

益を被ることがあってはならない」としている<sup>7)</sup>。また、成瀬は「採血医療機関ではインフォームドコンセントを受けるためには妊婦（及びその夫）への新生児スクリーニングの意味、概要、検査後に起こりうることなどについて詳しく説明した上で同意を得、その上で検査依頼書（検査申込書）への署名を求める」としている<sup>8)</sup>。

実際に平成14年度本研究班の梅橋らの調査<sup>9)</sup>によると、現行スクリーニングにおいてほぼすべての自治体において保護者向けの「検査説明書（案内書）」と「検査依頼書（検査申込書）」にこれらの内容が記載されており、採血医療機関においてこれらを用いて説明が行われ、検査依頼書で署名による同意がとられている。しかし、保管期間を記載した説明書を使用している自治体はなく、本来の目的以外の新しいスクリーニングの試験研究に使用される場合があることを記載した説明書とその承諾を得ている自治体は1施設だけであった。従って現在使用されている説明書に検査済み乾燥濾紙血液の長期保管と現行マススクリーニング対象疾患の検査以外にも使用されることの説明を加えること、検査依頼書へ長期保管と対象疾患検査以外にも使用されることを承諾する項目を加えることが必要となる。検査説明書の追加されるべき内容としては、長期保管の目的、対象疾患の検査以外でどのようなことに使用されるか、現在承諾しても将来承諾を取り消すことができることとその手続き方法、これを拒否しても現行のスクリーニングの受検においてまったく不利益をうけることがないことがあげられる。特に新しいスクリーニング対象疾患の試験研究への利用は採血の際には未定の場合も多いことから、その研究が倫理審査委員会等の承認を得て開始される前に各自治体の広報誌及びインターネットホームページ等の広報媒体で告知すること、

その時点での利用を拒否することも可能なことも記載されるべきである。

また、長期保管と対象疾患の検査以外での使用を拒否した場合はその検体は検査終了後各自治体の文書保存期限の規定により保管された後に個人情報保護に配慮した方法で廃棄されることも記載されるべきである。

表1、2に現行説明書と書諾書の内容と追加すべき項目をそれぞれまとめた。

しかし、上述のインフォームドコンセントが受けられたとしても、検査済み乾燥濾紙血液を本来の目的以外に使用するには、各自治体の新生児マススクリーニングに関する委員会が十分機能し、採血時の十分な説明と検査機関における個人情報の保護が適切に実施されていることが前提となる。また、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あっては実施要綱(要領)等に検査済み乾燥濾紙血液の長期保管の目的・方法・期間、本来の目的以外に使用する場合は手続きを明確に規定しておくことが必要である。

### 3) 長期保管と個人情報保護を考慮した採血用濾紙の様式

乾燥濾紙血液は個人を識別できるその人の個人情報（氏名、生年月日、性等）記載部分と乾燥濾紙血液部分からなっている。検査済み乾燥濾紙血液の長期保管を考慮した場合、その体積をできるだけ小さくして保管スペースを削減することにより保管コストを低減することが望まれる。このためには個人情報部分と乾燥濾紙血液部分を容易に分割できる様式することにより血液部分の面積を縮小できる。この場合、個人情報部分と乾燥濾紙血液部分に個人情報とまったく関係ない番号等を記載しておくことにより照合可能としておくことも必要である。またこの番号をバーコード化すると検査時の検体の打ち抜き装置（パンチインデ

クサー等) にバーコードリーダーを付設することにより検体の正確なサンプリングも可能となることから、採血用濾紙の個人情報部分と乾燥濾紙血液部分に同一バーコードを印刷することは精度管理の観点からも推奨される。

図に分割可能なバーコード付き採血用濾紙の試案を示した。

文献

1) 福士 勝 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」, 2002 ; 133-136  
 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) Norgaard-Pedersen B et al, Acta Pediatr, 1999 ; 88 Suppl432 : 106 - 109

4) Nelson KB et al : Ann Neurol 2001 ; 49 : 597 - 606  
 5) 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 ; 137-141  
 6) McEwen JE et al : Am J Hum Genet, 1994; 55:196-200  
 7) 松田一郎：日本マス・スクリーニング学会誌, 1998;8,Supple2,1-5  
 8) 成瀬 浩：日本マス・スクリーニング学会誌, 1998;8,Supple2,6-10  
 9) 梅橋豊蔵 他：平 14 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」, 2002 ; -  
 10) New York State Task Force on Life and Law: Genetic Testing and Screening in the age of genomic medicine.2000

表 1 現行説明書の内容と追加すべき項目

現行の説明書の内容	現行説明書に追加すべき内容
i) スクリーニングの目的	i) 治療対象になった場合の follow up データ集積の必要性
ii) スクリーニングの内容	ii) 検査後のサンプルの長期間保管する目的とその期間
iii) スクリーニングの受検方法及び採血方法	(長期保管と利用の重要性を含む)
iv) スクリーニング結果の報告と陽性時の対応方法	iii) 長期保管後に実際に利用する場合の手続き及び広報
v) スクリーニングに要する費用	iv) 長期間保管とその利用を拒否しても現行スクリーニングの受検にまったく不利益を受けないこと
vi) スクリーニングを希望しない場合でも不当な不利益を被ることがないこと	v) その他*
vii) スクリーニング全般に関する問合せ先	*については、産婦人科医、小児科医、法律家、倫理担当者、技術者、厚生労働省関係者などを含めた委員会で、世界情勢なども検討したうえで論議をつくすべきである。

\*については文献 10 参照

表2 現行承諾書の内容と追加すべき項目

現行の承諾書の内容	現行承諾書に追加すべき内容
i) あて先（採血医療機関名） ii) 記載年月日 iii) 検査実施の承諾に関する文書とその選択欄 iv) 児及び母の氏名及び児の生年月日 v) 保護者氏名（児との続柄） vi) 保護者住所及び退院後の連絡先（電話番号を含む）	i) 長期保管とその利用の承諾に関する文書とその選択欄 ii) 2枚複写により採血機関の長と検査実施主体である自治体の長あての承諾書とすること

