

ることが報告された後、これらの症例においてアミノ酸分析と血中アンモニアの測定を行ったが、アミノ酸分析では異常は認められなかった。また、血中アンモニアは正常から軽度増加を示していた。このため、この3症例の病因確定のためにSLC25A13遺伝子変異の有無の検討を行ったが、今回検討した5種類の遺伝子変異は3症例においては認められなかった。これら3症例における高ガラクトース血症、持続性高胆汁酸血症、軽度肝機能障害の原因として、今回検討した以外のSLC25A13遺伝子異常の可能性は否定できないものの、マスキングでアミノ酸異常が全く認められなかったことを考えると、他の原因によるものの可能性が高いと考えられる。しかしながら、完全にSLC25A13遺伝子異常症を否定するためには、今回検討した5種類以外の遺伝子変異の検討も行わなければならない。

今回対象とした症例では、マスキング検査でのアミノ酸の異常が認められなかったことから初診時にアミノ酸分析を行っておらず、これが高ガラクトース血症の原因を考えるうえで問題となる点であり、新生児マスキング検査で高ガラクトース血症として精密検査となった症例では、マスキング検査でアミノ酸異常が認められてい

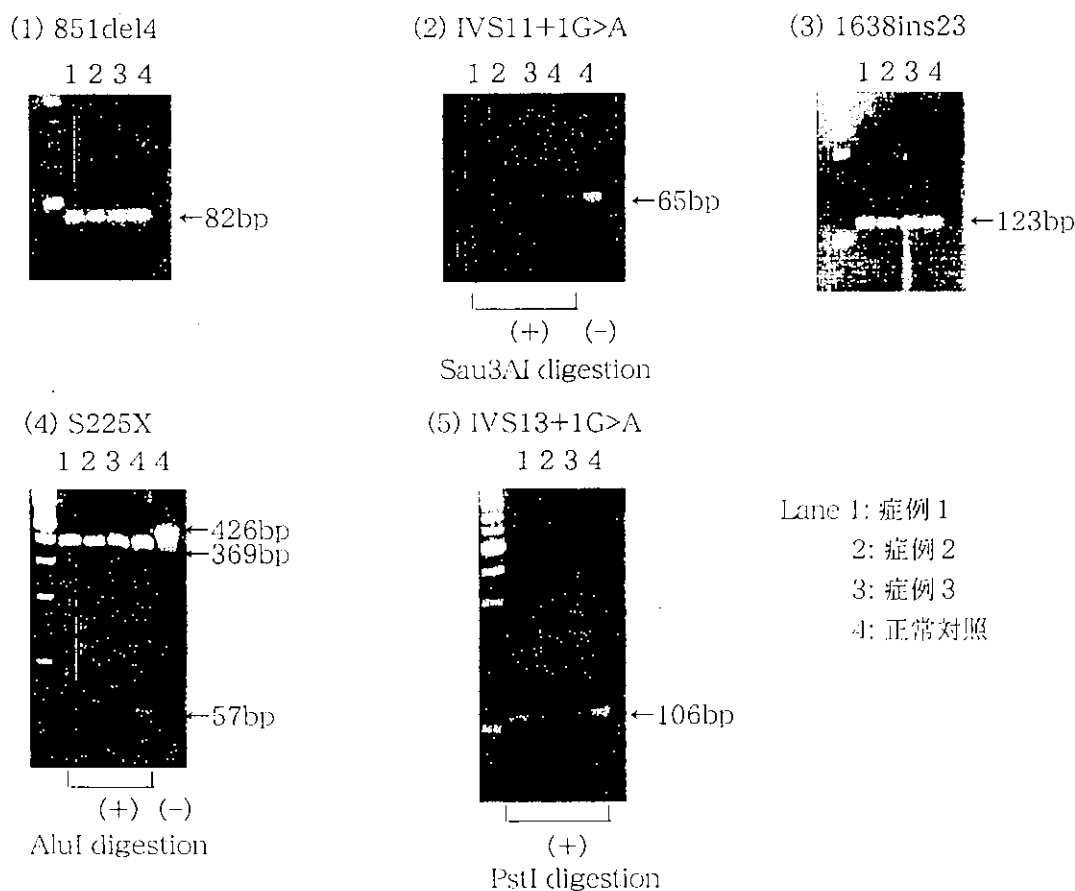
なくとも、初診時にアミノ酸分析を行っておくことが必要である。

また、今回検討した3症例では初診時に腹部エコー検査を実施し、明らかな異常は認められなかったが、1例においてその後の経過観察中に行った腹部エコー検査で門脈の低形成が明らかとなり、これが高ガラクトース血症、持続性高胆汁酸血症、軽度の肝機能障害の原因であると考えられた。高ガラクトース血症の病因診断のために、初診時のエコー検査は重要であるが、初診時に明らかな異常所見が認められなくとも高胆汁酸血症や肝機能障害が持続する場合には、繰り返して腹部エコー検査を行い門脈の低形成や肝内・肝外門脈のシャントの有無を検討することが重要である。

#### 文献

- 1) Kobayashi K, Sinasac DS, Iijima M, Boright AP, Begum L, Lee JR, Yasuda T, Ikeda S, Hirano R, Terazono H, Crackower MA, Kondo I, Tsui LC, Scherer SW, Saheki T: The gene mutated in adult onset type II citrullinaemia encodes a putative mitochondrial carrier protein. *Nat Genet* 22: 159-163, 1999.

図1：SLC25A13遺伝子変異の検討



分担研究：マススクリーニングの効率的実施に関する研究

軽症クレチン症の病因，分類へ向けて事実の積み重ね：  
TSH 受容体機能喪失性遺伝子変異の病態を中心に

研究要旨

マススクリーニングの実施に伴い，典型的なクレチン症以外に，軽度の高TSH血症を呈する疾患ないしは病態が存在することが明らかとなった。しかし，このような症例に対する標準化された診断・治療法の指針はなく，対応に混乱のみられることもある。我々はクレチン症マススクリーニング検査で軽度高TSH血症を示し，TSH不応症が疑われたクレチン症の1例のTSH受容体遺伝子の解析を行い，発症原因と思われる遺伝子変異を認めた。軽度高TSH血症を呈する症例には本例のように器質的なクレチン症で治療を要する例もあると考えられる。マススクリーニングの効果的な実施のため，軽度高TSH血症を呈する症例の診断および治療法を標準化し，混乱を解消する必要があると考えられた。

研究協力者

松浦信夫，柴山啓子（北里大学医学部小児科）  
原田正平（池田町立病院小児科）

研究目的

我国では1979年に全国規模でクレチン症の新生児マススクリーニングが実施されて以来，マススクリーニングで発見されたクレチン症の児の知能予後はマススクリーニング以前に比較して著しく改善し，確実にその成果は上がっている。しかし，マススクリーニングの実施に伴い，典型的なクレチン症以外に，軽度高TSH血症を呈する疾患ないしは病態が存在することが明らかとなった<sup>1,2)</sup>。しかし，このような症例に対する標準化された診断・治療法の指針はなく，対応に混乱のみられることもある。我々はクレチン症マススクリーニング検査で軽度高TSH血症を呈した軽症クレチン症の症例を経験し，本症の病因，病態の解明に示唆を与えるものと考えたので報告する。

症例

症例は現在18歳の女性である。主訴はクレチン症マススクリーニング検査でのTSH高値である。血族婚はない。家族歴に明らかな臨床症状を呈する甲状腺疾患および，その他の内分泌疾患を認めない。既往歴は，在胎39週，2,682gで出生した。新生児仮死は無く，周産期に異常は無い。新生児マススクリーニング検査でTSH高値（日齢5：TSH 15.0  $\mu$ U/ml，T4 9.1  $\mu$ g/dl，再検日齢32：TSH 17.0  $\mu$ U/ml，T4 9.3  $\mu$ g/dl），を指摘され日齢46に北里大学病院を受診した。受診時に症例に甲状腺腫および，その他の理学所見の異常を認めない。血清TSH 12

$\mu$ U/ml，T4 10.4  $\mu$ g/dl，T3 181 ng/dlで，血清甲状腺ホルモン濃度は正常範囲だったが，高TSH血症のため経過観察となる。発育・発達に異常はない。3歳時にTRH負荷試験施行し，TSHの過剰反応を認めたため甲状腺機能低下症の診断にてl-T4の投与を開始した。8歳時にl-T4の投与を一時中止して甲状腺シンチグラムおよびTRH負荷試験を再度施行した。シンチグラムで甲状腺は位置，形態とも正常であった。<sup>123</sup>I摂取率は24時間値で17%，パークロレイト放出試験で放出率は0%であった。TRH負荷でTSH基礎値18.8  $\mu$ U/ml，頂値93.7  $\mu$ U/ml，T3基礎値111 ng/dl，120分値100 ng/dlと，TSHが過剰反応を示したのに対して，T3は増加せずむしろ低下し，TSHに対する甲状腺の反応性に異常があると考えられた（図1）。

症例は現在も服薬中（2.5  $\mu$ g/kg/day）で発育・発達に異常を認めない。経過中に甲状腺腫を認めていない。

遺伝子解析の方法

TRH負荷試験の所見から，TSH不応症が疑われたため，症例および症例の両親の血液からDNAを抽出しPCR法で増幅後，ダイレクトシーケンシング法でTSH受容体遺伝子の塩基配列を決定した。

研究結果

症例は，TSH受容体遺伝子の1塩基置換により，コドン450のアルギニンがヒスチジンに置換する機能喪失型の変異であるR450H変異（図2）のホモ接合体，両親は同変異のヘテロ接合体であった。

## 考察

TSH不応症を引き起こすTSH受容体の遺伝子変異は現在までに十数家系が報告されている。今回の症例のTSH受容体の遺伝子変異は、鬼形らの報告した本邦初例の複合変異(R450H, G498S)<sup>3,4)</sup>の一方の変異と同一である。しかし、R450Hのホモ接合体の遺伝子変異の報告は現在までにない。今回の症例は、TSH受容体のホモ接合体の遺伝子変異としては、新しい変異である。

