

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

## 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 関して小児慢性特定疾患治療研究事業を利活用した実態調査

### 研究要旨

タンデム質量分析計による「新しい新生児マススクリーニング」対象疾患のうち、小児慢性特定疾患治療研究事業で対象となっている 9 疾患に関して、現段階での実態を把握する目的で質問紙調査を行った。平成 14、15 年度当該事業に関して、厚生労働省に平成 17 年 6 月中旬までに電子データによる事業報告があった「先天性代謝異常」医療意見書の中で、9 疾患の内容を分析した。今後、新技術が全国的に普及した場合にその有効性を検証するため、普及前の患児がどのような経過をとっていたか、現在の当該事業での登録状況をまとめた。今後、新技術の普及によって、その有効性が明らかになることが期待される。ただし、そのためには新技術によって発見される症例に対する適切な治療方針（または経過観察の方針）の確立が必要である。

#### 見出し語：

新生児マススクリーニング、タンデムマス、先天性代謝異常、メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症

### 研究協力者

榎村 智美 国立成育医療センター研究所  
成育政策科学研究部流動研究員

加藤 忠明 国立成育医療センター研究所  
成育政策科学研究部長

### 分担研究者

原田 正平 国立成育医療センター研究所  
成育医療政策科学研究室長

重松 陽介 福井大学医学部看護学科教授

### 主任研究者

山口 清次 島根大学医学部小児科教授

### B. 対象

平成 14、15 年度小慢事業に関して、実施主体である都道府県・指定都市・中核市から厚生労働省に、平成 17 年 6 月中旬までにコンピュータソフト（電子データ）により、延べ 690,811 人分の事業報告があった<sup>1)</sup>。そのうち「新しい新生児マススクリーニング対象疾患の手引き」<sup>2)</sup>に記載している先天性代謝異常 9 疾患（アミノ酸代謝異常：高チロジン血症、シトルリン血症、アルギニノコハク酸尿症、高アルギニン血症、有機酸代謝異常：メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、イソ吉草酸血症、グルタル酸尿症、 $\beta$ 酸化異常症：カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症）に関して、平成 14 または 15 年度小慢事業に 1 度でも登録され、かつ医療意見書を提出した医療機関名が電子データとして厚生労働省に報告された患児 164 例の経過を調査した。

### C. 方法

対象患児 164 例それぞれが治療を行っている医療機関宛に調査用紙を発送し、各患児の担当医または先天性代謝異常の専門医に記入して返送してもらった。調査項目は、現在の診断名、身体発育、精神運動発達、マススクリーニングでの発見（以下、MS）の有無、

### A. 研究目的

タンデム質量分析計による「新しい新生児マススクリーニング」対象疾患のうち、小児慢性特定疾患治療研究事業（以下、小慢事業）で対象となっている 9 疾患に関して、医療意見書の内容を確認し、現段階での実態を把握する目的で質問紙調査を行った。

新技術の有効性を検証するためには、導入する前に患児がどのような経過をとっていたかを明らかにしておく必要がある。そこで、これまでに診断された患者の発病時期や予後を調査した。

具体的臨床データ、日常生活・就学状況、治療・経過である。厚生労働省の研究班では、小慢事業からの資料を研究に使用することに対する同意を患児から得ているが、各医療機関から患児の情報を研究班へ提供することについては、各医療機関の裁量によっている。質問紙調査に対する回答から医療意見書記載事項を確認し、患児の経過について集計・解析した。

#### D. 結果

平成 14 または 15 年度に 1 度でも小慢事業へ登録された患児は 259 例であった。そのうち、医療意見書を提出した医療機関名が電子データとして厚生労働省に報告された患児 164 例 (63.3%) へ調査表を発送した。そのうち、62 例から返送され (回収率 37.8%)、このうち有効回答は 59 例であり、5 例が死亡していた。調査票と集計結果を表に示す。MS で発見された患児は有効回答 59 例中 16 例 (27.1%) であった。診断の誤っていた症例が 2 例いたが、両者とも MS で発見された症例ではなかった。検査結果の一致しない症例はなかった。経過の不安定な症例では、採血結果の値が上昇しているものもいた。具体的には以下のようであった。

##### 1, 高チロジン血症 (小慢事業による ICD10 : E70.2B、以下同様)

登録者 31 例のうち、医療機関の判明した 23 例へ発送し、有効回答は 4 例 (回収率 18.2%) のみ、進行性家族性胆汁うっ滞性肝硬変 (17 年度以降は小慢対象疾患) による二次性高チロジン血症、高チロジン血症 II 型、分類不能型高チロジン血症、及び高チロジン血症に誤って登録していたと思われるシトルリン血症 II 型、であった。高チロジン血症 I 型の報告はなかった。4 例とも MS で発見された症例ではなかった。登録地はそれぞれ熊本市、福山市、大阪府 (2 例) であった。

4 例とも生後 0-3 ヶ月の間に発症していた。4 例とも肝腫・眼科的異常等の症状を有していた。日常生活に支障なしが 2 例、軽度支障のあるものが 1 例であった。シトルリン血症 II 型の 4 歳 6 ヶ月の 1 例は、4 ヶ月時に誤って高

チロジン血症と診断され登録されていた症例であったが、最終登録年齢は 7 カ月であった。

##### 2, シトルリン血症 (E72.2D)

登録者 55 例のうち、38 例へ発送し、有効回答は 14 例であった (回収率 46.7%)。

5 例がシトルリン血症 I 型 (アルギニノコハク酸合成酵素欠損症) で、このうち MS で発見とされていた 3 例では、生後 0 か月時に発見されて 1 歳 10 か月時に死亡した奈良市の症例、1 歳時に発見された奈良市の 13 歳児、及び 1 ヶ月時に発見された東京都の 6 歳児であった。前 2 者の血中シトルリン濃度は、それぞれ 3350nmol/ml (0 歳 0 ヶ月時)、2228nmol/ml (12 歳 9 ヶ月時) であった。前者は、日齢 2 日にチアノーゼ、心停止が出現し、血中アミノ酸分析または尿中有機酸分析で診断され、遺伝子解析により確定診断された症例、後者は、偶然メチオニン値が高くて一般的な新生児マススクリーニングから精密検査の実施に至ったが、本来のスクリーニング対象疾患であるホモシスチン尿症ではなかった (精検時にはメチオニンが正常化していたが、シトルリン高値を見落としたり) 症例であった。東京都の 6 歳児は、従来の MS にてガラクトース高値であったが、シトルリン高値を見落としたり、3 歳 5 ヶ月に診断された。血中シトルリン濃度が 33.6nmol/ml (6 歳 3 ヶ月時) であり安定していた。

8 例がシトルリン血症 II 型 (シトルリン欠損症) であり、このうち 4 例 (大阪府 3 例、宮城県 1 例) が MS 等にて生後 0-1 か月時に発見されていた。新生児 MS でフェニルアラニン高値のために発見との記載例もあった。シトルリン血症 II 型との記載は多かったが、発症はすべて新生児期から乳児期早期であった。

広島県の 3 歳児はアルギニノコハク酸尿症であり、シトルリン血症と誤って登録されていたが、0 歳時の初回のみ登録であった。MS で発見された症例ではなく自然発見例であった。身体発育、精神運動発達障害があった。最近の血中シトルリン濃度が 310.3nmol/ml と高値で病状は不安定であり、肝移植予定であった。

