

厚生労働科学研究費補助金

子ども家庭総合研究事業

わが国の 21 世紀における  
新生児マススクリーニングのあり方に関する研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 山口 清次

平成 17 (2005) 年 3 月

# 目 次

## I. 総括研究報告

- わが国の21世紀における新生児マススクリーニングのあり方に関する研究 ----- 5  
山口清次

## II. 分担研究報告

1. 新しい新生児マススクリーニング体制に関する研究 ----- 13  
山口清次
- 1) 新技術による新生児マススクリーニングで発見されうる疾患に関しての小児慢性  
特定疾患治療研究事業での全国登録状況 ----- 20  
加藤忠明、原田正平、重松陽介、山口清次
- 2) 稀少遺伝性疾患の追跡調査システム構築の検討 ----- 31  
松原洋一、青木継稔、大浦敏博、大原 信、小林圭子、下澤伸行、杉江秀夫、  
山口清次、辻 一郎、奥山虎之
- 3) 有機酸・脂肪酸代謝異常の発症形態 ----- 35  
長谷川有紀、小林弘典、内田由里、高橋あんず、木村正彦、山口清次
- 4) HPLCによる有機酸脂肪酸代謝異常症の酵素診断系の確立 ----- 38  
佐倉伸夫
- 5)  $\beta$ -ケトチオラーゼ欠損症の酵素、蛋白、遺伝子診断に関する研究 ----- 44  
深尾敏幸
- 6) 日本人極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症の臨床的・遺伝的特徴 ----- 46  
長谷川有紀、小林弘典、木村正彦、山口清次、重松陽介、深尾敏幸、大橋裕子、西野一三
- 7) 尿のメタボローム解析による新生児マススクリーニング試験研究 ----- 49  
久原とみ子、大瀬守眞、井上義人、新家敏弘、哲翁正博
- 8) 新生児先天性代謝異常症スクリーニングにおけるGC/MSとMS/MSの相補性 ----- 52  
吉田一郎、猪口隆洋、青木久美子、田代恭子、稲場美佐、文森明代、松本かおり、  
原 千尋、田中正敏
- 9) LC/MSにおけるムコ多糖症マススクリーニング法開発の可能性 ----- 54  
小熊敏弘、折居忠夫
- 10) 新生児ろ紙血液中 $\alpha$ -L-iduronidase 活性測定によるムコ多糖症I型スクリーニングの  
可能性 ----- 57  
花井潤師、田上泰子、野町祥介、水嶋好清、福士 勝、藤田晃三、山口昭弘、  
窪田 満、Nestor A. Chamoles (Argentina)、折居忠夫
- 11) ムコ多糖症のスクリーニングの過去、現在、未来 ----- 61  
折居忠夫、鈴木康之、加藤智美、折居恒治、花井潤師、加藤 俊、宮浦修一、岡村和夫
- 12) ジメチルメチレンブルー呈色反応による尿のムコ多糖症スクリーニング法の反省と  
方法の再検討 ----- 64  
田中あけみ、坂口知子

13) 遺伝子解析によるハンター症候群の保因者診断および発症前診断	66
奥山虎之、折居忠夫	
14) 喘鳴、呼吸不全で発症したグルタル酸尿症2型の1例-タンデムマス質量分析による 新生児スクリーニングの有用性の検討-	68
大浦敏博、廣瀬三重子、坂本 修、飯沼一宇	
15) 脂肪酸代謝異常症の血中カルニチンについて	71
高柳正樹	
16) 有機酸代謝異常症、ミトコンドリア脂肪酸転送・ $\beta$ 酸化障害の発症予防および急性期管理に 関する研究	74
芳野 信、渡辺順子、吉田一郎	
2. タンデムマスによるマススクリーニングの効果に関する研究	79
重松陽介	
1) タンデム質量分析新生児マススクリーニング・パイロットスタディの実績報告	83
重松陽介、畑 郁江	
2) 新生児濾紙血を用いたチロシン血症1型のマススクリーニングの試み	87
畑 郁江、重松陽介	
3) タンデムマスによる新生児スクリーニングの基礎的検討	90
阿部敦子、野町祥介、花井潤師、田上泰子、水嶋好清、福士 勝、藤田晃三、重松陽介	
4) 札幌市におけるタンデムマスによる新生児スクリーニングシステムの構築	98
野町祥介、阿部敦子、花井潤師、本間かおり、田上泰子、水嶋好清、福士 勝、 藤田晃三、遠藤一行、窪田 満、長尾雅悦、館 睦子、服部幸子	
5) タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニング法の検討 -アミノ酸代謝異常を 中心として-	104
鈴木 健、石毛信之、北川照男、大和田操、重松陽介、山口清次	
6) タンデムマスによる全身性カルニチン欠乏症の診断経験	108
木村正彦、小林弘典、長谷川有紀、山口清次、南 弘一、吉川徳茂	
7) タンデムマスにおける血液ろ紙分析の後方視的検討	110
小林弘典、長谷川有紀、木村正彦、山口清次、重松陽介	
8) スクリーニング技術の確立と熊本県でのパイロットスタディ	112
田崎隆二、藤田春雄、武田聖子、木脇弘二、三刈 浩、中村公俊、請園なぎさ、 遠藤文夫、梅橋豊蔵	
3. 現行マススクリーニングの問題解決に関する研究	115
原田正平	
1) スクリーニング検査機関のパフォーマンスモニタリングを継続的に行うための問題点に 関する研究	119
原田正平、加藤忠明、掛江直子、鈴木恵美子、渡辺倫子、成瀬 浩、福士 勝	
2) フェニルケトン尿症をもつこどもの保険加入状況と問題点	122
新宅治夫、松原洋一、平田陽一、原田正平	