鬼形らは、その複合変異の症例のTSH受容体の機能解析で、R450H, G498Sのいずれの変異受容体もTSH結合能およびcAMP産生能が低下していること、および、R450Hの変異の機能障害はG498Sの変異に比して軽度であることを報告している。今回我々の報告した症例は発育・発達は良好である。また検査データでは、血中甲状腺ホルモン値は正常範囲内で、しかも高TSH血症は軽度であり、所謂、「軽症クレチン症」の範疇にはいるものと思われる。R450Hの遺伝子変異による軽微な機能障害の所見は、本症例の臨床像および検査所見と相応するものと考えられた。

マススクリーニングの実施に伴い、典型的なクレチン症以外に、軽度の高TSH血症を呈する疾患ないしは病態が存在することが明らかとなった。しかし、軽度高TSH血症に対する標準化された診断・治療法の指針が無く、対応に苦慮することもある。軽度高

TSH血症を呈する症例には本症例のように器質的なクレチン症で治療を要する例もあると考えられる。マススクリーニングの効果的な実施のためには、このような軽度高TSH血症を呈する症例の診断および治療法を標準化し、混乱を解消する必要があると考えられた。そのためには、同様の症例を集積して、その病因、診断および治療法を検討することが必要である。我々は、日本小児内分泌学会の評議員に対して、「軽症クレチン症（仮称）」の病型診断者に関するアンケート（下記）を配布し、全国規模で同様の症例の集積・検討を行いつつある。今後、その結果を検討し、軽度高TSH血症を呈する症例の病因の解析および診断・治療法を検討したい。

## 結論

マススクリーニングの効果的な実施のため、軽度高TSH血症を呈する症例の病因、診断および治療法を検討し、その対応を標準化する必要があると考えられた。

## 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：日児誌, 1998；102：817.
- 2) 原田正平，他：日児誌, 1990；94：1751.
- 3) 長島知久，他：ホと臨床, 1999；47：849.
- 4) 鬼形和道：ホと臨床, 2000；48：751.

## 「軽症クレチン症（仮称）」の病型診断者に関するアンケート

1. 軽度TSH上昇例の診療経験はありますか。ある（ 例くらい）  
ない
2. 診療経験のある先生にお聞きします。病型診断はどの様にされていますか。  
行っている検査に○を付けて下さい。  
（ ）治療中止後のTRH負荷試験。  
（ ）TRH負荷試験における0分、120分の(FT4, FT3, Tg)の測定（行っている測定に○を付けて下さい）。  
（ ）<sup>123</sup>I甲状腺摂取率の検査。（ ）放出検査，（ ）<sup>123</sup>I唾液／血漿比の検査。  
（ ）<sup>123</sup>I甲状腺シンチグラムの検査。  
（ ）甲状腺超音波検査。
3. 病型診断で上記以外の検査を行っていますか。行っている場合、その検査項目を書いて下さい。
4. 軽度TSH上昇者に病型診断を行った結果、最終診断がついた症例（正常例も含めて）はどの位ありますか。（ 例）病型診断を行い，（ 例）は正常，（ 例）は器質的な異常が見つかった。
5. 軽度TSH上昇児（一部軽症クレチン症児）に対する治療について、お考えをお聞かせ下さい。  
（ ）積極的に治療を行い、一定期間治療後病型診断を行う。  
（ ）長期予後は悪くないので、治療は行っていない。  
（ ）長期予後はよいので、治療は行っているが詳細な病型検査は行っていない。  
その他先生のお考えをお書き下さい。

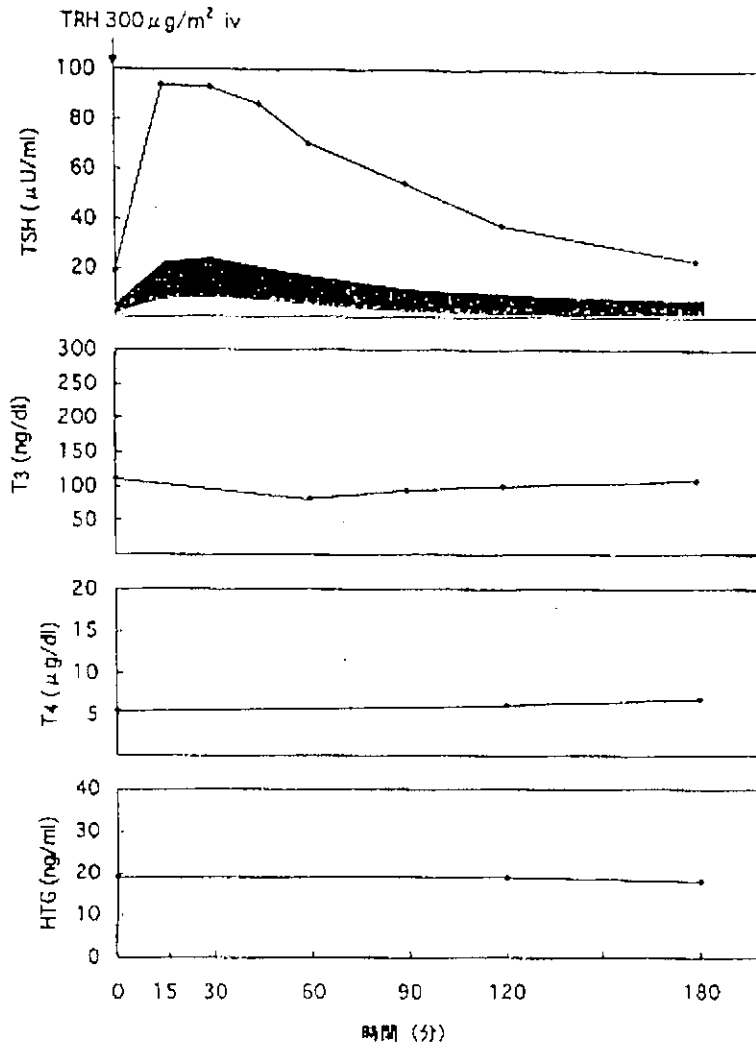


図 1. 症例の TRH 負荷試験の結果。シャドウは正常範囲を示す。

	448		450			453
	V	P	R	F	L	M
Normal:	GTC	CCC	<u>CGC</u>	TTT	CTC	ATG
	V	P	H	F	L	M
Patient:	GTC	CCC	<u>CAC</u>	TTT	CTC	ATG
			↑			

図 2. 症例の TSH 受容体遺伝子のシーケンス。矢印は塩基の置換部位を示す。

分担研究：マスキリーニングの効率的実施に関する研究

検査済み乾燥濾紙血液の倫理面に配慮した管理・有効利用法の研究  
- 検査済み乾燥濾紙血液の保管・管理に適した採血用濾紙の検討 -

研究要旨

新生児スクリーニング検査済み乾燥濾紙血液の管理・有効利用において、個人情報保護の観点から、検査済み乾燥濾紙血液の利用条件と管理しやすい採血用濾紙の様式について検討した。検査済み乾燥濾紙血液の調査研究への利用においては、実施主体である各自治体が「マス・スクリーニングの施行に関するガイドライン」（日本マス・スクリーニング学会編集）及び、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する指針」（文部科学省・厚生労働省・経済産業省策定）に基づいて適切な措置をすることにより、これまで保管されていたものも含めて有効利用が可能となる。今後は採血時のインフォームドコンセントにおいて、現行スクリーニング検査以外の目的で一定期間保存され、血中のタンパク、ペプチド、ホルモン等の検査による新しいスクリーニングの開発や遺伝子解析による疾患の確定診断等に利用される可能性があること、それを拒否しても現行スクリーニング実施の間に不利益を被ることがないこと等の説明を盛り込んだ検査申込書の作成が必要である。

研究協力者

福士勝（札幌市保健福祉局生活衛生部）  
三上篤，本間かおり（札幌市衛生研究所）  
梅橋豊蔵（財団法人化学及血清療法研究所）  
成瀬浩（財団法人東京顕微鏡院マス・スクリーニング精度管理センター）  
住吉好雄（神奈川県労働福祉協会）  
黒田泰弘（徳島大学医学部小児科）

いて倫理上どのような問題があり、配慮すべき事項は何か、また検査済み乾燥濾紙血液の保管時における匿名化の方法、必要な保管期間、適切な保存方法をどのように設定すべきかについて、倫理面に配慮した検査済み乾燥濾紙血液の管理と利用法を関係学会及び政府の指針を基に検討するとともに、管理しやすい採血用濾紙の様式についても我国と海外の現行の様式を比較検討した。

研究目的

新生児スクリーニングの検査済み乾燥濾紙血液は、輸送・保管・取扱いが容易であること、全新生児を対象として収集される唯一のサンプルであること、DNAやタンパクは適切な保存方法により長期間安定であること等から、臨床医学や公衆衛生の分野に関連した研究の有用な材料となっている。また、科学技術の進歩に伴う生体成分の超微量高感度分析法や迅速分析法の開発は日進月歩であり、疾病の成因及び病態の解明、予防及び治療方法確立のための調査研究材料として、検査済み新生児乾燥濾紙血液の価値は今後さらに高くなっていくものと考えられる。そこで、検査済み乾燥濾紙血液の管理と有効利用の際に発生する倫理上の問題とその解決法、及びそのために適切な採血用濾紙の様式について検討することとした。

研究方法

検査済み乾燥濾紙血液の疫学的研究等の利用にお

研究結果

1) 検査済み乾燥濾紙血液利用に関する問題点について

検査済み乾燥濾紙血液の利用については、日本マス・スクリーニング学会マス・スクリーニング倫理審議委員会から提言された「マス・スクリーニングの施行に関するガイドライン」<sup>1)</sup>では次のように記載されている。

i) 現行マス・スクリーニングの施行にあたっては、  
a) 受検者の保護者に対して検査の目的、内容等について十分な説明が行われ自主的な同意(インフォームドコンセント)が必要であること、b) 検査結果および個人情報守秘義務の対象であるが、個人が同意できない状態で情報が後見的に疫学調査や追跡調査に供されることは許されること(このことについて同意書の作成は必要ないが、あらかじめ保護者にその旨を告げておくことが望ましいこと)、c) 検査検体を本来の目的以外に用いてはならないが、その目的が医学の進歩発展のための調査・研究であり、

