防医学協会）
坂 京子（名古屋市立大学医学部小児科）
重松陽介（福井医科大学看護学科）
伊藤道徳（徳島大学医学部小児科）
遠藤文夫（熊本大学医学部小児科）
成澤邦明（東北大学大学院医学系研究科

小児医学講座遺伝病学分野）
大和田 操（日本大学医学部小児科）
芳野 信（久留米大学医学部小児科）
三笠洋明（徳島大学医学部衛生学）
青木 麿磨（女子栄養大学小児保健学）
田中あけみ（大阪市立大学医学部小児科）
折居忠夫（中部学院大学人間福祉部・

岐阜大学医学部小児科）
松井 陽（筑波大学医学部小児科）
山口清次（島根医科大学小児科）
久原とみ子（金沢医科大学総合医学研究所
人類遺伝学部門生化学）

高柳正樹（千葉県こども病院小児科）
吉田一郎（久留米大学医学部小児科）
山口之利（東邦大学医学部第二小児科）

研究目的

わが国における新生児マススクリーニング事業は、100%を越える受診率があり広く普及し、技術や治療成績など世界をリードしている。しかし、現行マススクリーニング対象疾患（PKU、MSUD、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症、クレチン症、先天性副腎過形成症）における見逃し例、あるいはスクリーニングされてもスクリーニング検査機関と採血機関や治療機関、保護者との連携が悪かったりして確定診断あるいは治療開始の遅れが懸念される例がある。また、現行のマススクリーニング法の技術的な限界があり、他の良い方法も模索され続ける必要がある。また、現行マススクリーニングにて発見された症例のフォローアップの重要性が数多く報告され、フォローアップにより、ヒスチジン血症の除外やPKU・ホモシスチン尿症などの治療方針の見直しなどがなされてきた。さらに近年は、マターナルPKUの問題がクローズアップされている。個人のプライバシーの守秘義務・倫理面への配慮から今

後のフォローアップのあり方について検討課題となっている。また、本研究において、今後のわが国におけるマススクリーニング事業の対象疾患の拡大を図るべく新しい対象疾患の導入の諸条件を検討することも重要な課題である。マススクリーニングの新しい対象疾患は、ウイルソン病、有機酸代謝異常症、ムコ多糖症および胆道閉鎖症の4疾患群を選び、基礎的検討、パイロットスタディなどを行った。

研究方法および結果

(1) 現行新生児マススクリーニング対象疾患の一次スクリーニングから確定診断・治療開始時期の短縮化や問題点への対応：

大和田らは、現在新生児マススクリーニングにおいてアミノ酸代謝異常症に対し多く用いられているGuthrie法の欠点を補うために、高速クロマトグラフィ(HPLC)短時間法にてパイロットスタディを10施設にて実施した。本法が将来的に一次スクリーニングおよび二次スクリーニングに対してGuthrie法にとって代る方法になることを示唆した。

成澤らは、PKU・高フェニルアラニン血症の一次スクリーニングから確定診断・治療開始までの問題点を検討中に、テトラヒドロピオプテリン反応性フェニルアラニン水酸化酵素欠損症の存在を見出した。本症は、低フェニルアラニン食のみでは血中フェニルアラニン濃度が正常化せずにテトラヒドロピオプテリン(BH₄)投与に反応するものである。PKUマススクリーニング陽性例の確定診断のために、BH₄負荷試験において十分な注意が必要であることを示唆した。

芳野らは、新生児マススクリーニング対象疾患のなかで救急を要するMSUD、ガラクトース血症についての一次スクリーニングから治療開始までの間の問題点と対策について分析した。とくに12例のメープルシロップ尿症の神経学的予後因子の中で発見から治療開始までの時間差がどの程度の重みをもつかを検討した。その結果、生後6ヶ月までのロイシン耐容量が有意の、また治療開始前血中ロイシン値と神経症状持続時間が有意の傾向がある因子と判定されたが、治療時間差は両群間に有意差を認めなかった。このことから、治療開始の遅滞が神経学的予後に影響を与えると言う仮説を支持する結果は得られなかったが、生命予後に関してはさらに検討の

余地がある。検査機関、採血機関および精密検査治療機関の緊密な受け入れ体制や情報交換などのシステム整備の重要性が述べられて治療開始の遅れを防ぐ必要があるとした。

(2) 現行新生児マススクリーニング実施後のフォローアップ(追跡)に関する研究—倫理的問題を含めて—：

青木(菊)は、現行新生児マススクリーニングが開始された当初から発見された症例に対する追跡調査が今日まで継続されてきた。主に厚生省心身障害研究の一環として追跡調査が実施されてきたが、厚生省心身障害研究の消滅(平成10年度から)があり、厚生科学研究による応募性の研究となり、発見された症例に対する追跡調査法が大きく変容してきた。とくに、小児慢性特定疾患事業の中で、この追跡調査を実施する方向で検討されているが、最近の個人情報保護の立場や成績の詳細な記載協力などが次第に得られにくくなっており、追跡調査自体が困難になりつつある。倫理面を含めた追跡調査のあり方についてアンケート調査を実施し、個人情報保護しながら、全国レベルでの追跡調査の体制の確立が必要であることを確認した。今年度は、今日まで追跡調査が継続されてきたが、最近個人情報保護の立場から追跡調査が次第に困難になりつつある。そこで、これまで追跡調査に協力の得られた医師を対象に、追跡調査の必要性などについてアンケート調査を実施した。その結果、追跡調査の必要性には98%の支持が得られ、同時に個人情報保護への配慮が96%の医師から求められた。今後は個人情報を保護しながら、いかにして追跡調査が可能であるかを検討する必要があるとした。