3) 新生児マススクリーニング検査施設基準の見直し -----	125
福士 勝、花井潤師、梅橋豊蔵、稲岡一考、河地 豊、鈴木 健、乗安あゆみ、 藤本昭栄、望月孝一、山上祐次、渡辺倫子、原田正平	
4) 新生児マス・スクリーニングで発見された先天性代謝異常症の長期追跡（1） -----	129
大和田操、青木菊麿、木下和子	
5) マススクリーニングで発見された先天性甲状腺機能低下症患者の長期的 QOL の調査 —調査対象と調査方法（年代別 QOL 調査内容）— -----	132
佐々木望、佐藤浩一、中村仲枝、掛江直子、原田正平	
6) 現行マススクリーニング精度管理システムの精度向上の研究 -----	137
スクリーニング外部精度管理のブラインドサンプル導入について 鈴木恵美子、渡辺倫子、成瀬 浩、平原史樹、原田正平、望月孝一	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	141
IV. 付録	
新しい新生児マススクリーニング対象疾患の概要 診療の手引（案） -----	151
重松陽介	



# I . 総括研究報告書

## わが国の21世紀における新生児マススクリーニングのあり方に関する研究

主任研究者 山口清次（島根大学医学部小児科）

### 研究要旨

「新生児マス・スクリーニング」は、1960年代にガスリー法が開発されて以来、母子保健事業の重要な柱の一つとなっている。最近新生児マススクリーニングに新技術（特にタンデムマス）が導入されはじめ世界的に普及しつつある。この新技術の導入の検討、及び現行の事業で生じている諸問題の検討を行ない、新生児スクリーニング体制を整備して、わが国のスクリーニング事業の質的向上と効率化を図ることを目的として本研究を行った。本研究によって以下の結果が得られた。1) 新技術によって発見される可能性のある疾患の患者の追跡調査にあたって倫理的配慮の問題提起、小児慢性特定疾患事業からみた患者の状況、および日本人患者の発症形態と予後調査を行った。この結果、疾患による発症時期、発症形態のちがひ、長期予後が明らかになりつつある。今後マススクリーニングによる早期発見の効果が明らかになると思われる。2) 新たに発見される疾患の酵素測定等による確定診断体制を整備するために、有機酸・脂肪酸代謝異常症の酵素活性評価法の開発、および一部の疾患について日本人の遺伝背景を明らかにした。3) 新技術によるマススクリーニングの導入にあたっては、タンデムマスとGC/MSの長所短所を明らかにして、うまく組み合わせることによって、効率的で精度の優れた診断支援体制が可能になる。また血液ろ紙とLC/MSによるムコ多糖症のスクリーニングの可能性もあることもわかった。4) 新たに発見される有機酸・脂肪酸代謝異常の診療経験の豊富な研究者の協力によって、日常診療の注意点、診断後の治療法の検討が開始された。5) タンデムマスによるパイロットにあたって、分析条件の検討、インフォームドコンセントの統一、啓蒙ポスターの作成、および研究事業への協力機関の連絡体制の整備などを行った。6) わが国では唯一福井大学でパイロットスタディーが行なわれてきたが、これまでに約25万人の新生児が検査され計35例の患者が発見された。平成17年度からは5カ所でパイロット研究が開始できる段階になった。7) 現行マススクリーニングで生じている問題として、スクリーニングで発見され無症状でありながら生命保険加入が拒否されている事例、個人情報保護、追跡調査および精度管理の実態について検討すべき課題があることが明らかにされた。またマススクリーニングの長期的な効果を検証するため、成人になった患者を中心にQOLの調査を行なった。さらに事業の効率化を図るため検査施設基準の見直し、検査施設の拠点化について検討を開始した。現行スクリーニングの中で生じた問題、新技術導入の検討を通じて、効率的に国民福祉に貢献するわが国の21世紀の新生児マス・スクリーニングのあり方について、継続的に研究を進めて行くべきである。

## A. 分担研究者

山口清次（島根大学医学部小児科）

重松陽介（福井大学医学部看護学科）

原田正平（国立成育医療センター研究所）

## B. 研究目的

1960年代にガスリーテストが開発されて、新生児代謝異常マス・スクリーニング（以下新生児スクリーニング）が米国で始まり、わが国でも1977年（昭和52年）から公費補助による新生児スクリーニング事業が始まった。これまで本事業で、ヒスチジン血症を含む13,000人以上の小児が発見され、8,000人以上の小児が障害予防の恩恵を受けてきたといわれている。わが国の新生児スクリーニングの徹底した体制は最高水準にあると世界からも高い評価を得ている。しかし一方で時代の変化とともに本事業には対応すべき諸課題が山積している。すなわち自治体ベースで始まった検査機関も開始当初に比べ少子化が進み非効率性が指摘されはじめたところもあり、また平成13年度より本事業が自治体の単独事業となり検査を落札制度によって予算削減を図るところも出はじめ精度管理などの問題が危惧されている。さらに本事業によって発見された患者の生命保険加入拒否問題のような人権問題もクローズアップされている。また検査技術、治療技術の進歩にともないスクリーニング対象疾患として新たに追加されるよう国民の要望が高い疾患もある。1990年代からタンデムマスという新技術が開発され、2000年頃から世界的に普及しつつある。本研究では、わが国の新生児スクリーニングのレベルを維持しながら質的向上と効率化をはかることを目的として、新技術（特にタンデムマス）導入の検討、スクリーニング体制の見直し、及び現行の事業で生じた諸問題の検討を行ない、我が国の21世紀における新生児スクリーニングのあり方を検討する（図1）。