かつ個人名および個人情報に関する部分が削除された状態で提供される場合で研究者が所属する施設の倫理審査委員会(または、日本マス・スクリーニング学会倫理審査委員会)および自治体(マス・スクリーニング委員会等)の承認を得た後に、研究材料として使用できるとされている。また、ii) 新しいマス・スクリーニングの研究開発にあたっては、a) 日本マス・スクリーニング学会倫理審査委員会、または自治体のマス・スクリーニング委員会の承認が必要であり、i) と同様にインフォームドコンセントが必要なこと、b) 検査結果および個人情報、検体の目的外使用については上記i) のb) およびc) に準じることとされている。

## 2) 検査済み乾燥濾紙血液を遺伝子解析研究に利用する場合の問題点について

文部科学省、厚生労働省、経済産業省は平成13年4月1日付け告示として、ヒトゲノム・遺伝子解析研究一般に適用されるべき倫理指針として「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(3省指針)とその細則<sup>2)</sup>を関係試験研究機関・大学等・関係学会の長、都道府県知事、特別区の長、保健所政令市の長、関係団体の長あてに通知しており、試料等の取扱いについては、その11の「研究実施前提供試料等の利用」に規定されており、研究機関において、ヒトゲノム・遺伝子解析研究の実施前に提供され、かつ、保存されている試料等の利用の可否は、提供者又は代諾者等の同意の有無又はその内容及び試料等が提供された時期を踏まえ、いくつかの条件の基に倫理審査委員会の承認を得た上で、研究機関の長が決定することになっている。

現行マススクリーニングの検査済み乾燥濾紙血液をヒトゲノム・遺伝子解析研究に利用については、i) 採血時にヒトゲノム・遺伝子解析研究に利用することも含めて同意が得られていれば、利用可能である。ii)-a) 採血時にヒトゲノム・遺伝子解析研究に利用することが明示されていない研究についての同意のみ得られている場合及びii)-b) 採血時に研究に利用することの同意が得られていない場合には原則として指針に従って新たに同意を得ない限りヒトゲノム・遺伝子解析研究に利用できない。しかし、この指針施行前に採血されたii)-a) であって、連結不可能匿名化され、提供者に危険や不利益が及ぶ可能性のない場合、及び連結可能匿名化され、かつ、ヒトゲノム・遺伝子解析研究により提供者に危険や不利益が及ぶ可能性が極めて少なく、高度の有用性が認められ、他の方法では實際上研究の実施が不可能又は極めて困難な場合は、倫理審査委員会での承認と研究機関の長の許可を得た場合に限りヒトゲノム・

遺伝子解析研究に利用できる。また、この指針施行後に採血されたii)-a) にあつては、上記の要件に加えて、試料等の利用を拒否する機会が保証されており場合には、倫理審査委員会での承認と研究機関の長の許可を得た場合に限りヒトゲノム・遺伝子解析研究に利用できる。一方、この指針施行前に採血されたii)-b) であっても、連結不可能匿名化され、提供者に危険や不利益が及ぶ可能性のない場合、及び連結可能匿名化され、かつ、ヒトゲノム・遺伝子解析研究により提供者に危険や不利益が及ぶ可能性が極めて少なく、その研究が社会の利益に大きく貢献するものであり、他の方法では實際上研究の実施が不可能なで、研究の実施状況について情報公開を図り、併せて提供者等に問い合わせ及び試料等の研究を拒否する機会を確保するための措置が講じられている場合は、倫理審査委員会での承認と研究機関の長の許可を得た場合に限り、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に利用できる。また、この指針施行後に採血されたii)-b) であっても、上記要件に加えて、特に連結可能匿名化の上で実施される研究については、症例数が限られており、かつ、緊急に研究を実施する必要がある場合等で、倫理審査委員会が真にやむを得ないとその利用を承認し、研究間の長により許可された場合に限り、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に利用できることとされている。

## 3) 検査済み乾燥濾紙血液の管理方法

本報告書の梅橋らの報告<sup>3)</sup>によると、我国における検査済み乾燥濾紙血液の保管状況は検査機関によりまちまちであり、検査済み検体の保管管理については検査機関の自主性に委ねられていること、検査機関での保管管理法の選択及び検体管理責任は、業務上検査機関に任されているのが一般的であることが指摘されており、有効利用のためには管理保管に関する指針が必要とされている。

長期保管された検査済み乾燥濾紙血液の有効利用に関する研究としては、デンマークのBent Norgaard-Pedersen<sup>4)</sup>によれば、ヨーロッパの一部では成長後特殊な疾病を発症した場合、その人の出生時の乾燥濾紙血液について、その疾患に関する特殊変化の有無を分析する事がしばしば行われ、その有用性が証明されているとのことである。さらに、最近、NIHのNelsonら<sup>5)</sup>により、カリフォルニア州で長期冷凍保存された乾燥濾紙血液を資料とした貴重な報告が発表された。彼女達は同州で成人に達し、福祉保護行政の対象となっている小児自閉症、知的障害者、脳性小児麻痺患者の、出生時期の乾燥濾紙血液を州政府の許可を得て研究対象として分析した。その結果、自閉症、知的障害患者の新生児期

血液にペプチドなどの特殊な変化があることを認めた。この研究はこれら患者の病因解明に有効であり、このような新生児期の変化は今後これら患者の超早期発見に有効であることから、既にいくつかの国で追試が始まっている。

## 考察

検査済み乾燥濾紙血液の有効利用として想定されるケースとしては、見逃し例のスクリーニング時検査データの再確認、新しい新生児マススクリーニング検査法の研究開発及びそのマススクリーニングシステム確立のための調査研究、幼児期から成人期に発症した疾患の新生児期における診断マーカーの検討のような後見的調査研究が考えられる。このような調査研究を行うには、日本マス・スクリーニング学会倫理審査委員会のガイドラインに基づけば、使用する検査済み乾燥濾紙血液の個人名及び個人情報に関する部分が削除された状態で提供され、倫理委員会の承認が得られれば利用可能となる。従って、使用済み乾燥濾紙血液から母氏名等をはじめとする個人名の情報記載部分を切り取られ、血液がスポットされた部分のみとして匿名化されていれば試験研究等を目的として使用可能となる。しかしながら、このような調査研究の段階で異常データを示して重篤な疾患が予見され、その児にとって情報を得ることが利益となる（情報が得られない場合に不利益を被る）場合は、検体とその児との照合が必要となり、連結可能な匿名化された状態で検査に供されなければならない。従って、匿名化された状態で提供される血液スポット部分と情報記載部分に同一の番号等を予め付しておき、研究試料として提供される場合に血液スポット部分のみを使用することが必要となる。また、新生児マススクリーニングのために採血された検査済み乾燥濾紙血液の遺伝子解析等の利用については、各自治体のインフォームドコンセントの内容、その採血が3省指針告示施行日である平成13年4月1日以前又は以降どうかによりその可能性、利用する場合の手続きが異なってくるので、自治体ごとの対応が求められる。いずれにしても検査済み乾燥濾紙血液の利用においては3省指針に基づき適切な措置を取ることで、これまで保管されていたものも含めて有効利用が可能と考える。

検査済み乾燥濾紙血液の利用は幼児期から成人期までを通して相当長期間に渡ることから、その保存期間もできるだけ長ければ長いほど有効利用の機会が多くなる。Nelsonらの研究<sup>20</sup>でも検査済み乾燥濾紙血液が10年以上保管されたことにより可能となっており、医学上の研究にとって乾燥濾紙血液が極め

て有用な資料であり、長期保存の重要性を示唆している。しかし、その保管スペースを確保するコストは保管期間に比例して高くなる。また、保存方法は血中の物質の安定性を確保する上では冷凍保存が最適であるが、冷蔵及び常温保存に比べてコストがさらに高くなる。因みに、CDCのHannonら<sup>19</sup>によるとカリフォルニア州における-20℃での保存コストは1年間に1千万検体の保存に15万ドルとであり、米国における検査済み乾燥濾紙血液の保存方法、保管期間は州により異なり、1年以下が65%以上であり、10年以上保管しているのは10%程度とのことである。

検査済み乾燥濾紙血液の保存期間及び保存方法の指針の作成においては保管要するコスト計算も踏まえて決定されるべきである。また、保存スペースの確保のために、保存する乾燥濾紙血液のサイズをできるだけ極小化するような工夫も必要である。そのためには、血液スポット部分と情報記載部分を簡単に分離できるようにすること、血液スポット部分から個人が特定できるようにするため採血用濾紙の作成時に共通のバーコードをそれぞれに印刷してバーコードリーダーによる照合システムを確立することで、連結可能な匿名化が可能なシステムとすべきである。また、血液スポット部分と個人情報記載部分を分離した状態で保管することは、個人情報の保護の強化をより容易にできると思われる。

新生児スクリーニングの検査済み乾燥濾紙血液を倫理面に配慮して管理・有効利用するためには、1) 新生児スクリーニングでのインフォームドコンセントにおいて、現行スクリーニング検査が終了後、血中タンパク、ペプチド、ホルモン等の検査や遺伝子解析による新しいスクリーニングの研究開発に利用するため乾燥濾紙血液が一定期間保存されること、それを拒否しても現行スクリーニングの実施について不利益を受けることがないことを説明書に記載して同意を得ること、2) 検査機関における個人情報保護システムの強化が必要であること、3) すでに収集された検査済み乾燥濾紙血液でも、日本マス・スクリーニング学会マス・スクリーニング倫理密議委員会から提言された「マス・スクリーニングの施行に関するガイドライン」や3省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に準拠して手続きをとることで利用可能となること、4) 検査済み乾燥濾紙血液の管理は匿名化した状態で保管し、必要に応じて、個人を特定できるようなシステムの確立が必要である。従って、新生児マススクリーニングの実施主体である各自治体においては、実施要綱や実施要領の変更をおこない、検査済み乾燥濾紙血液

の有効利用に対応できるようにすることが望まれる。

#### 文献

- 1) 松田一郎：日本マススクリーニング学会誌，  
1998；8, Supple 2, 1-5.
- 2) ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針  
（平成13年3月文部科学省・厚生労働省・経済産  
業省告示第1号）及び細則，2001.
- 3) 梅橋豊蔵 他：平成13年度厚生科学研究（子ども

- 家庭総合研究事業）報告書「マススクリーニング  
の効率的実施に関する研究」，2001.
- 4) Norgaard-Pedersen B et al, Acta Pediatr,  
1999；88 Suppl 432：106 - 109.
  - 5) Nelson KB et al：Ann Neurol 2001；49：597  
- 606.
  - 6) Hannon H et al：2002；Personal  
communication.