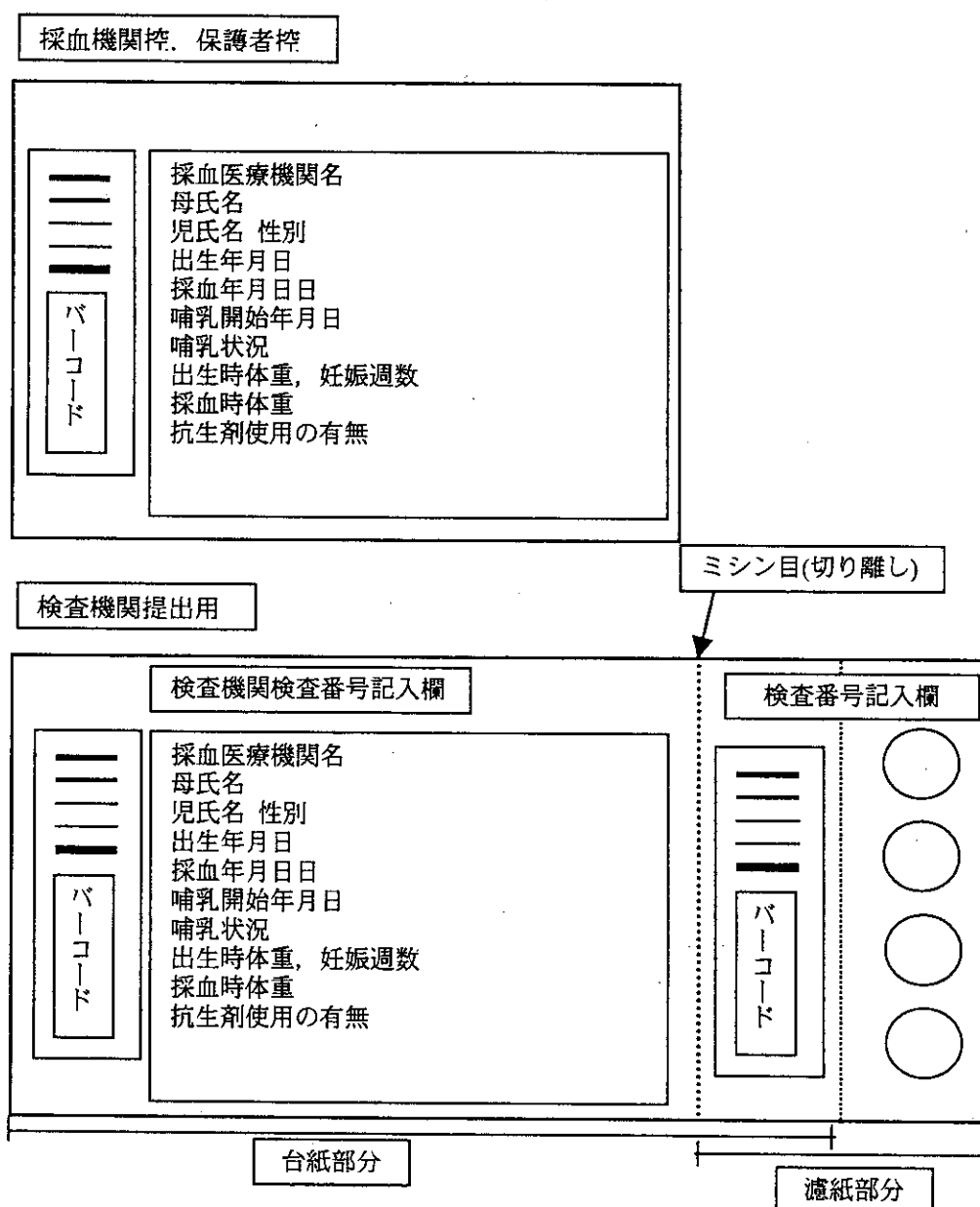


図 分割可能なバーコード付き採血用濾紙の試案

## 分担研究：マスキリーニングの効率的実施及び開発に関する研究

### 検査済み乾燥濾紙血液の管理・有効利用に関する研究

#### －長期保管・有効利用と検査機関の対応－

#### 研究要旨

検査済み乾燥濾紙血液の有効利用と長期保管に関連して、全国 54 スクリーニング検査機関を対象にアンケート調査を実施し、41 施設より回答を得た。また、有効利用には倫理面への配慮が必要なことから、スクリーニング検査の説明書と検査申込書についても検討を行った。

バーコード化への対応については、費用次第では対応可が 75%となっており、有効利用については必要 36%、分からない 48%で、否定意見は 12%であった。検査済み乾燥濾紙血液の保管年数は 5 年間を妥当とする施設が 69%、保管温度は $-20^{\circ}\text{C}$ を妥当と回答した施設が 44%、長期保管に関しては 63%が自施設での対応が困難、もしくは公的機関による保管を望んでいた。また、公的機関への検体移管については、61%が自治体の許可次第で可能としていた。

疫学的見地及び遺伝子検査を含めた幅広い研究面への利用を考慮すると、 $-20^{\circ}\text{C}$ による 20 年間程度の長期保管が必要と考えるが、長期保管の経費負担や現実的な管理及び利用面から、1 年～1 年半程度検査機関で保管した後は、公的機関による保管管理が望ましいと思われる。

全国の年間 120 万検体の保管に限定した直接経費を試算すると、年間 34 万円、20 年後時点での年間支払が 357 万円であり、20 年間の累計額は 3,810 万円となる。また、20 年間の検査済み乾燥濾紙血液の総量は 2,400 万検体、重量では約 49,800kg、体積では 166  $\text{m}^3$ となる。

将来の有効利用に関する倫理的配慮<sup>1)</sup>の検討は勿論必要であるが、現行の検査説明書及び検査申込書は千差万別であることから、今後現行内容の検討も含めた指針作りが必要である。

#### 研究協力者

梅橋豊蔵	田崎隆二（化学及血清療法研究所）
福士 勝	（札幌市保健福祉局生活衛生部）
黒田泰弘	（徳島大学医学部小児医学）
伊藤道徳	（国立療養所香川小児病院）
梅橋操子	（銀杏学園短期大学）
住吉好雄	（神奈川労働福祉協会）

#### 研究目的

検査済み乾燥濾紙血液（以下検査済濾紙血）は、新生児スクリーニング実施率がほぼ 100%であることから、その年に生まれた全国の子どもの血液が 100%入手可能であり、日本国民の疫学的見地から、また、医学研究面からも極め

て貴重な検体である。しかし、現在はその殆どが廃棄されているのが実情で、将来に向けて有効活用のための方策を検討すべきである。我々は昨年の本研究において、全国のスクリーニング検査機関における検査済み検体の保管管理、利用状況等についてアンケート調査を実施し、その実態を把握し報告した<sup>2)</sup>。今回は検査済濾紙血の長期保管のための温度と期間の設定及び保管機関等に関して検討を行うと共に、インフォームドコンセントに関する状況把握を目的とした検査説明書及び検査申込書の内容調査も行った。また、検査済濾紙血の長期保管に要するスペースや費用も試算した。

## 研究方法

先天性代謝異常等検査を受託している全国 54 検査機関を対象として、検査済濾紙血の長期保管と有効利用検討に関するアンケート調査を実施し、41 検査機関から回答を得た(回収率 76%)。また、各検査機関で現在使用中の採血濾紙及び先天性代謝異常等検査受検のための説明書<sup>3)</sup>と検査申込書を送付戴き、内容解析を行った。一方、冷凍倉庫業 4 社の冷凍保管料調査を行い、全国の検査済濾紙血を一箇所ですべて長期保管した場合の費用を試算した。

## 研究結果

### 1. アンケート集計結果

検査済濾紙血を長期保管管理するには、研究や疫学面への再利用が可能な状態で匿名保管し、しかもその再利用時点でデータが引き出せることが必要となる。そのためには検体及びデータの確実な保管管理システムの構築が必要であり、現時点で費用、実現性等を考慮したとき最も現実的な管理法がバーコード化と思われる。また、長期保管については保管期間、保管条件等の検討も必要である。これらについて、検査機関からの回答を解析、集計した。

#### 1) 事務処理システムの OA 化状況 (図 1-1)

回答のあった 41 検査機関のうち事務処理システムが OA 化済みであったのは 36 施設、88%であった。OA 化導入状況と施設規模には、有意な関係は認められなかった。

#### 2) バーコードの利用状況 (図 1-2)

OA 化を実施している 36 施設のうち検体管理・入力等にバーコードを導入しているのは 1 施設のみで、他の 35 施設はバーコード未導入であった。

#### 3) バーコード化計画 (図 1-3)

バーコード未導入施設におけるバーコード化の計画は 1 施設が検討中で、他の施設では具体的計画は無いとの回答であった。

#### 4) バーコード化への対応方向 (図 1-4)

バーコード化には、採血濾紙のバーコード化、バーコードリーダー設備や事務処理ソフト変更等の費用が発生する。バーコード化を全国レベルで推進した場合の対応方向は、対応可 5 施設、費用次第 20 施設、分からないが 1 施設で、対応不可は 9 施設であった。