(3) マススクリーニングの新しい対象疾患に関する研究：

①ウイルソン病は、3歳児を中心に1～7歳児を対象に全国9研究協力施設(札幌、秋田、仙台、東京、神奈川、名古屋、福井、徳島、熊本)においてパイロットスタディを実施した。現在までに、採血によるスクリーニングは約7万名に実施され5名の本症患者の発見があり、尿によるスクリーニングは約6万名に実施され3名の患者の発見があった。清水・三笠らはウイルソン病マススクリーニングの有効性について検討し、発症前診断の予後調査実施し良好な成績を示した。中山・市原・田村らは、本症

の尿中へム代謝産物を指標とした早期診断法の有用性を検討した。セルロプラスミン低値例の遺伝子診断法については、東邦大グループ（清水、青木ら）および札幌衛研グループ（藤田・福士ら）により確定診断法としての有用性が示された。

②有機酸代謝異常症は、5施設（千葉、金沢、島根、久留米、福井）において、主に、新生児濾紙尿あるいは原尿を用いてGC/MS分析法を中心にパイロットスタディが実施された。メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症のほかシトルリン血症など色々な疾患が発見されて有用性が証明された。重松らは、ESI-MS/MS新生児代謝異常マスキングの有用性を検討するために、パイロットスタディ地域を昨年度までの福井県を中心とした体制から、本年度後半には広島県、徳島県にも拡大し、月間スクリーニング件数が約3,000検体と増加し、累積検査件数は44,653検体に達した。スクリーニングにより見いだされた患者は未だプロピオン酸血症1例のみである。シトルリンの持続的低値によりオルニチントランスカルバミラーゼ欠損症とカルバミルリン酸合成酵素欠損症のスクリーニングを試みており、要再検率は約0.1%である。少数のこれら患者濾紙血でのシトルリン低値は確認できた。新生児期発症のシトルリン血症では、シトルリンの異常高値により容易にスクリーニング出来た。

山口らは、血液濾紙を用いたGC/MSによる β -酸化異常症のスクリーニング法を開発検討し、微量な検体を用いた簡便な脂肪酸分析が行い得ることを示した。

③ムコ多糖症は、2施設（岐阜、大阪）において検討された。乳児早期から6か月児尿を用いて、DMB（ジメチルメチレンブルーの呈色反応）法にパイロットスタディが実施されている。1993年10月から1999年12月までの結果をまとめる。1次スクリーニング総数は108,173検体、陽性は1,877

(1.7%)。2次スクリーニングは1,436 (1436/1877=77%) について行い、DMB法で陽性となった85検体はウロン酸法で再検したが、全て陰性であった。まだパイロットスタディにおける患者の発見に至っていない。

④胆道閉鎖症は、松井らにより発表された便色調カラーカード法によりパイロットスタディが実施された。すでに、何例かの患児が発見されている。茨

城県では、1999年度から県の事業として、本症のマスキングを開始した。2名の胆道閉鎖症患児（生後70日と生後75日）が発見され、手術が実施された。

考察および結論

本研究班は、平成10年度から3年間の研究期間予定で開始された。平成11年度は、2年目に入り研究が大きく進展した。

本研究班の主研究課題名は、「マスキングの見逃がし等を予防するシステムの確立に関する研究(主任研究者・黒田泰弘教授)」であり、分担研究課題として、「効果的なマスキング事業の実施に関する研究」を採用いただいたものである。以下、サブテーマ毎に現状を考察し結論を記載することにした。

(1) 現行新生児マスキング対象疾患の一次スクリーニングから確定診断・治療開始期間の短縮化や問題点への対応というサブテーマにより、一次スクリーニング陽性例の速やかな確定診断から早期治療をより迅速に行うことが重要と考え研究している。①アミノ酸代謝異常症（新生児濾紙血を用いてPKU, MSUD, ホモシスチン尿症をマスキング）は、全国の多くの施設において一次スクリーニング法としてGuthrie法が採用されて、二次スクリーニング法にHPLC法を導入している。一次スクリーニングおよび二次スクリーニング（再検査）に対して、HPLC法短時間法は定量的であり近い将来に導入する必要があることを示唆した。HPLC法は、簡便となり短時間で結果を出せるような方法が改良され、定量的であり、確実さが増加し有用である。②成澤らおよび大和田らは、PKUや高フェニルアラニン血症の一次スクリーニングから確定診断・治療開始までの期間など、ほぼ満足した結果が得られているとしている。しかし、低フェニルアラニン食療法の無効な症例には、BH₄負荷試験を早期に実施して、BH₄代謝異常やBH₄反応性フェニルアラニン水酸化酵素欠損症の鑑別が重要である。③新生児マスキング対象疾患のなかには、新生児期からすでに重篤な症状を呈するメープルシロップ尿症、ガラクトース血症および先天性副腎過形成症が含まれるため、一次スクリーニングがから確定診断・治療開始が迅速に行われなければならない。今回は、

