

ア 76 で、尿中有機酸分析は正常。酵素活性は正常の 11-26%を示し、遺伝子異常も判明した。MCT 強化ミルクで食事指導をしているが 1 歳現在無症状である。症例 2 (VLCAD 欠損症)：血中 CK 261、尿中有機酸分析で軽度のジカルボン酸尿がみられた。MCT 強化ミルクを投与しながら経過観察中であるが、生後 7 ヶ月現在正常に発育発達している。

5) ムコ多糖症のスクリーニングの検討

a. 血液ろ紙と LC/MS/MS によるムコ多糖症スクリーニング法：ムコ多糖症 (MPS) で蓄積する GAG を二糖類まで分解して LC/MS/MS で分析した。ケラタン硫酸由来の二糖類、ヘパラン硫酸由来、コンドロイチン硫酸由来の二糖類の LC/MS/MS 分析では、CV 値 12%以下であった。3 例のムコ多糖症 I 型の血液ろ紙を分析したところ、3 例ともに正常から明らかに区別された。酵素補充療法中の患者の二糖類は正常範囲にあった。血液ろ紙を用いるスクリーニングが可能であるが、分析コスト、タンデムマス機器の問題など実用化の問題が残されている。

b. ムコ多糖症患者数の調査：将来スクリーニングされる場合の費用対効果を検討する目的で、ムコ多糖症の患者数を調査したところ、171 例が集計された。内訳は、I 型 39 名 (23%)、II 型 (77%)：すなわち、Hurler 症候群 24 例 (14%)、Hurler/Scheie 症候群 7 例 (4%)、Scheie 症候群 8 例 (5%)、Hunter 症候群重症型 91 例 (53%)、Hunter 症候群軽症型 41 例 (24%) であった。

c. ムコ多糖症のバイオマーカーの検討：ムコ多糖症 I 型、II 型、III 型患者の血中ヘパラン硫酸、ケラタン硫酸を測定したところ、血中ヘパラン硫酸値が診断のみならず、治療効果判定のバイオマーカーとして有用であることがわかった。

d. 酵素補充療法 (ラロニダーゼ) の臨床的効果の検討：ムコ多糖症 I 型、II 型、VI 型の酵素補充療法が確立されている。このうち、I 型に対する酵素製剤 (ラロニダーゼ) が平成 18 年 12 月に承認された。ムコ多糖症 I 型患者 3 名 (1 歳、2 歳、8 歳) に対するラロニダーゼの臨床的効果を検討した。3 例ともに尿中 GAG

の低下、肝腫大の改善、皮膚症状、中耳炎、聴力、知的発達などの改善が認められた。新生児スクリーニングが実現すればより大きな効果が期待できる。

6) 新技術を導入する場合の検査施設のあり方の検討

現行の 6 疾患検査では、年間 3 万検体分析施設における 1 検体当たりの検査費用は 2,621 円、5 万検体検査施設で 2,347 円と計算された。クレチン症などと同じ検査施設にタンデムマスを導入した場合の検査費用は、年間 3 万検体分析施設で 2,735 円、5 万検体検査施設で 2,484 円と計算された。またタンデムマス検査だけを独立して行なう場合、タンデムマス検査費用は、年間 3 万検体分析施設で 1,350 円、5 万検体検査施設で 1,280 円と計算された。検査施設は年間 3 万検体以上を扱う方が望ましく、また可能ならば、クレチン症、副腎過形成、ガラクトース血症の検査施設でタンデムマス検査を行なうとさらに効率が良いと結論された。

7) タンデムマススクリーニングの費用対効果の検討

年間 120 万出生で 19 疾患をスクリーニングすると仮定した場合、発見予想患者数は 148 人と計算された。検査費用 3,000 円、採血費用 5,000 円として計算した場合、増分費用便益比は 1.91 で、1.91 倍の効果が得られると計算された。また 1 QALY 獲得に必要な費用は 273 万円と計算された (1QALY 当り 600 万円以下が好ましいといわれている)。これらの値は検査費用、採血費用をこれより低く設定すればさらに良くなる。

さらに、偽陽性、偽陰性の率によってスクリーニング費用は異なる。複数の検査の組み合わせ、カットオフ値の設定も重要な因子となる。

D. 結論

タンデムマス導入した場合、スクリーニング対象疾患は現行のアミノ酸代謝異常 3 疾患を含む 22 疾患程度に拡大可能である。費用対効果も悪くないこともわかった。スクリーニング検査体制の見直しも必要である。タンデムマス

導入による障害予防事業拡大によって母子保健向上に貢献する可能性が高い。一方、これらの疾患は稀少疾患であるので一般小児科医にはなじみがうすいことが多い。診療マニュアル作成や、確定診断、治療評価のためのネットワーク作りも合わせて進める必要がある。さらにムコ多糖症など画期的な治療法が開発された疾患については、スクリーニングによって治療の効果を上げることが必要である。実用化が期待される。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 山口清次: SIDS 様症状で発症する先天代謝

異常と診断へのアプローチ. 日本 SIDS 学会雑誌 6(1): 15-24, 2006

2) 山口清次、小林弘典: 健診・検査後の対応とその評価: 先天性脂肪酸代謝異常症. 小児科臨床 59: 643-651, 2006

3) 山口清次: 乳幼児突然死症候群 (SIDS) と先天代謝異常症. 母子保健情報 (特集) 乳幼児突然死症候群 (SIDS) -その歴史と現状- 53: 39-45, 2006

4) 山口清次: タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの新時代. 小児保健研究 65(6): 725-732, 2006

(他、各研究協力者報告書を参照されたい)

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

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。すでに症例登録が進行中の国立成育医療センター委託研究班「先天代謝異常症の診断ネットワークを介した長期予後追跡システムの構築」における症例登録の現況とその問題点を解析することにより、長期追跡調査に必要な案件を検討した。

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（筑波大学助教授）
奥山虎之（国立成育医療センター室長）
栗山進一（東北大学助教授）
小林圭子（鹿児島大学助教授）
坂本 修（東北大学助手）
清水教一（東邦大学講師）
下澤伸行（岐阜大学教授）
杉江秀夫（浜松市発達医療総合福祉センター所長）
鈴木康行（岐阜大学教授）
田中あけみ（大阪市立大学助教授）
辻 一郎（東北大学教授）
福田冬季子（浜松市発達医療総合センター）
山口清次（島根大学教授）

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

すでに症例登録が進行中の国立成育医療センター委託研究班「先天代謝異常症の診断ネットワークを介した長期予後追跡システムの構築」（主任研究者：松原洋一）における症例登録の現況とその問題点を解析することにより、長期追跡調査に必要な案件を検討した。

（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。

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、

C. 研究結果

先行する成育医療センター委託研究「先天代謝異常症の診断ネットワークを介した長期予後追跡システムの構築」では、平成 18 年 11 月末時点で 275 例が登録を開始している。その疾患内訳は、ウィルソン病 101 例、有機酸代謝異常症・脂肪酸代謝異常症 75 例、シトリン欠損症 43 例、糖原病 35 例、ペルオキシソーム病 2 例、ムコ多糖症 19 例である。

登録依頼に当たってもっとも効果的な手段は、

患者会との連携であった。この点に関しては、研究班が発行する患者さん向けのニュースレターが大きな役割を果たしていた。この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、患者からの寄稿など医療者側と患者側の協調関係を前面にすえており、マスキ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。