分担研究：マスキリーニングの効率的実施に関する研究

検査済み乾燥濾紙血液の倫理面に配慮した管理・有効利用法の研究  
—検査機関における検査済み乾燥濾紙血液の保管・管理の実態—

研究要旨

先天性代謝異常検査等における検査済み乾燥濾紙血液の倫理面に配慮した管理と有効利用という観点から、全国の先天性代謝異常等検査受託検査機関を対象として、検査済み濾紙血液の保管管理状況等についてアンケート調査を実施した。検査済み乾燥濾紙血液は検査後1年間は全施設で保管されているが、その後は2年間保管61%、3年間保管41%となっており、5年間以上保管の施設が24%あった。保管条件は、1年間時点では-20℃保管が28%、4℃保管が24%、室温保管が48%であり、3年間時点では-20℃保管が7%、4℃保管が11%、室温保管が24%、保管無しが59%という状況であった。一方、検査済み濾紙血液を自施設での検討等に使用したことがあるとしたのは22%であり、主治医等からの依頼により外部機関に提供したことがある施設は34%であった。廃棄方法としては、加工処理無しでの医療廃棄物として外部委託が48%、焼却30%の順であった。検査済み濾紙血液の保管管理、利用状況等は検査機関によりまちまちであり、年間検査数との関係でも一定の傾向は見られなかった。

研究協力者

梅橋豊藏、田崎隆二（化学及血清療法研究所）  
黒田泰弘（徳島大学医学部小児科）  
福土勝（札幌市保健福祉局生活衛生部）  
梅橋操子（銀杏学園短期大学）  
住吉好雄（神奈川県労働福祉協会）

研究目的

先天性代謝異常検査等の実施に関する国の実施要綱<sup>1)</sup>による検査済み乾燥濾紙血液の保管管理に関する指導は無いが、スクリーニングの実施主体である自治体の実施要綱及び自治体と検査受託機関間における検査委託契約等により、1年間という保管期間を定めてある場合が多い。その場合においても検査済み検体の保管管理条件等の指示はなく、その管理方法等については検査機関に委ねられているのが実状である。しかし、たとえ検査済み検体と謂えども、社会情勢から倫理面への配慮が求められつつある昨今であり、検査機関における保管管理と有効利用という観点から何らかの指標を設ける必要があると考える。そのためにはまず実態を把握することが先決との判断のもと、全国の先天性代謝異常等検査受託検査機関を対象として、検査済み濾紙血液の保管管理状況等についてアンケート調査を実施した。

研究方法

先天性代謝異常等検査を受託している全国51検査機関を対象として、検査済み濾紙血液の保管期間、

保管条件、自施設での研究・検討等への利用状況、外部施設への提供状況等についてアンケート調査を実施した。回答は検体の99%以上を占める「検査結果異常無しと判定された検査済み濾紙血液（以下異常無し分）」と1%未満の「検査結果陽性或いは疑陽性で精密検査依頼された検査済み濾紙血液（以下要精密分）」に分けて調査し、回答が寄せられた46施設（回収率90.2%）について集計した。

研究結果

1. 検査済み濾紙血液の保管期間（図1）

異常無し分においては、17施設(37%)が1年間保管、11施設(24%)が2年間保管となっており、6年間以上という長期保管施設も4施設(9%)存在した。一方、要精密分は8施設(17%)が1年間保管、11施設(24%)が5年間保管となっており、半永久保管が18施設(39%)あった。

2. 検査済み濾紙血液の保管期間を決めた経緯

異常無し分では保管期間を自主的に決めたが31施設(67%)、自治体との契約によるが12施設(26%)、特に理由無しが3施設(7%)であった。一方、要精密分では自主的決定が32施設(70%)、自治体との契約によるが7施設(15%)、特に理由無しが2施設(4%)、記入無しが5施設(11%)と異常無し分と同傾向であった。自治体との契約と回答した施設の保管期間は全て1年間であり、更に自主的決定の中には自治体との契約期間1年以降は自主的というものが多く含ま

れた。

### 3. 検査済み濾紙血液の保管条件 (図2) (図3)

異常無し分の半年時点での保管条件を見ると、  
-20℃以下が17施設(37%)、4℃が12施設(26%)、  
室温が17施設(37%)であり、1年時点では-20℃以下が13施設(28%)、4℃が11施設(24%)、室温が22施設(48%)となっていた。2年時点になると保管設備の関係から-20℃以下は3施設(7%)と減少し、保管無しが18施設(59%)となり、更に5年時点では-20℃以下が1施設(2%)、4℃が4施設(9%)、室温が6施設(13%)、保管無しが35施設(76%)であった。一方、要精密分の1年時点での保管条件を見ると、-20℃以下が28施設(64%)、4℃が14施設(32%)、室温が2施設(4%)であり、2年時点では-20℃以下が22施設(50%)、4℃が11施設(25%)、室温が3施設(7%)、保管無し8施設(18%)であった。また、10年時点では-20℃以下が17施設(39%)、4℃が4施設(9%)、保管無し23施設(52%)となっており、15年時点でもほぼ同様な結果となった。

### 4. 検査済み濾紙血液の保管時の梱包状態

異常無し分、要精密分に関わらず、-20℃以下及び4℃保管においてはビニール袋で密閉しての保管、室温保管時はダンボール箱に直接保管というのが殆どの施設の回答であった。

### 5. 使用済み濾紙血液の自施設使用状況

異常無し分を自施設内での研究等のために使用したことがあるが10施設(22%)、使用したことが無いが36施設(78%)であり、その使用目的、保護者の同意、匿名化、倫理委員会等による承認、自治体の承認等の状況を表1に示す。また、要精密分の自施設内での研究等のために使用したことがあるが8施設(17%)、使用したことが無いが36施設(78%)、記入無しが2施設(4%)であった。その使用目的等の状況を表2に示す。

### 6. 使用済み濾紙血液の提供状況

異常無し分を主治医等外部機関から依頼され提供したことがあるが16施設(34%)、提供依頼されたが断ったが4施設(9%)、提供依頼をされたことが無いが27施設(57%)であり、その提供目的等の状況を表3に示す。また、要精密分では主治医等外部機関から依頼され提供したことがあるが6施設(13%)、提供依頼されたが断ったが2施設(4%)、提供依頼をされたことが無いが36施設(78%)、記入無しが2施設(4%)であり、その提供目的等の状況を表4に示す。

### 7. 検査済み濾紙血液の提供依頼を断った理由

研究等の目的で外部機関からの提供依頼を断った理由として、異常無し分は1)使用許可を得ていない、2)自治体からの指示、3)自施設での判断、4)保存期

間外のため、との回答があり、要精密分については2施設より自治体からの指導との回答であった。

### 8. 検査済み濾紙血液の使用規制について

行政、医療機関、保護者等から指導や規制、クレーム、要望等を受けたことがあるかに対して、異常無し分では「ある」との回答が2施設(4%)、「無い」が44施設(96%)であった。その内容は「行政から目的外使用の無いように指導を受けた」と、「住民団体から検査済み濾紙血液を他の目的で使用していないかとの申し入れがあり、受検の際に検査申込書を書いて戴くことと使用済み濾紙血液保管台帳を作成することにより対応した」であった。一方、要精密分では、規制を受けたことがあるが2施設(4%)、規制されたことは無いが38施設(83%)、記入無しが6施設(13%)であり、規制を受けた2施設は自治体からの指導であった。

### 9. 検査済み乾燥濾紙血液の保管スペース

検査済み乾燥濾紙血液を全て保管するとした時、現時点で何年間分の保管スペース確保が可能かの問に対しては、殆どの施設が現行の保管年数・保管条件としており、将来対応可能なスペースは室温での延長外は設備拡充に否定的な内容であった。

### 10. 検査済み乾燥濾紙血液保管後の廃棄方法

医療廃棄物として外部処理委託が21施設(46%)と最も多く、次いで焼却処分が13施設(28%)となり、滅菌後医療廃棄物が3施設(7%)、滅菌後可燃ゴミとして処分が3施設(7%)、裁断後産業廃棄物として委託が3施設(7%)、検査機関において滅菌後裁断廃棄が1施設(2%)、回答無しが2施設(4%)であった。尚、焼却には自施設内での焼却処分7施設も含まれている。

### 11. 検査済み乾燥濾紙血液の保管に関連する質問・要望等

保管管理に関する指導等に関する内容が6件(43%)と最も多く、次いで保管温度に関する内容4件(29%)となっており、それぞれの内容を以下に示す。1)検査済み濾紙保管について、学会としての統一見解を明示して欲しい。2)スクリーニング開始当初に、保管に関する指導等は行われたか。3)検査済み濾紙血液の保管期間はどれくらい必要か。4)保管スペースがないため、保管期間の延長には無理がある。5)保管スペースがあっても、それを管理する人的余裕が必要である。6)保管に関する法律(指導)がないので、種々の研究に利用できるメリットはあるが、検査申し込み時点でのインフォームドコンセントが必要になってくるのではないか。7)再び検査に使用するのを目的とするなら、4℃以下での保存が必須である。室温での長期保存検体ではDNA検査くら

いしか使用できないのではないか。8)検査済み濾紙は-20℃に保管しておいた方が良いか。9)物質によって異なると思われるが、測定対象物質の-20℃での保存安定期間を知りたい。10)-20℃保管が望ましいとは思いますが、保管設備を完備するのは困難である。11)濾紙血液バンク設置構想の目的は何か。遺伝子解析の材料とするのであれば、自治体の事業でもあることから倫理性が強く求められる。12)過去の連絡協議会の席上、産科医より「目的外使用するほど血液が余分にあるなら、採血量を少なくしたい」旨の発言があった。目的外使用については、多方面から意見を聞いて対応する必要がある。13)学会の倫理委員会からのリコメンデーションにより、検査済み濾紙血液の目的外使用が可能になるような道を開いてもらえれば、出来る限り長期保管するようになるのではないか。14)検査済み検体について、後日医療機関から再測定依頼を受けた検査施設があるか。