メープルシロップ尿症12例の分析がなされ、検査機関、採血機関および精密検査・治療機関の緊密な連携・システム整備の重要性が指摘され治療開始の遅れを防ぐ必要があると結論した。

(2) 現行新生児マススクリーニング実施後のフォローアップ（追跡）に関する研究

最近、個人情報保護の立場から、従来実施されてきた先天代謝異常症の追跡調査が困難になりつつある。今後は倫理的な面から個人情報を保護しながら、どのような方法で追跡調査するかが重要な課題である。とくに、全国レベルにおける追跡調査体制の確立が急務といえよう。

(3) マススクリーニングの新しい対象疾患に関する研究：

①ウイルソン病は、幼児期を中心に血液および尿によるスクリーニングパイロット・スタディが全国

9施設で実証され、約13万名の検査にて約10名の患者の発見があった。また、本症スクリーニングの有用性が示された。②有機酸代謝異常症は、メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症のほかにも多くの代謝異常の発見があり新生児尿によるスクリーニングの有用性が示唆された。③ムコ多糖症は、新生児尿、1か月児尿あるいは6か月尿のいずれかで行うか、パイロットスタディにおける患者の発見に努めることが重要である。6か月児尿については、10万検体のパイロットスタディが実施されたが患者の発見はなかった。④胆道閉鎖症スクリーニングは簡便な方法であり、今直ちに導入することも可能であると考えられる。新しい対象疾患については、次年度はパイロットスタディを引き続き実施することと、スクリーニング導入の条件についてさらに検討を行う必要がある。

分担研究：効果的なマススクリーニング事業の実施に関する研究

HPLC短時間法の新生児スクリーニングへの応用

－第2報－

研究要旨

HPLC短時間法の新生児スクリーニングへの応用について、研究協力施設を増やして検討するとともに、現在アミノ酸代謝異常症の2次スクリーニングに使用されている方法、HPLC法の1次スクリーニングへの導入の可能性について、マス・スクリーニング学会技術部会において調査した。

昨年度、すでに報告したように、HPLC法とGuthrie法によるアミノ酸（Phe, Leu, Met）測定結果には良好な相関が認められ、HPLC法の信頼性が確認された。一方、現在我が国で新生児スクリーニングを担当している52施設では、アミノ酸のスクリーニング法に46施設がGuthrie法を使用しており、2次スクリーニングとして20施設でHPLCが使用され、近い将来、HPLCを導入予定との回答が22施設から寄せられた。以上の結果から、HPLC法は、我が国における新生児マス・スクリーニングにおいて、1次スクリーニング法として十分使用可能と結論される。

研究協力者

大和田操	(日本大学小児科)
福士勝	(札幌市衛生研究所)
鈴木健	(東京都予防医学協会)

研究目的

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法が先天性アミノ酸代謝異常症の新生児マス・スクリーニングにおいて一次スクリーニング法として使用可能か否かを検討することが本研究の目的である。本研究は日本マス・スクリーニング学会技術部会で組織した液体クロマトグラフィー研究会のメンバーによって数年前から試みられ、昨年度から、厚生科学研究費の助成を受けることになり、それまでの成果については平成10年度の研究報告書に報告されている。

研究方法

1) 濾紙血中アミノ酸の測定

新生児マス・スクリーニングを担当している検査機関11施設において、昨年度に引き続き濾紙血中Phe, Leu, MetをHPLC法、Guthrie法、酵素プレート法によって分析した。HPLC法では、各施設において表1に示す機種と分析条件が使用され、3種の方法の相関について検討した。また、本年度は、駿河台日大病院小児科のPKU患者51例から得られた計682検体の濾紙血および同時に採取した血清のPhe濃度を東京都予防医学協会HPLC法、Guthrie法、アミノ酸自動分析計を用いて測定し、比較した。更に、札幌市衛生研究所において標準濾紙血中Phe,

Leu, Met濃度をHPLC法とマイクロプレート酵素法（MFL）で測定し、その結果を比較した。

(2) 現行のスクリーニング方法の全国調査
現在一次スクリーニングに使用している方法、二次スクリーニングの方法およびスクリーニングへのHPLC法導入予定について、新生児マス・スクリーニングにかかわっている全国の52施設を対象とした調査を行った。