#### 5) 有効利用について (図 1-5)

検査済濾紙血の有効利用については、必要が

15 施設、分からない 20 施設となっており、有効利用すべきでないが 5 施設であった。

#### 6) 有効利用目的 (図 1-6)

回答を戴いた利用目的としては、新しい疾病の研究 6 件、新しい検査法の検討 5 件、遺伝子診断 4 件、疫学研究が 2 件であり、正常コントロールとしての利用も 2 件あった。

#### 7) 保管年数 (図 1-7)

検査済濾紙血を一定期間検査施設で保管後、更に保管を行うと仮定した時の妥当と思われる保管年数は、5 年間で 28 施設、10 年間で 6 施設、20 年間で 1 施設、半永久が 3 施設、分からない・回答なしが 3 施設という回答で、68%が 5 年間の短期保管で可との回答であった。

#### 8) 保管温度 (図 1-8)

検査済濾紙血を有効利用する場合の妥当と思われる保管温度は、-20℃が 18 施設、4℃が 14 施設、室温が 7 施設であり、44%が -20℃を妥当としていた。

#### 9) 長期保管への対応方向 (図 1-9)

検査済濾紙血を一定期間検査施設で保管後、更に長期の再保管が必要となった場合の保管施設については、自施設で可が 14 施設、自施設では不可が 18 施設、公的保管機関の設置希望が 8 施設であり、約 64%が自施設保管を不可としていた。

#### 10) 公的機関への検査済濾紙血の移管 (図 1-10)

検査済濾紙血を一定期間検査施設で保管後、更に長期の再保管のため公的機関等に移すと仮定した時、自治体の許可次第が 25 施設 (61%)、分からないが 10 施設 (24%)となっており、移管することに反対としたのは 5 施設 (12%)であった。

## 2. 現行採血濾紙の形状

検査済濾紙血を長期保管するには各検査機関において現在使用している採血用濾紙を把握しておく必要があることから、1 部提供をお願いし、36 施設から送付戴いた。

濾紙サイズは 1 施設 (14.9cm×10.1cm)を除いて、他の 35 施設は共通 (13cm×8cm)のものを使用していた。また濾紙形態は、全国共通が 26 施設の 72%、オリジナルなものが 10 施設の 28%であった。全国共通濾紙はすべて横型で、1 スポット切り離せるミシン目入りのカーボン 4 枚型が 25 施設、ミシン目なしのカーボン 2 枚型が 1 施設であった。また、オリジナルの濾紙では、縦型が 9 施設、カーボン 2 枚が

7施設、カーボン4枚1施設、濾紙サイズ大でカーボンなし1施設であった。横型オリジナルの1施設はカーボン1枚であった。共通濾紙では記入事項等の印刷内容は同一であるが、オリジナル濾紙の記入事項及び印刷内容等は全て異なっていた。

### 3. 先天性代謝異常等検査説明書と検査申込書

検査済濾紙血を目的外に有効利用するには、受検時にその内容に関するインフォームドコンセントを得ておく必要がある<sup>4)</sup>。現状把握を目的として検査説明書を25施設、検査申込書を28施設より送付戴いた。

#### 1) 検査説明書と検査申込書の形態

検査説明書及び検査申込書の大きさはB4サイズからA5サイズまで様々であり、記載内容等も極めて簡単なものから詳細なものまで多様であった。また、20施設(80%)では検査説明書と検査申込書が切り取り線により1枚に印刷されていた。

#### 2) 検査説明書の内容及び検査申込書への記入事項

検査説明書並びに検査申込書の内容は表1、表2に示す通りそれぞれ多種多様であり、現状では、検査説明書及び検査申込書とも、検査済濾紙血の長期保管及び有効利用に関連する事項は殆ど触れていなかった。

### 4. 検査済濾紙血の長期保管と費用

費用試算に当たっては、検査済濾紙血の疫学的見地及び将来の幅広い研究への有効利用等を考慮して、 $-20^{\circ}\text{C}$ で20年間、また保管に関しては全国の検体の一括保管を想定した。検査済濾紙血の長期保管と有効利用という観点に立つと保管費用と管理費用という2面からの試算が必要であるが、ここでは保管費用に絞り、しかも空きスペース等は考慮せず単純加算という形で試算した。

#### 1) 費用試算のための基本資料

検査済濾紙血250~300枚に小乾燥剤袋を加えてビニール袋に入れた検査済濾紙6,500枚を概測した結果、重量で約13.5kg、体積として0.45 $\text{m}^3$ であった。全国の年間検体数は約120万検体であることから、重量で2,490kg、体積では8.3 $\text{m}^3$ となる。この量は研究室等に設置されている大型フリーザー(内容量は約1 $\text{m}^3$ )の8~9台分となる。

#### 2) 冷凍倉庫会社の基本保管料

基本保管料について冷凍倉庫業4社に問い合

わせた結果、重量基準による起算法と体積基準による起算法の2つの方法があり、基準は以下の通りであった。

#### ① 重量基準(10kg単位)

4社の1ヶ月保管料は27円~100円と幅があったが、中間2社の平均は月間57円、年間684円、入庫時手数料は27円~100円で、中間の2社平均では1回29円となった。全国の検査済濾紙血を集めて保管すると、年間保管料は684円 $\times$ 2,490kg $\times$ 1/10=170,316円、入庫手数料は54検査機関が年1回入庫として2,490kg/54施設 $\times$ 1/10 $\times$ 29円 $\times$ 54施設=7,221円となる。

#### ② 体積基準(1 $\text{m}^3$ 単位)

重量基準と同じく4社の1ヶ月保管料は1,200円~4,500円と幅があるが、中間の2社平均では月間1,400円、年間16,800円、入庫時手数料は2,400円~4,500円で、中間の2社平均では1回3,000円となった。全国の検体年間保管料は16,800円 $\times$ 8.3=139,440円、入庫手数料は54検査機関年1回入庫として、3,000円 $\times$ 54施設=162,000円となる。

実際の荷物を前にしての具体的な調査でないことから概算の域を出ないが、年間保管料は重量基準を準用して年間17万円とする。また入庫手数料は重量基準では現実的でないことから体積基準を準用するが、一部に年間2回入庫も考えられることから入庫料も17万円として長期保管費用起算のベースとした。

### 5. 検査済濾紙血の長期保管費用概算(表3)

前項を基準にして経過年で試算すると、入庫手数料は一定であるが保管する検査済濾紙血は1年分ずつ保管料が増えていくので、10年後の時点での年間支払料は187万円、20年後では年間支払料は357万円となる。保管料、入庫手数料を累計すると20年間の支払総額は3,810万円となる。なお、20年間の検査済濾紙血の総量は2,400万検体、重量では約49,800kg、体積では166 $\text{m}^3$ となる。これを大型フリーザーに保管すると約166台分となる。

### 考察

検査済濾紙血の長期保管、有効利用のためには、匿名化、データ管理、保管濾紙量の縮小化、等現行の採血用濾紙の改善が前提となる。最も現実的に対応可能なバーコード化への対応は75%が費用次第で対応可能としていることから、全国共通のバーコード化の検討が必要と思われる。

る。検査済濾紙血の有効利用という観点では、将来の遺伝学的研究の進歩や全国のほぼ 100%の血液が採取されていることを考慮すると疫学的にも非常に貴重な試料であり、国家レベルでの対応を検討すべきであろう。将来の幅広い研究への利用の可能性や履歴等への利用を想定すると、保管温度は $-20^{\circ}\text{C}$ で少なくとも 20 年以上の長期保管が必要である。長期保管及び管理となると、費用の面からも、またデータ管理の面からも各検査機関での保管というのは限度があることから、公的な機関により保管管理する方向で検討すべきと考える。前年度の調査によると保管年数、保管温度とも検査機関によってまちまちの状態であるが、少なくとも検査後 1 年間は全ての施設で検体が保管されていることから、1 年間若しくは 1 年半位の期間であれば濾紙量の縮小化により、殆どが $-20^{\circ}\text{C}$ 保管が可能と考えられる。今回のアンケート設問では長期保管機関について触れていなかったが、公的機関において保管することを条件にした調査であれば、 $-20^{\circ}\text{C}$ 保管や長期保管の意見が多くなったものと考えられる。