備のためのコストが関係してくる。各検査機関の年間検査数は数千件から約10万件までの開きがあるが、この年間検査件数と保管管理年数・管理条件との関係を調べたが両者の間に一定の傾向は見られなかった。検査機関での保管管理法の選択及び検体管理責任は検査現場に任されているのが一般的であることから、指針等が存在しない現在では検査担当者の懸案事項となっている。一方、受検率がほぼ100%である本スクリーニングの検査済み濾紙血液は、研究という観点から捕らえると貴重な材料となり得るが、その保管管理及び使用には倫理的な配慮<sup>2)</sup>も必要である。特に、検査済み濾紙血液の検査機関外への提供や自施設で研究等に使用するにあたっては、スクリーニングの対象としている疾患の多くが遺伝的疾患でもあることから一層の倫理的配慮が求められる。これらのことより各検査機関が検査済み濾紙血液の保管管理に関して判断する際に利用できる指標が必要と思われる。

### 考察

検査済み濾紙血液の保管期間は、大方の検査機関と事業主体である自治体間で1年間の契約がなされているようであるが、その保管期間及び保管条件は検査機関によりまちまちであり、また検査済み検体の保管管理については検査機関の自主性に委ねられているのが実状である。保管については保管スペース・設備等が関連することから、検査室の面積、設

### 文献

- 1) 日本マス・スクリーニング学会誌 (新生児マス・スクリーニング検査システムの手引き), 8 (Supplement 2); 93-97, 1998
- 2) 松田一郎: 新生児マス・スクリーニングの生命倫理. 日本マス・スクリーニング学会誌 5 (3); 7-12, 1995

図1 乾燥血液濾紙の保管期間

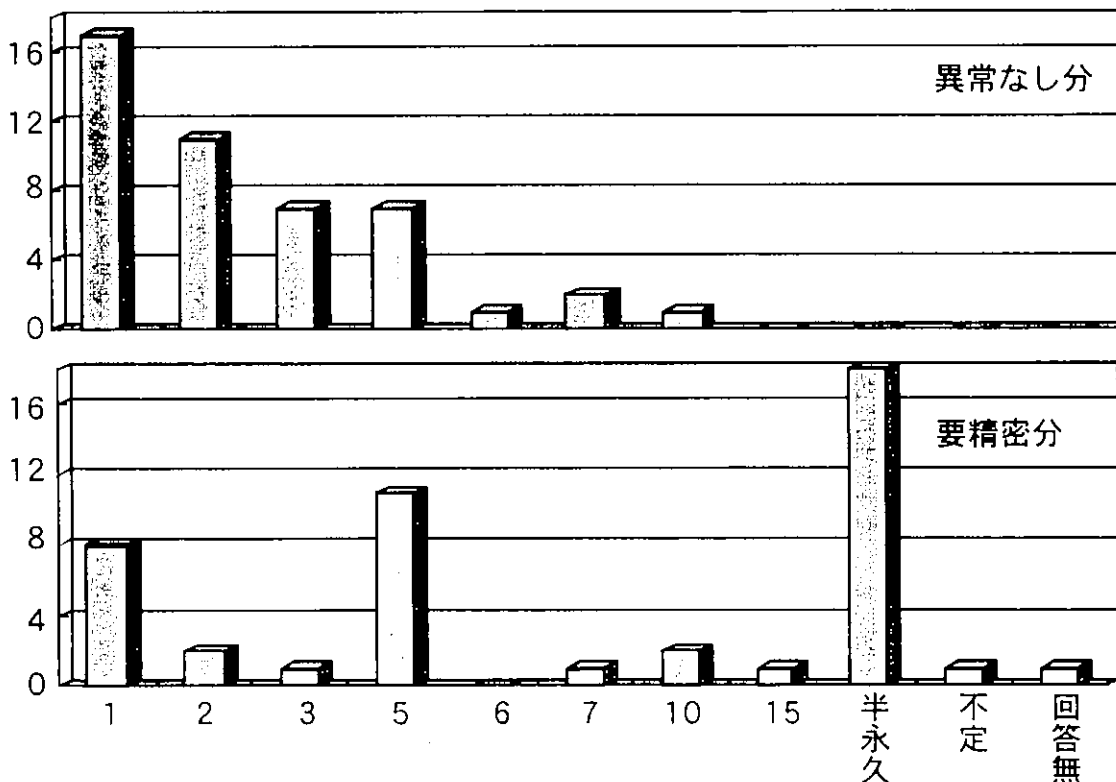


図2：検査済み濾紙血液の保管条件（異常なし分）

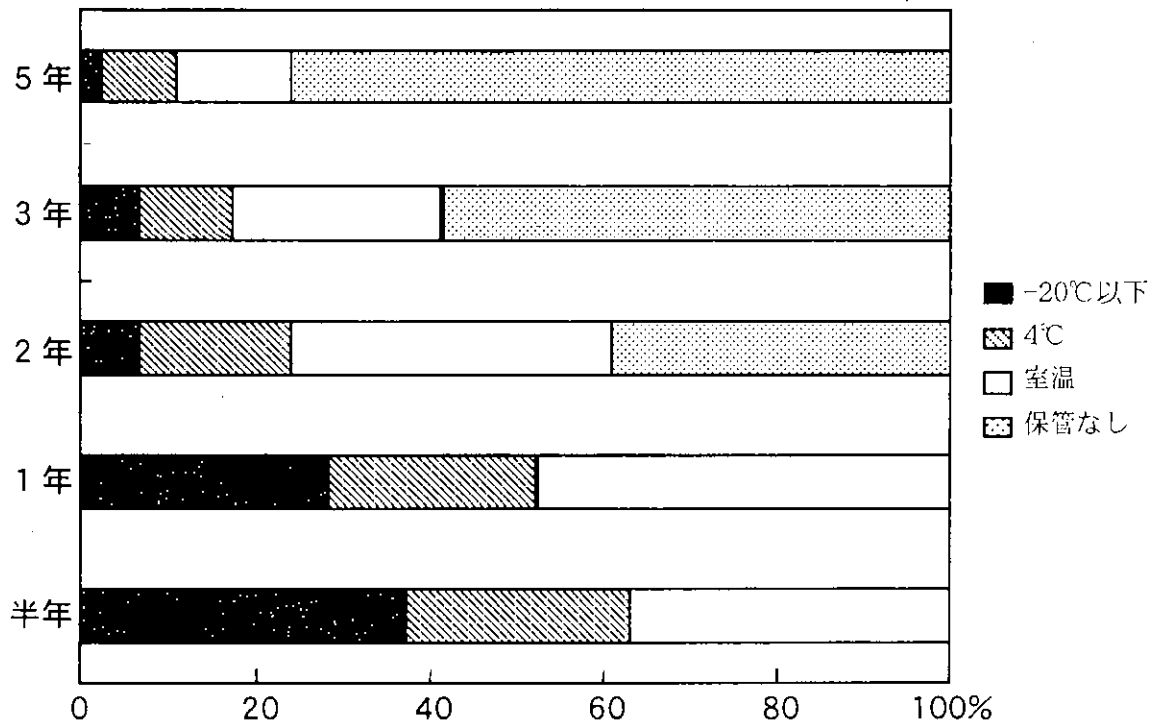


図3：検査済み濾紙血液の保管条件（要精密分）

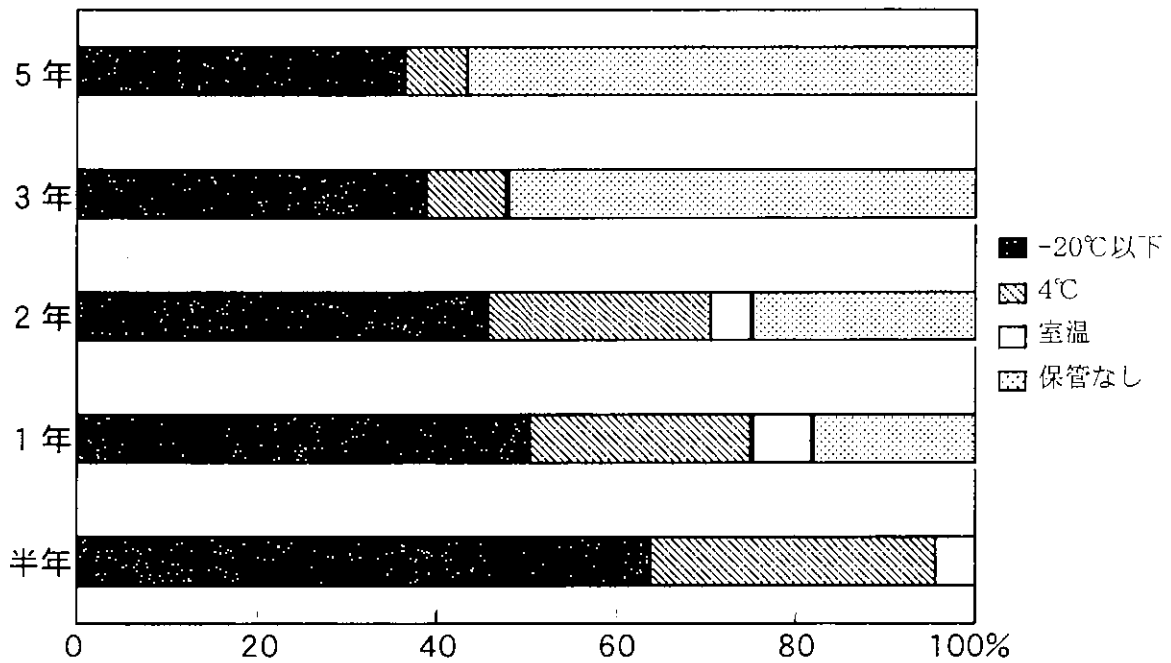


表1：異常無し分の自施設での使用状況  
(複数回答あり)

