

Figure.1 Correlation of Phe value between HPLC and Tandem mass

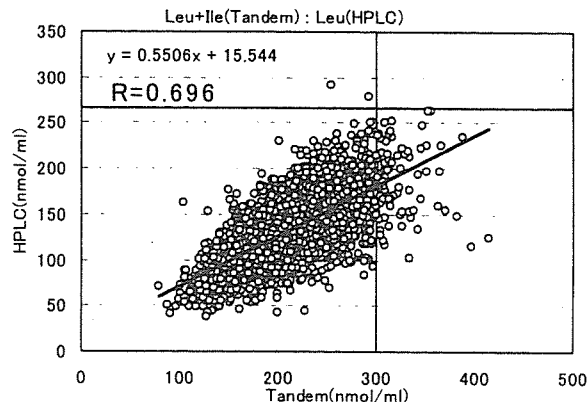


Figure.2 Correlation of Leu value between HPLC and Tandem mass (measured value of Tandem mass is the sum of Leu and Ile)

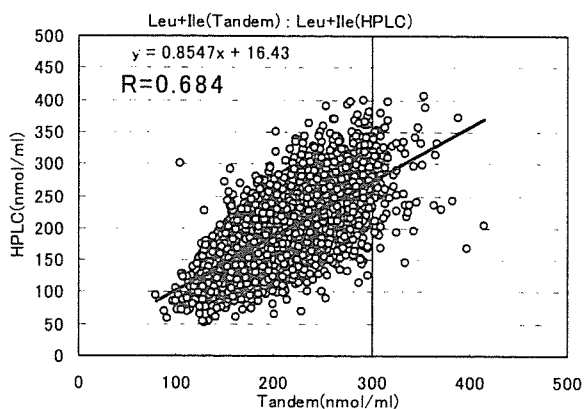


Figure.3 Correlation of the sum of Leu and Ile value between HPLC and Tandem mass

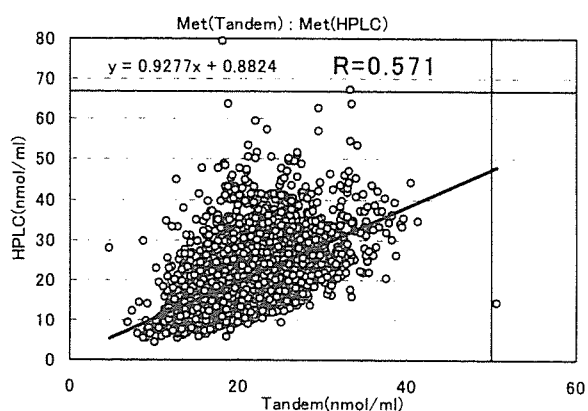


Figure.4 Correlation of Met value between HPLC and Tandem mass

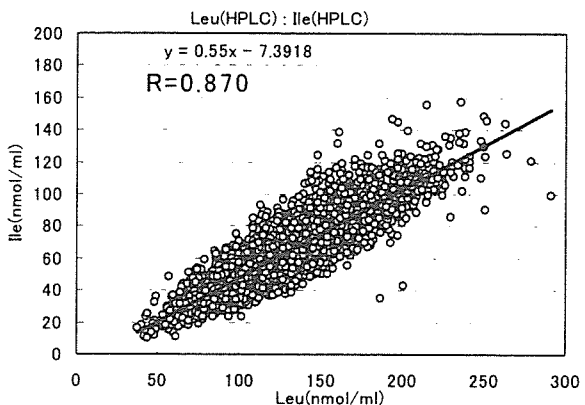


Figure.5 Correlation between the value of Leu and Ile (HPLC)

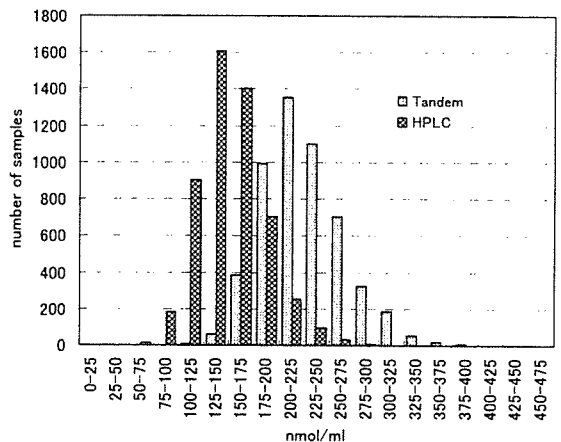


Figure.6 Histogram of the value of Leu (HPLC) and Leu+Ile (Tandem mass)

4) 日内変動, 日間変動
前記調整法と同様の方法で作成したコントロールろ紙血液を用い, 連続 5 回もしくは連

続 5 日の測定結果により変動係数を算出した。
5) HPLC とタンデムマス法の比較
2005 年 4 月から 7 月までに札幌市の先天性

代謝異常等検査を受検した 5,194 例について HPLC とタンデムマス法の二通りの方法で測定を行い、測定値を比較することで行なった

結果

1) 回収試験の結果

コントロールろ紙血液を用いた両法による回収試験結果を表 1 に示す。なお、タンデムマス法では Leu と Ile を別個に定量することができないため、それぞれの回収率を算出するために、希釈系列には Leu, Met, Phe の 3 種を添加したものと Ile, Met, Phe の 3 種を添加したものの二種を用いた。その結果、Phe, Leu, Met に関しては、HPLC とタンデムマス法の間大きな差はなくほぼ回収率が 90~120%であったのに対し、Ile ではタンデムマス法による回収率は、15~17%ときわめて低かった。

2) 日内変動, 日間変動

前述の方法に従いタンデムマス法で 5 回測定することにより得られた定量値の日内変動, 日間変動の結果について表 2 に示す。いずれの濃度領域においても変動係数は 10%以下と安定していた。