検査済濾紙血の長期保管有効利用には、現行採血濾紙の改善やインフォームドコンセントが重要であることが福士ら<sup>5)</sup>の報告にあるが、送付戴いた採血濾紙、検査説明書及び検査申込書は説明不足なものも多く、現行レベルでも検討が必要と思われることから、全国レベルで採用可能な指針作りが必要である。

検査済濾紙血の長期保管に要する費用について計算するために冷凍倉庫会社の費用調査を行ったが、各社とも保管する対象物を見なければ見積もりできないし、また、具体的な話はできないというスタンスであった。各社より保管及

び入庫料の算出基準は提示されたが、値段のバラツキが大きく、あくまでも概算の域を脱していないと思われる。更に、実際の保管管理となると単純な重量加算では現実的でなく、また、本試算では濾紙体積の縮小化ということも計算から外してある。

検査済濾紙血の有効利用と長期保管については、コストや具体的管理方法等物理的な面のみでなく倫理面からの対応も必要なことから、行政機関、大学等精査機関、産科医療機関、検査機関が真剣に検討を進めるべき課題であると考えられる。

#### 文献

- 1) 松田一郎：日本マス・スクリーニング学会誌，1995；5：7-12.
- 2) 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」，2002；137-141.
- 3) 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），1998；8(Supplement 2)：93-97. 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」，2002；137-141.
- 4) 福士勝 他：平成 14 年度厚生労働科学研究（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及び開発に関する研究」，2003；
- 5) 福士勝 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」，2002；133-136.

表 1. 検査説明書への記載事項（内容）

記載事項	施設数(%)
① スクリーニングの目的	25(100%)
② スクリーニング検査の内容	25(100%)
③ 受検及び採血方法	25(100%)
④ 検査費用	20( 80%)
⑤ 検査結果報告と陽性時の対応	18( 72%)
⑥ 問合わせ先	10( 40%)
⑦ 非受検の不利益について	1( 4%)
⑧ 検査済濾紙血の他への利用承諾	1( 4%)
⑨ 検査結果の基礎資料利用承諾	1( 4%)
⑩ 未熟児ガイドラインについて	1( 4%)
⑪ マターナルPKUについて	1( 4%)

表 2. 検査申込書の記載内容

記載内容	施設数(%)
① 保護者（母）氏名	28(100%)
② 保護者の住所	28(100%)
③ 保護者の電話番号	26(93%)
④ 検査申込み年月日	25( 89%)
⑤ 検査申込み先	17( 61%)
⑥ 児の生年月日	14( 50%)
⑦ 申込み、非申込みの選択	2( 7%)
⑧ 検査済濾紙血の他への利用承諾	1( 4%)
⑨ 検査結果の基礎資料利用承諾	1( 4%)

表 3. 全国の検査済み乾燥濾紙血液の保管管理料概算（-20℃ 倉庫会社保管）

経過年数	保管料	入庫料	年間支払料	保管料累計	入庫料累計	総累計
1年	17	17	34	17	17	34
5年後	85	17	102	255	85	340
10年後	170	17	187	935	170	1,105
15年後	255	17	272	2,040	255	2,295
20年後	340	17	357	3,470	340	3,810

単位：万円



図1-1 事務処理システムの  
OA化状況

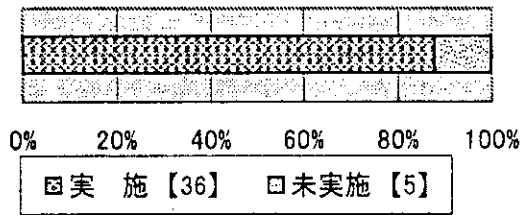


図1-2 バーコード利用状況

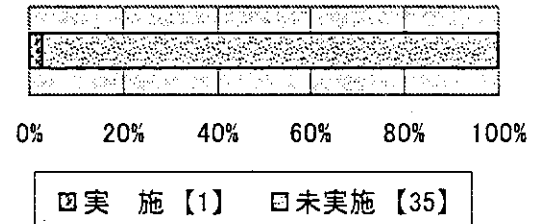


図1-3 バーコード化計画

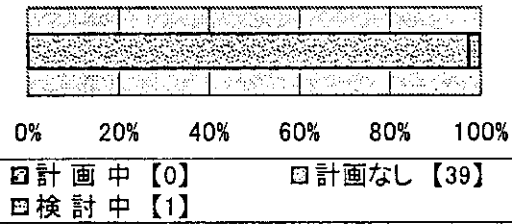


図1-4 バーコード化への  
対応方向

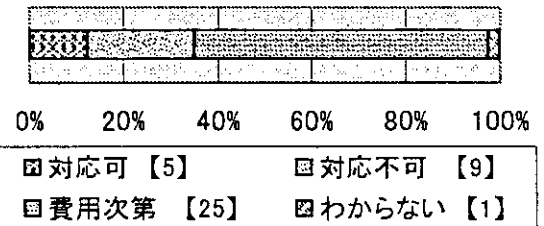


図1-5 有効利用について

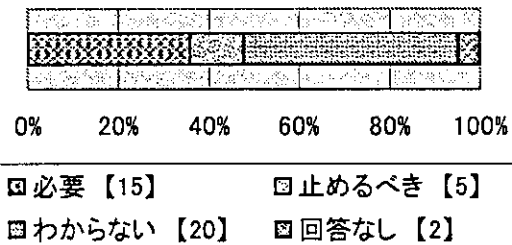


図1-6 有効利用目的

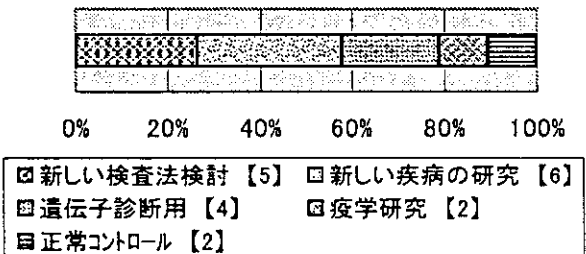


図1-7 妥当と思われる保管年数

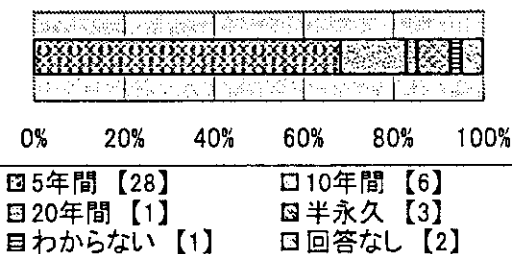


図1-8 妥当と思われる保管温度

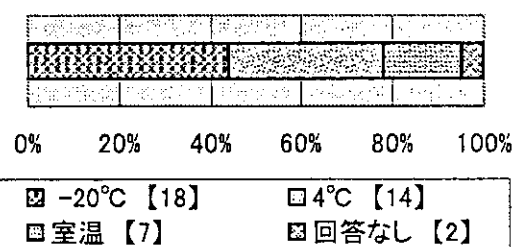


図1-9 長期保管への対応方向

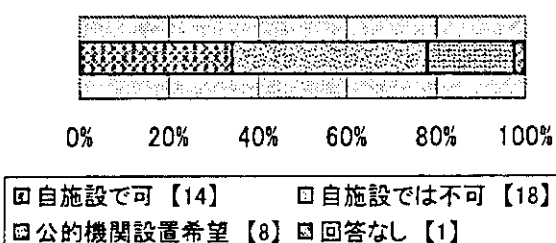
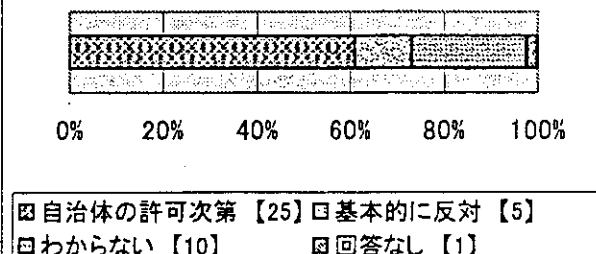