表1に示すように、3つの課題をそれぞれの

分担研究者が担当して研究協力者の協力を得て研究を進めた。

表1. 研究の構成と分担

1) 新しい新生児マススクリーニング体制に関する研究および研究総括
a) 新技術で発見される自然予後の調査
b) 酵素測定等による確定診断体制の検討
c) GC/MSなどマススクリーニング関連技術の検討
d) 新たに発見される疾患に対する診療指針の作成
2) タンデムマスによるスクリーニングの効果に関する研究
e) タンデムマスの検査体制の検討
f) パイロットスタディー開始
3) 現行マススクリーニングの問題解決に関する研究
g) 現行マススクリーニングで生じている問題の調査
h) 現行マススクリーニングの精度管理の実態調査
i) スクリーニング施設基準案の作成
j) 現行マススクリーニングで発見された患者の長期的QOLの調査

1) 新しい新生児マススクリーニング体制に関する研究および研究総括（分担：山口）：ガスリー法に代わる検査法として普及しつつあるタンデムマス等の導入などによって質的向上と事業の効率化が図れるかを検討する。新技術を導入した場合、新たに発見される可能性のある疾患に対する診断および診療支援体制と救うことのできる疾患の検討を行ない、さらに検査施設の拠点化を含め望ましいスクリーニング体制について提言を行なう。

2) タンデムマスによるスクリーニングの効果に関する研究（分担：重松）：タンデムマスによるパイロットスタディーを行なう。そのためにタンデムマスの検査条件や承諾書の作成

などを統一し、ついでパイロットスタディーを全国数カ所で実施し、最終的に費用対効果など種々の面からガスリー法とタンデムマス法とを比較検討する。

3) 現行マススクリーニングの問題解決に関する研究(分担:原田):現行の新生児スクリーニングで生じた問題を調査し対応を検討する。特に精度管理あり方、検査施設基準の検討、発見された患者のQOL評価と治療法の見直し、人権問題などの検討などを行う。

## C. 研究方法と結果

### 1) 新しい新生児マススクリーニング体制に関する研究および研究総括(分担:山口)

a) 新技術によって発見される可能性のある疾患の自然予後の調査:小児慢性特定疾患事業での追跡調査から13疾患を対象に予後を調査した研究では、まだスクリーニングで発見された患者割合は少ないものの、パイロット研究によって発見された患者は正常発達している割合が多い傾向が見られた。発症した患者の発症形態を中心に調査した研究では、有機酸代謝異常では、49%が新生児期に発症し、脂肪酸代謝異常は13%であった。稀少遺伝性疾患の追跡システムの構築に関する研究では、単なる生命予後をアンケート形式で調査するだけでは不十分で、社会参加を含む長期予後の詳細やライフサイクルを見据えた自然歴を追跡できる全国規模の体制を構築する必要があると結論づけられた。

b) 新たに発見される疾患の酵素測定等による確定診断体制の検討:新技術によるスクリーニングで新たに発見される疾患の確定診断支援体制、診療支援体制が必要である。末梢血液とHPLCで酵素活性評価するための非侵襲的で簡便な方法が開発されつつある。有機酸代謝異常7疾患と脂肪酸代謝異常2疾患の診断法を確立した。この他世界の大部分の症例を日本で解析された $\beta$ ケトチオラーゼ欠損症の分子レ

ベルの検討や、日本人の極長鎖アシル-CoA(VLCAD)脱水素酵素欠損症の臨床および分子レベルの検討が行われた。VLCAD欠損症は日本人で最も多い脂肪酸代謝異常症であるが、欧米人に比べ、日本人は生命予後の良い骨格筋型が多いことがわかった。遺伝子変異はいくつかの特徴のあることがわかった。

c) 新技術によるマススクリーニングの検討:タンデムマスで発見できず、GC/MSでしか診断できない有機酸代謝異常も少なくない。GC/MSによれば発見される患者の総数はタンデムマスのそれよりも5、6倍多いという結果が示された。しかし、費用対効果の他、発見される疾患の症状、予後などもあわせて検討する必要がある。また有機酸血症の中で最も多いメチルマロン酸血症はGC/MSでのみ診断される症例が少なくない。一方、突然死などの危険がある脂肪酸代謝異常の発見にはタンデムマスが有利である。タンデムマス、GC/MSの長所と、短所を明らかにして、効率的なスクリーニング体制を作る必要がある。さらに、ムコ多糖症に関して数年前から骨髄移植や酵素補充療法などの有効な治療法が急速に発展しつつあり、光明がみえはじめている。「血液ろ紙の使用」と「タンデムマスの応用」を中心としたムコ多糖症の新生児スクリーニングについて検討したところ、LC/MSやLC/MS/MSによってムコ多糖(GAG)を定量分析できる可能性の高いことが示された。また新生児血液ろ紙でムコ多糖1型のスクリーニングの可能性が示された。

d) 新たに発見される疾患に対する診療指針の作成:新しいスクリーニングによる効果を高めるためには、スクリーニングで患者が発見されたときわが国のどこにいても一定の適切な診療が受けられる体制が不可欠である。この領域の診療経験の豊富な研究者によって、症例の解析を通じて診療指針作りに着手した。先天性ミオパチーの疑われていた乳児でグルタル酸血症2型と診断された症例の診療経験、有機酸・脂肪酸代謝異常症の血中カルニチン値測定

の有用性が検討された。CPT1 欠損症ではカルニチン値は高値で、筋型 CPT2 欠損症や、VLCAD 欠損症では非発作時には、正常範囲内であることが示された。有機酸・脂肪酸代謝異常の診療経験と文献考察を通じて、治療の基本的な考え方として、早期のブドウ糖輸液、カルニチン投与、蛋白制限、ビタミン投与などの治療選択の注意点が示された。さらに症例を検討して、発症予防の指針、急性期、慢性期の診療指針を作成予定である。

e) 諸外国のタンデムマス導入状況：2004 年 11 月時点で、各国の新生児スクリーニングにかかわっている主な研究者にアンケート調査を行ったところ、すでに事業化されている国は、米国、ドイツ、オーストラリア、台湾、韓国などであった。その他の多くの西欧諸国では、わが国と同様パイロット研究が行われている段階であった