3) HPLC とタンデムマス法の比較

通常検体(n=5,194)を用いた Phe, Leu,

Met の両法による測定結果の相関を図 1~図 4 に示す。Leu の相関についてはタンデムマス法では Leu とイソロイシン(Ile)が分別されずに測定されるため、HPLC により得られた Leu の測定値および Leu と Ile の測定値の和のそれぞれと比較を行なった。相関係数は Phe が 0.804, Leu が 0.696(Ile との和の値を用いた場合が 0.684), Met が 0.571 であった。平均値, 標準偏差と合わせて表 3 に示す。また, 図 1~図 4 には両法の相関から求められた直線回帰式と, 実線によって示されている HPLC で使用していたカットオフ値, 並びに検討に際して用いたタンデムマス法のカットオフ値(表 3)を表記した。直線回帰式の傾きは Phe が 1.10, Leu が 0.55(Ile の測定値との和を用いた場合が 0.85), Met が 0.93 であった。なお, 参考までに HPLC により得られた対象検体における Leu と Ile の相関を図 5 に, また, HPLC による Leu 測定値とタンデムマス法による Leu+Ile の測定値のヒストグラムを図 6 に示す。

考察

新生児マス・スクリーニングにおけるアミノ酸代謝異常症 3 疾患の一次検査法は, 古典的で半定量的なガスリー法⁵⁾で開始され, 酵素反応

Table.3 Average value of 3 amino acids using normal samples (n=5,194) (nmol/ml)

Amino acid	Method	average ± SD	cut-off value (+SD)	R*2
Phe	Tandem	49.1 ± 9.4	100 (+5.4 SD)	0.804
	HPLC	60.6 ± 13.1	151.3 (+6.9 SD)	
Leu	Tandem	200.6 ± 40.8 *1	300 (+2.4 SD)	0.696
	HPLC	126.0 ± 32.3	266.7 (+4.4 SD)	
	HPLC (+Ile)	187.9 ± 51.0	—	0.684 *3
Met	Tandem	20.7 ± 4.6	50 (+6.4 SD)	0.571
	HPLC	20.1 ± 7.4	67 (+6.3 SD)	

*1 measured values by tandem mass are the sum of Leu and Ile

*2 means correlation coefficient

*3 in the case using sum of Leu and Ile in HPLC measurement

を応用したマイクロプレート微量ケイ光法⁶⁾の導入で定量化, 自動化がなされ, HPLC⁷⁾の導入で複数のアミノ酸を同時に定量することにより効率化された。そして, 近年になって, アミノ酸だけでなく, 脂肪酸 β 酸化異常症や有機酸血症の指標物質となるアシルカルニチン類も同時に測定することで, マス・スクリーニングの効果を高めているタンデムマス法が欧米を中心に普及し^{8,9)}, 一次検査にもタンデムマス法が用いられるようになってきている。

今回, 札幌市でタンデムマスによる多項目検査の試験研究を開始するにあたって, 一次検査法を, 従来から用いていたHPLCからタンデムマス法に変更するため, 測定値の比較等の基礎検討を行なった。

まず, タンデムマス法における3指標の測定値は, 日内変動, 日間変動とも変動係数は小さく, 私達がHPLC導入時に検討した値¹⁾と比較しても, タンデムマス法は十分再現性の高い検査法であることが示された。

次いで, タンデムマス法における添加回収試験による回収率は, Phe, Leu, Met, とも良好で90~120%の回収率を示し(表1), HPLC回収率と大差なかった。回収率が100%を超える場合があるのは, 通常検体測定用スタンダードによる一点検量線をそのまま用いて高濃度域を測定したことによる誤差であると考えられる。一方, Ileに関しては, HPLCと比較してきわめて回収率が低く(表1), 添加前検体の測定値との差を用いて算出した回収率は15~17%程度であり, タンデムマス法における測定値が単純にLeuとIleの和の値とはならないことが明らかとなった。

一般新生児検体を用いた測定値の比較を行なった結果, タンデムマス法による測定値とHPLCによる測定値との相関係数(R)はPheが0.804, Leuが0.696, Metが0.571であり, 測定対象がいずれも低濃度を示す正常一般検体であることを考慮すると, 良好な結果と考えられた。

これらを踏まえて, 一次検査法の変更にもなうカットオフ値についても検討した。タンデ

ムマス法におけるPhe, Metのカットオフ値についてはそれぞれ検討に際して用いた100nmol/ml(陽性数5,194例中2例), 50nmol/ml(陽性数5,194例中1例)で問題ないと考えられた。

一方でLeuのカットオフ値は, 検討に際して用いた300nmol/mlでは対象5,194例中85例が陽性となり, 陽性率は1.6%と高かった。タンデムマス法における測定値はLeuとIleの和の値であること³⁾と, 一次検査で陽性だった場合, 同じ検体を試料としたHPLCによる確認検査でLeu単独の定量が可能であることから, 一次検査の暫定カットオフ値として300nmol/mlを用いてきたが, 今回Phe, Metの陽性率とも比較した上で, 今後は350nmol/ml(+3.7SD)程度に変更することが適切と考えられた。ヒストグラム(図6)による比較から, Leuのカットオフ値を350nmol/mlとした場合, 今回の検討では5,194例中12例(0.23%)が陽性となる。

また, タンデムマス法とHPLCのLeu測定値の比較検討において, HPLCの値にLeuの測定値を用いた場合と, LeuとIleの測定値の和を用いた場合との間で, 相関係数にほとんど差がなかったことは, 血中Ileの濃度がLeuの半分程度であることと, 元来LeuとIleの間に相関係数0.87の高い相関がある(図5参照)ためと考えられる。一方, HPLCとタンデムマス法による測定値の相関の直線回帰式の傾きを評価すると, LeuとIleの測定値の和を用いた場合の方が1に近く, Ileの回収率が低いとはいえ, タンデムマス法の導入に際しては, LeuとIleの和としての新しいカットオフ値の導入, もしくはValのカットオフ値との併用なども検討すべきと考えられた。なお, 参考までに欧米でのタンデムマス法におけるメイプルシロップ尿症のカットオフ値は, LeuとIleの和にして330~340nmol/ml程度が一般的と報告されている¹⁰⁾。今後は患者検体について検討し, タンデムマス法における適切なカットオフ値を設定する必要がある。