研究結果

昨年度および本年度の研究から得られた結果を以下に示す。

1. HPLC法、Guthrie法、酵素プレート法の比較
(1) HPLC法とGuthrie法の比較

PKU患者ののべ682回の濾紙血中Phe濃度の分析結果を、HPLC法とGuthrie法で比較すると図1のようになり、両者の相関は $r=0.991$ と良好であった。また、同時に採取した血清Pheと濾紙血Phe濃度を、アミノ酸分析計とHPLC法で測定したところ、図2のようにその濃度は良く相関していた。

(2) HPLC法と酵素プレート法（MFL）の比較

HPLC法およびMFL法による濾紙血中LeuおよびPhe濃度の相関は、それぞれ $r=0.869$, 0.780 , Metでは $r=0.542$ であり、特にMetにおいて相関が良くない傾向が示された。またHPLC法とGuthrie法におけるPheの相関に比べ、HPLC法とMFL法との相関は劣っていた。

2. アミノ酸代謝異常症のスクリーニング方法に関する調査

全国52施設で1999年現在使用されているアミノ酸代謝異常症のスクリーニング方法に関するアンケート調査の結果を表2に示す。

スクリーニング開始20年余の現在でも、一次スクリーニングにはGuthrie法が広く用いられており、酵素プレート法を使用しているのは極く一部であった。

一方、HPLCは52施設中20施設において二次スクリーニングのために使用されており、22施設においてHPLCを導入する予定であることが示された。

考察および結論

昨年度の研究報告書において我々は、「HPLC法では3種のアミノ酸を同時に分析することが可能であり、如何なる検体数の分析においても適切な対応が可能のため、機器が高価な点が最大の欠点であるものの、施設の規模によっては、一次スクリーニングに充分使用可能である。」との結論を述べたが、本年度の調査によって、(旧)すでにかかなりの検査機関がHPLCを保有しており、導入予定も少なくないこ