全国的な規模での患者の症例登録・予後調査では、「登録の悉皆性」および「追跡の悉皆性」を十分に確保することが大きな課題である。成育医療委託研究における有機酸代謝異常症・脂肪酸代謝異常症登録症例を検討したところ、2003～2005年の間に把握された新規発症患者は120名であった。このうち症例登録の同意があった69例のなかには新生児期に発症し死亡した症例や重篤な後遺障害を持つ症例の登録がきわめて少ないことが判明した。このような登録症例の偏りは、疾患の全体像を把握する上で大きな障害となる。この問題を解決するためには、登録の同意がない症例についても、倫理的に許諾される範囲でデータベースに情報を載せていく必要があると思われる。さらに、米国の National Death Index のように、国家的な視野ですべての国民の死亡データを一元的に集計・管理するシステムを確立することがのぞまれる。

D. 考察

わが国における新生児マスキ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、疫学的な評価に耐えうる長期追跡データベースが必要である。そのためには、患者会などを中心とした、患者が主体的に参加する仕組みを設けることが有益と考えられる。また、「悉皆性」を確保するためには、個別のインフォームドコンセントを必須とする現行の登録方法では限界があると思われる。

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した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Niihori T, Aoki Y, Narumi Y, Neri G, Cave H, Verloes A, Okamoto N, Hennekam RC, Gillessen-Kaesbach G, Wiczorek 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.* 38:294-6, 2006.

2) del Toro M, Arranz JA, Macaya A, Riudor E, Raspall M, Moreno A, Vazquez E, Ortega A, Matsubara Y, Kure S, Roig M. Progressive vacuolating glycine leukoencephalopathy with pulmonary hypertension. *Ann Neurol.* 60:148-52, 2006.

3) Kure S, Korman SH, Kanno J, Narisawa A, Kubota M, Takayanagi T, Takayanagi M, Saito T, Matsui A, Kamada F, Aoki Y, Ohura T, Matsubara Y. Rapid diagnosis of glycine encephalopathy by ¹³C-glycine breath test. *Ann Neurol.* 59:862-7, 2006.

4) Kamada F, Kure S, Kudo T, Suzuki Y, Oshima T, Ichinohe A, Kojima K, Niihori T, Kanno J, Narumi Y, Narisawa A, Kato K, Aoki Y, Ikeda K, Kobayashi T, Matsubara Y. A novel KCNQ4 one-base deletion in a large pedigree with hearing loss: implication for the genotype-phenotype correlation. *J Hum Genet.* 51:455-60, 2006.

5) Hiratsuka M, Ebisawa A, Sakuyama K, Matsubara Y, Kure S, Soya Y, Konno Y, Sasaki T, Kishiba A, Mizugaki M. Competitive allele-specific short oligonucleotide hybridization (CASSOH) with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of pharmacogenetic single nucleotide

polymorphisms (SNPs). *J Biochem Biophys Methods*. 67:87-94, 2006.

6) Kure S, Kato K, Dinopoulos A, Gail C, DeGrauw TJ, Christodoulou J, Bzduch V, Kalmanchev R, Fekete G, Trojovský A, Plecko B, Brenningstall G, Tohyama J, Aoki Y, Matsubara Y. Comprehensive mutation analysis of GLDC, AMT, and GCSH in nonketotic hyperglycinemia. *Hum Mutat*. 27:343-52, 2006.

7) Sato K, Kanno J, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S. De novo and salvage pathways of DNA synthesis in primary cultured neural stem cells. *Brain Res*. 1071:24-33, 2006.

8) Sakamoto O, Ohura T, Matsubara Y, Takayanagi M, Tsuchiya S. Mutation and haplotype analyses of the MUT gene in Japanese patients with methylmalonic acidemia. *J Hum Genet*. 52:48-55, 2007

9) Narumi Y, Aoki Y, Tetsuya Niihori T, Giovanni Neri G, Cavé H, Verloes A, Nava C, Kavamura MI, Okamoto N, Kurosawa K, Hennekam RCM, Wilson LC, Gillessen-Kaesbach G, Wieczorek D, Lapunzina P, Ohashi H, Makita Y, Kondo I, Tsuchiya S, Ito E, Sameshima K, Kato K, Kure S, Matsubara Y. Molecular and Clinical Characterization of Cardio-facio-cutaneous (CFC) syndrome: Overlapping Clinical Manifestations with Costello Syndrome, *Am J Med Genet* (in press)

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

新しい新生児マススクリーニングで発見される疾患に 関する小児慢性特定疾患治療研究事業での登録状況

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」（以下、MS）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 15 疾患 558 人等に関して、現段階での実態を把握しようと試みた。チロジン血症、アルギニノコハク酸尿症以外の疾患は、診断に必要な精密検査が比較的多く実施されており、MS が普及する前の患児がどのような経過であるか現状の一端を把握できた。

見出し語：

新生児マススクリーニング、タンデム質量分析、先天性代謝異常、小児慢性特定疾患治療研究事業

研究協力者

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
顧 艶紅 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

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

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（以下、MS）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、一昨年度は、MS によって発見される疾患の中で小児慢性特定疾患治療研究事業（以下、小慢事業）の対象疾患に関して、平成 10～15 年度小慢事業の電子データを用いて症状や経過等を解析し、また、昨年度は患児の実態を把握する目的で質問紙調査を行った。

小慢事業は 17 年度に法制化されて登録状況が改善された。また、国立成育医療センター研究所のサーバーを利活用することにより、小慢事業の電子データを縦断的に蓄積して、入力時の重複症例などコンピュータ入力ミス

を発見して解決したり、小慢事業に継続登録されなくなった患児の転帰を調査できる体制が整いつつある。そこで、今年度は、それらを利活用して、「新しい新生児マススクリーニング対象疾患の手引き」¹⁾ に載っている先天性代謝異常 15 疾患等に関して、精密検査の実施状況等の実態を把握することを試みた。

B. 対象

10～17 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、19 年 1 月までにコンピュータソフト（電子データ）により、延べ 839,478 人分の事業報告があった²⁾。

10～15 年度は全ての実施主体からの報告であったが、16 年度は 95 か所中 87 か所から、17 年度は 99 か所中 47 か所からのみの報告であった。それらのうち先天性代謝異常児の延べ 48,962 人分を対象とした。

C. 方法

国立成育医療センター研究所のサーバー内に蓄積されている小慢事業のデータベースを基に登録数、及びMSや精密検査の実施状況を集計解析した。

また、15 年度小慢事業に登録されたが 16 年度に非継続となった先天性代謝異常児 848 人に関して、15 年度に医療意見書を作成した医療機関宛に患児の経過に関する質問紙調査を行った。資料を研究に使用することに対して

同意を患児・家族から得ている小慢事業の登録患児のデータを解析した。なお、15年度の先天性代謝異常の非同意率は4.0%であった³⁾。

以上の結果と昨年度までの結果とを比較検討して、総合的に小慢事業から何が判明できるか考察した。

D. 結果

1, 小慢事業での登録数

「新しい新生児マススクリーニング対象疾患の手引き」¹⁾に記載している先天性代謝異常のうち小慢事業での対象疾患と、その登録人数(10~17年度に一回以上登録された患児数)、及び、その登録延べ数(10~17年度に登録された医療意見書の全数)を表1に示す。15疾患の合計登録人数は558人、延べ人数は1360人であった。

16年度までは10疾患が対象であった。17年度に追加された5疾患は、47/99の実施主体からの報告であったため、各疾患1~5人のみの登録であった。

17年度以降は、16年度対象疾患のうちグルタル酸尿症はI型(E72.3A)とII型(E72.3F)、チロジン血症はI型(E70.2E)とII型(E70.2C)とIII型(E70.2D)を区別して登録している。