##### 3, アルギニノコハク酸尿症 (E72.2B)

登録者 11 例のうち、4 例へ発送し、有効回答は大阪府と宮城県の 2 例であった（回収率 50.0%）。両者ともタンデムマスで発見された症例ではなかった。前者は、尿素サイクル新生児スクリーニングのパイロットスタディにより、1987 年に生後 1 か月時に発見されたヘテロで、調査時には 18 歳となり、ほぼ普通に成長していた。尿中有機酸分析、酵素活性測定にて診断されていた。後者は、スクリーニング以外で生後 1 か月時に発見された 17 歳児であり、酵素活性測定、遺伝子解析を行って診断され、 $-2SD$  以下の身体発育不全、 $IQ$  20 以下の知的障害を伴っていた。肝腫・痙攣を有し、日常生活は介助が必要で、養護学校に通っていた。

#### 4. 高アルギニン血症 (E72. 2A)

登録者 4 例のうち、2 例発送し、有効回答は 0 例であった。

#### 5. メチルマロン酸血症 (E71. 1H)

登録者 80 例のうち、48 例へ発送し、回収されたのは 22 通（回収率 45.8%）、有効回答は 20 例であった。2 例は同一患児でありながら受給者番号が異なる医療意見書を 2 通ずつ提出していた。全例メチルマロン酸血症とされ、小慢事業での登録疾患名と一致していた。MS 等で発見された者は 4 例（大分県 1 人、宮崎県 1 人、鹿児島県 2 人）、MS 等で発見されなかった者が 16 例であった。

MS 等で発見された大分県の 1 例が 2001 年 8 月にタンデム MS で発見されていた。この症例は、産科が独自に行っていたガスクロマトグラフィーにて生後 0 か月時に発見されたが、2 歳 9 か月で死亡した。また、鹿児島県の 2 例は、第 2 子に症状（精神運動発達の多少の遅れ）がありメチルマロン酸血症と診断されたため、1992 年 10 月に発症前に発見された第 1 子（15 歳）と第 3 子（10 歳）であり、ほぼ普通に成長していた。宮崎県の 1 例も普通に成長しており、日常生活にも問題なく順調に経過していた。4 例ともプロピオニルカルニチンのアセチルカルニチンに対する比 ( $C3/C2$ ) は測定されていなかった。

MS 等で発見されていない 16 例（広島県 2 人、和歌山県/福岡県/岐阜県/栃木県/山口県/鹿児

島県/宮城県/大阪府/札幌市/倉敷市/神戸市/広島市/福山市/大阪市:1 人)のうち、2 例に身体発育障害があり、3 例に精神運動発達障害があり、6 例が身の回りのことを行うのに介助が必要で、3 例が移動するのに介助が必要で、2 例がたまに痙攣を有していた。通学については、8 例が通常学級、1 例が障害児学級に通っており、6 例が就学前、1 例が就職済であった。経過については、13 例が進行していないまたは安定してたが、3 例が進行していた。14 例が 1 歳未満で診断され、1 例が 2 歳、1 例が 3 歳で診断されていた。15 例が尿中有機酸分析を行い、9 例が酵素活性測定を行い、8 例が遺伝子解析を行い確定診断されていた。札幌市の 1 例のみ、プロピオニルカルニチンのアセチルカルニチンに対する比 ( $C3/C2$ )= $1.34 (>0.25)$  (4 ヶ月時)であり、診断の正しいことが確認されていた。

#### 6. プロピオン酸血症 (E71. 1F)

登録者 31 例のうち、17 例へ発送し、回収されたのは 9 通（回収率 52.9%）、有効回答は 8 例であった。1 例は同一患児でありながら受給者番号が異なる医療意見書を 2 通提出していた。全例プロピオン酸血症とされ、小慢事業での登録疾患名と一致していた。MS 等で発見されていたのは福山市の詳細不明の 1 例と、広島市、福山市、大阪府の 3 例であり、後者はそれぞれ 2001 年 4 月、2000 年 1 月、2000 年 9 月にタンデム MS で発見されていた。

福山市の 1 例はほぼ普通に成長していた。タンデム MS で発見された 3 例は、皆 1 ヶ月時に診断され、プロピオニルカルニチンのアセチルカルニチンに対する比 ( $C3/C2$ ) も 0.38, 0.52, 0.30 ( $>0.25$ ) と高値であった。尿中有機酸分析、酵素活性測定、遺伝子解析とも行い確定診断されていた。福山市の 1 例は、身体発育障害、精神運動発達障害があり、身の周りのことをするのに介助が必要であったが、他の 2 例は普通に発達していた。

4 例（山口県 2 人、福岡市 1 人、鹿児島市 1 人）が MS で発見されていなかった。鹿児島市の 1 例は、けれど発症し 2 歳で診断されたが、ほぼ普通に成長していた。血中グリシン濃度は  $249\text{nmol/ml}$  と高値であった。福岡市の 1 例は血中グリシン濃度は  $687.7\text{nmol/ml}$  と

高値で、身体発育障害、精神運動発達障害があり、障害児学級に通っていた。山口県の1例は身体発育、精神運動発達に障害があり、身の回りのことを行うのに介助が必要で、障害児学級に通っていた。山口県のもう1例は、急性増悪時に肺炎を合併して死亡していた。

### 7, イソ吉草酸血症 (E71.1A)

登録者8例中、5例へ発送し、有効回答は大阪市の2例であった(回収率40.0%)。2例ともMS等で診断された症例ではなかった。2例ともイソ吉草酸血症とされ、小慢事業での登録疾患名と一致していた。ともにほぼ普通に成長していた。1人は出生時に診断され詳細は不明であった。もう1人は羊水診断にて診断され、8歳6ヶ月時にイソバレリルカルニチン値:23.8nmol/ml(>2.0)と高値で、その後尿中有機酸分析、酵素活性測定にて確定診断されていた。

### 8, グルタル酸尿症 (E72.3A)

登録者23例中、15例へ発送し、有効回答は6例であった(回収率40.0%)。6例ともMS等で発見された症例ではなかった。グルタル酸尿症I型が1例(広島市)、グルタル酸尿症II型が3例(福岡県、愛知県、宮城県それぞれ1人)、死亡が2例(長崎県2人)であった。1例は、短鎖アシル CoA脱水素酵素欠損症(17年度以降は小慢対象疾患)の疑いのまま死亡、他の1例は、急性呼吸不全・肺炎により搬送先の病院で死亡していた。

グルタル酸尿症I型の1例は、1歳11ヶ月に発症し、6歳3ヶ月に診断されていた。普通に成長しており、たまに痙攣を有していたが、経過は順調であった。

グルタル酸尿症II型の3例は、それぞれ1ヶ月、2ヶ月、1歳に診断されていた。愛知県と宮城県の2例は普通に成長していた。福岡県の1例は1ヶ月時に診断されたが、身体発育障害、精神運動発達障害があり、痙攣が頻繁におこり、身の回りのことを行ったり移動するのに介助が必要であった。C10-アシルカルニチンの値12.4nmol/ml(>0.4)と上昇しており診断の正しいことが確認されていた。

### 9, カルニチンパルミトイルトランスフェラ

### ーゼ欠損症 (E71.3C)

登録者16例のうち、12例へ発送し、有効回答は3例であった(回収率25.0%)。3例ともにII型であった。福岡県の症例のみMSで発見されていた。千葉県、佐賀県の2例はMS以外で発見された症例であった。