図1-10 検体の移管について



平成 14 年度厚生労働科学研究費補助金（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

分担研究者 青木継稔（東邦大学医学部）

研究要旨

平成 14 年度厚生労働科学研究費補助金（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・黒田泰弘、徳島大学医学部教授）の分担研究「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」として研究を実施した。今年度は、昨年度に引き続き、(1) 今後導入すべき新しいマススクリーニング法として、タンデム質量分析計（TMS）による新生児濾紙血を用いた新しいマススクリーニング法をさらに深く検討した。TMS 法は現行の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（HCU）を含めた多くのアミノ酸代謝異常症のみならず、尿素サイクル代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸β酸化異常症のマススクリーニングに有用であり、近い将来、ガスリー（Guthrie）法や高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法に代って導入すべき方法であろう。(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は、従来から引き続き、① ムコ多糖症、②有機酸代謝異常症、③ウィルソン病、④胆道閉鎖症、⑤その他、について実施した。便色調カラーカード法による胆道閉鎖症マススクリーニングは、極めて有用であり、直ちに導入可能であろう。3～5 歳児の尿中セルロプラスミン（Cp）測定によるウィルソン病マススクリーニングは、昨年よりパイロットスタディを実施している。尿による本症マススクリーニングによって数例の患児が発見されている。近い将来の導入が期待される。

有機酸代謝異常症は、プロピオン酸血症・メチルマロン酸血症など治療可能な疾患が含まれマススクリーニング導入する必要がある。ムコ多糖症は、酵素補充療法や骨髄移植法など有効な治療法の導入により QOL の向上が図れるため、マススクリーニング導入すべき疾患であるが、方法論を再検討する必要がある。その他、他のライソソーム病のスクリーニングの必要性を示唆した。

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、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）  
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）  
重松陽介（福井医科大学医学部看護学科）  
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・医学教育）  
松井 陽（筑波大学医学部臨床医学系小児科）

研究目的

厚生労働省の掲げる健やか親子 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様々な疾患の早期発見・早期治療を目的とした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、昭和 52（1977）年に開始され、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、わが国のスクリーニング事業・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、昨年に引き続き、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、その他の有機酸代謝異常症などに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)ムコ多糖症、(2)有機酸代謝異常症・脂肪酸酸化異常症、(3)ウィルソン病、(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。また、(5)その他のマススクリーニングの必要な疾患についても検討した。

## 研究方法および研究結果

### 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、162,800名の新生児のパイロットスタディを実施し、アミノ酸代謝異常症7例(シトルリン血症4例、PKU2例)、有機酸代謝異常症10例(プロピオン酸血症6例、メチルマロン酸血症2例、グルタル酸尿症I型2例)、尿素サイクル代謝異常症と脂肪酸 $\beta$ -酸化異常症数例づつの発見をした。

### 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) ムコ多糖症

①スクリーニング適期とスクリーニング法について：岐阜県と大阪府で検討した。早期発見・早期治療のために可能な限り新生児に近い時期がよい。今年度は、新生児の血液と尿によるケタラン硫酸、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸およびデルマタン酸硫酸測定をELISA法によって実施するための検討を行った。マ

ススクリーニングへ応用することが可能であることを示唆した。大阪市大グループは、1ヶ月児尿濾紙によるジメチルメチレンブルー (DMB) 呈色反応を実施している。

②パイロットスタディ成績：1ヶ月児尿濾紙法により、約1万5千名のスクリーニングを行っているがまだ患児の発見に至っていない。

#### (2) 有機酸代謝異常症・脂肪酸 $\beta$ -酸化異常症

①スクリーニング法とスクリーニング適期について：新生児濾紙血を用いるTMS法、4～6生日の新生児尿を用いるGC/MS法が実施された。

②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162,800例の新生児濾紙血を用いてTMS法にて、6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)、2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を用いたパイロットスタディを実施している。ハイリスク児の検査であり、GC/MS法では約1人/1,000人の異常を検出している。久留米大の吉田らは、1996年よりの7年間、39,172名の新生児尿を用いてGC/MS法にて、メチルマロン酸血症7例を含む29例の疾患児を発見している。島根医大の山口らは、有機酸代謝異常症のほかにも多くの脂肪酸 $\beta$ -酸化異常症をGC/MS法にて発見した。

#### (3) ウィルソン病

①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昨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、今年までに約8万検体を実施して、3名の患児発見の実績がある。

②Cp測定法の抗体とキットについて：昨年まで抗Cpモノクローナル抗体によるCp測定用キットを提供してきた会社(出光-ニッショー株式会社)が提供停止の方針を打出した。そのため、抗Cpポリクローナル抗体による免疫比濁法やELISA法によりパイロットスタディが実施された。抗体の安定性などの基礎的検討も実施された。

③幼児尿によるパイロットスタディ：北海道、札幌市、秋田市、東京都などで実施された。約2万名のスクリ

ーニングにて今年新しい患児の発見には至らなかったが、いずれの地域においても約 95%以上の受診率であった。

#### (4) 胆道閉鎖症

①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か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か月用と2か月用の2枚を配布し、郵送法（費用自己負担）にて実施した。

②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か月児 42.1%、2か月児 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か月の時点では約 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) 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か月児尿の検討、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。

###### (2) 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。

###### (3) ウィルソン病

昨年度から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、比濁法や ELISA 法測定用の Cp 抗体の作製に着手し使用可能となった。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。本年は、スクリーニング陽性者の確定診断法と治療指針を策定した。

###### (4) 胆道閉鎖症

松井らにより開発された便色調カラーカード法は確実に広がっている。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か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か月児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。

このほかに、他のライソソーム病のスクリーニング法などについて検討した。次年度は、さらに開発を進め、パイロットスタディを精力的に進めていきたい。

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

タンデム質量分析計による新生児マススクリーニングの対象疾患とその有用性の検討

### 研究要旨

平成14年度は福井県・広島県・徳島県・大阪市・関連医療機関でパイロットスタディを継続し、更に宮城県の参加も始まった。スクリーニング累計は162,800新生児に達し、その中から21例（2002年は8例）の患者が発見された。内訳は、有機酸代謝異常症10例、アミノ酸代謝異常症7例（シトリン欠損症4例、PKU2例）、また我が国では稀であると考えられてきた脂肪酸酸化異常症も4例と順調に発見されており、このスクリーニングでの患者発見頻度は1:7800であった。脂肪酸酸化異常症の軽症例では、再検査時に診断指標アシルカルニチンの異常の程度が小さくなっており、診断上注意が必要と考えられた。このスクリーニングによっても、新生児期発症重症例の予後を改善するのは困難であるが、この1年で2例発見されたグルタル酸尿症Ⅰ型やこれまで6例発見されたプロピオン酸血症のように、新生児期発症しない症例については食事療法やカルニチン投与の治療効果がモニターされている。このスクリーニングで初めて発見されたプロピオン酸血症患児（4歳10ヶ月）でも順調な成長発達が見られている。更に多数例での効果判定を踏まえ本スクリーニングの有用性を実証していく予定である。