17年度の登録では、グルタル酸尿症はI型4名のみであり、チロジン血症はいなかった。

2, マススクリーニングや精密検査の実施状況

以下の結果は18年12月までの報告症例の解析であり、表1より症例数が若干少ない。

メチルマロン酸尿症138人(一昨年度の報告人数は119人、以下同様)に関しては、119人が尿の有機酸分析を実施し、このうち14人が酵素活性測定と遺伝子解析両者を実施し、33人が酵素活性測定を、また別の6人が遺伝子解析を実施、との記載が見られた。尿の有機酸分析の実施状況が不明の19人のうち5人は酵素活性を測定し、8人は酵素活性測定と遺伝子解析ともに未実施、残りの6人は両者とも実施状況が不明であった。MSで発見との記載の見られた3人中2人は酵素活性を測定し、1人は3者とも未実施との記載であった。以上、124人(89.9%)に何らかの精密検査を実施した記載が見られた。

表1 新しい新生児マススクリーニング対象疾患に関する小慢事業での登録人数

平成16年度までの対象疾患名 (小慢事業によるICD10): 登録人数、延べ人数	
1) MMA尿症(E71.1H):	147人 400人
2) シトルリン血症(E72.2D):	118 243
3) プロピオン酸血症(E71.1F):	65 175
4) チロジン血症(E70.2B):	60 146
5) グルタル酸尿症(E72.3A):	44 117
6) CPT欠損症(E71.3C):	33 76
7) MCD(E88.8P):	27 57
8) ASA尿症(E72.2B):	26 70
9) イソ吉草酸血症(E71.1A):	17 42
10) 高アルギニン血症(E72.2A):	11 24
平成17年度以降追加された対象疾患名 (小慢事業によるICD10): 登録人数	
11) MCAD欠損症(E71.4A):	5人
12) VLCAD欠損症(E71.4C):	2
13) TFP欠損症(E71.4D):	1
14) TRANS欠損症(E71.4E):	1
15) HMG尿症(E71.1J):	1
合計:	登録人数558人、延べ人数1360人

略字: MMA=メチルマロン酸、CPT=カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ、MCD=複合カルボキシル欠損症、ASA=アルギニコホル酸、MCAD=中鎖アシルCoA脱水素酵素、VLCAD=極長鎖アシルCoA脱水素酵素、TFP=三頭酵素、TRANS=カルニチンアシルカルニチン転移素酵素、HMG=3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸

シトルリン血症(昨年度の調査によれば半数以上はシトルリン血症II型、すなわちシトルリン欠損症)102人(一昨年度、52人)に関しては、酵素活性測定と遺伝子解析ともに実施されていたのは14人、前者のみ実施が7人、後者のみが57人であった。両者とも未実施が18人、実施状況が不明は6人であった。MSで発見された29人中、23人は遺伝子解析が行われ、別の3人は酵素活性が測定されていた。以上、78人(76.5%)に精密検査の記載が見られた。

チロジン血症60人(一昨年度、50人)に関しては、17人が尿の有機酸を分析し、このうち4人が酵素活性測定を、また別の3人が遺伝子解析を実施していた。尿の有機酸の分析

状況が不明の 43 人のうち酵素活性測定または遺伝子解析を実施していたのは 3 人のみで、28 人は酵素活性測定と遺伝子解析ともに未実施、残りの 12 人は両者とも実施状況が不明であった。MS で発見との記載の見られた 11 人中、尿の有機酸を分析していたのは 2 人のみで、そのうち 1 人は遺伝子を解析していた。しかし、残りの 9 人は 3 者とも未実施または実施状況が不明であった。以上、20 人 (33.3%) に精密検査の記載が見られた。

プロピオン酸血症 57 人 (一昨年度、43 人) に関しては、39 人が尿の有機酸を分析し、このうち 12 人が酵素活性測定と遺伝子解析両者を実施し、9 人が酵素活性測定を、また別の 2 人が遺伝子解析を実施していた。尿の有機酸の分析状況が不明の 18 人のうち 8 人は酵素活性を測定し、4 人は酵素活性測定と遺伝子解析ともに未実施、残りの 6 人は両者とも実施状況が不明であった。MS で発見との記載の見られた 10 人中 6 人は酵素活性測定と遺伝子解析を実施し、2 人は尿の有機酸を分析し、2 人は 3 者とも実施状況が不明であった。以上、47 人 (82.5%) に精密検査の記載が見られた。

グルタル酸尿症 44 人 (一昨年度、36 人) に関しては、34 人が尿の有機酸を分析し、このうち 5 人が酵素活性測定と遺伝子解析両者を実施し、10 人が酵素活性測定を、また別の 3 人が遺伝子解析を実施していた。尿の有機酸の分析状況が不明の 10 人のうち 2 人は酵素活性を測定し、4 人は酵素活性測定と遺伝子解析ともに未実施、残りの 4 人は両者とも実施状況が不明であった。MS で発見との記載の見られた 5 人中 4 人は尿の有機酸分析と酵素活性測定を実施し、1 人は両者とも未実施であった。以上、36 人 (81.8%) に精密検査の記載が見られた。

カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症 30 人 (一昨年度、21 人) に関しては、酵素活性測定と遺伝子解析ともに実施されていたのは 10 人、前者のみ実施が 12 人、後者のみが 2 人であった。両者とも未実施が 3 人、実施状況が不明は 3 人であった。MS で発見との記載はなかった。以上、24 人 (80.0%) に精密検査の記載が見られた。

複合カルボキシラーゼ欠損症 26 人に関しては、尿の有機酸分析と遺伝子解析ともに実施されていたのは 9 人、前者のみ実施が 4 人、

後者のみが 6 人であった。前者が未実施、後者が不明は 5 人、両者とも未実施が 2 人であった。MS で発見との記載はなかった。以上、19 人 (73.1%) に精密検査の記載が見られた。

アルギニノコハク酸尿症 25 人 (一昨年度、20 人) に関しては、酵素活性測定と遺伝子解析ともに実施されていたのは 3 人、前者のみ実施が 7 人であった。両者とも未実施との記載は 9 人いたが、このうち 6 人は単年度のみ登録であった。また、別の 6 人は実施状況が不明であった。MS で発見との記載が見られた 3 人は全例が酵素活性を測定していた。以上、10 人 (40%) に精密検査の記載が見られた。

イソ吉草酸血症 16 人 (一昨年度、10 人) に関しては、13 人が尿の有機酸を分析し、このうち 4 人が酵素活性測定を、また別の 1 人が遺伝子解析を実施していた。尿の有機酸の分析状況が不明の 3 人のうち 1 人は酵素活性測定と遺伝子解析ともに未実施、残りの 2 人は両者とも実施状況が不明であった。MS で発見との記載はなかった。以上、13 人 (81.3%) に精密検査の記載が見られた。

高アルギニン血症 11 人 (一昨年度、10 人) に関しては、酵素活性測定と遺伝子解析ともに実施されていたのは 3 人、前者のみ実施が 3 人であった。両者共に未実施の 1 人は MS で発見との記載が見られた。4 人は実施状況が不明であった。以上、6 人 (54.5%) に精密検査の記載が見られた。

以上、電子データでの登録数は一昨年度の報告時より増え、また、MS で発見との記載数は、シトルリン血症が 14 人から 29 人に、チロジン血症が 8 人から 11 人に、プロピオン酸血症が 6 人から 10 人に、グルタル酸尿症が 1 人から 5 人に増加していた。