福岡県の症例は、生後8か月頃、Reye症候群様のエピソードで発症し、酵素活性測定にて診断されていたが、詳細不明であった。千葉市、佐賀県の2例は、それぞれ5歳、15歳で診断され、普通に成長していた。千葉市の1例は濾紙血中C16-アシルカルニチン、C18-アシルカルニチンの値が上昇していた。

### C. 考察

今後、新技術が全国的に普及した場合にその有効性を検証するため、普及前の患児がどのような経過をとっていたか、現在の当該事業での登録状況をまとめた。

平成14または15年度、小慢事業に1度でも登録された患児(259例)のうち、医療機関名の報告のあった患児は164例(63.3%)であった。そのうち、62例から返送された(回収率37.8%)。各疾患の回収率は、18~50%程度と低かった。回収率が低かった理由として、平成17年4月から施行されている個人情報保護法からの影響の可能性を否定できない。厚生労働省の研究班では、小慢事業の資料を研究に使用することに対する同意を患児から得ている。しかし、各医療機関から研究班に患児の情報を提供して良いかどうかは、各医療機関の裁量によるため、医療機関名の記入や回収率が低かった可能性が考えられる。また、特に高チロジン血症の回収率が低かった理由として、診断名が変更されていたことも考えられる。また、転院しても転院先が分かっている場合は追跡できたが、転院先不明で追跡できなかった症例がある可能性も考えられる。

小慢事業で、アルギニノコハク酸尿症、メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、イソ吉草酸血症、及びカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症として登録された症例に関しては、二次調査によって疾患名の変更はなかった。また、医療意見書の電子デー

タの他の内容に関しても入力ミスは少なかった。しかし、高チロジン血症、シトルリン血症、及びグルタル酸尿症として登録された症例は、別の疾患名に変更されていた場合も存在した。変更された疾患名は、小慢事業で16年度まで対象外、17年度以降は対象になったものもあり、その場合、今後は正しい疾患名で登録されることが期待される。

今回回収されたものの中で、診断の誤っていた症例が2例、診断のつかないうちに死亡した症例が2例いたが、全てMSで発見された症例ではなかった。診断の誤っていたものは、診断のつかない疑いの段階で申請され、他の疾患に確定診断されてもそのまま申請を続けていた例と考えられる。

高チロジン血症については、小慢事業では今まで高チロジン血症を型別に分類していなかったため、比較的軽症のⅡ型、Ⅲ型、または新生児一過性チロジン血症、そして肝機能障害に基づく二次性のチロジン代謝障害がスクリーニングされ、経過観察されていた可能性が考えられる。小慢事業で高チロジン血症として登録される症例は、二次性のチロジン代謝異常、またはⅡ型、Ⅲ型である可能性が高い。17年度以降は、Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅲ型を区別して登録しているので、その結果が待たれる。

またシトルリン血症Ⅱ型は、本来、思春期以降に精神神経症状、高シトルリン血症、高アンモニア血症で発症したものを指す。しかし、小慢事業ではシトルリン欠損症が対象外となっており、シトルリン血症として登録されている症例の中で、シトルリン欠損症をシトルリン血症（Ⅱ型）として登録されている者が多数いる可能性が高い。今後、Ⅰ型とⅡ型を区別する必要があると考えられる。

また、グルタル酸尿症も17年度からはⅠ型、Ⅱ型を区別して登録するので、その結果が待たれる。

MSで発見された患児は有効回答59例中16例（27.1%）であった。高チロジン血症、アルギニノコハク酸尿症、イソ吉草酸血症、グルタル酸尿症では、MS発見例はいなかった。症例数が少ないため、はっきりとした傾向は

分からなかったが、MSで発見された症例はMS以外で発見された症例と比較し、年齢が低く、経過の安定している患児が多かった。早期発見、早期治療のためと考えられる。具体的には、成長障害、精神運動障害、肝腫・眼科的異常・けいれん、日常生活支障がなく、経過が安定している患児は、MS症例で16例中8例（50%；不明1例）、MS以外の症例では43例中14例（32.6%）であった。今後、新技術の普及によって、その有効性が明らかになることが期待される。ただし、そのためには新技術によって発見される症例に対する適切な治療方針（または経過観察の方針）の確立が必要である。

#### 資料

1) 平成17年度厚生労働科学研究「小児慢性特定疾患治療研究事業の登録・管理・評価・情報提供に関する研究」報告書（主任研究者：加藤忠明）、2006

2) 重松陽介：「新しい新生児マススクリーニング対象疾患の手引き」、平成16年度厚生労働科学研究「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」報告書（主任研究者：山口清次）：付録151、2005

## 高チロジン血症

A、現在の診断名（Ⅰ型/Ⅱ型/Ⅲ型などもご記入お願いいたします。）： \_\_\_\_\_  
 （異なる場合にお答えください）

## B、身体発育等

現在の年齢： \_\_\_\_\_ 歳 \_\_\_\_\_ か月      性別：男・女  
 発症年齢： \_\_\_\_\_ 歳 \_\_\_\_\_ か月      診断された年齢： \_\_\_\_\_ 歳 \_\_\_\_\_ か月  
 身体測定（測定月： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月）：身長： \_\_\_\_\_ cm      体重： \_\_\_\_\_ kg

C、精神運動発達について、以下のどれにあてはまりますか？（選択肢はチェックしてお答えください）

- ①  正常範囲の発達  
 ②  運動機能は正常であるが、知的障害がある  
 ③  知能は正常であるが、運動機能に障害がある  
 ④  重度の障害で寝たきりに近い  
 ⑤  その他（ \_\_\_\_\_ ）

D、病気はマスキング等で（発症前に）発見されましたか？  はい  いいえ  
 「はい」の方へ。それはいつ、どのように行われたものですか？自由に記載してください。  
 実施月： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月

[ \_\_\_\_\_ ]

E、具体的臨床データについて記入してください。（測定月： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月）

・NH<sub>3</sub> \_\_\_\_\_ μg/dl    GOT \_\_\_\_\_ IU/l    GPT \_\_\_\_\_ IU/l    BUN \_\_\_\_\_ mg/dl    Cr \_\_\_\_\_ mg/dl  
 血中チロジン濃度： \_\_\_\_\_ nmol/ml

- ① 尿中有機酸分析：未実施・実施（実施月： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月）  
 ② 酵素活性測定：未実施・実施（実施月： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月）  
 ③ 遺伝子解析：未実施・実施（実施月： \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月）

F、日常生活について以下から選んでください。

1. 身の回りのこと（食事・着替え・排泄など）はうまく行えますか？  
 ①  問題ない    ②  補助具を使用し行える    ③  介助が必要
2. 移動はうまく行えますか？  
 ①  問題ない    ②  補助具を使用し行える    ③  介助が必要
3. 痙攣は起こりますか？  
 ①  よくある    ②  たまにある    ③  ない
4. 学校へは通っていますか？  
 ①  小学校    ②  中学校    ③  高校    ④  通信制高校    ⑤  短期大学    ⑥  大学    ⑦  通っていない
5. 通っている場合、次のどれにあてはまりますか？  
 ①  通常学級    ②  障害児学級    ③  養護学校    ④  訪問看護    ⑤  その他（ \_\_\_\_\_ ）
6. またクラブ活動には参加していますか？  
 ①  参加している    ②  たまにしか参加しない    ③  全く参加していない