1. 使用目的			
1) 現行スクリーニング検査関連検討	1 (9%)		
2) 現行スクリーニング外検査関連検討	4 (36%)		
3) 検査法 (試薬) の検討	5 (45%)		
4) 回答無し	1 (9%)		
2. 保護者の同意		3. 匿名化	
1) 有	3 (27%)	1) 有	7 (64%)
2) 無	5 (45%)	2) 無	1 (9%)
3) 回答無し	3 (27%)	3) 回答無し	3 (27%)
4. 倫理委員会の承認		5. 自治体の承認	
1) 有	1 (9%)	1) 有	2 (18%)
2) 無	7 (64%)	2) 無	6 (55%)
3) 回答無し	3 (27%)	3) 回答無し	3 (27%)

表3：異常無し分の外部への提供状況  
(複数回答あり)

1. 使用目的			
1) 患児のフォローアップ	10 (53%)		
2) 現行スクリーニング外検査関連検討	5 (26%)		
3) 厚生科学研究班への協力	1 (4%)		
4) 試薬メーカーへの検討依頼	1 (4%)		
5) 疫学調査 (保因者)	1 (4%)		
6) 回答無し	1 (4%)		
2. 保護者の同意		3. 匿名化	
1) 有	14 (74%)	1) 有	5 (26%)
2) 無	2 (11%)	2) 無	11 (58%)
3) 回答無し	2 (11%)	3) 回答無し	3 (16%)
4) 医師一任	1 (5%)		
4. 倫理委員会の承認		5. 自治体の承認	
1) 有	6 (32%)	1) 有	8 (42%)
2) 無	3 (16%)	2) 無	7 (37%)
3) 回答無し	3 (16%)	3) 回答無し	4 (21%)
4) 不明	7 (37%)		

表2：要精密分の自施設での使用状況

1. 使用目的			
1) 現行スクリーニング検査関連検討	1 (13%)		
2) 現行スクリーニング外検査関連検討	2 (25%)		
3) 検査法 (試薬) の検討	4 (50%)		
4) 回答無し	1 (13%)		
2. 保護者の同意		3. 匿名化	
1) 有	2 (25%)	1) 有	2 (25%)
2) 無	1 (13%)	2) 無	1 (13%)
3) 回答無し	5 (63%)	3) 回答無し	5 (63%)
4. 倫理委員会の承認		5. 自治体の承認	
1) 有	0 (0%)	1) 有	1 (13%)
2) 無	3 (38%)	2) 無	2 (25%)
3) 回答無し	5 (63%)	3) 回答無し	5 (63%)

表4：要精密分の外部への提供状況

1. 使用目的			
1) 患児のフォローアップ	2 (33%)		
2) 現行スクリーニング外検査関連検討	1 (17%)		
3) 臨床医からの要望	2 (33%)		
4) 回答無し	1 (17%)		
2. 保護者の同意		3. 匿名化	
1) 有	3 (50%)	1) 有	0 (0%)
2) 無	1 (17%)	2) 無	4 (67%)
3) 回答無し	1 (17%)	3) 回答無し	2 (33%)
4) 医師一任	1 (17%)		
4. 倫理委員会の承認		5. 自治体の承認	
1) 有	0 (0%)	1) 有	1 (17%)
2) 無	3 (50%)	2) 無	3 (50%)
3) 回答無し	2 (33%)	3) 回答無し	2 (33%)
4) 不明	1 (17%)		

## マススクリーニングの効率的実施及び開発に関する研究

分担研究：今後導入すべきマススクリーニング方法および新しい対象疾患に関する研究

分担研究者 青木継稔（東邦大学学長・医学部第二小児科学教室教授）

### 研究要旨

平成13年度厚生科学研究・子ども家庭総合研究事業「マススクリーニングの効率的実施及び開発に関する研究（主任研究者：徳島大学医学部教授・黒田泰弘・課題番号H13-子ども-006）」のなかで、分担研究「今後導入すべき新しいマススクリーニング方法および新しい対象疾患に関する研究」を行う。今年度は、現在実施されている新生児マススクリーニング対象疾患のうち、フェニルケトン尿症（PKU）、メープルシロップ尿症（MSUD）、ホモシスチン尿症の3種アミノ酸代謝異常症および新しいマススクリーニング対象疾患として有機酸代謝異常症・脂肪酸酸化異常症・尿素サイクル代謝異常症等の疾患をタンデム質量分析計（TMS）を用いるスクリーニング方法の有用性を検討し、将来的に現行の3種アミノ酸代謝異常症にも応用できると思われる。さらに、新しい対象疾患として、(1) ウィルソン病、(2) ムコ多糖症、(3) 有機酸代謝異常症・脂肪酸酸化異常症、(4) 胆道閉鎖症について、マススクリーニング方法の基礎的検討およびパイロットスタディを行った。ウィルソン病は、幼児血を用いてセルロプラスミン（Cp）を指標としてスクリーニングする方法が最適とされるが幼児の採血上の困難さがあり、3歳～5歳児を中心とする幼児尿を用いるスクリーニング・パイロットスタディを開始した。ムコ多糖症は、6カ月児尿を用いたDMB法により岐阜県を中心に142,894検体のスクリーニングが行われ1例のHunter病がスクリーニングされた。治療効果を考慮すると、より早期（例・新生児期）に濾紙血を用いてマススクリーニングする方法が話題となり、今後検討課題となった。有機酸代謝異常症・脂肪酸酸化異常症は、GC/MS法およびTMS法によりパイロットスタディおよび基礎的検討が行われた。プロピオン酸血症、メチルマロン酸血症など治療可能な有機酸代謝異常症が比較的多く発見され、スクリーニングの意義は大きい。GC/MSによる方法か、新生児濾紙血を用いるTMS法か、の結論を出す必要がある。便色調カラーカード法による胆道閉鎖症のマススクリーニングは、栃木県および茨城県でパイロットスタディが進められ成果を挙げているが、見逃し例を防止する検討が行われている。便色調カラーカード法は、安価であり簡便であり、早急に全国的に導入される必要がある。

### 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、高橋勉 秋田大学医学部小児科  
北川照男、鈴木健（東京都予防医学協会）  
青木継稔、清水教一、山口之利（東邦大学医学部第二小児科）  
折居忠夫（中部学院大学人間福祉部）  
祐川和子（岐阜大学医学部小児科）  
田中あけみ（大阪市立大学大学院医学研究科 発達小児医学）  
松井陽（筑波大学臨床医学系小児科）  
重松陽介（福井医科大学看護学科）

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）  
山口清次（島根医科大学小児科）  
吉田一郎（久留米大学医学部小児科）

### 研究目的

健やか親子21の課題3「小児保健医療水準を維持・向上させるための環境整備」を実践させるために、新生児、乳幼児などの小児期に疾患の早期発見・早期治療を目的にマススクリーニング事業を行うことは極めて有意義である。現行の新生児マススクリーニング事業は、わが国において今年で満25周年を迎えて、現在までに多くの患児が発見され大きな実績と効果を挙げスクリーニング技術は高い水準を保持

し、世界をリードしている。

本研究は、新生児や乳幼児などの小児期に国民の健康増進、保健・医療・福祉の向上のために、さらに今後導入すべき新しいマススクリーニング方法および新しい対象疾患に関する研究を行うものである。

今年度は、今後導入すべき新しいマススクリーニング方法として、現行新生児濾紙血によるマススクリーニングのうち、PKU、MSUDおよびホモシスチン尿症の3種のアミノ酸代謝異常症に対して、有機酸代謝異常症などとともにTMS法が有用かどうかを検討した。また、今後導入すべき新しいマススクリーニング対象疾患について、(1) ウィルソン病、(2) ムコ多糖症、(3) 有機酸代謝異常症・脂肪酸酸化異常症、(4) 胆道閉鎖症を中心に、スクリーニング方法の基礎的検討、臨床的事項、パイロットスタディなどの研究を推進した。

## 研究方法および結果

### 1. タンデム質量分析計 (TMS) による新生児濾紙血を用いたマススクリーニング法

現行新生児マススクリーニングでPKU、MSUDおよびホモシスチン尿症の3種アミノ酸代謝異常症は、Guthrie法を主体として実施され、一部の地域では高速液体クロマトグラフィ (HPLC) 法が導入されている。重松らは、有機酸代謝異常症・脂肪酸 $\beta$ -酸化異常症のマススクリーニングを新生児濾紙血に導入するためもあり、TMS法にて、これら3種アミノ酸代謝異常を含めてマススクリーニングする方法を検討した。欧米をはじめ、近年、世界的にTMS法がPKUなどのアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、尿素サイクル代謝異常症および脂肪酸酸化異常症マススクリーニングに普及してきている。TMS自体の装置は比較的高価であるが、大量の検体を迅速かつ安価に処理することが可能であり、十分に応用可能であることを明らかにした。今後は、わが国において多くの施設がTMSを導入してスクリーニングへの応用を吟味し、世界に遅れないようにしなければならない。重松らは、プロピオン酸血症、メチルマロン酸血症、II型シトルリン血症、中鎖アシルCoA脱水素酸素欠損症 (MCAD)、PKUをスクリーニングした成績を示した。

### 2. 今後導入すべき新しいマススクリーニング対象疾患に関する研究

#### (1) ウィルソン病

(i) スクリーニング法とスクリーニング適期について：新生児濾紙血では累計178,965名のパイロットスタディにて患児の発見に至らず、乳幼児血中Cp測定によるパイロットスタディは約6万検体のパイロットスタディにて9例の患児の発見があった。し

かし、乳幼児の採血上の困難さがあり、乳幼児に採血してマススクリーニングすることの問題点もあり、3~5歳の幼児期の尿中Cp測定して、本症をスクリーニングする方法を今年度から採用してパイロットスタディを実施することとした。尿中Cp測定による本症のマススクリーニングのパイロットスタディにて、昨年までに約6万検体を実施して、3名の患児発見の実績がある。今年度は、北海道、札幌、秋田、東京都の4カ所において、3~5歳児を中心とする採尿から検査へのシステムの構築と一部パイロットスタディを実施した。