## 2) タンデムマスによるスクリーニングの効果に関する研究 (分担：重松)

福井大学、島根大学、札幌市衛生研究所、東京都予防医学協会、熊本化学及血清療法研究所に設置されているタンデム質量分析計 (MS/MS) を用いて研究が行われた。この研究の当該年度の目的は、以下の 5 項目を主なテーマとして検討した。

(1) タンデム質量分析新生児マススクリーニング事業を、新たに複数の検査機関において拡大実施した場合に派生する技術的問題点を検討する。

(2) 複数のスクリーニング検査機関において精度管理を行い、疑陽性頻度や見逃し例を検討する。

(3) スクリーニング陽性者に対する精密検査システムと発見患者に対する医療支援体制を検討する。

(4) スクリーニング事業の経費について検討し、従来の新生児マススクリーニング事業と比較検討する。

(5) 発見患者の分析により、わが国における対象疾患の頻度や、発見患者に対する新生児期からの早期治療の効果を検討する。

その結果、以下のような結果が得られた。

a) タンデムマスのパイロット研究の準備状況：福井大学以外の 4 施設においては、新しく導入された機器を用いた分析方法の検討が完了し、医療機関から同意の得られた濾紙血が入手できる施設では実際に分析が開始され、患者も発見され始めた。

札幌市衛生研究所では、自施設のタンデム質量分析計による分析法の詳細な検討が行われ、その結果は、同じ機種を使用する東京都予防医学協会と化学及血清療法研究所での分析法の検討に利用された。また、濾紙血中アミノ酸定量値の HPLC 法との比較検討が行われ、良好な相関が示された。

東京都予防医学協会でも濾紙血中アミノ酸定量値の HPLC 法との比較検討などが行われ、同様により相関が示された。

CDC 標準濾紙血を利用した精度管理が各施設で行われ、良好な分析精度が確認された。

島根大学では、対象疾患と既に診断されている患者の濾紙血の分析が行われ、メチルマロン酸血症やイソ吉草酸血症では偽陰性になる症例の存在する可能性から、軽症例でのスクリーニングの問題点が指摘された。

札幌市衛生研究所では、また、タンデムマス・スクリーニング試験研究を現行のマススクリーニングと並行して実施するため、対象疾患を確定した上でインフォームド・コンセントの書式を決定し、治療体制・追跡システムを整備した。更にシステムの改善点として、啓蒙用のパンフレットを別途作成し、検査申込書 (同意書) を複写式として受付システムを二本立てにし、コンサルタント医師との連携を確立した。

化学及血清療法研究所では、治療体制・追跡システムの確立のため熊本大学小児科と提携し、熊本大学の「先端医療支援」としての承認を受けた。更に、産科医・小児科医に対する教

育講演や、地方新聞への紹介記事の掲載などの啓蒙活動が実施された。

b) パイロット研究の結果（福井大学）：1997年から独自にパイロット研究を続けてきた福井大学では、総計約 25 万新生児（直近の 1 年間で約 44,700）の濾紙血を分析し、累計 35 名の対象疾患患児（直近の 1 年間で 9 人）を発見してきた。最近 1 年間で再採血あるいは直接精密検査が必要とされた新生児は 44 人であり、疑陽性率 0.07%、的中率 20%と計算された。

これらの患者に対して早期治療を行った結果、新生児期発症の最重症メチルマロン酸尿症 2 例とカルバミルリン酸合成酵素欠損症患児では生命予後が不良であった。神経学的予後では、新生児期発症のアルギニノコハク酸尿症患児は 2 歳時点で DQ 56 と遅れが見られ、最軽症型のプロピオン酸血症 1 患児は 5 歳時点で言語発達に遅れがみられている。それ以外の症例では良好な発育発達がみられている。特筆すべき経験として、スクリーニングで早期発見されたグルタル酸尿症 I 型の 1 例が、早期治療によって乳児期早期の運動機能の遅れが次第に改善し、2 歳時点で発達が正常化した。

### 3) 現行マススクリーニングの問題解決に関する研究（分担：原田）

現行の新生児スクリーニングで生じている問題（生命保険加入拒否、個人情報保護を理由とした追跡調査への非協力など）の調査、精度管理の実態調査、スクリーニング検査機関（以下、検査機関）の施設基準値の作成、発見された患者の長期的 QOL（生活の質）調査などにより、現行の問題点を明らかにし、その解決方法を探ることを目的として研究を進め以下の結果を得た。

a) スクリーニング検査機関のパフォーマンス：検査機関からは 49 施設中 43 施設（87.8%）から回答があり、平成 15 年度の検査実施総数は 966,327 件（全体の 84.4%）であった。専門医との連携が全くない施設が 14 施設（32.6%）

あった。検査機関のパフォーマンスモニタリングを公開評価することには消極的な傾向がみられた。

b) PKU の子どもの簡易保険に加入問題の実態調査：状況調査には 204 通の有効回答（回答率 60%）があり、加入を試みたことのないと答えた家族は 40、その他の 164 家族のうち 57 家族（28%）は一度以上、加入を拒否されていた。郵便局の学資保険では、加入を試みた 80 家族中最終的に加入できたのは 49 家族（61.3%）であり、病名を告げたのは 10 家族（12.5%）であった。平成 15 年 4 月以後の、条件緩和措置後も加入を試みた 8 家族中 5 家族が加入を拒否されていた。

c) 検査機関の施設基準；平成 13 年度の新生児スクリーニング事業の一般財源化以降は、施設基準を下回る検査機関が生じる恐れが具体的に指摘された。とくに県外の検査機関に丸投げし、県内の精密検査医療機関との連携が無くなっている地域もあり、大きな課題となっている。