G、治療や経過について以下から選んでください。

1. 病院に通院する頻度を教えてください。  
 ①  月数回    ②  月1回    ③  2～3ヶ月に1回    ④  年に数回    ⑤  数年に1回
2. どのような診療を行っていますか？ 必要な場合は複数回答して下さい。  
 ①  診察    ②  検査    ③  投薬    ④  リハビリ  
 ⑤  生活指導

3. 病気の経過はいかがですか？  
 ①  不安定で進行している    ②  不安定だが進行していない  
 ③  安定しているが進行している    ④  安定している

部分は疾患により以下に変更する。

- E、
- a, 高チロジン血症 → 血中チロジン濃度：\_\_\_\_\_ nmol/ml
  - b, シトルリン血症 → 血中シトルリン濃度：\_\_\_\_\_ nmol/ml
  - c, アルギニノコハク酸尿症 → 血中アルギニノコハク酸濃度：\_\_\_\_\_ nmol/ml 血中シトルリン濃度：\_\_\_\_\_ nmol/ml
  - d, 高アルギニン血症 → 血中アルギニン濃度：\_\_\_\_\_ nmol/ml
  - e, メチルマロン酸血症 → プロピオニルカルニチンのアセチルカルニチンに対する比 (C3/C2)：\_\_\_\_\_
  - f, プロピオン酸血症 → プロピオニルカルニチンのアセチルカルニチンに対する比 (C3/C2)：\_\_\_\_\_
  - g, イソ吉草酸血症 → イソバレリルカルニチン \_\_\_\_\_ nmol/ml
  - h, グルタル酸尿症 → I 型：グルタリルカルニチン \_\_\_\_\_ nmol/ml  
II 型：C10-アシルカルニチン \_\_\_\_\_ nmol/ml
  - i, CPT 欠損症 → [遊離カルニチン/長鎖アシルカルニチン] 比：\_\_\_\_\_
- 濾紙血中 C16-アシルカルニチン \_\_\_\_\_ nmol/ml  
C18-アシルカルニチン \_\_\_\_\_ nmol/ml







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

稀少遺伝性疾患の追跡調査システム構築の検討

研究要旨

稀少遺伝性疾患患児の長期追跡調査をおこなうためのシステム構築について検討をおこなった。疾患の特殊性を分析し、長期追跡のためのインセンティブ設定を検討するとともに、長期追跡調査に必要な案件を分析した。さらに、先行する成育医療センター委託研究班におけるニュースレターの編纂を行なうことによって、従来とは異なる追跡システムを模索した。

研究協力者

松原洋一（東北大学教授）  
青木継稔（東邦大学学長）  
大浦敏博（東北大学助教授）  
大原 信（国立成育医療センター室長）  
小林圭子（鹿児島大学助教授）  
下澤伸行（岐阜大学教授）  
杉江秀夫（浜松市発達医療総合センター所長）  
山口清次（島根大学教授）  
辻 一郎（東北大学教授）  
奥山虎之（国立成育医療センター室長）

A. 研究目的

稀少遺伝性疾患において、社会参加を含む長期予後の詳細や、思春期を経て成人への発達から次世代の妊娠というライフサイクルを見据えた自然歴を追跡することは、患者の QOL 評価にとってきわめて重要である。とくに近年の診療においては、「救命」から「QOL」の向上へと変化しつつある。このような追跡調査にあたっては、時間軸に沿った評価が重要である、また、稀少遺伝性疾患は、1施設での経験症例数が限られているため、全国規模でのデータ収集が必要である。

本研究の目的は、稀少遺伝性疾患患児の長期追跡調査をおこなうためのシステム構築について検討をおこなうことにある。

B. 研究方法

稀少遺伝性疾患のうち、先天代謝異常症の研究・診療に長年携ってきた専門家によって、わが国におけるこれまでの予後調査の経験からその問題点を拾い上げ分析した。とくに、疾患の特殊性を分析し、長期追跡のためのインセンティブ設定を検討するとともに、長期追跡調査に必要な案件を分析した。

（倫理面への配慮）

本研究は、患者および患者検体を研究対象とするものではなく、また、直接、診療情報・個人情報扱うものではないため、倫理面での問題は無いものと判断される。

C. 研究結果

稀少遺伝性疾患診療における特徴として、以下の点が抽出された：

- 1) 1施設での経験症例数は限られており、全国規模での調査が必要
- 2) 近年の診療上の質の変化、すなわち「救命から「QOLの向上」へ、を追跡項目に反映させる必要がある
- 3) キャリーオーバー症例が増加しているにもかかわらず、その長期予後・QOLは詳細不明
- 4) 診断技術の向上に伴って発見された、軽症型・非典型例の予後は不明
- 5) 確定診断に専門家による特殊検査（保険診療

外)が必要

6) 治療・フォローに特殊な専門知識が必要

7) 患者にとって医療情報の入手は困難

このうち、3)からは従来の小児慢特による追跡では不十分なことが、5)・6)からは全国の各疾患診断拠点施設を重点的に把握する必要があることが示唆される。また、7)は長期追跡のためには患者・家族への継続的な情報提供が鍵となること示唆している。

つぎに、長期追跡調査に必要な案件として、以下の項目を抽出した。

1) 何のためにおこなうのかという研究目的 (Research purpose) を明確にする必要がある。単なる統計のための追跡では、問題点を拾い出すことは困難である。

2) 登録に対するインセンティブが、主治医に対して、あるいは患者に対して必要である。小児慢特で医療費補助を行なうというインセンティブは、その実効性を失いつつあり、またキャリーオーバー症例には無効である。新たな仕掛けが必要である。

3) 患者への情報フィードバックがなければ、自発的な協力を得ることは難しい。

4) データ管理・機密保持が重要

5) 短期的および長期的な追跡調査および会席研究の評価が必須。

先行する成育医療センター委託研究班におけるニュースレターでは、各疾患群についての医療情報のほか、研究者紹介、患者からの寄稿を中心に構成し、医療者側と患者側の協調関係を前面にすえており、マススクリーニング対象疾患の追跡にあたっては参考にするべきと考えられる。

#### D. 考察

わが国における新生児マススクリーニングの健康増進に対する寄与を科学的に評価するためには、従来にない新しい追跡システムを構築する必要があると思われる。そのためには、従来にないインセンティブの設定や、患者の主体的な参加などの「新しい仕掛け」を設ける必要がある。

#### E. 結論

稀少遺伝性疾患患児の長期追跡調査をおこなうためのシステム構築について検討をおこなった。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Dinopoulos A, Kure S, Chuck G, Sato K, Gilbert DL, Matsubara Y, Degrauw T: Glycine decarboxylase mutations: a distinctive phenotype of nonketotic hyperglycinemia in adults. *Neurology* 64:1255-7, 2005
2. Flusser H, Korman SH, Sato K, Matsubara Y, Galil A, Kure S: Mild glycine encephalopathy (NKH) in a large kindred due to a silent exonic GLDC splice mutation. *Neurology* 64:1426-30, 2005
3. Niihori T, Aoki Y, Ohashi H, Kurosawa K, Kondoh T, Ishikiriyama S, Kawame H, Kamasaki H, Yamanaka T, Takada F, Nishio K, Sakurai M, Tamai H, Nagashima T, Suzuki Y, Kure S, Fujii K, Imaizumi M, Matsubara Y: Functional analysis of PTPN11/SHP-2 mutants identified in Noonan syndrome and childhood leukemia. *J Hum Genet* 50:192-202, 2005
4. Otomo J, Kure S, Shiba T, Karibe A, Shinozaki T, Yagi T, Naganuma H, Tezuka F, Miura M, Ito M, Watanabe J, Matsubara Y, Shirato K: Electrophysiological and histopathological characteristics of progressive atrioventricular block accompanied by familial dilated cardiomyopathy caused by a novel mutation of lamin A/C gene. *J Cardiovasc Electrophysiol* 16:137-45, 2005
5. Boneh A, Korman SH, Sato K, Kanno J, Matsubara Y, Lerer I, Ben-Neriah Z, Kure S: A single nucleotide substitution that abolishes the initiator methionine codon of the GLDC gene is prevalent among patients with glycine encephalopathy in Jerusalem. *J Hum Genet* 50:230-4, 2005