#### (ii) 幼児採尿によるパイロットスタディ：札幌市

(藤田、福士ら)は1歳2カ月児尿 (小児がんマススクリーニング尿検体) を用いて、尿中Cp値のカットオフ値を検討した。ELISA法による尿中Cp値の保存と安定性およびカットオフ値をさらに検討することとなった。北海道 (中山、市原、田村ら) は、3歳児尿にて、尿中Cp値によるパイロットスタディ (1,071名) を行い、2名が精密検査中との成績を示し、次年度は多くのパイロットスタディを実施することとした。秋田県 (高田ら) は、今年度3歳児健診尿を用いて、2,364名の尿中Cp測定を行った。秋田県での検体輸送や各自治体の協力体制などの問題点を指摘した。東京都予防医学協会 (北川、鈴木ら) は、西東京市、三鷹市、立川市、国分寺市の4市3歳児健診および東京小児科医会の協力による3歳児検尿にてシステムの構築とパイロットスタディを実施した。受診率95.4%と高く保護者の関心の高さを窺わせた。6,426名のパイロットスタディを実施したが患児の発見はなかったとのことである。青木、清水、山口らは、本症マススクリーニングの診断法や治療法を検討し、さらに、二次スクリーニング法としての遺伝子解析の有用性を示した。

#### (2) ムコ多糖症

(i) スクリーニング法とスクリーニング適期について：岐阜県および大阪府にて検討した。ジメチルメチレンブルー (DMB) 法にて、1カ月児 (大阪) および6カ月児 (岐阜) を対象とした。

(ii) パイロットスタディ成績：6カ月児尿を用いて、142,894例にて1名のMPSII型 (Hunter病) が発見された。1カ月児尿では、約1万例のスクリーニングが行われているが、まだ発見されていない。本症については、骨髄移植が有効であり、さらに酵素補充療法の開発もあり、より早児のスクリーニングシステムの検討が必要であると結論された。

#### (3) 有機酸代謝異常症・脂肪酸酸化異常症

(i) スクリーニング法とスクリーニング適期：新生児濾紙血を用いるTMS法、4~6生目の新生児尿を

用いるGC/MS法が実施された。

(ii) パイロットスタディ成績：金沢、福井、島根および久留米の4施設において検討された。福井の重松らは、現在までに約118,000例の新生児濾紙血を用いてTMS法にて、5例のプロピオン酸血症、3例のメチルマロン酸血症、3例のⅡ型シトルリン血症、2例の中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症（MCAD）、1例のPKUが発見された。金沢の久原は、郵送された新生児濾紙尿約13,000例のパイロットスタディの結果、1例のプロピオン酸血症、1例のピリミジン代謝異常症、3例の軽症型持続メチルマロン酸血症、1例のハルトナップ病、2例の $\alpha$ -アミノアジピン酸尿症などが発見された。久留米の吉田らは、新生児尿31,535名のパイロットスタディにて、メチルマロン酸血症、グリセロールキナーゼ欠損症など25名の患児が発見されたとのことである。新生児尿を用いても、新生児濾紙血を用いても有機酸代謝異常症・脂肪酸酸化異常症の発見が可能であることを示した。山口らは、有機酸代謝異常症154例、脂肪酸酸化異常症71例の臨床的な検討を実施し、新生児期に発症する症例が重症であることから、また乳幼児以降に発症する症例を含めて新生児マススクリーニングの有用性を強調した。

#### (4) 胆道閉鎖症

(i) スクリーニング法とスクリーニング適期について：松井らの開発した便色調カラーカード法を用いる。栃木県では母子健康手帳にカードを挟み込んで配布し、1カ月健診時に担当医が回収する方法である。茨城県では母子健康手帳交付時あるいは出生届時に、カードを1カ月用と2カ月用の2枚を配布し、郵送法（費用自己負担）にて実施した。

(ii) パイロットスタディ成績：栃木県では、86.9%が検査された。茨城県では、1カ月児42.1%、2カ月児32.5%であった。回収方法としては栃木方式が優れていた。しかし、生後1カ月の時点では約15%の遅発型胆道閉鎖症の発見が困難であることも判明した。回収方法による受診率の向上を考慮すれば、栃木方式の方を採用する方法が良いと結論した。

#### 考察および結論

##### 1. TMS法による新生児マススクリーニング法の導入について

TMS法は、現在世界各国で導入されつつある。PKU、MSUD、ホモシスチン尿症のわが国現行アミノ酸代謝異常症を含めて、治療可能なプロピオン酸血症やメチルマロン酸血症などの有機酸代謝異常症、脂肪酸酸化異常症、尿素サイクル代謝異常症およびその他のアミノ酸代謝異常症も発見が可能である。機器・装置が高価であるが、各スクリーニング

センターの導入により価格低下も予測されること、大量検体が自動的に迅速に処理されることによりスクリーニングが安価に行われることが可能となる。近い将来、Guthrie法やHPLC法に代わって応用される可能性が高い方法であろう。

##### 2. 今後導入すべき新しいマススクリーニング対象疾患に関する研究

###### (1) ウィルソン病

今年度から3歳児を中心とする乳児尿を用いて、尿中Cp測定を指標として検討することとした。活性型Cp測定とポリクローナル抗体によるCp測定が行われた。活性型Cp測定キット提供会社の経営上の理由による提供停止の通告があり、今後のELISA法測定用のCp抗体の作製に着手する必要がある。尿中Cp測定によるウィルソン病患児の発見の実績があり、今後3年間のパイロットスタディ成績が期待される。さらに、遺伝子診断によるスクリーニング法の検討も重要である。

###### (2) ムコ多糖症

骨髄移植を可能な限り早期に実施し中枢神経障害発症予防が必要であり、さらに、米国を中心に酵素補充療法が開発され治療の進展が期待される。DMB法の新生児尿あるいは1カ月児尿の検討、あるいは他の方法の開発の必要性など新たな展開となってきている。

###### (3) 有機酸代謝異常症・脂肪酸酸化異常症

新生児尿を中心にGC/MS法、新生児濾紙血によるTMS法が研究され、さらに、パイロットスタディが進められてプロピオン酸血症、メチルマロン酸血症などの治療可能な疾患が数多く発見されてきた。近年、世界的にPKUなどのアミノ酸代謝異常症も新生児濾紙血を用いるTMS法にてマススクリーニングすることが可能である。他のアミノ酸代謝異常症、尿素サイクル代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸酸化異常症など幅広い先天代謝異常症のマススクリーニングにもTMS法が普及しつつあり有用であるとされる。今後は、TMS法の導入を検討する必要がある。

###### (4) 胆道閉鎖症

今年度は、松井らにより開発された便色調カラーカード法を用いて栃木・茨城両県にて実施した。本症は、生後60日以内に手術することが大切であるとされる。したがって、母子健康手帳にカラーカードを差し込んで配布し、1カ月健診時に担当医に持参する方法が優れていると結論された。ただし、遅発例が約15%存在することがあり、1カ月健診時における発見率は約85%ということになる。本法は安価で簡便である。早急なる全国実施が望まれる。



分担研究：今後導入すべき新しいマススクリーニング方法および新しい対象疾患に関する研究

## 北海道における3歳児健診を利用したウィルソン病スクリーニング

### 研究要旨

3歳児健診時の尿検査検体を用いたウィルソン病（WND）のパイロットスクリーニングを道央圏の3市で実施した。スクリーニングは、尿中セルロプラスミン（Cp）濃度の下位およそ5%（70～100 ng Cp /mg Cr.）を目安として、再検査・再々検査を実施した。最終的に尿中Cp濃度に異常低値が認められた検体について、尿中銅（Cu）濃度も併せて測定し、それらのデータを基にコンサルタント医師に相談の上、精密検査勧奨を実施した。

平成13年6月27日から平成14年1月18日までの3歳児健診受診者総数は1,071名であり、そのうち968名がWNDスクリーニング検査を受診し、受診率は90.4%となった。全受診者の平均Cp濃度は、 $299 \pm 224$  ng/mg Cr.であった。再検査数は68名、再検率は7.02%となった。要再検査検体の平均Cp濃度は $85.0 \pm 23.6$  ng/mg Cr.となり、正常と判定された群と比較し有意な（ $p < 0.001$ ）濃度低下が認められた。再検査対象者のうち、12名について再々検査を実施した。現在までに、6名に対して精密検査受診勧奨を行った。5名の精密検査対象児の再々検査時での平均Cp濃度は $45.7 \pm 14.5$  ng/mg Cr.であった。現在までに2名が精密検査を受診し、1名について病因遺伝子の解析を実施した。

### 研究協力者

中山憲司，中島美知子，浦口弘子，山崎由香，  
林三起子，林玲子，市原侃，久保亜希子，  
加藤芳伸，澤田幸治，田村正秀

（北海道立衛生研究所）

寺井格（北海道医療大学医療科学センター）  
窪田満，小林邦彦（北海道大学医学部小児科）  
宮本晶恵，藤枝憲二（旭川医科大学小児科）  
野町祥介，水嶋好清（札幌市衛生研究所）  
実吉孝幸，木村浩男（岩見沢保健所）  
藤井千恵子，斉藤勝衛（小樽保健所）  
白坂亜紀，影久真美（北広島市役所）  
鈴木健（東京都予防医学協会）  
青木継稔（東邦大学医学部第2小児科）

### 研究目的

ウィルソン病（WND）は、およそ3万人に1人の割合で発症する先天性銅（Cu）代謝異常症である。本疾患は、日常生活において摂取されるCuが正常に排泄されず、肝臓・腎臓・脳に多量に蓄積し重い肝障害（肝炎・肝硬変）や中枢神経障害を起こす病気である。しかし、Cuキレート剤を用いてCuの排泄を促進することにより、重篤な症状を呈する前に治療が可能なることから、本疾患の早期診断法の開発・導入が強く望まれている。WNDの早期診断法に関する現在までの研究から、幼児及び学童健診時の尿検体を用いた尿中セルロプラスミン（Cp）濃度を

指標とした方法が早期診断法として最も有望視されている<sup>1,2)</sup>。本報告では、道央圏の3市で実施された3歳児健診での尿検査検体を用いた尿中Cp濃度を指標としたWNDスクリーニングに関して報告する。