d) アミノ酸代謝異常症の長期予後の調査：PKU を含む高フェニルアラニン血症 132 例、メープルシロップ尿症（MSUD）19 例、ホモシスチン尿症（HCU）15 例のアンケート調査を行った。PKU は全例が通常学級に就学し、高校進学 22 名、専門学校 6 名、大学生 11 名で、20 名がすでに就職していた。学業成績良好者が約 40% であった。一方 MSUD では、通常学級就学者は 10 名で、7 名が障害者学級に就学していた。HCU では、通常学級就学は 11 名であった。また、食事療法は大部分で成人後も継続されていた。

e) クレチン症（CH）患者の長期的 QOL 調査：国立成育医療センターの倫理委員会で申請が受理され、約 1,000 箇所 CH 管理医療機関へ一次調査用紙を平成 17 年 3 月中に送付予定である。その調査へ協力可能と回答した主治医宛に、同年 6 月頃に二次調査の予定である。

f) 精度管理の実態調査：50 検査機関に対して行った「ブラインドサンプル」を用いた精度

管理は有効か、という設問に対し、「はい」32施設、「いいえ」1施設、「わからない、他」17施設であった。この17施設中7施設からは、産科などの協力が得られた場合、「ブラインドサンプル」による外部精度管理に賛成との意思表示があった。

## E. 考察と結論

新技術によって発見される疾患の確定診断、診療支援体制の検討、タンデムマスによるパイロットスタディーの準備、および現行スクリーニングにおける問題点を調査した。新技術導入を機に、わが国の新生児スクリーニング体制を見直し、新生児スクリーニング事業を効率化し質的向上をはからなければならない時期に来ている。初年度は、新しい体制作りの基本的枠組みの構築、新技術によるパイロットスタディーの準備、および現行の問題点の調査を主に行なった。この点では初年度の研究目標をほぼ達成した。

しかし現行のマススクリーニング事業の中で、精度管理、検査施設基準、患者追跡体制、プライバシー保護の問題などがクローズアップしていることも明らかとなった。スクリーニングの質改善を保証するシステムがわが国の新生児スクリーニング体制には不可欠である。継続的に新生児スクリーニングの質改善をおこなうマネイジメントサイクルを形成するためには、中央から地域協議会あるいは連絡会議を設置するよう都道府県・指定都市に働きかける体制、検査機関における人材の育成やモニタリングへの積極的協力などの意識の変革が必要である。

次年度は、さらに新技術（特にタンデムマス）によるパイロット研究を拡大し、効果を評価し、新しい対象疾患に対する対応を検討しながら、一方で、これまで続けてきた新生児スクリーニング体制を見直し21世紀にふさわしいスクリーニングのあり方を論じてゆきたい。

図1. 新技術（タンデムマス）導入時に検討すべき支援体制

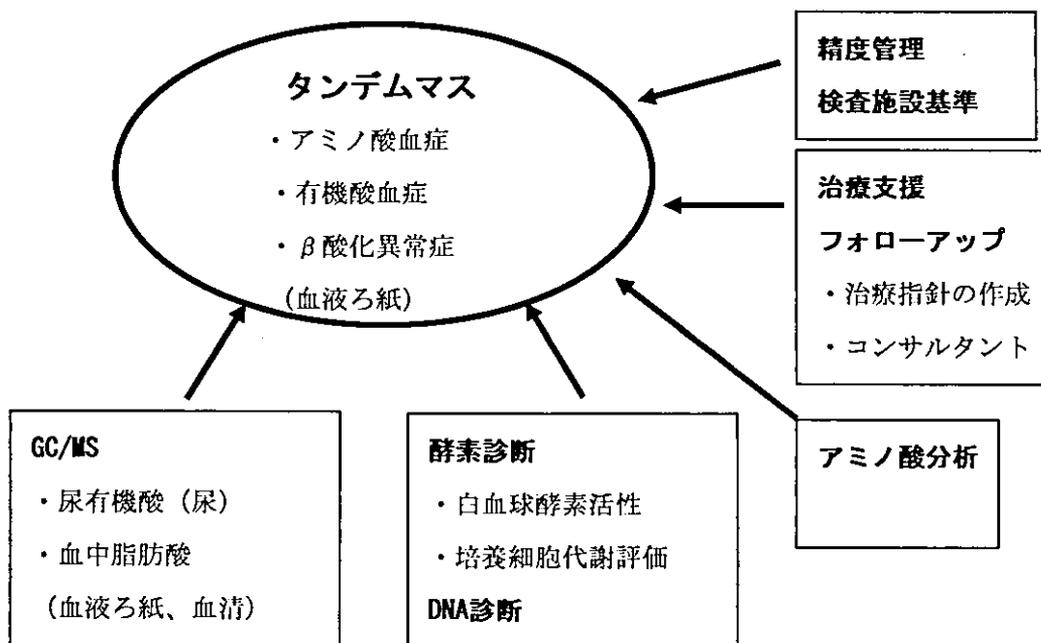
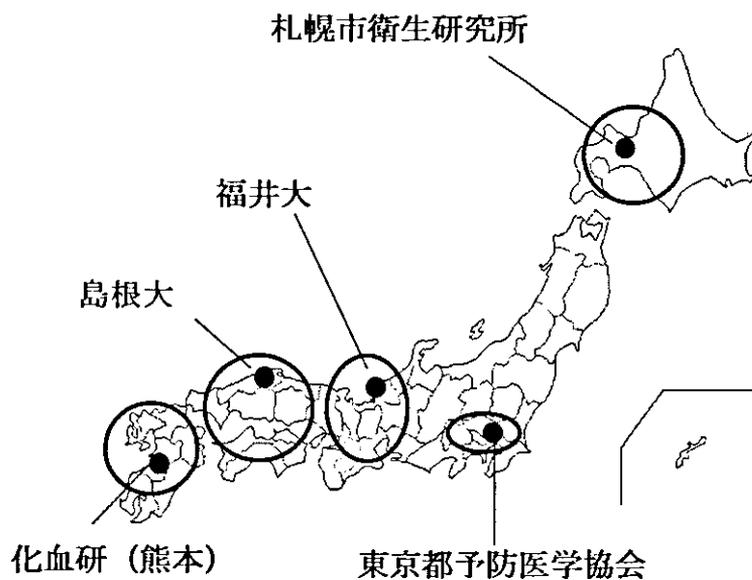