6. Aoki Y, Niihori T, Kawame H, Kurosawa K, Ohashi H, Tanaka Y, Filocamo M, Kato K, Suzuki Y, Kure S, Matsubara Y: Germline mutations in HRAS proto-oncogene cause Costello syndrome. *Nat Genet* 37:1038-40, 2005.
7. Salvi F, Aoki Y, Della Nave R, Vella A, Pastorelli F, Scaglione C, Matsubara Y, Mascalchi M: Adult Alexander's disease without leukoencephalopathy. *Ann Neurol* 58:813-814, 2005
8. Gripp KW, Lin AE, Stabley DL, Nicholson L, Scott Jr. CI, Doyle D, Aoki Y, Matsubara Y, Zackai EH, Lapunzina P, Gonzalez-Meneses A, Holbrook J, Agresta CA, Gonzalez IL, Sol-Church K: HRAS mutation analysis in Costello syndrome: Genotype and phenotype correlation. *Am J Med Genet Part A* Published Online: 2 Dec 2005
9. Suzuki Y, Yang X, Aoki Y, Kure S, Matsubara Y: Mutations in the holocarboxylase synthetase gene. *Hum Mutat* 26:285-290, 2005
10. Sato K, Kanno J, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S: DNA synthesis pathways in sphere-forming neural stem cells: De novo pathway, but not salvage pathway, is essential for neural differentiation. *Brain Res* (in press)
11. Kure S, Kato K, Dinopoulos A, Gail C, deGrauw TJ, Christodoulou J, Bzduch V, Kalmanchev R, Fekete G, Trojovský A, Plecko B, Breningstall G, Tohyama J, Aoki Y, Matsubara Y: A comprehensive mutation analysis of GLDC, AMT, and GCSH in nonketotic hyperglycinemia (glycine encephalopathy). *Hum Mutat* (in press)
12. Niihori T, Aoki Y, Narumi Y, Neri G, Cave H, Verloes A, Okamoto N, Hennekam RC, Gillissen-Kaesbach G, Wieczorek D, Kavamura MI, Kurosawa K, Ohashi H, Wilson L, Heron D, Bonneau D, Corona G, Kaname T, Naritomi K, Baumann C, Matsumoto N, Kato K, Kure S, Matsubara Y. Germline KRAS and BRAF mutations in cardio-facio-cutaneous syndrome. *Nat Genet* (in press)
2. 学会発表
1. 呉 繁夫、松原洋一ほか：13C グリシン呼気試験による高グリシン血症の新しい診断法の開発 第48回日本先天代謝異常学会（平成17年11月16日、熊本）
2. 新堀哲也、松原洋一ほか：ヌーナン症候群の酵素活性測定による診断法の開発 日本人類遺伝学会第50回大会（平成17年9月20日、倉敷）
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

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

## 2005 年に島根大学で診断した有機酸・脂肪酸代謝異常の発症形態と予後の検討

### 研究要旨

2005 年に島根大学で新たに診断に関与した代謝異常症例を解析し、これまでの患者データと比較、検討した。2005 年に 44 症例を発見した。内訳は有機酸代謝異常症が 33 症例、脂肪酸代謝異常症が 11 症例であった。新生児期に発症した症例は有機酸代謝異常症で 8 例、脂肪酸代謝異常症で 1 例あり、これらの予後はこれまでの検討と同様に不良であった。幼児期以降に急性脳症様の症状で発症した例が 18 症例（40.9%）あり、これらの症例はこれまでの検討結果とは異なり、予後は不良であった。幼児期以降に発症し診断にいたった症例のうち、新生児期のろ紙血の得られた症例でタンデムマス分析を後方視的に検討したところ、8 例中 7 例で診断が可能であった。以上の結果は、診断された患者の多くがタンデムマスによる新生児マススクリーニングを行っていただければ発見される可能性のあったことを示していた。このスクリーニングによる発症予防、障害予防の有効性を強く示唆する。

### 研究協力者

長谷川有紀、遠藤充、小林弘典、山口清次（島根大学小児科）

2005 年に診断した 33 症例について、各疾患の発症時期と発症形態、急性期の検査値異常、および診断時期と予後を検討した。

### A. 研究目的

タンデムマスによるスクリーニング対象疾患を設定したり、スクリーニングの効果を評価するために、有機酸・脂肪酸代謝異常症の発症時期や自然歴、予後を把握することは重要である。2005 年に新たに当科で診断した代謝異常症例の自然歴と、発症形態および新生児期のろ紙血を用いてタンデムマス分析の結果を比較し、タンデムマススクリーニングの効果について検討した。

#### 3) 脂肪酸代謝異常症

2005 年に診断した 11 症例について有機酸代謝異常症と同様に検討した。

#### 4) 発症時と新生児期のろ紙血を用いたタンデムマス分析の比較

乳幼児期以降に発症した有機酸・脂肪酸代謝異常症のうち、新生児期のろ紙血が入手できた 8 症例について、発症時と新生児期のタンデムマス分析の結果を比較し、新生児期に診断が可能であったかどうか、発症予防の有効性について検討した。

### B. 研究方法

#### 1) 先天代謝異常症の頻度

2005 年 1～12 月に島根大学で主に GC/MS を用いて診断した先天代謝異常症について、各疾患の患者数を検討し、1995～2004 年までの診断頻度と比較した。

#### 2) 有機酸代謝異常症

### C. 研究結果

#### 1) 先天代謝異常症の頻度

当科に診断依頼のあった検体数は国内から計 1,230 例で、うち 3.6%にあたる 44 例に何らかの疾患が発見された。これは 1995～2004 年までの発見頻度とほぼ同程度であった。

有機酸代謝異常症は 33 症例で、内訳はオルニチントランスカルバミラーゼ (OTC) 欠損症などの尿素サイクル異常症が 14 例と約 1/3 を占め、つづいてメチルマロン酸血症が 8 例、プロピオン酸血症 4 例、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症 4 例などであった。これまでの診断症例と比較すると、尿素サイクル異常症の占める割合が多いこと、メチルマロン酸血症が軽症型のみであったことが 2005 年の特徴であった。

脂肪酸代謝異常症は非ケトン性ジカルボン酸尿などの所見で GC/MS で異常を指摘されたものの、現病歴から脂肪酸代謝異常症が疑われ、最初からタンデムマス分析を行ったものを含めて、2005 年だけで 11 症例が発見された。これは 1995～2004 年の間に当科で診断した症例数の合計を超えていた。