以上の検討結果から, タンデムマス法は一次検査法としてHPLCと同等の精度を有してい

ること、適切なカットオフ値の設定により再検率も従来法と変わらないことから、新生児アミノ酸代謝異常スクリーニング法として有用と考えられる。

謝 辞

本研究は厚生労働科学研究(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」の一環として行なわれました。ご指導、ご助言いただきました研究班のみなさまに深謝いたします。

文 献

- 1) 田上泰子, 野町祥介, 花井潤師 他: 高速液体クロマトグラフィーによるアミノ酸代謝異常症スクリーニング. 札幌市衛生研究所年報, 29, 31-37, 2002
- 2) 野町祥介, 阿部敦子, 坂上絵理奈 他: タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングのシステム構築(1)体制整備. 札幌市衛生研究所年報, 32, 54-61, 2005
- 3) 花井潤師, 田上泰子, 野町祥介 他: 高速液体クロマトグラフィーによるアミノ酸代謝異常症スクリーニング—2. データ処理と内部精度管理システム—. 札幌市衛生研究所年報, 29, 38-43, 2002
- 4) 阿部敦子, 野町祥介, 花井潤師 他: 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. 平成16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, 90-97, 2004.
- 5) Guthrie R, Susi A: A simple phenylalanine method for detecting Phenylketonuria in large populations of

newborn infants. Pediatrics Sep;32 328-343, 1963

- 6) Yamaguchi A, Mizushima Y, Fukushi M et al: Microassay system for newborn screening for phenylketonuria, maple syrup urine disease, homocystinuria, histidinemia and galactosemia with use of a fluorometric microplate reader. Screening 1 49-62, 1992
- 7) 大竹浩美, 酒本和也, 武井節子 他: 一次スクリーニング法としての HPLC アミノ酸分析システムの検討. 日本マス・スクリーニング学会誌, 9(3), 65-74, 1999
- 8) B. Wilcken, V. Wiley, J Hammond et al: Screening Newborns for Inborn Errors of Metabolism by Tandem Mass Spectrometry. The new england journal of medicine 348:23, 2304-2412, 2003
- 9) T. H. Zytzkovicz, E. F. Fitzgerald, D. Marsden et al: Tandem Mass Spectrometric Analysis for Amino, Organic, and Fatty Acid Disorders in Newborn Dried Blood Spots A Two-Year Summary from the New England Newborn Screening Program. Clinical Chemistry 47:11, 1945-1955, 2001
- 10) Newborn Screening Quality Assurance Program 2003 Tandem Mass Spectrometry Annual Summary Report Volume 3 Feb, 2004

受付日: 平成18年 3 月 6 日

受理日: 平成18年 5 月 1 日

Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism of Amino Acids using Tandem mass spectrometry.

Shosuke Nomachi¹⁾, Junji Hanai¹⁾, Yasuko Tagami¹⁾, Masaru Fukushi¹⁾, Kozo Fujita¹⁾

¹⁾Sapporo City Institute of Public Health

GC/MSによる新生児代謝異常症スクリーニングの意義

Significance of neonatal metabolic screening by GC/MS

松本かおり, 猪口隆洋, 青木久美子, 田代恭子, 稲場美佐, 文森明代, 原 千尋, 吉田一郎

久留米大学医学部 GC/MS 医学応用研究施設

Kaori Matsumoto, Takahiro Inokuchi, Kumiko Aoki, Kyoko Tashiro, Misa Inaba, Akiyo Fumimori, Chihiro Hara, Ichiro Yoshida

Research Institute of Medical Mass Spectrometry, Kurume University School of Medicine

[要旨]

現在わが国の新しい新生児代謝異常マススクリーニング法として導入が考えられている質量分析法に、MS/MS法とGC/MS法がある。今回、我々の約10年にわたる新生児スクリーニング試験研究の経験を通して、これからの新生児スクリーニングを構築する上で、質量分析法とりわけGC/MS法の果たす役割、意義について検討した。対象疾患の選定にあたっては、頻度の高いことが最も重要な因子であると考えられた。わが国では有機酸血症が最も頻度の高い代謝異常症であり、その中でメチルマロン酸血症は約6,000人に1名の頻度で、わが国で最も高い代謝疾患である。GC/MS法は有機酸血症を感度良く検出でき、メチルマロン酸血症はGC/MS法でのみスクリーニング診断できる疾患である。わが国におけるこれからの新しい新生児マススクリーニングシステムを構築する上で、GC/MS法の果たす役割および意義は非常に大きく、GC/MS法を積極的に応用することが必要であると考えられた。

[キーワード]

新生児スクリーニング、GC/MS、MS/MS、メチルマロン酸血症

[緒言]

現在、医学領域はじめ生命科学分野におけるポストゲノムサイエンスとしては、プロテオーム解析およびメタボローム解析が主流となっている。これらの解析技術の中心となっているの

が質量分析である。新生児先天代謝異常症マススクリーニング(新生児スクリーニング)分野においても質量分析の導入が積極的に行われており、この質量分析法には主に現在、血液濾紙を用いるタンデム質量分析(MS/MS)法と尿を分析するガスクロマト質量分析(GC/MS)法がある。欧米では、フェニルケトン尿症(PKU)や中鎖アシル CoA 脱水素酵素(MCAD)欠損症の頻度が高いという実状から、いち早くMS/MS法の導入がなされている。わが国においても、質量分析法を用いた新しい新生児スクリーニングシステム構築の必要があるとして導入のための試験研究が行われている。われわれは、1996年からGC/MS法による新生児スクリ