3. 非継続症例の経過

非継続症例に関する返送数は 457 通 (回収率 53.9%)、有効回答は 271 人 (有効回答率 32.0%) であった。このうち MS 対象疾患は 5 人であった。

その 5 人の内訳は、現在、国立大学在学中で年齢制限のため小慢事業の対象外になったチロジン血症 1 人、医療現場では小慢事業に登録されていて経過は改善または不変のプロピオン酸血症 1 人とシトルリン血症 1 人、そ

して死亡したグルタル酸尿症 2 人であった。

その死亡した 2 人は共に、MS 以外で発見された症例で、「呼吸器感染の反復、原疾患の進行、出血性ショックで死亡」した 1 歳児と、「当日夕方まで著変なく、その後急変して永眠」した 3 歳児であった。また、高グリシン血症は予後不良のため MS 対象外疾患であるが、この疾患での死亡も 1 人報告された。

E. 考察

今後、MS 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状況か、小慢事業の登録内容をまとめた。シトルリン血症は 2 型としてシトリン血症が、またチロジン血症はⅡ型とⅢ型が含まれるため、登録人数が比較的多かった。

チロジン血症、アルギニノコハク酸尿症以外の疾患は、診断に必要な精密検査が比較的多く実施されていた。未実施、または実施状況が不明な患児の多くは単年度のみ登録が比較的多く、記載ミスや漏れ、または診断名の変更、死亡などのケースと考えられる。

チロジン血症は、昨年度の質問紙調査で回収率が最も低く、返送された症例では進行性家族性胆汁うっ滞症、シトルリン血症 2 型との病名変更がみられた。今回の解析では精密検査の実施率が低く、一部は別病名での登録の可能性もある。17 年度以降は、グルタル酸尿症と同様、型を区別して登録しているため、今後の正確な登録に期待したい。

昨年度の質問紙調査では、比較的詳細な患児の状況を把握できたが、今回の非継続症例の経過調査は、中央の電子データとして登録されなくなった症例のみの調査であるため、より効果的効率的に死亡、継続登録ミスなどの把握が可能であった。個人情報保護に配慮して、中央では、患児氏名やカルテ番号が不明のため、患児数の多い医療機関ではカルテを引き出せず今年度は有効回答率が低かったが、来年度以降は生年月日が中央で把握可能となるため、有効回答率の向上が期待される。

小慢事業は、17 年度以降、脂肪酸β酸化異常症など一部の MS 対象疾患が対象として追加され、また、比較的重症な各種の先天性代謝異常症に関して全国的な登録を毎年実施しており、その電子データは短時間で解析可能である。今後も小慢事業を継続することによ

り、より正確な実態が把握されるので、新技術による新生児マススクリーニングの有用性を判定するのに役立つと考えられる。

また、国立成育医療センターのホームページでは、15 年度以降の小慢事業において全国で登録された全疾患の登録人数、及び全国で 10 人以上登録された疾患の男女別、年齢別、経過別等の登録人数を公開しているため、患児家族への情報提供になることが期待される。

F. 結論

平成 17 年度以降の小慢事業では、チロジン血症とグルタル酸尿症は型を区別して登録され、また、脂肪酸β酸化異常症など一部の MS 対象疾患が追加され、そして、比較的重症な各種の先天性代謝異常症に関して全国的な登録が毎年実施されているため、今後、MS が全国的に普及した場合にその有効性を検証できると期待される。

資料

1) 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：付録 151、2005

2) 平成 18 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、2007

3) 加藤忠明、榊村智美他：平成 15 年度小児慢性特定疾患治療研究事業の全国登録状況、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：8～26、2006

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

島根大学で診断した有機酸・脂肪酸代謝異常の自然歴の検討

研究要旨

有機酸代謝異常症や脂肪酸代謝異常症の自然歴を明らかにし、タンデムマスによる新生児スクリーニング対象疾患の早期発見効果について検討した。特に実際に発症した症例において新生児期に診断が可能であったかを発症・障害予防の観点から後方視的に解析した。2006年には島根大学で28症例を新規に診断した。内訳は有機酸代謝異常症23症例、脂肪酸代謝異常症5症例、未発症で発見された症例がそれぞれ4例と2例であった。1995年以降2006年までの12年間の診断総数は計319症例で、ハイリスクスクリーニングとして検査依頼された検体の約3%に先天代謝異常が発見された。2001年以降に診断され予後が明らかな症例について解析し、次の所見を得た。1) 有機酸代謝異常症：新生児期発症がおよそ半数をしめ、その半数が死亡する。乳児期後期の発症では生命予後は良好だが、障害を残す症例が多い。2) 脂肪酸代謝異常症：乳児期以降の発症がおよそ8割であり、特に感染時などの急性脳症様発症と、学童期以降の骨格筋症状による発症が多い。一般に生命予後は良好だが、急性脳症様発症例では後遺症を残す症例が少なくない。3) 新生児期ろ紙血を用いた後方視的アシルカルニチン分析：乳児期以降に発症した症例の12例中10例が新生児ろ紙血で既に異常を呈しており、発症前に診断が可能であった。以上より、乳幼児期以降に発症する症例の多くではタンデムマスによる新生児マススクリーニングで発見される可能性があり、発症前診断による発症予防／障害予防が強く期待される。

研究協力者

長谷川有紀、小林弘典、遠藤充、内田由里、高橋あんず、山口清次（島根大学小児科）

A. 研究目的

タンデムマスによる新生児マススクリーニングの対象疾患を設定し、スクリーニングの効果を評価する上で、有機酸・脂肪酸代謝異常症の自然歴を明らかにすることが重要である。2006年に新たに当科で診断した症例を含めた先天代謝異常症例の自然歴を検討し、さらに発症時と新生児期のろ紙血によるタンデムマス分析の結果を比較することで、タンデムマススクリーニングの発症予防の効果について分析した。

B. 研究方法

1) 先天代謝異常症の頻度

1995年1月から2006年12月に島根大学でGC/MSとタンデムマス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、我が国における頻度を検討した。

2) 有機酸代謝異常症

2001年1月から2006年12月に当科で診断され、2006年末時点で予後の明らかな症例について各疾患の発症時期と初発症状、および予後について検討した。

3) 脂肪酸代謝異常症

同時期に診断された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・脂肪酸代謝異常症例で、新生児期のろ紙血が入手できた 12 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検討した。

C. 研究結果

1) 先天代謝異常症の発見頻度

1995 年 1 月から 2006 年 12 月までに当科に質量分析による診断依頼のあった検体数は国内から計 11,446 例で、うち 347 例 (3.0%) に何らかの疾患が発見された。

有機酸代謝異常症は 270 症例が発見され、内訳はメチルマロン酸血症 107 例 (37%)、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 59 例 (22%) と、この 2 疾患で有機酸代謝異常症の半数以上を占めており、以下プロピオン酸血症 38 例 (14%)、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症 19 例 (7%) と続いた。

脂肪酸代謝異常症はタンデムマス導入以後、診断数が増加しており、全 25 症例中 15 症例が 2005-06 年に診断された。疾患の内訳は極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症が 7 例と最も多く、中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症、カルニチン欠乏症と続いた。

その他にタンデムマスの結果からシトリン欠損症が疑われ、最終的に遺伝子診断により確定された症例も 2 例認められるなど、タンデムマス導入前と比べ、診断疾患の内訳に変化が認められた。

2) 有機酸代謝異常症の発症形態と予後

(図 1, 2)