その他メープルシロップ尿症が 1 例あったが、本症例は現行の新生児マススクリーニングでも診断されていた。

## 2) 有機酸代謝異常症の発症形態と予後 (図 1, 2)

33 症例中、新生児発症例は 8 症例 (有機酸代謝異常症中 24.2%) あり、うち 7 症例が日齢 7 までに哺乳不良や嘔吐、意識障害といった非特異的な症状で発症していた。生後 1 か月以降になると、感染時の間欠的発作や急性脳症といった症状、または発達遅滞などが多かった。急性期に認められた検査データ異常としては高アンモニア血症が最も多く、肝機能障害、高乳酸血症などが多かった点は以前の報告と同様であった。

思春期以降に診断された症例は 3 例あり、いずれも急性脳症様で発症した尿素サイクル異常症であった。2 症例は 10 代後半で、1 症例は 52 歳の発症例であった。

診断時期と予後であるが、1995～2004 年までのパターンとは異なり、ほぼ発症時期と同時に診断されていた。新生児期発症例 8 症例中 3 症例が死亡しており、現在まで正常に発達している例は 2 例のみであった。1 か月以降の発症例

では、21 症例中 5 症例で正常発達が認められ、死亡例は 3 症例と、生命予後に関しては比較的良好で、以前の報告と同じ傾向を示した。

その他、タンデムマススクリーニングで発見された症例が 3 例あった。これらは軽症型のメチルマロン酸血症と軽症型のプロピオン酸血症、およびメチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ脱水素酵素 (MCC) 欠損症がそれぞれ 1 例ずつであった。軽症型のプロピオン酸血症と軽症型プロピオン酸血症は無治療で経過観察されており、MCC 欠損症はロイシン制限食を開始しているが、いずれも現在まで無症状で正常に発達している。

## 3) 脂肪酸代謝異常症の発症形態と予後 (図 1, 2)

脂肪酸代謝異常症 11 症例のうち新生児発症例は 1 症例のみであった。生後 1 か月以降に発症した 10 症例の発症形態はこれまでの報告と同様に、急性脳症として発症するパターンが多くを占めた。学童期以降に骨格筋症状で発症した例が 1 例あった。

予後について、昨年の報告で乳児期以降の発症については多くの生命予後は良好とされたが、2005 年の検討では正常発達は 2 症例 (脂肪酸代謝異常症中 18.2%) のみで、死亡や重度の障害を残した症例が 5 症例 (同 45.5%) あり、発症した場合には必ずしも予後は良好ではなかった。

## 4) 新生児期のろ紙血を用いたタンデムマス分析所見の後方視的検討 (表 1)

乳幼児期以降に発症した有機酸・脂肪酸代謝異常症のうち、発症時と新生児期のろ紙血が入手できた 8 症例について、両時期のアシルカルニチン値を分析した。軽症型のプロピオン酸血症 1 例を除いて、急性発症で発見された 7 症例が新生児期のろ紙血でも異常値が認められ、新生児期の診断が可能であった。これらの 7 症例のうち、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症の 1 症例と脂肪酸代謝異常症の 4 症例は急性脳症様の症状で発症し、3 症例が死亡していた。

## D. 考察と結論

島根大学では 2004 年よりタンデムマスを導入し、GC/MS による有機酸代謝異常症とともに、脂肪酸代謝異常症の診断も行える体制を整えた。2005 年に脂肪酸代謝異常症が多く発見された背景には、このタンデムマス分析の導入が診断に有効であったことを示すとともに、急性脳症の背景疾患として脂肪酸代謝異常症の存在が一般小児科領域でも広く知られるようになり、タンデムマス分析の依頼が増加したことも一因と考えられた。

有機酸代謝異常症の初発症状について、生後 1 か月以内では哺乳不良や嘔吐、意識障害など非特異的な症状を呈して急性発症しており、これは以前の報告と同様であった。生後 1 か月以降になると感染を契機にした間欠発作型や発達遅滞・退行で発見されたり、特に尿素サイクル異常症では急性脳症様の発症で発見される例が多くを占めていた。生命予後は生後 6 か月未満では死亡例が多かったが、それ以降になると、障害を残すものの生命予後は一般に良好であった。尿素サイクル異常症であっても、家族歴などから本疾患を疑い、発症早期に適切な処置が行われた症例では正常の発達をしていた。尿素サイクル異常症はタンデムマス・マススクリーニングには含まれない疾患ではあるが、その頻度は比較的多く、早期治療によって正常発達が得られることは重要な所見である。家族歴を含む詳細な問診が診断・治療に有用であること、患者のみならず未発症の家族に対して疾患を啓蒙する必要性を示している興味深い。

脂肪酸代謝異常症では、2005 年度は新生児期以降の発症例が多かったが、そのほとんどが急性脳症様の発症であったことは特筆すべきである。以前の報告でも述べたように、この発症時期は特に乳幼児突然死症候群 (SIDS) の好発年齢に重なっており、急性脳症の背景疾患の有無に対する原因検索が重要であることを示している。実際、突然死の状態では病院へ搬送され

た幼児例が MCAD 欠損症と診断され、これを契機に重症心身障害児の同胞も同じ疾患であると判明した症例もあった。我が国では SIDS とされて剖検が行われないケースがしばしばあるが、最低でも血液や尿、できれば線維芽細胞を保存し、背景疾患の有無についての検索を行うことの重要性を示唆する好例といえる。予後については、生命予後は良好であるものの、急性脳症による障害を残す例が多く、発症予防が重要であることを改めて認識させられた。

さらに今回は発症時と新生児期のろ紙血を集めてタンデムマスで分析し、新生児期に診断が可能であったかどうかを検討した。検討した 8 症例のうち、7 症例で新生児期に診断が可能であった。このことは発症してから診断された患者の多くはタンデムマスによる新生児スクリーニングで発見され、発症予防・障害予防をうける可能性を強く示唆するものであった。

またタンデムマスによる新生児スクリーニング試験研究で陽性例が 3 症例発見されたが、いずれも無症状で経過している。特にメチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症は欧米では無治療でよいといわれているが、我が国で発見された症例は心身障害を示すことが多いようである。従ってマススクリーニング対象疾患とすべきと考える。日本人の有機酸・脂肪酸代謝異常症の自然歴をよく検討し、対象疾患の選定に役立てることが重要である。

## E. 研究発表

### 1. 学会発表

- 1) 小林弘典, 木村正彦, 長谷川有紀, 四本由郁, 山口清次: タンデムマスによる先天代謝異常診断精度の検討: 尿中有機酸分析所見との比較. 第 108 回日本小児科学会学術集会. 東京, 2005
- 2) 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: 最近開始したタンデムマスによる新生児マス・スクリーニング試験研究の問題点. 第 33 回日本マス・スクリーニング学会. 熊本, 2005

3) 小林弘典、長谷川有紀、山口清次：脂肪酸・有機酸代謝異常症のタンデムマスによる代謝解析．第 30 回日本医用マススペクトル学会年会．大阪，2005

4) 四本由郁，長谷川有紀，小林弘典，内田由里，山口清次：タンデムマスによる新生児代謝異常スクリーニングの検討．第 50 回日本未熟児新生児学会学術集会．名古屋，2005

2. 論文発表

1) Hori D, Hasegawa Y, Kimura M, Yang Y, Verma IC, Yamaguchi S: 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 Dev. 2005; 27: 39-45.

F. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

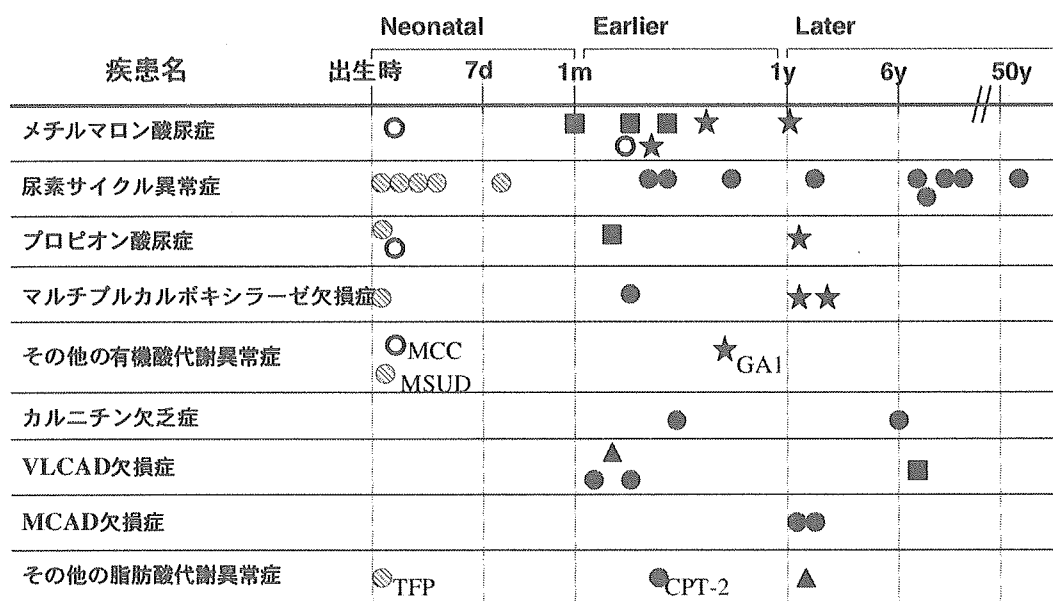


図 1. 2005 年に発見された有機酸・脂肪酸代謝異常症の発症時期と初発症状

- ⊗: 新生児急性発症
- ▲: 感染時の間欠的発作
- : 急性脳症
- ★: 退行、発達遅滞
- : その他
- : 症状なし (マススクリーニング陽性例)



疾患名	Neonatal		Earlier		Later		
	出生時	7d	1m	1y	6y	50y	
メチルマロン酸尿症	◎		○	▲ ▲ ◎ ▲	△	△	//
尿素サイクル異常症	○ X X X	△		? X	△	○	△ ▲ X X
プロピオン酸尿症	◎ ▲		○		△		
マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	▲		○		△ ?		
その他の有機酸代謝異常症	◎ MCC ○ MSUD			△ GAI			
カルニチン欠乏症				△		▲	
VLCAD欠損症				X △ X		○	
MCAD欠損症					X	▲	
その他の脂肪酸代謝異常症	X TFP			○ CPT-2	?		

図 2. 2005 年に発見された有機酸・脂肪酸代謝異常症の診断時期と予後

- : 正常発達
- △ : 軽度障害
- ▲ : 重度障害
- × : 死亡
- ◎ : 症状なし
- ? : 不明

疾患	発症年齢	アシルカルニチン値( μM)		
		指標 (基準値)	発症時	日齢5
1) プロピオン酸血症	1m	C0 (8.5 - 90)	7.68 ↓	7.21 ↓
		C3 (< 4.4)	8.85 ↑	18.22 ↑
		C3/C2 (< 0.175)	1.48 ↑	4.20 ↑
2) プロピオン酸血症	1y6m	C3 (< 4.4)	21.38 ↑	11.90 ↑
		C3/C2 (< 0.175)	0.89 ↑	0.85 ↑
3) マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	4m	C3 (< 4.4)	6.00 ↑	2.34
		C3/C2 (< 0.175)	0.24 ↑	0.19 ↑
		C5OH (< 1.0)	8.82 ↑	1.91 ↑
4) CPT-2欠損症	5m	C0 (8.5 - 90)	* 1.01 ↓	15.17
		C16 (0.20 - 8.43)	* 2.08 ↑	8.13
		C18 (< 3.2)	* 0.58 ↑	0.97
		C16+C18/C0 (< 0.33)	* 1.86 ↑	0.6 ↑
5) VLCAD欠損症	3m	C0 (8.5 - 90)	2.74 ↓	17.36
		C14:1 (< 0.4)	0.70 ↑	4.63 ↑
6) TFP欠損症	3m	C16OH (< 0.1)	0.51 ↑	0.82 ↑
		C18OH (< 0.1)	0.29 ↑	0.31 ↑
		C18:1OH (< 0.89)	0.49	0.40
7) MCAD欠損症	1y8m	C8 (< 0.32)	4.64 ↑	4.43 ↑
		C10 (< 0.4)	0.64 ↑	0.42 ↑
		C10:1 (< 0.28)	0.48 ↑	0.35 ↑
8) メチルマロン酸血症	7m	C3 (< 4.4)	2.38	2.11
		C3/C2 (< 0.175)	0.08	0.09

表 1. 発症時と日齢 5 におけるアシルカルニチン値の比較

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

## 高速液体クロマトグラフィを用いた酵素診断法による タンデムマス新生児スクリーニング陽性例の確定診断

### 研究要旨

広島県ほかで実施中のタンデムマス新生児スクリーニング (MS/MS-NBS) 試験研究で、主要疾患陽性例の確定検査として高速液体クロマトグラフィ (HPLC) による酵素診断法を開発・応用した。本法による酵素活性低下所見に基づき、メチルマロン酸血症 (MMA) : MS/MS-NBS 陽性 4 例中 2 例、プロピオン酸血症 (PA) : 10 例中 8 例、グルタル酸尿症 (GA) I 型 : 3 例全例、MCAD 欠損症 : 7 例中 3 例、VLCAD 欠損症 : 2 例全例を罹患と診断した。以上のうち、有機酸代謝異常症 13 例は尿中有機酸所見でも化学診断可能であった。PA では 6 例 10 アレルに共通遺伝子変異を認めた。他の疾患は、尿有機酸分析 (SCAD 欠損症 2 例, GA II 型 1 例, ホロカルボキシラーゼ合成酵素 (HCS) 欠損症 1 例)、酵素活性測定 (CPT-1 欠損症 1 例)、遺伝子解析 (HCS 欠損症, CPT-1 欠損症) にて診断した。MS/MS-NBS の最重要ターゲットである脂肪酸代謝異常症は、尿中有機酸所見による化学診断が困難な上、特に MCAD 欠損症では MS/MS-NBS 陽性 7 例中 4 例で正常酵素活性が明らかとなっており、その迅速確定診断において我々の酵素活性測定法は特に有用性が高いと考えられた。

### 研究協力者

佐倉伸夫 (重症心身障害児施設鈴が峰)  
但馬剛, 小野浩明 (広島大学大学院小児科学)  
西村裕 (国立病院機構呉医療センター小児科)  
中常千代美, 渡川美弥子, 柳川順子,  
久保田美穂, 吉井千代子, 濱川以行  
(広島市医師会臨床検査センター)  
畑郁江 (福井大学医学部小児科)  
重松陽介 (福井大学医学部看護学科)