<連絡先>

松本かおり

〒830-0011 久留米市旭町 67

久留米大学医学部

GC/MS 医学応用研究施設

Tel: 0942-31-7582 Fax: 0942-31-3961

E-mail: aokik6@med.kurume-u.ac.jp

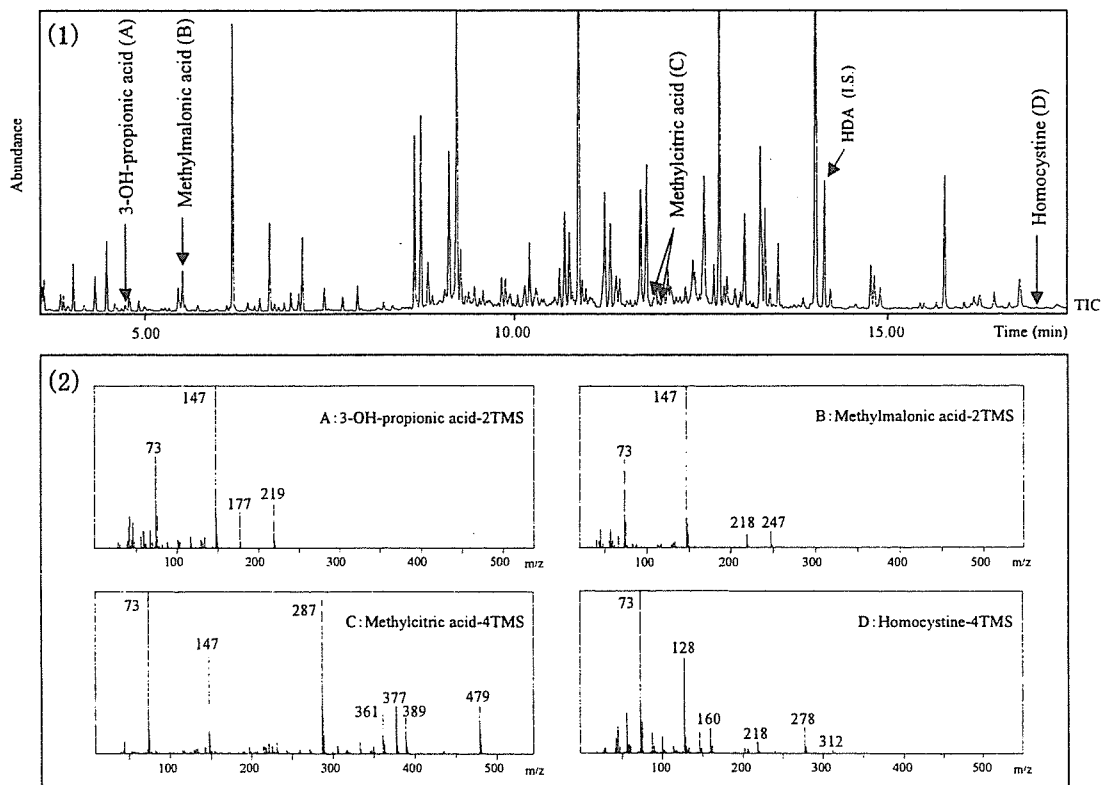


図1 ホモシスチン排泄を伴ったビタミン B₁₂ 反応型メチルマロン酸血症の尿 GC/MS 分析結果
 (1) TIC クロマトグラム
 (2) 各診断マーカーのマススペクトル
 A: 3-OH-propionic acid-2TMS B: Methylmalonic acid-2TMS C: Methylcitric acid-4TMS
 D: Homocystine-4TMS

は、新生児スクリーニングにおける GC/MS 法の感度ならびに診断精度の高さを証明している。この中で特筆すべきことは、約 6,000 人に 1 名というメチルマロン酸血症の発見頻度で、わが国の先天代謝異常症の中では最も高い頻度である。メチルマロン酸血症は、メチルマロン酸の尿中高排泄を示す病態の総称で、現在その臨床分類に確立された報告はない。本稿で定義したメチルマロン酸血症 4 つの病型の中で、スクリーニングの恩恵を最も受けると考えられるのは「ビタミン B₁₂ 反応型」と「軽症型」である。我々のスクリーニングで発見されたメチルマロン酸血症患児の約半数は治療を必要としない「良症型」と考えられる。しかし、それでも治療の恩恵を受けるメチルマロン酸血症は約 1.2 万人に 1 名の頻度と推定され、新生児スクリーニングの対象として最重要疾患である。図 1 にホモシスチン排泄を伴ったビタミン B₁₂ 反応型

メチルマロン酸血症の尿 GC/MS 分析結果を示した。上段 (1) に TIC (Total Ion Current) クロマトグラムを、下段 (2) には分離された各診断マーカー物質のトリメチルシリル (TMS) 誘導体のマススペクトルを示した。診断マーカー物質であるメチルマロン酸、3-ヒドロキシプロピオン酸、メチルクエン酸およびホモシスチンが感度良く検出され、同時に得られたマススペクトルにより、確実な同定と高感度定量が可能である。さらに GC/MS 法は尿のメタボローム解析により、化学診断はもちろん病態の把握も含めた解析が可能な高精度スクリーニング法である。一方、現在新生児スクリーニング手段として世界の主流になっている MS/MS 法では、ろ紙血中のアミノ酸やアシルカルニチンを分析できるため、PKU、メープルシロップ尿症、シトルリン血症などのアミノ酸代謝異常症や乳幼児突然死症候群の原因疾患と

ーニングの試験研究を施行し、2004年からは血液濾紙によるMS/MS法のスクリーニングを開始している。今回、我々の約10年にわたる試験研究の経験を通して、わが国におけるこれからの新しい新生児スクリーニングを構築する上で、GC/MS法の果たす役割、意義について検討したので報告する。

【方法】

1996年1月から2005年12月までの10年間に福岡県内および佐賀県、大分県の研究協力医療機関で出生した新生児のうち文書による保護者からの同意が得られた61,666名の尿を対象とした。GC/MS法は、松本、久原らのウレアーゼ処理法²⁾により試料調製したものをAgilent 5973 GC/MSに注入し、尿中代謝産物の一斉分析を行った³⁾。MS/MS法は、Waters Quattro Premier LC/MS/MSを使用し、ろ紙血中のアミノ酸、遊離カルニチン、アシルカルニチンを分析定量し、スクリーニングの判定に用いた⁴⁾。なお、本稿ではメチルマロン酸血症を、予後の良くない「新生児期発症型」、ビタミンB₁₂投与のみで食事制限を必要としない「ビタミンB₁₂反応型」、穏やかな食事制限で臨床症状の改善を示す「軽症型」および治療の必要がないと考えられる「良性型」の4タイプに分類した。