と、(用)マイクロプレート酵素法の分析能力は、HPLC法に比べて多少劣ることが明らかにされた。

このことから、HPLC法をアミノ酸代謝異常症の一次スクリーニングに使用することには何ら問題はなく、むしろ極めて有用な方法と結論されるものと考ええる。

【HPLC短時間法の検討協力機関】

札幌市衛生研究所

福島県衛生公害研究所

(財)東京都予防医学協会

東京都立衛生研究所

東京総合医学研究所

(財)愛知県健康づくり振興事業団

富山県衛生研究所

(財)大阪市環境保健協会

和歌山県衛生公害研究センター

(財)山口県予防保健協会

(財)化学及血清療法研究所

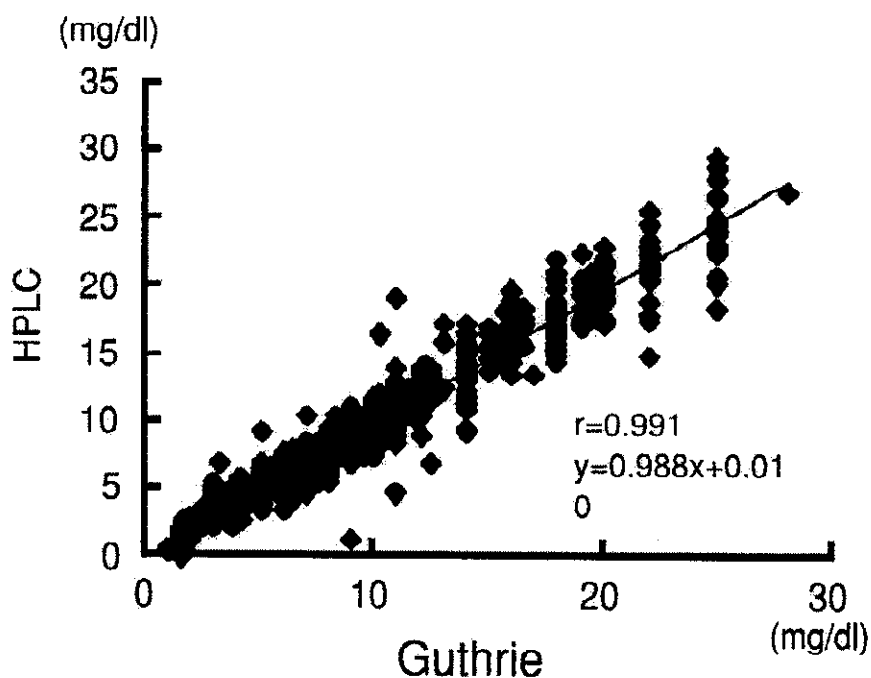


図1. HPLC 法短時間および Guthrie 法における Phe 測定値の相関

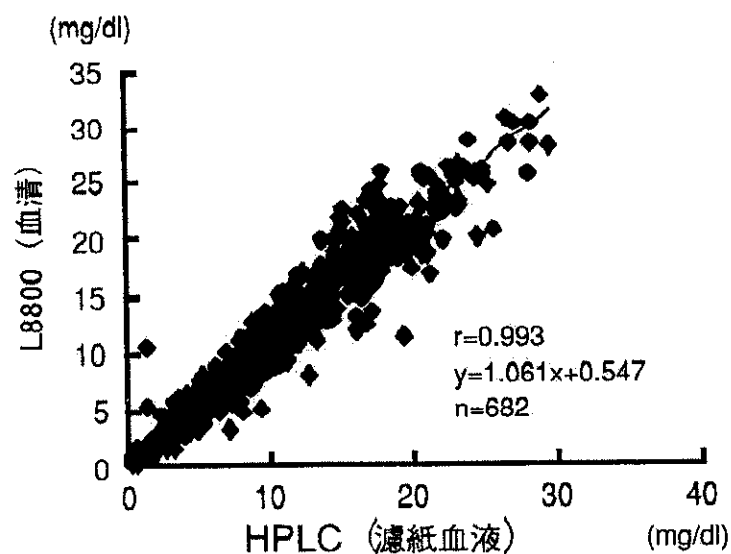


図 2. HPLC 法およびアミノ酸自動分析計における Phe 測定値の相関

表 1. 使用機種および分析条件

分析方法	機種	溶出	使用施設
ポストイオンカラム	日立	gradient	札幌, 都衛, 愛知 山口, 化血研
ODSカラム法	日本分光・鳥津	isoclinal gradient	東予, 大阪, 福島 和歌山
プレラベルODS カラム法	Waters等	isoclinal gradient	富山 東京総合

表 2. アミノ酸代謝異常症の新生児スクリーニングに使用されている分析方法 (1999 年現在)

A. 一次スクリーニングに使用されている方法	
Guthrie法	46施設 (うち2施設はMetのみ)
酵素プレート法	6施設 (うち2施設はPhe, Leuのみ)
B. 二次検査に用いられる方法	
HPLC法	20施設
TLC法	4施設
C. HPLC法導入予定	
申請準備	6施設
申請予定	16施設
予定なし	10施設

分担研究：効果的なマススクリーニング事業の実施に関する研究

テトラヒドロピオプテリン反応性フェニルアラニン水酸化酵素欠損症
—新しい疾患概念の確立とマス・スクリーニングにおける問題点—

研究要旨

フェニルアラニン水酸化酵素(PAH)遺伝子変異により発症する高フェニルアラニン(Phe)血症のなかに、補酵素であるテトラヒドロピオプテリン(BH4)投与に反応し血中Pheが低下する病態があることを見出し、これをBH4反応性PAH欠損症として報告した(J Pediatr, 1999; 135: 375-8)。本症は、食餌療法を行う以前の血中Phe濃度が15mg/dl以下の比較的軽症のPAH欠損症で見出されている。マス・スクリーニング陽性患児の確定診断のためのBH4負荷試験において、他のPAH欠損症と異なり、BH4に反応するパターンを示すため十分な注意が必要である。この反応パターンには、1) 血中Phe濃度の正常化には至らない、2) 血中Phe濃度の低下は極めて緩徐であるなどの特徴を持つ。現在までに、本症に特有なPAH遺伝子型が、3種類見つかっている。この中で遺伝子型(R413P/R241C)を持つ患児は現在までに3人見出されており、この3人はすべて同様なBH4反応パターンを示すことから、本症は、遺伝子診断の良い対象であると考えられる。

研究協力者

成澤邦明, 呉 繁夫

(東北大学大学院医学系研究科
小児医学講座遺伝病学分野)

研究目的

マス・スクリーニングで見出された高フェニルアラニン血症(HPA)患者のなかにフェニルアラニン水酸化酵素(PAH)の補酵素であるBH4投与に反応し血中フェニルアラニン(Phe)が低下するが尿中プテリジン分析などからBH4欠乏症とは考えられない症例が存在する。今回、私共はPAH遺伝子変異の検索によりその疾患概念を確立と、マス・スクリーニングの一次陽性患児の鑑別診断における問題点を明らかにする目的で、疾患の特徴と見出された遺伝子変異検索の検討を行ったので報告する。

研究方法

- 1) BH4負荷試験：体重当たり10mgのテトラヒドロピオプテリン(サントリー株式会社より供与)を経口投与し図にある各時間で採血し、血中Phe濃度を測定した。血中Phe濃度の測定は日立アミノ酸自動測定装置によった。
- 2) PAH遺伝子変異検索：遺伝子型の決定はアレル特異的PCR増幅とエクソンを含む遺伝子断片をPCR法にて増幅し直接シーケンシング法によった。

研究結果

1. 疾患概念

血中Phe濃度の測定によるマス・スクリーニングにて、4mg/dl以上の濃度を示した患児は確定診断のための検査が必要になる。具体的には、図1に示した様に尿中プテリジン分析、乾燥ろ紙中のDHPR活性測定、BH4負荷試験の3種類の検査が行われている。この中でBH4負荷試験において、通常のPAH欠損症は無反応であり、この所見はBH4欠損症との鑑別上重要な所見の一つとなっている。ところが、マス・スクリーニングで見出された高フェニルアラニン血症HPA患者のなかにBH4投与に反応し血中フェニルアラニンが低下するが、尿中プテリジン分析などからBH4欠乏症とは考えられない1症例を検索していく中で今回の新しい疾患概念が生まれた。その後、症例数が増えて現在5名の患者の存在を確認している。本疾患は、「フェニルアラニン水酸化酵素(PAH)遺伝子変異により発症する高フェニルアラニン(Phe)血症で、補酵素であるテトラヒドロピオプテリン(BH4)投与に反応し血中Pheが低下する病態」と定義される(J Pediatr, 1999; 135:375-8)。