図2. タンデムマスによるパイロット研究機関 (2004年時点)





## Ⅱ. 分担研究報告書

1. 新しい新生児マススクリーニング体制に関する研究

## 分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制に関する研究

分担研究者 山口清次（島根大学医学部小児科）

### 研究要旨

ガスリー法の開発以来、約40年ぶりにタンデムマスという革新的なスクリーニング技術が開発され、新生児マス・スクリーニングが第2世代に入りつつあるといわれている。わが国にタンデムマスを導入するためには、疾患頻度、費用対効果などを検討する必要がある。もしもこの新技術が導入されるならば、それを機にわが国の効率的な新生児マス・スクリーニング体制のあり方について検討しなおす好機でもある。新技術によるスクリーニングの効果を評価するためには対象疾患の自然歴を明らかにしておくことが不可欠である。また新技術導入にともなって確定診断体制、診療支援体制の整備も必要である。本研究では、これらの体制を構築するとともに、GC/MSなど他の方法でスクリーニング可能な疾患についても検討した。有機酸・脂肪酸代謝異常の発症時期については、有機酸代謝異常では発症したもののうち約半数が新生児期で、脂肪酸代謝異常のそれは13%であった。現時点では症例数が少ないもののスクリーニングで発見された症例は発症後に診断された症例に比べ、予後は良い傾向がみられた。タンデムマスとGC/MSの長所と短所をよく理解して効率の良いスクリーニング体制を作る必要も指摘された。ムコ多糖症は最近治療法が開発されつつあり、早期に発見できれば障害から救うことができる。血液ろ紙やタンデムマスでムコ多糖症もスクリーニングできる可能性が示された。新しいスクリーニングによって発見された患者がわが国のどこにいても一定以上の治療を受けることができるよう、この領域の疾患の診療経験の豊富な研究者を中心に、診療支援体制の整備に着手した。

### A. 研究協力者

加藤忠明（国立成育医療センター研究所）  
松原洋一（東北大学大学院遺伝病学）  
長谷川有紀（島根大学小児科）  
佐倉伸夫（広島重症心身障害時施設鈴が峰）  
深尾敏幸（岐阜大学大学院小児病態学）  
吉田一郎（久留米大学医学教育学）  
久原とみ子（金沢医科大学総合医学研究所）  
折居忠夫（中部学院大学）  
大浦敏博（東北大学大学院小児病態学）  
高柳正樹（千葉県こども病院）  
芳野信（久留米大学小児科）  
黒田泰弘（徳島大学副学長）

### B. 研究目的

1990年代から、ESI タンデム型質量分析計（以下タンデムマス）が開発され、2000年頃から欧米先進国を中心に新生児スクリーニングに普及しつつある。わが国にこの新技術を導入すべきかどうか、疾患頻度、費用対効果などを検討しなければならない。同時に、タンデムマスのような新技術はどのような形で導入されるにせよ、新たに発見される疾患について、確定診断、診療支援体制を整備する必要がある。そのためには、これらの疾患の病態や発症機序を分子レベルで明らかにしておく必要もある。また新技術を新生児スクリーニングに導入した場

合の効果を評価するためには、スクリーニングする前の患者の自然歴を調査しておくことは不可欠である。さらに以前は治療不能でも最近新たに治療法が開発されつつある疾患もある。そこで、新技術導入による効率的な新生児スクリーニング体制を検討するために以下のテーマで検討を行った：1) 新技術で発見される自然予後の調査、2) 酵素測定等による確定診断体制の検討、3) GC/MS などマススクリーニング関連技術の検討、4) 新たに発見される疾患に対する診療指針の作成、5) 諸外国のタンドムマス導入状況。

## C. 研究結果と考察

### 1) 新技術によって発見される可能性のある疾患の自然予後の調査

a) 小児慢性特定疾患事業での追跡調査から13疾患を対象に予後を調査した研究では、スクリーニングで発見された患者は、まだ数は少ないものの正常発達している割合が多い傾向が見られた。特にプロピオン酸血症ではスクリーニングで発見された6名の患者はすべて正常に発育していた。一方発症後に発見された37名では正常発達している小児は15例のみであった。

b) 患者の発症形態を中心に調査した研究では、有機酸代謝異常では、49%が新生児期に発症し、脂肪酸代謝異常は13%であった。特に脂肪酸代謝異常では正常に発育している小児が感染などを契機に急性脳症や突然死で発見されることが多いといわれ、新生児期に発見する意義は高いと結論された。

c) 稀少遺伝性疾患の追跡システムの構築に関する研究では、単なる生命予後をアンケート形式で調査するだけでは不十分で、社会参加を含む長期予後の詳細や、成人、妊娠というライフサイクルを見据えた自然歴を追跡できる全国規模の体制を構築することが、先天代謝異常のような稀少疾患の患者の治療法、