### 研究方法

本WNDスクリーニングは、平成13年6月27日から平成14年1月18日まで、道央圏の岩見沢・小樽・北広島の3市で実施した。本スクリーニングのシステム概略を図1に示した。各市から発送する3歳児健診受診案内書の中に、WNDの解説書と検査申込用紙、そして採尿容器セットを同封し配布した。採尿容器には、鈴木らの方法<sup>3)</sup>に従いグルコン酸クロルヘキシジン（ヒビテン）を塗布した濾紙を入れた。3歳児健診当日、自宅にて尿を採取して貰い、検査会場でWND検査申込用紙と共に尿検体を回収した。回収後、所轄の保健センター等から尿検体を冷蔵宅急便で北海道立衛生研究所（道衛研）まで送付し、尿中Cp濃度を測定した。尿中Cp濃度は、N-Protein standard SL (Behring社)を標準溶液として、(株)ニプロより提供されたELISAキット（Ceplatone W）を用いて測定した。正確性を上げるために、尿中クレアチニン（Cr.）濃度をセロテック社製CRE-L測定試薬キットを用いて日立7170型自動分析装置で測定し、Cr.濃度補正を行った。スクリーニングは、下位およそ5%（70～100 ng Cp

/mg Cr.) を目安に、再検査・再々検査を実施した。尿中Cp濃度に異常が認められた検体について、尿中Cu濃度も併せて測定し、それらのデータを基にコンサルタント医師に相談の上、精密検査勧奨を実施した。尿中Cu濃度の測定は、硝酸・過塩素酸系による湿式灰化を行った後、Hewlett Packard 4500 ICP-MSを用いて分析を行った。

WND病因遺伝子ATP7Bの遺伝子診断に関しては、全血よりDNAを抽出し、札幌市衛生研究所で開発されたDirect sequence法<sup>1)</sup>を改変し、ABI Prism 377 DNA sequencer及び310 Genetic analyzerを用いて全exonの遺伝子解析を行った。

## 研究結果と考察

図2に、2002年1月に測定した5回分のCeplato W (Lot No. 26169)の標準曲線を示した。本ELISAキットの有効期限は2000年10月と表示されており、既に有効期限を1年以上も超過している。しかし、図2に示した通り、現在でも良好な検出感度と精度を示しているため、本研究では全て本ロットを用いて測定を行った。

平成13年6月から平成14年1月18日までの3歳児健診受診者総数は1,071名であり、そのうち968名がWNDスクリーニング検査を受診した。受診率は90.4%に達し、WND検査に対する道民の強い要望が明らかとなった。全受診者検体の平均尿中Cp濃度は、 $299 \pm 224$  ng/mg Cr.であった(図3, 4)。

WNDスクリーニングを実施する際の問題として、尿中Cp値の単位の問題が以前より取り上げられている<sup>5-7)</sup>。そこで、実測Cp濃度(ng/ml)とCr.補正Cp濃度(ng/mg Cr.)の相関を図3に示した。図示した様に、高濃度領域では両値の相関は高く、低濃度領域では両値の相関は顕著に低いことが明らかとなった。実測Cp濃度でのCut-off値を仮に-1SDの35ng/mlに設定すると、再検率は10%を越える。しかし、Cr.補正を行うことにより低濃度領域のばらつきを抑制することが可能となり、Cut-off値を仮に-1SDの75ng/mg Cr.に設定しても、再検率を5%以下に抑えることが可能であった。これらの検討から、北海道においてはCr.補正Cp濃度を指標としたスクリーニング法を採用し、当面は少し再検率を高めた状態でWND患児の発見に努めたいと計画している。

図5に示した通り、1月18日までの要再検査検体数は68検体で、再検率は7.02%となった。全再検査検体の平均Cp濃度は $85.0 \pm 23.6$  ng/mg Cr.となり、正常と判定された900検体の群と比較し有意な( $p < 0.001$ )濃度低下が認められた。現任までの再検

受診者数は58名で、その平均濃度は $148 \pm 58.9$  ng/mg Cr.となった。そのうち、42検体が正常と判定された。この段階で1名の精密検査勧奨を実施した(図5, 症例1)。現在は、再検の段階で再び尿中Cp濃度に異常低値が認められた検体について、再々検査を実施している。

要再々検査検体は、現在のところ15検体であり、そのうち12名が再々検査を受診した。平均尿中Cp濃度は、 $133 \pm 109$  ng/mg Cr.となり、7検体が正常と判定された。しかし、5検体については、平均尿中Cp濃度が $45.7 \pm 14.5$  ng/mg Cr.であったことから精密検査勧奨を実施した。

表1に精密検査を受診した2名のデータを示した。症例1は、1年後に再度精密検査の実施を予定している。また、症例2については、尿中Cu濃度に異常高値が認められたことから、WND病因遺伝子解析を実施した。表1に示す通り、4箇所の変異が確認された。そのうち、Exon 2のA406S, exon 12のK952R, exon 16のA1140Vでheteroの変異が確認されたが、これらの変異は非病変変異と考えられた。Exon 3で確認されたL456Vの変異は、(GTG < CTG)のhomoの変異として確認された。本部位も先の3変異と同じく、非病変変異の部位と考えられている<sup>8)</sup>が、本homo変異とWNDとの関連性を完全に否定するためには、今後ATP7Bトランスポーターの活性を測定するなど、更なる検索が必要であると我々は考えている。

小規模ながらWNDのパイロットスクリーニングを実施することにより、本検査の強いニーズと関心の高さを、北海道においても実証することが出来た。実際に自治体と連携を取ることで、各自治体で3歳児健診での尿検査方法(採尿法・採尿容器・検査項目等)が異なっていることも把握出来た。また、実際に精密検査勧奨を実施したことにより、精密検査受診時の医療費負担に関する問題も明らかとなった。即ち、北海道の場合、211市町村の内110自治体の乳幼児医療費助成事業の対象が3歳未満とされており、3歳児健診受診後にWND精密検査を勧奨しても、現行では医療費助成の対象にならないことも明らかとなった。WNDスクリーニングを全国規模で円滑に展開・実施していくためには、地域・市町村レベルでスクリーニング方式を統一して尿検査方法を検査地域で一様にしたたり、医療費助成に関する問題についても対応していくなど、自治体の理解と協力が必要不可欠であると考えられた。

次年度は、対象地域を拡大し検査受診者数を増やして行く予定である。また、道衛研のホームページ上(<http://www.iph.pref.hokkaido.jp>)や道内各

保健所及び各市町村の保健センターなどで積極的にWNDスクリーニングに関する啓蒙活動を展開し、本検査の普及に努めていきたいと考えている。

文献

- 1) 清水教一他：日本マス・スクリーニング学会誌，1997；7，107.
- 2) 山口之利他：日本マス・スクリーニング学会誌，1998；8，3.
- 3) 鈴木健他：日本小児科学雑誌，2001；105，846.
- 4) 野町祥介他：日本マス・スクリーニング学会誌，2001；11，41.
- 5) 鈴木健他：日本マス・スクリーニング学会誌，2001；9，56.
- 6) 北川照男他：平成10年度厚生科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）「効果的なマススクリーニング事業の実施に関する研究」報告書，1998；360.
- 7) 重松陽介他：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）「効果的なマススクリーニング事業の実施に関する研究」報告書，1999；361.
- 8) Figus, A. et al.: Am J Hum Genet, 1995；57：1318.

図1：北海道における3歳児健診を利用したウィルソン病スクリーニングシステム概略図

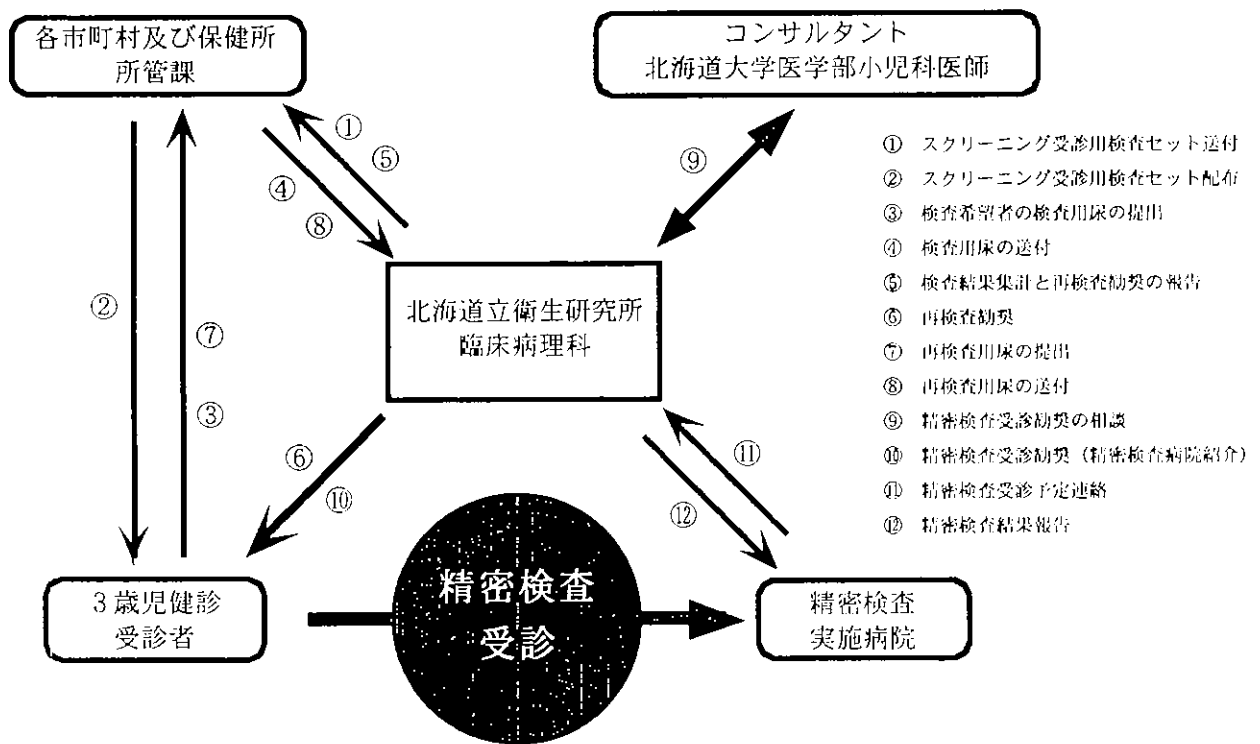


図2：最近5回分のCeplaton Wの標準曲線  
Kit; Ceplaton W (Lot. 26169), Std; N-protein Std SL (Lot. 083627)