2001 年から 2006 年に診断され、発症時期および初発症状が明らかでない 97 症例を検討した。新生児発症は 43 症例 (44%) で、うち 38 症例が日齢 7 の早期新生児期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。尿素サイクル異常症とアルカプトン尿症を除く疾患では 1 歳までにほとんどの症例が発症しており、乳児期の初発症状は感染時の間欠的発作や急性脳症、または発達遅滞などでの発症へ変化した。

尿素サイクル異常症では幼児期以降の発症も多く、突然に意識障害をきたす急性脳症様の発症や感染時に反復する嘔吐発作で気づかれた症例もあった。アルカプトン尿症はいずれも 50 歳代以降に関節痛やアキレス腱断裂を契機に発見されていた。

97 症例のうち 91 症例で予後が明らかであった。新生児期発症例では過半数が死亡しており、正常発達は 41 症例中 4 例のみであった。1 か月以降の遅発例では死亡率は減少し、正常発達が 13 症例と増加するが、後遺症を残す症例が過半数を占めた。

その他、タンデムマススクリーニングなどで未発症のうちに発見された症例が今年新たに 4 症例 (メチルマロン酸血症 1 例、メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症 2 例、イソ吉草酸血症 1 例) あり、計 9 例となった。食事治療やカルニチン投与、あるいは無治療で経過を確認しているが、いずれも現在まで無症状で正常発達を獲得している。

3) 脂肪酸代謝異常症の発症形態と予後 (図 3)

2001-06 年に診断された症例は 34 症例であった。生後 1 か月までに発症した症例は 8 症例で、グルタル酸尿症 2 型がそのうちの 5 症例であった。いずれも哺乳障害や嘔吐など非特異的な症状で発症していた。乳幼児期は感染時の急性脳症様発症が多くを占め、学童期以降は骨格筋症状での発症が増加した。カルニチン欠乏症の 1 例は学童期でも急性脳症様に発症していた。

予後については、乳児期以降の発症例 23 症例中、正常発達が 14 例で過半数を占めてはいたが、死亡が 5 症例、後遺症を残した症例も 4 例認められた。

タンデムマスにより未発症で発見された症例は 3 例で、これらはいずれも未発症で正常発達を獲得している。

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 (表 1)

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

た計 12 症例（有機酸代謝異常症 4 症例、脂肪酸代謝異常症 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。軽症型のメチルマロン酸血症 2 例を除く 10 症例で新生児期のろ紙血で既になんらかの異常が認められ、発症前診断が可能であった。

D. 考察と結論

島根大学へ送られたハイリスクスクリーニングの依頼検体数は 2006 年には延べ 1,990 検体と前年のほぼ 2 倍と急速に増加した。これは有機酸・脂肪酸代謝異常症に対する認識が一般小児科領域に浸透したことを示すものと考えられた。母数が増加したため 2006 年の疾患発見率は 1.4%であった。しかし 1995 年以降の総数では代謝異常症を疑わせる症状をもつハイリスク患者の約 3%に有機酸・脂肪酸代謝異常症が発見された。

有機酸代謝異常症の自然歴については以下のことが明らかとなった。

- ア) 発症時期：新生児期発症が全体のおよそ半数をしめ、1 歳までにほとんどの患者が発症する。ただし尿素サイクル異常症では幼児期以降にも 1/3 の患者が発症する。
- イ) 初発症状：新生児期発症では哺乳不良や嘔吐、意識障害など非特異的な症状で急性発症する。乳児期以降では感染を契機とする急性脳症や間欠発作、発達遅滞・退行で発見される症例が多い。
- ウ) 生命予後：新生児期発症例では過半数が死亡し、予後はきわめて不良である。乳幼児以降では、障害を残すものの生命予後は一般に良好で正常の発育を示す症例もみられた。ただし尿素サイクル異常症は乳幼児期以降でも死亡例は少なくない。
- エ) 未発症例：同胞発症のためにスクリーニングされたり新生児マススクリーニングによって発見された 9 症例は、いずれも未発症のまま、現在良好な発達を獲得している。これらが実際に発症する群と同じなのかどうかは今後の長期にわたる観察が必要である。

疾患別にみると、メチルマロン酸血症では発症後早期の腹膜/血液透析導入や生体肝移植などの治療により、2000 年以前に比べ生命予後は改善傾向が認められた。尿素サイクル異常症、特に OTC 欠損症は成人男性において突然の意識障害で発症し、診断に至るまでに亡くなった症例があった。肝機能障害の程度に見合わない高アンモニア血症を認めた場合には常に本疾患を念頭にき、早期の集中治療を行うことが予後の改善に役立つものと思われた。

脂肪酸代謝異常症の自然歴は次のようなことが明らかとなった。

ア) 発症時期：新生児期発症は全体の 2 割程度で、乳幼児期以降の発症が 8 割と多数であった。今回の検討では学童期以降の発症は今回 3 例のみであった。しかし 50 歳を超えて診断された症例では 40 歳代から反復する横紋筋融解症を生じており、このような成人例がまだ診断されないまま存在する可能性がある。今後さらに症例の発見が増加すると考えられる。

イ) 初発症状：新生児期発症では有機酸代謝異常症と同様に無呼吸発作や哺乳力低下などの非特異的な症状での発症を示す。しかし乳幼児期になると患者のほとんどが感染などに伴う急性脳症様の症状で発症し、学童期以降は骨格筋症状が主となるなど、時期によって症状が明確に分かれた。これまでの報告でも述べたように、急性脳症様に発症する乳幼児期例は乳幼児突然死症候群（SIDS）や乳幼児突発性危急事態（ALTE）の好発年齢に重なっており、これらの一部に脂肪酸代謝異常症が関係していることが示唆される。SIDS や ALTE の背景疾患の有無について、代謝異常症の鑑別が重要である。

ウ) 予後：新生児期発症例は予後不良である。乳幼児期以降の発症では生命予後は一般に良好だが、急性脳症の後遺症を残す例が少なくない。また骨格筋症状を呈する症例では知的予後は良好だが、日常生活で制限の必要な場合があり、QOL を保つ上で発症予防が重要である。

エ) 未発症例：3 例が新生児スクリーニングで

発見され、いずれも正常発育を獲得している。タンデムマス・マススクリーニングの評価のためにも今後、特に感染時などに異常を生じないか、注意深いフォローが必要である。

最後に 2005 年から、発症してから診断された患者の新生児期のろ紙血分析を後方視的に行い、発症予防への評価を検討したところ、12 症例中 11 症例で新生児血液ろ紙に何らかの異常がみられた。ただし CPT2 欠損症の 2 例はアシルカルニチンの値そのものでは診断は困難で、アシルカルニチンの比が判断に有用であった。これは今後 CPT2 欠損症をスクリーニング対象疾患とする上で注意すべき示唆に富む所見である。これらの症例のほとんどが発症前まで正常発達を示しており、発症しなければ死亡や後遺症が避けられたと判断された。この結果は乳幼児期以降に発症する疾患に対して、タンデムマススクリーニングによる早期診断が発症・障害予防に有効であることを強く期待させる。

E. 研究発表

1. 論文発表

1) 長谷川有紀、山口清次：有機酸・脂肪酸代謝異常症 -発症形態と予後-。小児科診療 2006；69：1661-7

2. 学会発表

1) Hasegawa Y, Kobayashi H, Endo M, Purevsuren J, Yang YL, Verma IC, Nguyen TL, Yamaguchi S: Experience of High-risk Screening for Inborn metabolic disease by GC/MS and Tandem MS Using Dried Urine and/or Blood Filter Papers Transported from Asian Countries. The 6th meeting of International society of neonatal screening. Hyogo, 2006