QOLの向上には不可欠であると結論づけられた。

### 2) 新たに発見される疾患の酵素測定等による確定診断体制の検討

a) 末梢血液とHPLCで酵素活性評価する方法：この方法は、従来の方法に比べ非侵襲的で簡便である。有機酸代謝異常7疾患と脂肪酸代謝異常2疾患の診断法を確立した。さらに症例と疾患を増やせば、新技術による新生児スクリーニングの診断支援に有用である。

b)  $\beta$ ケトチオラーゼ欠損症の分子レベルの検討：正常に生活しながら間欠的に起こる重篤なケトアシドーシス発作を主徴とするが、安定期には化学診断できないこともある。分子レベルで民族差のあることが示された。本疾患の研究の大部分は、わが国から情報発信されたものである。

c) 日本人の極長鎖アシル-CoA (VLCAD) 脱水素酵素欠損症の臨床および分子レベルの検討：日本人の脂肪酸代謝異常の中では、VLCAD欠損症がもっとも多い疾患であることが明らかになった。VLCAD欠損症は臨床的に3つのタイプに分けられている：すなわち乳児期から発症する「重症型」、乳幼児期から発症する「中間型」、幼児・学童期から発症する「骨格筋型」である。欧米では半数以上が重症型であるのに対し、日本人症例では約9割が骨格筋型（軽症型）であった。臨床像には民族差があるらしい。それは遺伝背景によるものか食習慣など生活習慣によるものかは明らかではない。遺伝子変異は日本人に比較的多い点変異も観察された。

### 3) 新技術によるマススクリーニングの検討

a) GC/MSによる新生児スクリーニングの試み：タンドムマスで発見できず、GC/MSでしか診断できない有機酸代謝異常も少なくない。費用対効果などの問題はあっても、GC/MSによれば発見される患者の頻度はタンドムマスのそれよりも5、6倍多いという結果が示さ

れた。しかし、頻度、症状、予後、費用対効果などもあわせて検討する必要がある。

b) タンデムマスとGC/MSの相補性：有機酸血症の中で最も多いメチルマロン酸血症はGC/MSでないと診断できない症例も少なくない。一方、突然死などの危険がある脂肪酸代謝異常の発見にはタンデムマスが有利である。タンデムマスの新生児スクリーニングの有用性が世界的に認知されつつあるが、タンデムマス、GC/MSそれぞれの長所と短所を明らかにして、精度の高い診断体制を作る必要がある。

c) ムコ多糖症のマス・スクリーニングの基礎的検討：ムコ多糖症は発達遅滞、骨格異常をきたすなど悲惨な疾患であり、治療は困難であった。しかし数年前から骨髄移植や酵素補充療法などの有効な治療法が急速に発展しつつある。本研究の趣旨から「血液ろ紙の使用」と「タンデムマスの応用」を中心としたムコ多糖症の新生児スクリーニングについて検討した。LC/MSやLC/MS/MSによってムコ多糖(GAG)を定量分析できる可能性の高いこと、また新生児血液ろ紙でムコ多糖1型のスクリーニングができる可能性が示された。尿中ムコ多糖測定によるスクリーニング法も確立されており、これらの組み合わせによって効率的なスクリーニングが実現する可能性があることがわかった。またムコ多糖症2型の遺伝子診断を偽遺伝子と区別して行なう方法によって7家系の遺伝子変異を明らかにし、遺伝カウンセリングへの有用性を示した。

#### 4) 新たに発見される疾患に対する診療指針の作成

新しいスクリーニングによる効果を高めるためには、新技術によって新しい疾患が発見されたとき、わが国のどこにいても一定レベルの適切な診療が受けられる体制が不可欠で

ある。この領域の疾患の診療経験が豊富な研究者によって、症例の解析を通じて、診療指針作りに着手した。

a) グルタル酸血症2型の診療の経験：喘鳴と特異顔貌を示し先天性ミオパチーの疑われていた乳児で、グルタル酸血症2型と診断された症例の検討を通じて、タンデムマスによる新生児スクリーニングの重要性が示された。

b) 血中カルニチン測定の意義：タンデムマスによるアシル基のプロフィールでなく、血中カルニチン値を測定してその有用性を検討した。CPT1欠損症ではカルニチン値は高値で、筋型CPT2欠損症や、VLCAD欠損症では非発作時には、正常範囲内であることが示された。今後の治療指針に参考になるデータである。

c) 有機酸・脂肪酸代謝異常の一般的対応について：診療経験と文献考察を通じて、有機酸・脂肪酸代謝異常に対する治療の基本的な考え方が提案された。早期のブドウ糖輸液、カルニチン投与、蛋白制限、ビタミン投与などの治療選択における注意点が示された。さらに症例を検討して、発症予防の指針、急性期、慢性期の診療指針を作成予定である。

#### 5) 諸外国のタンデムマス導入状況

2004年11月時点で、各国の新生児スクリーニングにかかわっている主な研究者にアンケート調査を行った結果を表1に示す。すでに事業化されている国は、米国、ドイツ、オーストラリア、台湾、韓国などであった。その他の多くの西欧諸国では、わが国と同様パイロット研究が行われている段階であった。主要な先進国の中ではフランス、スペインはパイロット研究の前の段階であった。この他にアルゼンチン、サウジアラビア、ニュージーランドなどのように部分的に導入されているらしいが(私信)、今回は詳細に調査できなかった。

表1. 各国のタンデムマス導入状況 (2004年11月時点のアンケート調査)

国	事業化 (○) パイロット (△)	開始年	全出生の カバー率	実施 地域	その他 (検査機関の数、出生 数など)
米国	○	(1992)	41%	39州	メジャ-6施設+10~15州
(ミネソタ)	○	1997	100%		出生7.1万
カナダ	△	(2002)	少数	3州	主要な州はまだ行なわれず
イギリス	△	(2004)	50%		全出生60万人
フランス	—	—	—		数機関で検討中
ドイツ	○	1999	100%		約10機関
イタリア	△	(2001)	40%		3機関
オランダ	△	(2003)	100%		1機関+数機関
スペイン	—	—	—		1機関で検討中
オーストラリア	○	1998	95%		5機関
韓国	○	2002	40%		6機関
台湾	○	2001	80%		3機関
日本	△	(1997)	4%		1機関 (福井大学のみ)