2. 現在までに診断された本症患者の特徴

本症は、食事療法を行う以前の血中Phe濃度が15mg/dl以下の比較的軽症のPAH欠損症で見出されている。血中Phe濃度が20mg/dlを越えるようないわゆる古典型PKU患者には、現在のところ見いだされていない。BH4に対する反応性は年齢によって変化せず、この点で一過性BH4欠損症などとは異なる。いくつかの症例で数年の間隔をおいて再度BH4負荷試験を行ったがその反応性には変化がなかつ

た。BH4に対する反応性は特徴的で、1) 血中Phe濃度の低下は緩徐で、かつ、2)正常化に至らない、などの特徴を示す。しばしば、BH4投与後4時間後の血中Phe濃度は低下傾向を示さず、12-24時間後の測定で初めて低下傾向が明らかになる症例もある。

3. 本症患者の持つ遺伝子変異

本症患者のPAH遺伝子変異は異所性mRNAのreverse transcription mediated PCR法による増幅と各エクソンのPCRによる増幅の後、直接塩基配列決定を行って検索した。現在までに見いだされている遺伝子変異と患者数の対応を表1に示す。BH4反応性が確認されている遺伝子型は、P407S/R252W, IVS4-1G>A/A373T, R413P/R241Cの3種類であった。R252W, IVS-4, R413P, 及びR241Cの各遺伝子変異はいずれも東洋人PKU患者で既に報告されていて、A407T変異はスペイン人のPAH deficiency患者で報告がある。A373T変異のみが今回我々がはじめて見出した変異である。R403P/R241Cの組み合わせの患児は現在までに3人の患者が見いだされている。R413Pは日本人PKU変異アレルでもっとも高頻度(30%)に見いだされる遺伝子変異で、R241CはPKU変異アレルの約7.5%を占める。このためこの遺伝子変異をもつ患児は他にも存在すると考えられる。この3患者において、BH4に対する反応パターンは類似しており、BH4に対する反応性は基本的にはPAH遺伝子型によって決定されていることが示唆される。

BH4投与がPheを低下させるメカニズムは未だ明らかでない。図2で示すようP407S/R252Wの遺伝子型を持つ患児はBH4に反応するが、P407S/R111Xの遺伝子型を有する患児はBH4に反応しない。このことから、PAH蛋白質の高次構造がBH4に対する反応性に重要な要件になっていると推察される。正常PAH酵素は大部分は4量体、一部は2量体で存在する。R111X変異を持つアレルからは110個のアミノ酸から成る短いPAHペプチドしか合成されないためpolyheteromerの形成が起こらないのに対し、R252W変異を持つサブユニットとP407S変異を持つサブユニットとのheterotetramerやheterodimerが生じていると考えられる。これらのpolyheteromerがBH4に対する異常なKmを持つのかも知れない。

4. マス・スクリーニングにおける問題点と今後の課題

マス・スクリーニングの一次試験で陽性になった患児の鑑別診断のためにBH4負荷試験を行う際に、本症の存在を十分考慮する必要がある。本症の反応

パターンは、PTPS欠損症などと比較するとかかなり特徴的であるが、少量のBH4投与には反応が顕著でないBH4欠損症との区別は困難な場合がある。その場合には、乾燥ろ紙中のDHPR活性を直接測定する、ないしは、PAH遺伝子変異検索を行うなどにより診断を確定する必要がある。

本症患者の治療にBH4投与が有効かどうかは現在検討中である。Diet治療のようにすべての高Phe血症患者に有効と考えられるわけではないが、ある種のPAH遺伝子変異を持つ患児に対し、BH4投与は補助療法として充分検討の余地がある。実際、現在2名の患者に対して長期にBH4投与を行い有効性を検討中である。この療法の可能性をさらに評価していくために、今後、どのようなPAH遺伝子変異の組み合わせでBH4に対する反応が出るのかを更に検討していく必要がある。

現在、私どもはPAH遺伝子変異検索を各患児の鑑別診断や食事療法に反映させるためのシステムの構築を計画中である。図3にその概要を示す。遺伝子変異の検索が比較的容易にしかも確実にに行えるようになった現在、この手法をマス・スクリーニングの2次検査として取り入れていくことは今後十分検討に値する課題と思われる。