2) Yotsumoto Y, Hasegawa Y, Kobayashi H, Hirose S, Fukao T, Yamaguchi S: Clinical and molecular study

of 13 Japanese children with glutaric aciduria type 2. The 10th International congress of inborn errors of metabolism, Chiba, 2006

3) Purevsuren P, Hasegawa Y, Kobayashi H, Endo M, Yamaguchi S: Metabolic screening of children with influenza-associated encephalopathy by organic acid analysis using GC/MS. The 6th meeting of International society of neonatal screening. Hyogo, 2006

4) Endo M, Hasegawa Y, Kobayashi H, Yamaguchi S: Retrospective tandem MS analysis of newborn blood spots from patients with organic and fatty acid disorders who became symptomatic and diagnosed in infancy or childhood. The 6th meeting of International society of neonatal screening. Hyogo, 2006

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

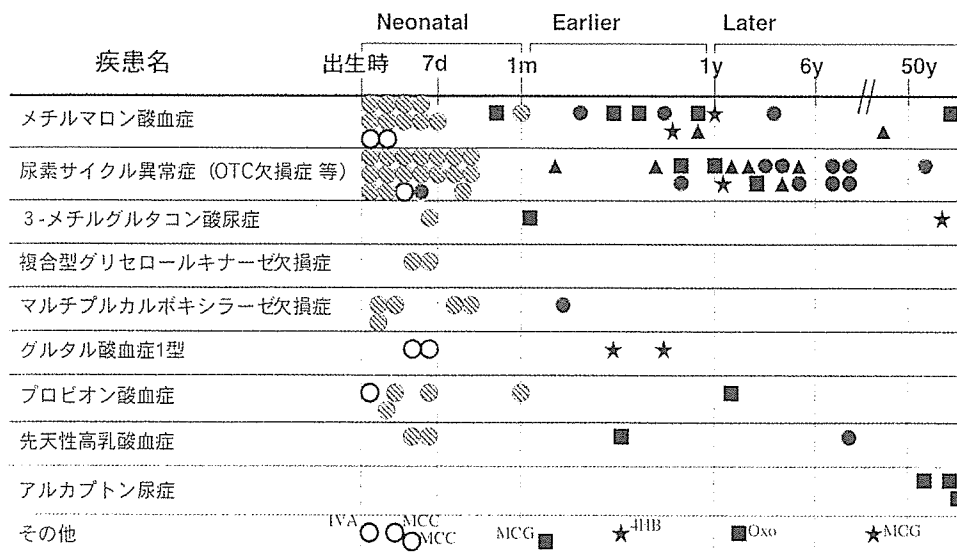


図 1. 有機酸・脂肪酸代謝異常症の発症時期と初発症状（島根大学小児科 2001-06 年）

- ◎ : 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
- : 未発症（タンデムマス陽性を含む）

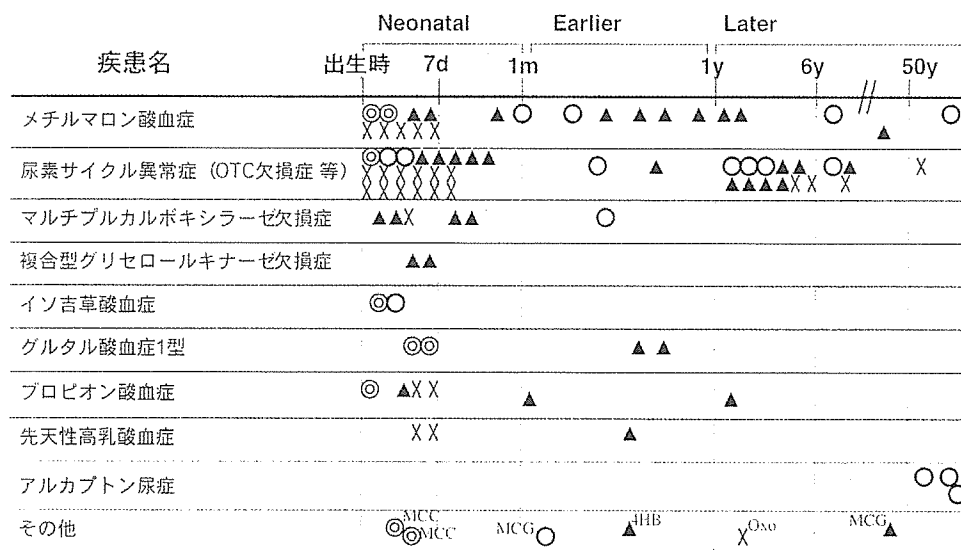


図 2. 有機酸代謝異常症の発症時期と予後（島根大学小児科 2001-06 年）

- : 正常発達
- ▲ : 発達障害
- × : 死亡
- ◎ : 未発症

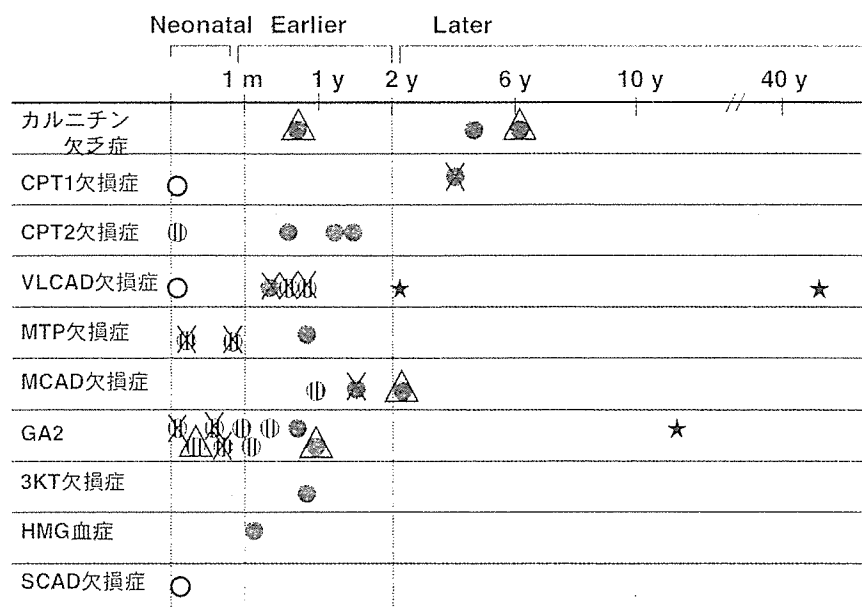


図 3. 脂肪酸代謝異常症の発症時期と初発症状、予後（島根大学小児科 2001-06 年）

- ① : 非特異症状
- : 急性脳症
- ★ : 骨格筋症状
- : 未発症（タンデムマス陽性）
- 外枠（予後）
- △ : 後遺症あり
- × : 死亡

疾患	発症 年齢	アシルカルニチンの異常		
		発症時		新生児期
1) プロピオン酸血症	1m	C0 C3, C3/C2	低値 高値	○ ○
2) プロピオン酸血症	1y6m	C3, C3/C2	高値	○
3) マルチフルカルボキシラーゼ欠損症	4m	C3 C3/C2, C5-OH	高値 高値	× ○
4) CPT-2欠損症	5m	C0 C16, C18 C16+C18/C0	低値 高値 高値	× × ○
5) VLCAD欠損症	3m	C0 C14:1	低値 高値	× ○
6) MTP欠損症	3m	C16-OH, C18-OH	高値	○
7) MCAD欠損症	1y8m	C8, C10, C10:1	高値	○
8) メチルマロン酸血症	7m	C3, C3/C2	正常	正常
9) グルタル酸血症2型	4m	C8, C10, C12, C14 C12:1, C14:1	高値 高値	○ ○
10) CPT-2欠損症	1y2m	C0 C16, C18 C16+C18/C0 C18:1+C16/C2	低値 高値 高値 高値	× × × ○
11) MTP欠損症	9m	C14:1, C14:1-OH C16-OH, C18-OH	高値 高値	○ ○
12) HMG血症	3m	C5-OH	高値	○