【結果】

尿を用いたGC/MS法による10年間の新生児スクリーニング試験研究結果を表1に示した。スクリーニング総数61,666名のうち、メチルマロン酸血症10例をはじめとする15疾患、計51名の患者を発見した。なお、これらの中で新生児マススクリーニングの対象となる疾患は、メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、グリセロールキナーゼ欠損症、シトルリン血症I型、シトリン欠損症、オルニチントランスカルパミラーゼ(OTC)欠損症、メープルシロップ尿症、神経芽細胞腫の8疾患23名である。本GC/MS法による10年間の疾患全体としての発見率は、約1,200人に1名であり、スクリーニング対象

疾患としての発見率は、約2,600人に1名となった。この中でメチルマロン酸血症の発見頻度は、約6,000人に1名であった。古典的メチルマロン酸血症や古典的プロピオン酸血症およびPKUなどは、MS/MS法により

表1 1996年1月～2005年12月までのGC/MS法による新生児スクリーニング成績

メチルマロン酸血症	10
プロピオン酸血症	2
グリセロールキナーゼ欠損症	5
ジヒドロピリミジン分解酵素欠損症	4
ジヒドロピリミジン脱水素酵素欠損症	1
β-ウレイドプロピオナーゼ欠損症	7
シトルリン血症I型	1
シトリン欠損症	1
OTC欠損症	1
メープルシロップ尿症	1
ハートナップ病	1
2-ケトアジピン酸尿症	13
5-オキソプロリン尿症	1
エチルマロン酸尿症	1
神経芽細胞腫	2
症例数合計	51
スクリーニング総数	61,666
発見率	1/1,209

容易にスクリーニング可能であった。しかし、GC/MS法で容易に発見される良性および軽症型のメチルマロン酸血症、ビタミンB₁₂反応型メチルマロン酸血症、OTC欠損症およびグリセロールキナーゼ欠損症などの疾患は、現行のMS/MS法によるスクリーニングシステムで診断することは困難であった。

【考察】

わが国における先天性代謝異常症の頻度についての明確なる報告はないが、現行のマススクリーニング対象の代謝異常症4疾患のこれまでの実績⁵⁾から想定すると約2.1万人に1人と考えられる。我々のGC/MS法による新生児スクリーニング10年間での疾患全体としての発見頻度が約1,200名に1人、スクリーニング対象疾患に限定しても約2,600名に1人という結果

考えられている MCAD 欠損症をはじめとする脂肪酸代謝異常症のスクリーニングが可能である^{4),6)}。また検体処理能力が非常に高く、現行のガスリー血液ろ紙がそのまま使えるという利点もあり、マススクリーニングの手段としては最適な方法である。一方 GC/MS 法は検体処理能力、前処理時間、判読の困難さなどの点において MS/MS 法に劣る。しかし、わが国でスクリーニング対象として重要な疾患であるメチルマロン酸血症に関しては、メチルマロン酸血症を血中プロピオニルカルニチン (C3) のみで判定するため、プロピオン酸血症との鑑別は難しくメチルマロン酸血症の診断は困難である。しかもスクリーニング上最も重要な「ビタミン B₁₂ 反応型」と「軽症型」はプロピオニルカルニチンの血中増加がないか軽度のため見逃される可能性が非常に高い⁶⁾。

表2にこれからのスクリーニング方法と対象とすべき疾患との関連を示した。これまでスクリーニングの目的として、対象疾患の早期発見、早期治療に重点が置かれてきたが、最近その使命として、スクリーニング対象疾患の発症率、

死亡率などを減少させることにあるとする考えが提示されるようになってきた⁷⁾。新生児スクリーニング対象疾患の満たすべき要件を表3に示した。これらの中で発生頻度は対象疾患選定の際の最も重要な因子であり、事実、香港など東南アジアにおいては発生頻度の低い疾患はスクリーニング対象から除外している⁸⁾。わが国で頻度の高い代謝異常症は有機酸血症であり、その中でメチルマロン酸血症は最も頻度の高い疾患であることがわれわれの試験研究においても判明している。従って、メチルマロン酸血症は、わが国での新生児スクリーニング上、最も重要な対象疾患と考えられる。MS/MS 法で見えないメチルマロン酸血症などの有機酸血症は GC/MS 法で行うべきであるという報告もあり⁹⁾、メチルマロン酸血症のみを対象とした単独スクリーニング開始の必要性があると考えられる¹⁰⁾。

平成 13 年から新生児マススクリーニング事業の主体が中央から地方自治体に移管されることになった現在、新生児スクリーニングの有効性についての再検討が必要である。わが国の

表2 これからのスクリーニング方法と対象とすべき疾患との関連

1. GC/MS 法が適している疾患	・有機酸代謝異常症 : メチルマロン酸血症, プロピオン酸血症, グリセロールキナーゼ欠損症, 高乳酸血症, など
2. MS/MS 法が適している疾患	・脂肪酸代謝異常症 : CPT I, CPT II 欠損症, MCAD 欠損症, VLCAD 欠損症, など ・アミノ酸代謝異常症 : フェニルケトン尿症, シトルリン血症, など
3. GC/MS 法, MS/MS 法ともあまり適していない疾患	・尿素サイクル異常症 : OTC 欠損症, CPS I 欠損症, など ・脂肪酸代謝異常症 : グルタル酸血症 II 型, SCAD 欠損症, など

表3 新生児マススクリーニング対象疾患の満たすべき要件

1. 頻度が高いこと
2. 発症前の発見が可能
3. 有効な治療法があること
4. 早期治療の有効性
5. コストベネフィット
6. スクリーニングの精度 (感度, 特異度)

新生児マススクリーニングが欧米の単なる模倣ではなくて、真に有用なものとなるためには、わが国で最も頻度の高い有機酸血症を考慮した対象疾患の抜本的な見直しを含め、今後さまざまな面からの検討が必要である。一方で、新生児スクリーニング分野への質量分析法の導入は確実であり、現時点ではMS/MS法採用の方向で進んでいる。現行の血液濾紙がそのまま使用でき、かつサンプル処理能力の高さがその最大の理由である。MS/MS法を導入する場合、これまでの自治体単位の検査体制を、統合・再編する必要があり、この際の検査施設の基準として、年間最低3万検体以上を検査できること、二次検査、確定診断に必要なGC/MS, HPLCなどの機器も整備することなどが提案されている¹¹⁾。このように新しい新生児スクリーニングにMS/MS法が採用される場合においても、GC/MS法による分析が可能なエキスパートを含めた新たな体制を整備することが検査機関に要求される最低限の条件と考えられる。