### 研究協力者

重松陽介（福井医科大学看護学科）  
畑 郁江（福井医科大学小児科）

た。サンプル処理を96穴マイクロプレート・バッチ処理で行うなど、分析方法は既報<sup>1,2)</sup>のものに準じた。

### 研究目的

現行の新生児マススクリーニング対象疾患の3種のアミノ酸代謝異常症に加え、有機酸代謝異常症・脂肪酸酸化異常症・尿素サイクル異常症も対象疾患とするタンデム質量分析計（TMS）での新生児濾紙血スクリーニング・パイロットスタディを実施してきたが、未だこれら対象疾患の頻度の調査が充分でなく、またスクリーニングされた患者の治療や療育についての指針や実績も不足している。

既に本法での検体処理及び測定システムを改良し、大量検体を迅速かつ安価に分析出来るようにし、実施地域を更に拡大してきた。これまでにスクリーニング新生児の累計は162,800に達し、本年度にも新たに8例が発見されたので、我が国での本スクリーニングの対象疾患のスペクトルとその頻度、発見後の診断治療における問題点などを更に検討した。

### 研究方法

パイロットスタディ実施地域は、昨年度までの福井県、広島県、徳島県、大阪市、関連医療機関に、平成14年度後半から宮城県が加わった。文書による同意を得て、現行の新生児スクリーニングで作成された血液濾紙をスクリーニングに用い

### 研究結果と考察

2002年12月末までに約162,800の新生児をスクリーニングし、有機酸代謝異常症として6例のプロピオン酸血症（PA）、2例のメチルマロン酸血症（MMA）、2例のグルタル酸尿症Ⅰ型（GA-I）、アミノ酸代謝異常症として3例のシトリン欠損症（CTRN）、2例のフェニルケトン尿症（PKU）、1例のアルギニノコハク酸尿症（ASA）、脂肪酸酸化異常症として2例の中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症（MCAD）、1例のグルタル酸尿症Ⅱ型（GA-II）、1例の極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症（VLCAD）を診断することが出来た。2002年単年としてはPA1例、GA-I2例、CTRN1例、PKU1例、ASA1例、GA-II1例、VLCAD1例であった。

これまで発見されたPA患者は、プロピオニル CoA カルボキシラーゼの残存活性や遺伝子変異の分析結果からすべて軽症型と判断され、遺伝子頻度としては、おそらく最軽症型と考えられる遺伝子変異 Y435C が最も高頻度である<sup>3)</sup>。2002年に発見されたPA患児も同変異のホモ接合体であったが、既報の診断指標のカットオフ値を用いることで正確にスクリーニング出来、この指標の有用性が支持された。本パイロットスタディで初めて発見されたPA患者は、このY435C変異と重症

型 T428I 変異の複合ヘテロ接合体であるが、低蛋白食とカルニチン服用により、4歳9ヶ月現在、低身長を認めるものの順調な発達が得られている。その他のプロピオン酸血症患者についても、特殊ミルクを用いた低蛋白食とカルニチン投与などの治療が行われ、血中アシルカルニチン濃度と尿中メチルクエン酸排泄量の分析により経過がモニターされているが、これまでのところ全例順調な成長発達が見られている<sup>4)</sup>。

2002年には有機酸代謝異常症として GA-I 患児が2例発見された。共に頭囲拡大と脳 MRI 検査にてシルビウス溝の開大が認められた。スクリーニング指標はグルタリルカルニチン濃度であり、カットオフ値 0.3 nmol/ml に対してそれぞれ 2.2nmol/ml、4.4nmol/ml と正確にスクリーニング出来た。尿中グルタル酸の異常排泄増多により化学診断した。それぞれカルニチン投与と低蛋白食による治療を行い、血中・尿中グルタル酸や尿中グルタル酸排泄量を分析しながら、慎重に経過観察されている。現在のところ髄液中のグルタル酸濃度をモニターすることも重症度や治療効果判定に重要と考えている。

アミノ酸代謝異常症のうち、CTRN 患者は、現行のマススクリーニングでフェニルアラニン高値 (TMS で 6.6mg/dl) より PKU 疑いとされていたが、本パイロットスタディで同時にシトルリン高値が認められることから、適切な診断が早期に得られた。本患児はその後の経過観察中に著しい低蛋白血症と凝固能異常を来し、入院治療が必要であった。本パイロットスタディの意義を示す1例と考えられた。PKU についても、フェニルアラニン値 13.6mg/dl と現行のスクリーニングでの値とほぼ同様の値であり、正確にスクリーニングされた。ASA 患児は、新生児期に高アンモニア血症で急性発症しており、血漿アミノ酸分析でシトルリン高値が認められたことから I 型シトルリン血症が疑われていた。TMS スクリーニングで同時にアルギニノコハク酸濃度の上昇が確認され、ASA の化学診断が得られた。

脂肪酸酸化異常症の内、MCAD ではそのスクリーニング指標として C8 アシルカルニチン濃度を用い、そのカットオフ値を 0.3 nmol/ml としている。我が国で初めて診断された MCAD 症例の次子について濾紙血でスクリーニングしたところ C8 アシルカルニチン濃度は 0.57 nmol/ml であり、本症と考えられた。GA-II 患児の初回濾紙血アシルカルニチンのプロフィールは本症に典型的

であり、カットオフ値の設定にも問題はなかった。VLCAD のスクリーニングには C14:1 アシルカルニチン濃度を指標とし、0.5 nmol/ml をカットオフ値に設定している。発見された VLVD 患児では初回濾紙血で 1.8 nmol/ml と高値であったが、再採血検査時に血清濃度を測定したところ、0.24 nmol/ml に低下していた。無症状時の血清中 C14:1 アシルカルニチン濃度の上限値は 0.2 nmol/ml に設定しているが、確実な診断には酵素活性測定が重要であることを示唆する症例と考えられた。

このように、我が国でも欧米諸国でのスクリーニング同様脂肪酸酸化異常症が発見されてきているが、臨床症状や生化学的異常は必ずしも同じとはいえないようである。このため我が国において発見された患者の診断や治療において、これまでの知見をそのまま当てはめることが出来ない可能性があり、今後更に症例を増やして検討する必要があると考えらるので、次年度にはこのような点も考慮して研究を進めていく予定である。

#### 結論

タンデム質量分析計による新生児マススクリーニングパイロットスタディを継続し、スクリーニング数が増加するに従い、本スクリーニング対象疾患が従来想定されていた以上の頻度で見いだされてきている。多くは軽症型の代謝異常症であり、治療や医学管理は比較的容易と考えられ、その有用性が示されつつある。疾患のスペクトルは欧米とはかなり異なっており、我が国での本スクリーニングの有用性を確立するためにも、また集中測定などのシステム構築を検討するためにも、更に大規模なパイロットスタディに発展させる必要がある。

#### 文献

- 1) 重松陽介, 平野聡子, 畑 郁江, 他: 日本マス・スクリーニング学会雑誌, 2001;11:57.
- 2) Shigematsu Y, Hirano S, Hata I, Tanaka Y, Sudo M, Sakura N, Tajima T, Yamaguchi S. J Chromatogr B 776: 39-48, 2002.
- 3) Yorifuji T, Kawai M, Muroi J, Mamada M, Kurokawa K, Shigematsu Y, Hirano S, Sakura N, Yoshida I, Kuhara T, Endo F, Mitsubuchi H, Nakahata T. Hum Genet 111(2):161-5, 2002.
- 4) 堀川洋子, 西村裕, 小野浩明, 佐倉信夫, 重松陽介: 日児誌, 2003; 107: 70.