文献

1. Kure S, Hou DC, Ohura T, Iwamoto H, Suzuki S, Sugiyama N, Sakamoto O, Fujii K, Matsubara Y, Narisawa K. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Pediatr* 1999;135:375-378.
2. Nagasaki Y, Matsubara Y, Takano H, Fujii K, Senoo M, Akanuma J, Takahashi K, Kure S, Hara M, Kanagane Y, Saito I, Narisawa K. Reversal of hypopigmentation in phenylketonuria mice by adenovirus-mediated gene transfer. *Pediatric Res* 1999;45:465-73.
3. 松原洋一, 藤井邦裕, 赤沼 順, 侯 殿昌, 高橋和俊, 呉 繁夫, 鈴木洋一, 成澤邦明. 「糖・アミノ酸代謝異常の遺伝子診断」 *Mebio* 1999;16:61-66.
4. 松原洋一, 長崎 裕, 藤井邦裕, 高野英昭, 成澤邦明. 「フェニルケトン尿症」日本遺伝子治療学会編「遺伝子治療開発研究ハンドブック」エヌ・ティー・エス出版 (東京) 1999, pp931-934.

表 1

BH4反応性PAH欠損症のPAH遺伝子変異

遺伝子型	遺伝子変異		患者数 (人)
	アレル 1	アレル 2	
1	P407S	R252W	1
2	IVS4-1G>A	A373T	1
3	R413P	R241C	3

図 1

高フェニルアラニン血症の診断

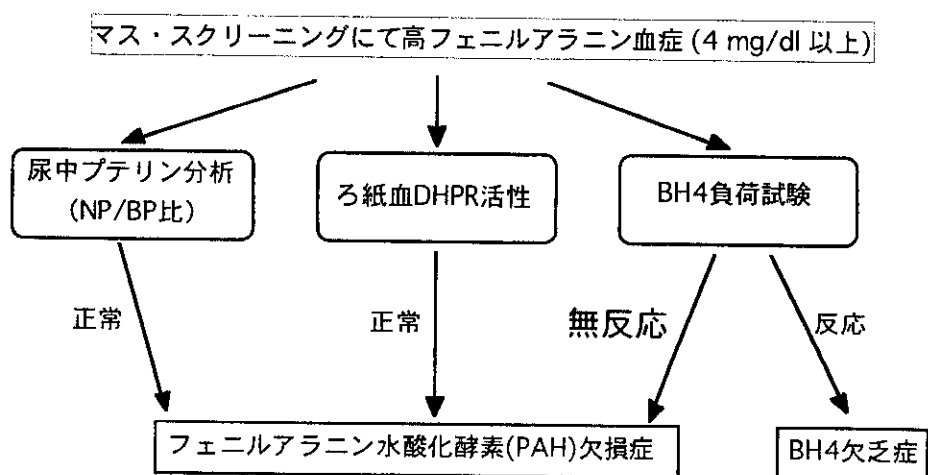


図 2

一方のアレルが共通の2名の患児のBH4反応性

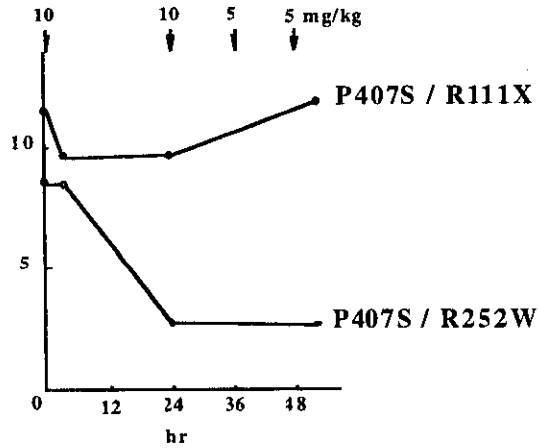
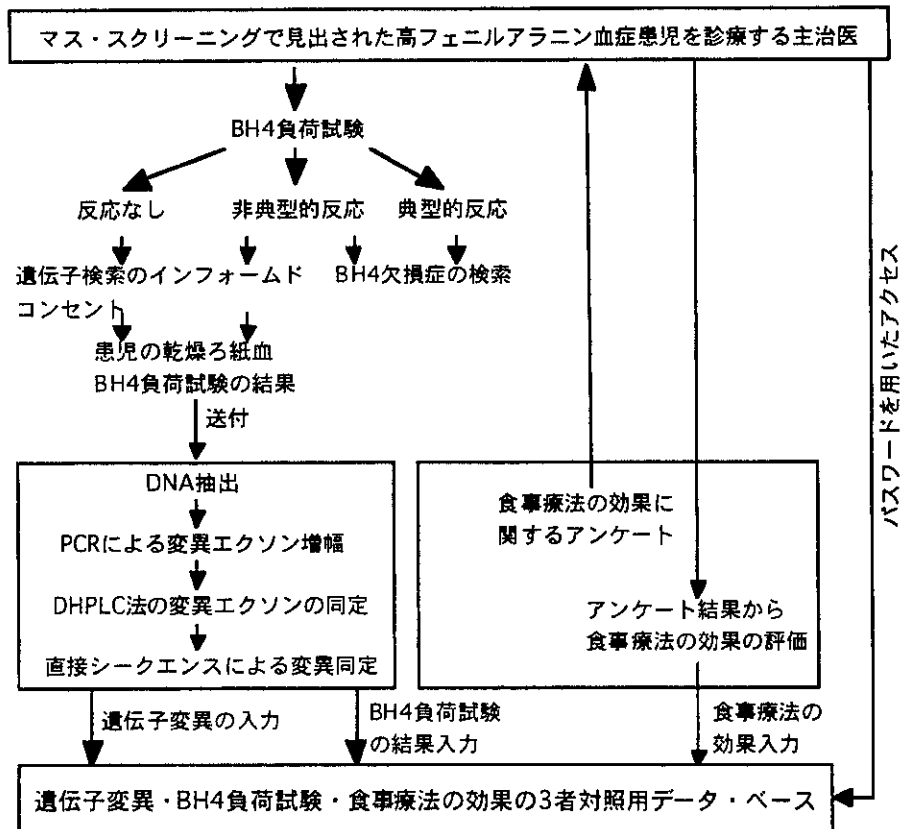