(カッコ付き年号) : パイロット研究の開始時期。— : パイロット研究もまだ始まってない。

#### D. 結論

1) 達成度 : 初年度は、新技術導入によって新たに発見される疾患の自然歴の調査、確定診断、診療支援の体制のための基本的枠組み作りを目標として研究を行った。この点では予定をほぼ達成した。

2) 研究成果の学術的・社会的意義 : 小児期の障害予防におけるマス・スクリーニング事業の意義は世界的に認知されている。もしも新技術が導入されるならば、現行のスクリーニング体制の問題点を見直し、事業の効率化、質的向上をはかる好機でもある。

3) 今後の展望 : わが国で新生児スクリーニングが昭和52年に開始されて約28年が経過したが、この間少子化も進み、またスクリーニング体制を見直す時期にきている。新技術の導入を検討すると同時に、患者の追跡、精度管理体制、検査施設の再編なども含めた検討が必要と

なると思われる。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yuko Ohashi, Yuki Hasegawa, Kumiko Murayama, Megumu Ogawa, Tomonobu Hasegawa, Motoharu Kawai, Naohiro Sakata, Kunihiro Yoshida, Hiroshi Yarita, Kunihiro Imai, Isao Kumagai, Kazuharu Murakami, Hitomi Hasegawa, Satoru Noguchi, Ikuya Nonaka, Seiji Yamaguchi, Ichizo Nishino: A new diagnostic test for VLCAD deficiency using immunohistochemistry. *Neurology* 62: 2209-2213, 2004

2) Fujiwaki T, Yamaguchi S, Tasaka M, Takayanagi M, Isobe M, Taketomi T: Evaluation of sphingolipids in vitreous bodies from a patient with Gaucher disease, using delayed extraction matrix-assisted

- laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 806: 47-51, 2004
- 3) Yang X, Sakamoto O, Matsubara Y, Kure S, Suzuki Y, Aoki Y, Yamaguchi S, Takahashi Y, Nishikubo T, Kawaguchi C, Yoshioka A, Kimura T, Hayasaka K, Kohno Y, Iinuma K, Ohura T: Mutation spectrum of the *PCCA* and *PCCB* genes in Japanese patients with propionic acidemia. *Molecular Genetics and Metabolism* 81: 335-342, 2004
- 4) Tomatsu S, Okamura K, Taketani T, Orii KO, Nishioka T, Gutierrez MA, Velez-Castrillon S, Fachel AA, Grubb JH, Cooper A, Thornley M, Wraith E, Barrera LA, Giugliani R, Schwartz IV, Frenking GS, Beck M, Kircher SG, Paschke E, Yamaguchi S, Ullrich K, Isogai K, Suzuki Y, Orii T, Kondo N, Creer M, Noguchi A. Development and testing of new screening method for keratan sulfate in mucopolysaccharidosis IVA. *Pediatr Res.* 55:592-597, 2004.
- 5) Tomatsu S, Nishioka T, Montano AM, Gutierrez MA, Serrato OP, Orii KO, Sly WS, Yamaguchi S, Orii T, Paschke E, Kircher SG, Noguchi A. Mucopolysaccharidosis IVA: Identification of Mutations and Methylation Study in GALNS Gene. *J Med Genet.* 41(7):e98, 2004
- 6) Tomatsu S, Orii KO, Bi Y, Gutierrez MA, Nishioka T, Yamaguchi S, Kondo N, Orii T, Noguchi A, Sly WS: General Implications for CpG Hot Spot Mutations: Methylation Patterns of the Human Iduronate-2-Sulfatase Gene Locus. *Hum Mutat* 23(6):590-598, 2004
- 7) Tomatsu S, Filocamo M, Orii KO, Sly WS, Gutierrez MA, Nishioka T, Serrato OP, Di Natale P, Montano AM, Yamaguchi S, Kondo N, Orii T, Noguchi A. Mucopolysaccharidosis IVA (Morquio A): identification of novel common mutations in the N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase (GALNS) gene in Italian patients. *Hum Mutat* 24(2):187-188, 2004
- 8) Tomatsu S, Dieter T, Schwartz IV, Sarmient P, Giugliani R, Barrera LA, Guelbert N, Kremer R, Repetto GM, Gutierrez MA, Nishioka T, Serrato OP, Montano AM, Yamaguchi S, Noguchi A. Identification of a common mutation in mucopolysaccharidosis IVA: correlation among genotype, phenotype, and keratan sulfate. *J Hum Genet* (in press).
- 9) Seiji Yamaguchi: Clinical onset and prognosis of Japanese Children with mitochondrial b-oxidation disorders: Significance of newborn mass screening. *J of Korean Society of Inherited Metabolic Disease*, 4 (1): 61-63, 2004.
- 10) Yang YL, Kimura M, Yuan Y, Qian N, Liu XP, Zhang YH, Bao XH, Wu Y, Sun F, Song JQ, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Qin J, Wu XR: Clinical and biochemical diagnostic and therapeutic survey of seven patients with lipid storage myopathy due to glutaric academia type II. *Chinese J Neurol*, 37 (5): 438-441, 2004. (in Chinese)
- 11) Daisuke Hori, Yuki Hasegawa, Masahiko Kimura, Yanling Yang, Iswar C. Verma, Seiji Yamaguchi: Clinical onset and prognosis of Asian children with organic acidemias, as detected by analysis of urinary organic acids using GC/MS, instead of mass screening. *Brain & Development* 27: 39-45, 2005
- 12) Kaneoka H, Uesugi N, Moriguchi A, Hirose S, Takayanagi M, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Yasuno T, Sasatomi Y, Saito T: Cartitine palmitoyltransferase II deficiency due to a novel gene variant in a patient with rhabdomyolysis and ARF. *Am J Kidney Dis* 45 (3): 596-602, 2005.