分担研究：新規疾患のマスクリーニング

ムコ多糖症の新生児マスクリーニングに関する研究

—特殊抗体を用いた血漿及び尿中ケタラン硫酸、ヘパラン硫酸、  
コンドロイチン硫酸及びデルマトン硫酸の測定

研究要旨

ムコ多糖症の新生児マスクリーニングを行うための基礎的研究として、各種のムコ多糖に対する特殊抗体とこれを応用した測定キットを開発した。いずれの抗体もその特異性は良好であった。患者と健常人で尿、血漿、ろ紙血を検査材料として、キットで各種のムコ多糖を測定した。各種のキットのうち、ケタラン硫酸に対する抗体を用いたキットは、これのみでもムコ多糖症 II, III, IVA 型のスクリーニング検査に使用できる可能性が示唆された。

研究協力者

磯貝光治、下沢伸行、近藤直実（岐阜大学）  
戸松俊治（セントルイス大学）  
加藤 俊、宮浦修一、岡村和夫（生化学工業）  
田中あけみ（大阪市立大学）  
奥山虎之、松尾宣武（国立成育医療センター）  
折居忠夫（中部学院大学）

研究目的

ムコ多糖症はリソソーム分解酵素の欠損もしくは活性低下により、ムコ多糖が体内に蓄積する疾患である。治療法として造血幹細胞移植の他、近い将来の酵素補充療法の開発といった治療法があるものの、いずれにせよ早期発見し、早期に治療を開始することが前提となる。しかし、乳幼児期の本疾患患者の発見は困難で、多くの患者は

症状とくに知的障害や骨変化が出現した後に診断され、その結果治療開始が遅れ、十分な治療効果が得られないできた。我々はこれまで、本研究班において、患者の早期発見を目的とした神経芽細胞腫マスクリーニングの尿を用いたスクリーニングの開発を行ってきたが、さらなる早期発見をするために新生児のろ紙血を用いたマスクリーニングを行う必要があると考え、そ

のための基礎データを検討した。

## 研究方法

我々とセントルイス大学及び生化学工業との共同研究で、ケタラン硫酸、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸に対して特異的に反応する特殊抗体を作成した。この抗体を用いてサンドイッチ ELISA 法を応用して、グルコサミノグリカン(GAG)を測定するキットを作成した。その方法は、マイクロプレートにのせた、anti-GAG antibody にサンプルの GAG が付着する。その付着した GAG に対してピオチンラベルした特殊抗体を反応させた上でアビジンで発色させ吸光度測定する。岐阜大学と大阪市立大学で経過観察中のムコ多糖症患者および健常人の尿と血液を材料として、本キットを用いて検討した。

## 研究結果

ケタラン硫酸、ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸に対して特異的に反応する抗体を用いた検量線を作成し、その有用性を確認した。次に、患者と正常人の尿および血漿を検体として、キットを用いてムコ多糖の測定を行った。患者の内訳は、ムコ多糖症 II 型のハンター病が 16 例、ムコ多糖症 IVA 型のモルキオ病 8 例、ムコ多糖症 III 型のサンフィリップ病が 2 例である。まず、ケタラン硫酸の測定では、血漿でムコ多糖症患者は正常人に比べ、上記の 3 病型については明らかな高値をとった。しかし尿中では明らかな差は認めませ

んでした。ヘパラン硫酸では、血漿でムコ多糖症患者が高値をとる傾向があった。デルマトン硫酸では、ムコ多糖症患者と正常人で差を認めなかった。次に、ろ紙血から抽出した正常人とムコ多糖症患者の血漿を用いての測定結果と、血漿から直接測定した結果を比較した。これらは非常に強い相関を認めた。

## 考察

本研究で使用した特殊抗体とそれを使用したムコ多糖測定キットは、従来の測定法に比べ簡便でその有用性は高いと考える。とくにケタラン硫酸を測定するキットは、それのみでモルキオ病のみでなく、II 型、III 型、IVA 型に対してのスクリーニングに有用であると示唆された。今後はこれら 3 病型以外での有用性の検討が必要である。しかし、今回我々が検討した、尿中、血漿中 GAG は、年齢依存性があり、新生児期は低く、年齢を重ねると増加し、成人期以降は加齢と共に減少していく傾向を示した。これらのことから、ムコ多糖症患者のスクリーニング方法としてのろ紙血から抽出した血漿を、本測定キットを用いたマスキングに應用する際は、年齢による差を考慮すべきである。今後は、正常新生児のろ紙血を用いて正常範囲やカットオフ値を設定しなければならない。

## 結論

ムコ多糖特殊抗体とそれを用いたキットを作成し、新生児期マスキングに



ムコ多糖症を取り入れるための基礎データの収集し、検討中である。特にケラタン硫酸に対する特殊抗体を用いてろ紙血を使用したマススクリーニングはⅡ型、Ⅲ型、ⅣA型に有用である結果を得た。今後は他の型、

Ⅰ型、Ⅵ型、Ⅶ型についても検討する。また各病型の多数例について検討を行い、カットオフ値の作成を行っていく予定である。

分担研究：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

ムコ多糖症のスクリーニングの実施に関する研究

研究要旨

ムコ多糖症 I 型、II 型に対する酵素補充療法の導入が間近いことから、ムコ多糖症の早期治療に向けて、早期発見のためのスクリーニングが重要な問題となってきた。特に、中枢神経に対しては、早期治療に望みが持たれる。我々は、1996 年より、当院及び関連病院にて出生した乳児を対象に尿濾紙を用いてジメチルメチレンブルー呈色反応により、1 か月児についてムコ多糖症スクリーニング検査を行っている。2002 年までの結果は、検査総数 5416、再検査 154 (2.8%)、精密検査（電気泳動法）29 (0.5%) であり、患者はまだ見つかっていない。

他方、骨髄移植の経験を基に、ムコ多糖症の神経障害に対する酵素補充療法の効果について考察した。

研究協力者

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）  
梶田知子（同上）

尿を染み込ませた濾紙を持ってくるようにした。

スクリーニング法：ジメチルメチレンブルー呈色反応にて+2SD 以上のもの（1 次スクリーニング陽性）については、さらに濾紙をコンドロイチナーゼ A/C で消化し、反応を行った（2 次スクリーニング）。消化後も正常値にならなかった乳児には、原尿を提出するよう指示し、精密検査としてウロン酸測定と電気泳動とを行った。

II、ムコ多糖症中枢神経症状の検討及び骨髄移植症例の経過分析

当施設に通院している、あるいはしていた患者について、臨床記録と頭部 MRI 所見をもとに、中枢神経症状について分析した。また、骨髄移植を施行した 8 例について、その効果を検討した。患者の内訳は、死亡例 7 例を含めて、I 型 5 例（H 型 1、S 型 4）、II 型 20 例（重症型 13、軽症型 7）、III 型 6 例（A 型 0、B 型 6）、IV 型 4 例（A 型 4、B 型 0）、VI 型 1 例（重症型 1、軽症型 0）、VII 型 1 例（重症型 0、軽症型 1）で、うち、骨髄移植を行ったのは、II 型重症型 3 例（1 例は生着せず）、II 型軽症型 3 例、IVA 型 1 例、VI

研究目的

1981 年ころより、先天性ムコ多糖症の有効な治療法として骨髄移植が目され、近年急速に普及してきた。さらに、近年酵素補充療法が開発され、I 型、II 型については現実のものとなってきた。これに伴い、症状が顕性化する前に発見するために、スクリーニングが不可欠なものとなってきた。