わが国におけるこれからの新生児マススクリーニングにおいて、GC/MS法の果たす役割および意義は大きく、より有用なシステムを構築するためには、GC/MS法を十分考慮に入れた、わが国独自のスクリーニングシステムを構築することが重要である。

本研究の一部は厚生労働科学研究(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」(主任研究者:山口清次)の研究助成で行った。

[文献]

- 1) 重松陽介, 畑 郁江: タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニング有機酸・脂肪酸代謝異常症を中心に. 特殊ミルク情報 39: 20-23, 2003
- 2) Matsumoto I and Kuhara T: A new chemical diagnostic method for inborn errors of metabolism by mass spectrometry-rapid, practical, and simultaneous urinary metabolites analysis. *Mass Spectrom. Rev.* 15: 43-57, 1996
- 3) Inokuchi T, Yoshida I, Kaneko A, Tashiro K, Tashiro S, Jogo M, Aoki K and Tanaka M: Neonatal ketosis is not rare: experience of neonatal screening using gaschromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 758: 57-60, 2001
- 4) 重松陽介, 布瀬光子, 畑 郁江, 眞弓光文, 須藤正克, 田中幸枝: Electrospray Tandem Mass Spectrometry による有機酸およびアミノ酸代謝異常症の新生児マススクリーニング. 日本マス・スクリーニング学会誌 8: 13-20, 1998
- 5) 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課: 先天性代謝異常等検査実施状況(平成16年度). 特殊ミルク情報 41:70, 2005
- 6) 青木久美子, 吉田一郎, 猪口隆洋 他: タンデム質量分析法による新生児マススクリーニング対象疾患の検討. 日本マス・スクリーニング学会誌 15: 3, 81-86, 2005
- 7) 側島久典: 周産期とスクリーニング. 周産期医学 35: 9, 1165-1168, 2005
- 8) 吉田一郎: 新生児スクリーニング対象疾患と最近の話題 有機酸血症. 周産期医学 35: 9, 1235-1238, 2005
- 9) 黒田泰弘: マスクリーニングの効率的実施及び開発に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業 平成15年度 総括・分担研究報告書. 2004
- 10) 猪口隆洋: 新生児先天性代謝異常症マススクリーニングにおけるGC/MSのやくわりー現状と今後ー. 日本医用マスペクトル学会サーキュラー 59: 2-6, 2003
- 11) 山口清次: 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. 厚生労働科学研究補助金子ども家庭総合研究事業 平成17年度 総括・分担研究報告書. 2006

受付日: 平成18年 8 月 1 日
受理日: 平成18年 11 月 8 日

ワークショップ

行政、検査機関、採血医療機関、精査・治療機関が連携した タンデムマス新生児マススクリーニングの試験研究実施体制の確立

福士 勝

札幌市衛生研究所

はじめに

札幌市の新生児マススクリーニングは1977年の先天性代謝異常検査の開始時から、札幌市医師会と専門医療機関である北海道大学医学部及び札幌医科大学の協力を得て、検査部門を衛生研究所として実施してきた。その後、1978年の先天性甲状腺機能低下症、1982年の先天性副腎過形成症のマススクリーニングの導入に際しても、医師会の協力を得て専門医療機関との連携による試験研究を実施し、問題点を解決した後行政レベルでのマススクリーニングを行ってきた。

札幌市では2005年4月から、タンデム質量分析計による新生児マススクリーニング（以下タンデムマススクリーニングという）の試験研究を実施することになった。このタンデムマススクリーニングは希望者を対象として実施するものであり、現行の6疾患対象の新生児マススクリーニングの受検申込みとは別に、保護者への新たな説明と同意を得る必要があった。また、現行スクリーニングと同様にタンデムマススクリーニングの有効性の評価には検査後の追跡調査も必要であった。そこで、現在実施している新生児マススクリーニングシステムにこのタンデムマススクリーニングを組入れることに伴う問題点を解決するため、札幌市新生児・乳幼児マススクリーニング連絡会議と厚生労働科学研究「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」（主任研究者島根大学山口清次教授、以下研究班という）の協力を得て、新しいマススクリーニングシステムの確立を目指したので、その概要を報告する。

なお、検討した内容は、新生児マス・スクリーニング関連の実施要綱及び要領の改定とタンデムマススクリーニング実施要領の制定、保護者への周知方法、採血や再採血及び精査などの検査結果を説明する採血医療機関が必要な情報の提供、精査時に乳児精密検査受検票を発行する保健センターの支援などである。

マススクリーニング連絡会議

札幌市では新生児・乳幼児マススクリーニングを円滑に運営し、かつそのシステムの向上を図るため、新生児

乳幼児マススクリーニング連絡会議運営要領を定めている。連絡会議は札幌市産婦人科医会、札幌市小児科医会、北海道大学及び札幌医科大学の産婦人科及び小児科、国立病院機構北海道がんセンター、札幌市健康衛生部（母子保健行政主管）及び札幌市衛生研究所、公衆衛生専門家から構成されている（表1）。2004年8月に開催された連絡会議では、タンデムマススクリーニングの試験研究実施の是非、実施することになった場合に検討すべき事項を協議した。その結果、2005年4月からタンデムマススクリーニングの試験研究を実施することが承認された。また、その条件として試験研究開始にあたっては、現行スクリーニングと同時にタンデムマススクリーニングが実施できるようにするため関連要綱・要領の改定と新たな要領を制定すること、高い受検率を確保するために保護者及び医療関係者の理解を得られるようスクリーニングの目的、必要性などを周知徹底すること、さらに、試験研究開始後は対象疾患やカットオフ値などの検討を継続して行うことにより、より効果的・効率的なスクリーニングができるように検査システムの改善を図ることなどが指摘された。また、タンデムマススクリーニングの有効性を検討するため、小児慢性特定疾患治療研究事業で得られる情報などを活用した追跡調査システムを確