図 3



分担研究：効果的なマスクリーニング事業の実施に関する研究

メープルシロップ尿症：発見から治療開始までの時間差と予後

研究要旨

メープルシロップ尿症の神経学的予後因子の中で発見から治療開始までの時間差がどの程度の重みを持つかを検討した。対象は12例（男3例，女9例）で，神経学的後遺症のない7例とある5例の2群間の有意差検定を以下の項目につきAspin-Welchのt検定で行った。1）発症時日齢，2）治療開始日齢，3）発症から治療開始間での日数，4）治療開始前血中ロイシン値，5）神経症状持続時間，6）生後6ヶ月までのロイシン耐容量，7）乳児期以降の発作回数，8）意識障害持続時間。その結果，生後6ヶ月までのロイシン耐容量が有意の，また治療開始前血中ロイシン値と神経症状持続時間が有意の傾向がある因子と判定されたが，治療時間差は両群間に有意差を認めなかった。このことから，治療開始の遅滞が神経学的予後に影響を与えると言う仮説を支持する結果は得られなかったが，生命予後に関してはさらに検討の余地がある。

研究協力者

芳野 信，徳永泰幸

（久留米大学医学部小児科学教室）

研究目的

生命・神経学的予後に影響を与える因子を明らかにすることは治療の方針を考える上で重要である。メープルシロップ尿症（以下、MSUDと略す）は新生児期に発症する例が多く，経験的に治療開始の遅滞が生命・神経学的予後に影響を与える可能性が考えられている。^{1) 2)} この研究は，本症の生命・神経学的予後に影響を与える可能性がある因子を分析し，発症から治療開始の時間差が予後因子のうちどのような意義をもつかにつき検討することを目的とする。

研究対象および方法

対象：

1) 分析対象の情報

MSUD患者の主治医にアンケート調査を行い，一部は論文発表の資料に基づき必要な情報を得た。これらの一部は既報³⁾であるが，今回はその未発表情報を解析した。アンケート調査の回収率は33%であった。対象患児の背景は以下の通りである。性別 男3名，女11名

在胎週数 38.9 ± 2.0週，範囲：36～42週

出生体重 2,782 ± 381g 範囲：2,220～3,380g

以上の症例のうち，神経症状がきっかけとなって25生月で診断されたビタミンB1反応性の症例（症例8）と同胞例で発症前治療開始例（症例12）は，基本的統計量の分析には加えたが，神経学的後

遺症の有無の2群間の平均値の差の有無の検定からは除外した。すなわち前者の個体数はn=14，後者の個体数はn=12である。

2) 2群間の平均値の差の検定は検討項目のすべてにつき分散が等しくないためAspin-Welchのt検定による。検討項目は表2に示す通りである。有意水準は $\alpha=0.05$ とし， $\alpha=0.10$ までをその傾向ありとした。

研究結果と考察

情報が得られた症例は全例生存例であったため，生命予後については検討せず，神経学的予後のみにつき検討した。

1) 神経学的予後の概要（表1）

神経学的後遺症のある7例の内訳は表1の通りであった。症例7は3歳4ヶ月時の発達指数は正常下限であったが，9歳時，知能が低いとの記載があるため後遺症ありとした。

2) 全症例（n=14）の基本的統計量（表2）

初発時日齢，治療開始日齢，発症から治療開始間での日数の範囲は大きくなっているのは症例8を含むためであり，神経症状持続が痙性麻痺など不可逆の後遺症を遺した例（症例9）をふくむためである。実態は中央値が示している。

3) 神経学的予後の危険因子（表3）

新生児期の5項目，乳幼児期の3項目につき，神経学的後遺症のない群（n=7）とある群（n=5）の間の平均値につき検定したところ，生後6ヶ月までのロイシン耐容量に有意差（後遺症のある群で耐容量が有意に低い）が，新生児期の神経症状の持続時間につき有意の傾向（神経学的後遺症がある群で長い傾