表 1. 乳児期以降に発症した症例における新生児期のアシルカルニチン分析

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

HPLCによる有機酸脂肪酸代謝異常症の酵素診断系の確立

研究要旨

タンデム型質量分析計によるアシルカルニチン分析はスクリーニングには絶大な力を発揮するが、確定診断はできない欠点をもつ。それを補うために、臨床応用可能なHPLCによる酵素診断系の確立を目指し、現在9種の酵素診断系を確立した。この結果、タンデム型質量分析計によるスクリーニングで、発見される疾患の3分の2程度が診断可能となった。さらに、5種の酵素診断法を追加確立し、主要な疾患は確定診断可能としたい。タンデム型質量分析計による有機酸脂肪酸代謝異常症のマススクリーニングに、これらの診断法を組み合わせれば、スクリーニング後の確定診断が円滑に運営できると考える。

研究協力者

佐倉伸夫（重症心身障害児施設 鈴が峰
病院長）

但馬 剛（広島大学大学院助手）

A. 研究目的

乳児突然死（SID）と脂肪酸代謝異常症との関連が証明され、欧米ではタンデム型質量分析計（MS/MS）による脂肪酸代謝異常症のスクリーニングにより、SIDの防止が可能とされ、本スクリーニングが欧米各国で広く採用されている。

本邦では、過去にMS/MSでのスクリーニングの体系的報告はなく、SIDの防止に有効か否か、さらには脂肪酸代謝異常症患者が存在するのかわかさえも明らかではなかった。しかし、1999年より福井県、広島県、徳島県が協力し、新生児スクリーニング（NBS）を実施し、脂肪酸代謝異常症を含め、1万人弱に一人の頻度で、発症前に患者が発見されるようになった。その結果、本邦でもMS/MSでのNBSが有用であると考えられるようになった。

本研究では、NBS後に必要不可欠な確定診断法として、HPLCを用いた脂肪酸有機酸代謝異常症の酵素診断法を確立し、発見されるほとんどすべ

ての疾患を診断できる体制を構築することを目的とした。

B. 研究方法

スクリーニングは迅速を旨とするので、培養に時間を要する線維芽細胞ではなく、末梢リンパ球そのものを酵素源とした。採血から、約1時間で測定可能である。酵素活性測定条件の検討から、細胞数は最大 2×10^6 個必要で、採血量は5ないし6mlでまかなえ、新生児でも十分対応できる量である。

酵素活性測定の基質は、主としてアシル CoAを用い、その他に活性発現に必要なNAD,FAD,ATP,PMS、ferroceniumなどを添加した。反応温度は37°C、反応時間は、最短5分、最長60分であった。反応停止は、過塩素酸を使用し、極長鎖脂肪酸脱水素酵素活性測定のみにはアセトニトリルを用いた。

反応停止後、除蛋白し、上清をHPLCで分析し、紫外線吸光度計（波長260nm）で反応産物を定量し、反応産物量から、酵素活性を算出した。HPLCはODSカラムを用いる逆相クロマトグラフィで、反応産物を分離定性定量した。移動相はリン酸緩衝液（0.1M, pH2.5~4）を基本とし、

メタノール、アセトニトリルなどの有機溶媒で泳動時間を調節した。

C. 研究結果

この HPLC 法で、酵素活性測定可能となったのは、有機酸代謝異常症のメチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、イソ吉草酸血症、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸尿症、3-メチルクロトニルグリシン尿症、楓糖尿症の6種、脂肪酸代謝異常症の中鎖脂肪酸脱水素酵素欠損症、極長鎖脂肪酸脱水素酵素欠損症、グルタル酸尿症1型の3種、計9種である。

1. 有機酸代謝異常症

1. メチルマロン酸血症 (MMA)

本疾患は MS/MS スクリーニングでは感度に問題があると考えられており、またプロピオン酸血症と共通の指標を用いるため、他の検査法による両者の鑑別を必要とする。検討症例 39 例中 24 例で酵素活性の明らかな低下を認めたが、これらのうち少なくとも 15 例は典型的な有症状例であった。NBS 陽性は 4 例あり、うち 2 例で酵素活性が低下していた。正常活性を示した症例がビタミン B₁₂ 反応型 MMA である可能性は否定できない。この点については、ビタミン B₁₂ を実際に投与して、臨床症状や尿中メチルマロン酸・メチルクエン酸排泄の改善効果を観察しながら判断することになる。これまでの検討症例中では、3 例がビタミン B₁₂ 反応型 MMA と判定されている。

このように、典型例以外の MMA の確定診断は難しい問題を抱えており、今後の課題である。

2. プロピオン酸血症 (PA)

これまでに陽性 15 例（うち 3 例は尿有機酸スクリーニング）中 13 例で酵素活性低下を認め PA と診断した。いずれも尿中メチルクエン酸の増加が確認されている。13 例中 11 例は無症状で経過しており、他の 2 例では発達遅延を認めるが、代謝不全によるアシドーシス発作は、1 例で 1 回見られただけとなっている。これらの症例は現在、「軽症型 PA」と呼ばれるようになっており、これまでに少なくとも 10 例（17 アレル）で、責任

遺伝子のひとつ PCCB に共通変異が見出されている。

PA では尿有機酸分析・酵素活性測定・遺伝子解析とも明瞭な結果が得られやすく、これらを組み合わせれば診断確定は難しくないと考える。

3. イソ吉草酸血症 (IVA)

これまでの診断例は、新生児期に代謝性アシドーシス発作で発症した 3 例のみで、いずれも典型的な尿有機酸プロファイルの異常が認められている。NBS 陽性の精査症例はまだ経験していないが、欧米からは NBS で発見された軽症型と考えられる症例が報告されており、このような症例の確定診断には本酵素活性測定法が特に役立つものと期待される。

4. グルタル酸尿症 I 型 (GA1)

リジン代謝系の ACDH であるグルタリル CoA 脱水素酵素は、グルタリル CoA + ETF → グルタコニル CoA (脱水素反応) → クロトニル CoA (脱炭酸反応) という二段階の反応を触媒する。HPLC 解析では、反応産物と思われる物質のピークがクロトニル CoA 標品と一致せず、この物質を単離して質量分析を行った結果、3-ヒドロキシブチリル CoA と判明した。これは、内因性のエノイル CoA ヒドラターゼがクロトニル CoA に作用することによると考えられる。産物の同定以外にも、本酵素はリンパ球当たりの活性が他酵素よりも相対的に低く、失活しやすい印象であり、測定が難しい酵素である。これまでに発症後精査 4 例中 3 例と、NBS 陽性 3 例全例で活性低下を認めた。NBS 発見症例はいずれも無症状で経過しているが、尿中有機酸の異常は明瞭に認められ、早期発見・治療開始の有効性が示唆される。

5. メープルシロップ尿症 (MSUD)

分鎖枝 α ケト酸脱水素酵素複合体活性の HPLC による測定では、2-ケトイソカプロン酸と CoA の反応で生成したイソバレリル CoA を定量している。古典型 2 例と間欠型 2 例を酵素診断したほか、NBS 陽性でロイシン高値が続く無症状ないし軽症の 7 例を検討し、5 例で明らかな活性低下を認めた。MSUD は本邦では極めて稀と考えられてい