表1 札幌市新生児乳幼児マス・スクリーニング
連絡協議会

- | | |
|-------------------|--|
| 1. 採血医療機関 | 札幌市医師会産婦人科医会
北海道大学及び札幌医科大学産婦人科 |
| 2. 精査・治療機関 | 札幌市医師会産婦人科医会
北海道大学及び札幌医科大学産婦人科
国立病院機構北海道がんセンター小児科・小児外科 |
| 3. 行政機関（母子保健主管部門） | 札幌市保健福祉局健康衛生部、各区保健センター |
| 4. 検査機関（行政機関の一部） | 札幌市保健福祉局衛生研究所 |
| 5. その他専門家等 | 公衆衛生、疫学等の専門家 |

立して、スクリーニング偽陰性例の捕捉や予後調査を強化すべきことも検討条件としてあげられた。

新生児マススクリーニング関連の 実施要綱及び要領

新生児マススクリーニングは実施主体である各自治体が制定する実施要綱及び要領などに基づいて行われている。札幌市においてもその要綱の中で目的、対象疾患、検査方法、対象者、検査機関、検査の実施に関連する検査資材とその配布方法・検査の申込み・採血と検体の送付・検査と検査結果の通知・再採血と精密検査の実施方法、検体の保存、精度管理の実施、保護者への周知方法、費用、協議会の設置など規定している。また、要領では主に産婦人科などの採血医療機関における採血及び検体送付時の注意事項、検査結果の通知、検査結果が異常な場合の対応などを規定している。これらの規定類はスクリーニングシステムの変更、厚生労働省からの通知、関連学会などの勧告などに基づいて随時見直しと改善を行い、スクリーニングシステムの適切な運営を図っていかなければならないものである(表2)。

新生児代謝異常等検査実施要綱の改定

タンデムマススクリーニングの開始にあつて、新生児代謝異常等検査実施要綱では保護者向け広報用パンフレットの作成、検査申込書の様式の変更、パンフレット・検査申込書の配布方法と取扱方法の変更、検体の保存期間の明確化、検査結果票の様式の変更を行った。これまでは札幌市では新生児マススクリーニングに関する保護者向けの広報手段としては母子健康手帳に簡単な記載があるのみで、採血医療機関における医療関係者からの説明に頼っていた。そこで、タンデムマススクリーニングの試験研究導入にあわせて、確実にインフォームドコンセントが行われるようにするため、従来の6疾患のスクリーニングに加えてタンデムマススクリーニングの目的、意義、個人情報保護、追跡調査、検査終了後の検体の取扱、検査に関するQ&A、タンデムマススクリーニング対象疾患の概要、検査の撤回などを記載したパンフレットを作成し、市内の保健センターで母子健康手帳交付の際に検査申込書とあわせて同時に配布し、このスク

リーニングへの理解を深めてもらうようにした。

また、採血医療機関にもこのパンフレット配布し、採血を行う前にスクリーニングの重要性を再度説明して、保護者の同意を得た上で検査申込書を提出してもらうことにした。検査申込書による検査の同意の取得のための様式は、「遺伝学的検査におけるガイドライン」に準拠して作成した。申込書は3枚複写式とし、保護者と採血医療機関がそれぞれ保管するとともに、検査機関の衛生研究所へも送付してもらいインフォームド・コンセントが確実に行われたかどうかを検査機関が確認できるようにした。この申込書では現行スクリーニングの申込みと同時に、(1)希望者のみを対象として実施するタンデムマススクリーニングの受検の希望の有無、(2)検体の目的外使用の可否と長期保存(10年間)の可否の2項目についてもインフォームド・コンセントを取得できるようにした。

さらに、パンフレットには検査申込み後でも上記(1)、(2)の撤回が可能であることも明記し、いつでも撤回ができるように撤回書の様式も記載した。

検査結果は従来の6疾患のスクリーニング結果と同時にタンデムマススクリーニングの結果も記載して報告するようにした。

新生児代謝異常等検査実施要領の改定

要領では採血医療機関における検査の説明、採血方法、検査申込書方法、精査時手順などを規定しているが、タンデムマススクリーニングの導入に伴って採血医療機関及び保健センターが新たな行うことになる業務やその支援について追加した。

主な改定内容としては、採血医療機関では検査依頼書とともに保護者から提出される検査申込書(同意書)と濾紙血液検体をセットで送付することを徹底することを追加した。

要領では規定しなかったが、採血医療機関及びフォローアップ所管の保健センターの医師・保健師向けに研究班が作成した「新しい新生児マス・スクリーニング対象疾患の手引き」を配布、精査時に乳幼児精密健康診査受検票の発行と受診指導を行う保健センター職員向けに衛生研究所が作成した「札幌市新生児マススクリーニングの手引き」の改定と配布、研究班が作成した広報ポスター「新時代の新生児マススクリーニング」の採血医療機関及び保健センターへの配布なども行った。

タンデムマスによる新生児マス・スクリーニングの研究実施要領の策定

タンデムマススクリーニング試験研究の実施概要、関係機関の役割を規定するため新たに「タンデムマスによる新生児マス・スクリーニングの研究実施要領」を策定した。実施概要としては、検査対象者は従来の新生児スクリーニング受検者でタンデムマススクリーニングを希望するものであること、対象疾患は研究班作成の手引きに記載されている26疾患であること、検査費用は無料であること、検査の同意書が得られているもののみ検査

表2 タンデム・マスによる新生児スクリーニング試験研究の開始に必要なスクリーニング関連要綱・要領の改定・制定

改定

- ・札幌市新生児代謝異常症等検査実施要綱
- ・札幌市新生児代謝異常症等検査実施要領
- ・札幌市新生児・乳児マス・スクリーニング連絡会議運営要領
- ・札幌市小児慢性特定疾患治療研究事業実施要綱

新規制定

- ・札幌市新生児・乳幼児マス・スクリーニング追跡調査実施要綱
- ・札幌市タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングに関する試験研究実施要領