患により尿中有機酸分析や遺伝子解析による確定診断も試みた。

### B. 研究方法

#### 1) 検討症例

広島・福井・徳島県ほか一部地域で実施中の MS/MS-NBS にて陽性となった症例を対象とした。MS/MS によるアシルカルニチン分析は福井大学小児科で既報の方法にて実施した<sup>1)</sup>

#### 2) 酵素活性測定<sup>2)</sup>

各酵素について、基質アシル CoA・補助因子と末梢血リンパ球破碎液を反応させ、産物アシル CoA を HPLC で定量するための至適条件を設定した。

#### 3) 尿中有機酸分析

福井大学小児科・島根大学小児科・広島大学病院検査部で実施した。

#### 4) 遺伝子解析ほか

### A. 研究目的

タンデムマス新生児スクリーニング (MS/MS-NBS) の実施に際しては、陽性例の確定診断を迅速に行える体制を整えることが求められる。我々は、本スクリーニング検査の主要対象疾患と考えられる有機酸・脂肪酸代謝異常症について、迅速確定検査として高速液体クロマトグラフィ (HPLC) を用いた迅速酵素活性測定法を開発し、発見症例への診断に応用した。また、疾

広島県内症例の一部は、各専門施設に依頼して確定検査を実施した。

#### (倫理面への配慮)

MS/MS-NBS は保護者へ説明を行い、同意が得られた新生児のみを対象とした。陽性例への確定検査に際しては、あらためて保護者へ説明を行い、同意を得た上で実施した。

### C.研究結果

#### 1) メチルマロン酸血症 (MMA ; 図 1)

NBS 陽性 4 例中 3 例が尿有機酸分析済みで、2 例はメチルマロン酸とメチルクエン酸が増加、1 例はメチルマロン酸の軽度増加のみであった。前 2 者で酵素活性低下を認めた。

#### 2) プロピオン酸血症 (PA ; 図 2)

NBS 陽性の 10 例中 8 例で尿中メチルクエン酸増加と酵素活性低下を認めた。PCCB 遺伝子解析では、6 症例 10 アレルに Y435C 変異が検出された (1 例は未実施)<sup>3,4)</sup>。

#### 3) グルタル酸尿症 I 型 (GA1 ; 図 3)

NBS 陽性 3 例とも血漿・尿中のグルタル酸・3-OH-グルタル酸が増加し、酵素活性は測定感度以下であった。

#### 4) 中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症 (図 4)

NBS 陽性の 7 例中 3 例を酵素活性低下より罹患と診断した。尿中有機酸分析では特異的所見であるヘキサノイルグリシン増加を認めたのは 1 例のみであった。遺伝子解析では 2 症例 4 アレルで変異を同定した。

#### 5) 極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症 (図 5)

NBS 陽性 2 例とも酵素活性低下より罹患と診断した。遺伝子変異は 1 例で確認されている。本疾患は尿中有機酸分析では特異的所見に乏しく、血中遊離脂肪酸分析が有用であるが、今回対象例では未検である。

#### 6) 短鎖アシル CoA 脱水素酵素 (SCAD) 欠損症 (表)

NBS 陽性 2 例とも尿中エチルマロン酸増加

を認めたが、酵素診断・遺伝子診断は未確定である。

#### 7) グルタル酸尿症 II 型 (GA2 ; 表)

NBS 陽性の 1 例について、尿中グルタル酸・2-OH-グルタル酸・エチルマロン酸増加を認めた。ETF 系の障害部位は未同定である。

#### 8) カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I (CPT-1) 欠損症 (表)

NBS 陽性 1 例について、酵素活性低下 (千葉県子ども病院・高柳正樹先生) および遺伝子変異 (千葉大学大学院・金澤正樹先生) を確認した。

#### 9) 複合カルボキシラーゼ欠損症 (MCD ; 表)

NBS 陽性の 1 例で、尿中乳酸・3-OH-イソ吉草酸・3-メチルクロトニルグリシン・メチルクエン酸の増加と、ホロカルボキシラーゼ合成酵素遺伝子の変異が検出された (東北大学大学院・鈴木洋一先生)。ピオチニダーゼ活性は正常であった (札幌市衛生研究所・田上泰子先生)。

### D.考察と結論

従来、有機酸・脂肪酸代謝異常症の原因酵素の活性測定は、放射性同位体標識基質を使用する方法が主に用いられてきた。我々の HPLC による測定法は、放射性同位体を必要としないため、シールド室など特殊な設備を必要とせず、一般的な検査室で実施できる汎用性の高さに大きな利点がある。また、2~3mL 程度の静脈採血で得られるリンパ球を用いることから、被検児に対して最小限の侵襲で迅速に診断できる。

発見症例の確定診断では、有機酸血症を来す PA, GA1, GA2, MCD, SCAD 欠損症について、PA 疑いの 2 例を除く NBS 陽性全例に尿中有機酸分析で特異的所見が認められ、前 2 者は酵素診断でも確定された。MMA については、ビタミン B12 反応型症例の他、「軽症型」「良性」などと呼ばれる病的意義の不明確な症例も MS/MS-NBS 陽性となることが報告されており、我々の酵素診断法ではこれらの病型は正常活性となってしまう。従って今

回の検討でも、尿所見が不明確で正常酵素活性となった2例がビタミンB12反応型MMA罹患例であった可能性は残る。

有機酸血症を伴わない脂肪酸代謝異常症は、異常代謝産物の解析では特異的所見が得られにくい。特に、今回の検討ではMCAD欠損症の疑いありとされた新生児7例中4例が正常活性を示して除外診断されており、この群の疾患の診断確定には、酵素診断が必須と考えられる。今後、MCAD欠損症・VLCAD欠損症以外の脂肪酸代謝異常症についても、迅速酵素診断法の整備を進めていく必要がある。

遺伝子診断は、PAを除き高頻度変異が見出されず、迅速診断への応用は今のところ困難と考えられる。特にMS/MS-NBS偽陽性例の除外診断には負担が大きい。尿中有機酸分析や酵素診断と組み合わせることで、発見症例の遺伝子変異の実態を効率よく解明していくことが期待される。

#### 文献

1) Shigematsu Y, Hirano S, Hata I, Tanaka Y, Sudo M, Sakura N, Tajima G, Yamaguchi S: Newborn mass screening and selective screening using

electrospray tandem mass spectrometry in Japan. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 776: 39-48, 2002.

- 2) 但馬剛, 佐倉伸夫, 夜船展子, Andi Dwi Bahagia Febriani, 西村裕, 坂本明子, 小野浩明, 木村正彦, 山口清次, 畑郁江, 重松陽介: 高速液体クロマトグラフィ法による有機酸・脂肪酸代謝異常症の酵素診断. *日本マス・スクリーニング学会誌*, 13: 39-45, 2003.
- 3) Yorifuji T, Kawai M, Muroi J, Mamada M, Kurokaawa K, Shigematsu Y, Hirano S, Sakura N, Yoshida I, Kuhara T, Endo F, Mutsubuchi H: Unexpectedly high prevalence of the mild form of propionic academia in Japan: presence of a common mutation and possible clinical implications. *Hum Genet* 111: 161-165, 2002.
- 4) 重松陽介: タンデム質量分析法新生児マススクリーニング対象疾患の診断精度と医学管理の研究. 平成14年度～平成15年度科学研究費補助金基盤研究(C)(2) 研究成果報告書