るが、実際には酵素診断・遺伝子診断とも十分になされてきておらず、ロイシン高値例を見た場合には、無症状であっても確定検査を実施することが重要で本法は有用である。

6. 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル (HMG)-CoA リアーゼ欠損症

酵素診断には HMG-CoA を基質として反応させ、生成物であるアセチル CoA を測定する。MS/MS を用いたスクリーニングではまだ患者は発見されていない。

II. 脂肪酸代謝異常症

1. 中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症

MCAD 欠損症は今日、アングロサクソン系を中心とする欧米白人ではフェニルケトン尿症と並んで最も頻度の高い先天代謝異常症であり、予防可能な乳幼児突然死の原因として MS/MS を用いた NBS 推進の原動力となった、代表的な脂肪酸代謝異常症である。一方、非白人症例の報告はまだまだ少数で、本邦でも MS/MS 導入以前には 1 例も診断されていなかった。また、脂肪酸代謝異常症では特徴的な尿中有機酸の排泄も乏しいため、MS/MS でスクリーニングし酵素活性を測定するのが、迅速な確定診断に最も有効である。これまでに有症状精査 6 例中 3 例と、発症前スクリーニング (NBS または同胞精査) 7 例中 4 例の酵素活性低下を確認している。本法は、我々の各種酵素活性測定法の中でも最も正常者と罹患者の分離が良好で、これまでの結果からは保因者診断にも有用と考えられる。欧米の経験で確立されていると同様、上記国内症例もすべて診断後は無症状で経過しており、一人でも多くの罹患者を発症前に見つけ出すことが望まれる。

2. 極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症

本疾患の国内診断例は近年急速に増加し、今や最も頻度の高い脂肪酸代謝異常症に挙げられる。本疾患の診断における問題点のひとつは、MS/MS スクリーニングにおける偽陽性の多さである。有症状での依頼 22 例中 15 例が正常活性となって

おり、その多くが低血糖症の精査で MS/MS 異常を指摘されている。また、NBS 陽性は今のところ 2 例のみで、いずれも罹患と診断されたが、欧米の最近の報告では NBS でも高い偽陽性率が示唆されている。偽陽性例の除外診断はスクリーニング検査における重要な課題であり、VLCAD 欠損症でも酵素診断法の有用性は非常に高いと言える。

III. 測定法を確立していない酵素欠損症

1. 3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症

3-メチルクロトニル CoA を基質としてプロピオニル CoA カルボキシラーゼと同様の反応系で測定でき、測定法自体は確立しているが、罹患者の診断経験がない。スクリーニング陽性 2 例を測定したが、いずれも正常活性であった。

2. 短鎖アシル CoA 脱水素酵素 (SCAD) 欠損症

ブチリル CoA を PMS 存在下で反応させ生成したクロトニル CoA を定量するが、NBS 陽性かつ尿中有機酸異常も明らかな 2 例について、酵素活性の低下を証明できていない。MCAD 活性による基質の代謝や、GA1 の場合と同じくクロトニル CoA から 3-ヒドロキシブチリル CoA への変換などが影響している可能性があり、改善策を検討中である。

3. アセトアセチル CoA チオラーゼ欠損症

本酵素の活性測定を HPLC 法で実現するに当たっては、基質アセトアセチル CoA と産物アセチル CoA の分離が難題であったが解決し、酵素反応条件の設定を進めている。

4. ホロカルボキシラーゼ欠損症

ビオチニル AMP の検出を HPLC で行うことで、酵素活性測定を検討中。

5. グルターール酸尿症 II 型

長鎖脂肪酸の添加後、HPLC で測定した長鎖アシル CoA への変換率で、ETF 活性を測定する可能性を検討中。

6. CPT I 及び II 欠損症

HPLC で、アシルカルニチンとアシル CoA

を同時測定できる系を検討中。これが可能となれば、酵素活性測定可能であろう。

D. 考察

現行のスクリーニングでの最大の問題点は、確定診断法の整備がなされていないことで、この状況で、MS/MSによる新たなNBSを開始した際、対象となる疾患が希少疾患であるため早期診断に多くの施設が苦慮し、混乱を助長する。それを防ぐには、簡便な確定診断法を整備して、新たなNBSを開始するに如くは無い。HPLCによる酵素診断法は、HPLCさえあれば、どこの施設でも実施可能な簡便な診断法であり、さらにはMS/MSで発見される有機酸脂肪酸代謝異常症の主要な疾患をすべてカバーでき、NBSの確定診断法としては、これに優るものはない有用な方法である。

E. 結論

タンデム型質量分析計による有機酸脂肪酸代謝異常症のマススクリーニングに、HPLCによる酵素診断法を組み合わせれば、スクリーニング後の確定診断が円滑に運営できると考える。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 但馬剛、佐倉伸夫：有機酸分析、アミノ酸検査. 小児科診療 68：938-946, 2005
- 2) 但馬剛、佐倉伸夫、大浦敏博：高速液体クロマトグラフィを用いた迅速酵素診断法. 小児科診療 69(11): 1607-1613, 2006

2. 学会発表

- 1) Go Tajima, Nobuo Sakura, Yutaka Nishimura, Hiroaki Ono, Chiyomi Nakatsune, Miyako Tgawa, Junko Yangawa, Miho Kubota, Chiyoko Yoshii, Mochiyuki Hamakawa, Yuki Hasegawa,

Ikue Hata, Etsuo Naito, Seiji Yamaguchi, Yohsuke Shigematsu: Enzymatic diagnosis of very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency by detecting 2-hexadecenoyl-CoA production using HPLC: A practical confirmatory test for MS/MS-based screening in Japan. The 6th Meeting of the International Society for Neonatal Screening. Awaji, Hyogo & Tokushima, Japan, September 16-19, 2006

- 2) Go Tajima, Nobuo Sakura, Yutaka Nishimura, Hiroaki Ono, Chiyomi Nakatsune, Miyako Tgawa, Junko Yangawa, Miho Kubota, Chiyoko Yoshii, Mochiyuki Hamakawa, Yuki Hasegawa, Ikue Hata, Etsuo Naito, Seiji Yamaguchi, Yohsuke Shigematsu: An HPLC-based enzymatic diagnosis system for MS/MS newborn screening of organic acid and fatty acid disorders conducted in Japan. The 6th Meeting of the International Society for Neonatal Screening. Awaji, Hyogo & Tokushima, Japan, September 16-19, 2006

H. 知的財産権の出願登録状況

該当なし

表1. 本邦で比較的頻度の高い有機酸・脂肪酸代謝異常

疾患名	MS/MS スクリーニング 導入以前の症例数	広島大学小児科での酵素診断 実績（罹患数／依頼数）
有機酸代謝異常症 ⁹⁾		
メチルマロン酸血症	65	27/39
プロピオン酸血症	30	19/22
ホロカルボキシラーゼ合成酵 素欠損症	10	—
イソ吉草酸血症	4	3/3
グルタル酸尿症 I 型	3	6/7
3-メチルグルタコン酸尿症	3	—
グリセロールキナーゼ欠損症	3	—
脂肪酸代謝異常症 ¹⁰⁾		
CPT-II 欠損症	16	—
グルタル酸尿症 II 型	14	—
VLCAD 欠損症	7	9/24
HMG-CoA リアーゼ欠損症	6	1/1
CPT-I 欠損症	5	—
全身性カルニチン欠損症	5	—
β ケトチオラーゼ欠損症	5	—
MCAD 欠損症	0	7/13
SCAD 欠損症	0	—