前年度に引き続いてスクリーニング検査を押し進めると同時に、早期治療の効果について、骨髄移植の自験例をもとに検討した。

研究方法および対象

I、ムコ多糖症スクリーニング

【検体】1 か月児の濾紙尿を用い、ムコ多糖症のスクリーニングを検討した。

【方法】検体収集法：新生児病棟を退院時、スクリーニング検査のパンフレットと検査用濾紙を配布し、検査希望者は 1 ヶ月検診時に

型1例である。

### 研究結果

#### I、ムコ多糖症スクリーニング

表1に、1996年1月から2002年12月までのスクリーニングの結果を示した。検査総数は5416、再検査154(2.8%)、精密検査(電気泳動法)29(0.5%)であり、患者はまだ見つかっていない。

#### II、ムコ多糖症中枢神経症状の検討及び骨髄移植症例の経過分析

中枢神経障害は、ムコ多糖症においては、IH型、II型の重症型、III型のすべての患者で見られる。頭部MRI所見の分析から、ムコ多糖症における中枢神経障害の病態として、(1)神経細胞の直接的障害と、(2)水頭症による2次的神経障害とがあると推察され、IH型では(2)によるものが主であり、II型重症型では(1)と(2)の両方、III型では(2)による障害であると考えられた(図1)。

骨髄移植の効果は臓器によって異なり、巨

舌、粘膜の肥厚、皮膚の肥厚、関節拘縮、肝臓の腫大、心筋の肥厚には効果が認められるが、角膜の混濁、心臓弁の肥厚、聴力障害には効果が少なく、知脳障害、骨の変形にはほとんど効果が見られなかった。

#### 考察

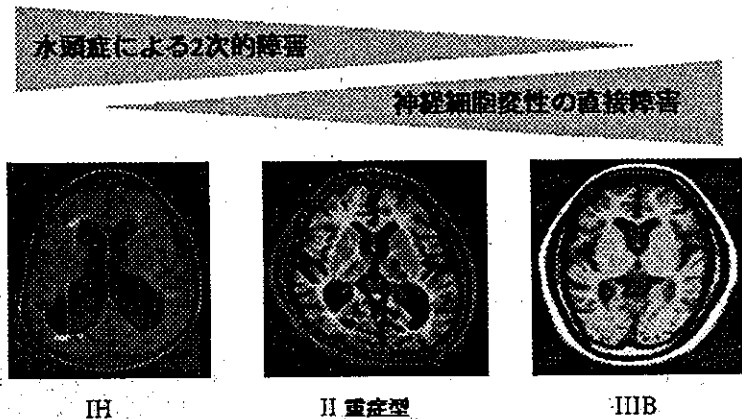
骨髄移植は、脳、骨組織では効果が少ない。脳については血液脳関門の存在、骨については血流に乏しい硬組織であることが効果を制限しているものと考えられた。酵素補充療法の効果は、骨髄移植の効果に準ずるものと推測され、脳への効果を期待するには血液脳関門を通過させる工夫と早期の治療が望まれる。骨に対しては、局所に高濃度に酵素を供給させる工夫が必要であると考えられた。また、中枢神経障害については、(2)による障害は、早期治療により大いに効果が期待できるものと推測された。スクリーニングは、症状が顕性化する以前、生後半年頃までに行うことが必要であると考えられた。

表1

年次	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002
総数	380	950	1,077	1,523	1,805	1,235	1,331
再検査数	10	29	62	59	43	36	50
精密検査数	2	2	2	8	11	3	17

図1

### ムコ多糖症の中枢神経障害



分担研究：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

## GC/MSによるβ酸化異常症スクリーニング法の検討

### 研究要旨

遊離脂肪酸分析は中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症およびグルタル酸尿症 2 型の診断に有用である。われわれは過去 2 年間に行った遊離脂肪酸分析で、MCAD 欠損症 3 例、VLCAD 欠損症 5 例、グルタル酸尿症 2 型 9 例を診断した。この他に遊離脂肪酸増加のみられた症例が 21 例あった。このなかには、非特異的な増加例、まだ確定診断に至っていないがβ酸化異常症の疑われる症例や、上記 3 疾患以外の脂肪酸β酸化異常症も含まれていた。遊離脂肪酸分析はアシルカルニチン分析とならんで脂肪酸β酸化異常症を診断する上で重要な検査であると考えられる。

### 研究協力者

木村正彦	(島根医科大学小児科)
長谷川有紀	(島根医科大学小児科)
山口清次	(島根医科大学小児科)

### 研究目的

脂肪酸β酸化異常症は安定期には無症状のことが多く、発作期にも通常の臨床検査では診断が困難なことが少なくない。近年、世界的にタンデムマススペクトロメトリーによるアシルカルニチン分析法がスクリーニング検査として行われている。しかし見逃し症例もあり得る。脂肪酸β酸化異常症の診断は種々の検査を組み合わせ、確定診断することが望ましい。われわれは GC/MS を用いた簡便な遊離脂肪酸分析法を開発した<sup>1)</sup>。遊離脂肪酸分析を過去 2 年間行った結果から本法の有用性と問題点について検討した。

### 研究方法

2000 年 11 月から 2003 年 1 月までに島根医科大学小児科に脂肪酸β酸化異常症を疑われ依頼された 341 検体 (血液ろ紙 210, 血清 131) の分析結果を検討した。

分析の方法は既報の通りである<sup>1)</sup>。乾燥ろ紙血 (ガスリーろ紙) を直径 3 mm のパンチ小片 5 個 (全血 15μl)、または血清 30 μl を 1.5 ml のマイクロチューブにとり、内部標準として nonanoic acid、tridecanoic acid をそれぞれ 1 nmol 添加し、メタノール 500 μl を加えた。氷上で塩化アセチル 10 μl を加

えて室温で 40 分間攪拌しメチル化した。6%炭酸カリウム 300 μl を加え、反応を停止させた後、ヘキサンを 150 μl 加え溶媒抽出した後、ヘキサンの層を GC/MS 分析した。上記の前処理はマイクロチューブ 1 本で行うことができた。GC/MS 分析は島津 QP5050A で、DB-5 キャピラリーカラムを用いて、イオン化は電子衝撃法 (EI 法) で行った。気化室 275℃、インターフェイス 300℃とし、カラム温度を 45-225℃まで昇温して分析した。選択イオンモードで、octanoic (C8)、decanoic (C10)、4-decenoic (C10:1)、5-tetradecenoic acid (C14:1) を測定した。正常対照では、C8 が 2.3~8.7 μmol/L、C10 が 2.8~7.1 μmol/L、および C10:1 と C14:1 は感度以下であった。今回、C8 は 10.0 μmol/L、C10:1 は 1.0 μmol/L、C14:1 は 0.6 μmol/L をカットオフとして、MCAD 欠損症は C8 と C10:1 の増加、VLCAD 欠損症は C14:1、グルタル酸尿症は C10:1 と C14:1 の増加を診断の指標にした<sup>2)</sup>。

### 結果 (表 1)

2 年間に分析した 341 件の中から、MCAD 欠損症 3 例、VLCAD 欠損症 5 例 (既知 1 例)、グルタル酸尿症 2 型 9 例 (既知 1 例) を遊離脂肪酸分析にて化学診断した。MCAD 欠損症と VLCAD 欠損症は酵素診断でも確定診断した。グルタル酸尿症 2 型 9 例のうち、1 例は ETF-α 欠損症で、7 例は筋力低下を主徴とし筋生検で筋線維内に脂肪浸潤が見られた症例で、いずれもリポフラビンの投与で臨床症状が改善した。残りの 1 例は、遊離脂肪酸分析およびアシルカルニチン分析を複数回行い、グルタル酸尿症 2 型