を実施すること、再採血及び精査は従来のスクリーニングと同じシステムで実施すること、検査結果は医療機関、保護者の両者へ報告すること、追跡調査に関する同意も検査申込みと同時に得ることとした。また、関係機関の役割として、行政は広報・受検勧奨・精査受診勧奨、採血医療機関は検査の説明と同意取得・採血・結果説明・精査受診指導、検査機関は検査資材配布・検査・成績書発行・追跡調査・全体調整、精査・治療機関はスクリーニングの助言・指導・精査・治療をそれぞれ行うことを規定した。

この実施要領に基づきタンデムマススクリーニングの試験研究を札幌市の母子保健対策の一環として2年間の予定で実施することになり、その有効性が確認された場合は行政サービスとして従来の新生児マススクリーニングに追加することとしている。

新生児乳幼児マス・スクリーニング追跡調査実施要領の策定

実施要綱で定めた追跡調査事業を確実に実施するために、対象、実施機関、その調査内容、個人情報保護について規定した。本要領の策定に先立ち、2005年4月の児童福祉法改正に伴う札幌市小児慢性特定疾患治療研究事業実施要綱の改正で、給付申請時に提出する「小児慢性特定疾患医療意見書の研究利用についての同意書」にマススクリーニング対象疾患の有効性を検証するための研究にも使用されることを記載して、その同意を求めて追跡調査も確実にを行うことができるようにした。

追跡調査対象は採血時に追跡調査の実施を承諾して検査を申し込んだ者であること及びスクリーニング実施要綱等に定める疾患に罹患して札幌市で実施する小児慢性特定疾患治療研究事業の医療意見書の研究利用に同意した者であることとした。追跡調査の内容は、精密検査対象者の受診の有無、受診結果、診断結果、治療内容、長期

予後等とし、これらの情報を集約管理してスクリーニングシステムの改善に役立てることとした。

また、マススクリーニングの結果や追跡調査結果の疫学的解析を行って、その結果を公表することにより、マススクリーニングの重要性及び有用性・有効性を市民に周知して理解を深めてもらうことも、マススクリーニング事業を継続・改善していく上で重要なことであることから、データの公表についても規定した。

タンデムマススクリーニングの結果

2005年4月から12月までの札幌市におけるタンデムマススクリーニングでは対象新生児11,380人のうち11,259人(98.9%)がタンデム検査を希望し、その結果、3名が精査となったが患者は発見されなかった。精査と再採血を合わせた初回陽性は44例(0.39%)であった。このうち陽性理由として最も多かったのがC10(decanoyl)カルニチン高値によるグルタル酸尿症II型(GAII)疑いで28例あった。

まとめ

タンデムマススクリーニングを開始して9か月となるが、大きな混乱もなく、受検率も約99%と高く、順調にスクリーニングが実施されている。これはタンデムマススクリーニング開始前に行政、検査機関、採血医療機関、精査・治療機関が連携したシステムを確立できたことによるものであり、今後の成果が期待される。

謝 辞

本研究の一部は厚生労働科学研究「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(主任研究者山口清次島根大学教授)の補助を受けて行った。

<研究・調査>

タンデムマス導入にともなう新しい対象疾患の治療指針

平成18年度特殊ミルク改良開発部会 第一部会共同研究報告

有機酸代謝異常症・脂肪酸酸化酵素異常症の治療検討専門委員会報告

特殊ミルク改良開発部会・第一部会委員

○(財)東京都予防医学協会	理事長	北川照男
北海道医療大学	学長	松田一郎
東北大学	名誉教授	多田啓也
大阪市知的障害者育成会	顧問	大浦敏明
女子栄養大学大学院小児栄養学	教授	大和田操
総合母子保健センター研究開発部	部長	青木菊麿

(○: 部長)

治療検討専門委員

島根大学医学部小児科	教授	山口清次
千葉県こども病院医療局	局長	高柳正樹
福井大学医学部看護学科	教授	重松陽介
東北大学医学部小児科	助教授	大浦敏博

平成15年度から特殊ミルク改良開発部会第一部会は、有機酸・脂肪酸代謝異常症に関する学識経験者を専門委員に迎えて、その治療ガイドラインの検討専門委員会を設置し、これらの疾患の治療法について検討を重ねてきた。他方、平成16年度から厚生労働省が「21世紀の新生児マススクリーニングのあり方に関する研究班」を組織し、その中で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パイロット研究が始められたので、その成績も参考にして、ここに「タンデムマス導入にともなう新しい対象疾患の治療指針」を完成した。以下、その全文を掲載して平成18年度特殊ミルク改良開発部会、第一部会共同研究報告とする。

緒言

有機酸代謝異常症と脂肪酸代謝異常症の治療は、細かい点で異なるが、何れも飢餓に弱く、感染や下痢を合併したときは、ブドウ糖の輸液を行って異化を抑え、アルカリ療法やL-カルニチンを投与する必要があるなど、治療には幾つかの共通点が見られる。

そしてタンデム質量分析計(タンデムマス)で新生児期に発見できる疾患は30数種類にのぼるといわれているが、本委員会はこの中で特に比較的偽陽性、偽陰性が少なく、発見後に速やかに対応すれば、代謝異常による突然死や精神運動発達遅滞を予防できる22疾患をタンデムマスによるスクリーニングの対象疾患として取り上げることとした。これにはタンデムマスで発見できる尿素サイクル代謝

異常症と、これまで他の方法で検査されてきたPKUなどのアミノ酸代謝異常症3疾患も含まれている。

この22疾患を対象疾患としてスクリーニングすると、約8,000人に1名の割合で患者が発見されるといわれており、その症例をすべて適切に治療し、障害を予防し得たとすると、その効果はきわめて大きく、わが国の母子保健は著しく向上する。

米国の一部の州で始まったタンデムマスによる新生児スクリーニングは各州に波及すると共に、ヨーロッパ各国にも、またアジアの一部の国々にも普及し、世界的な広がりをみせている。それをふまえて、特殊ミルク改良開発部会第一部会は、平成15年度に学識経験者の協力を得て、有機酸・脂肪酸代謝異常症の治療ガイドライン検討専門委員会を組織

し、検討してきた。他方、厚生労働省は、平成16年度から「21世紀の新生児マススクリーニングのあり方に関する研究班」を設置し、その中でタンデムマスによる新生児スクリーニングのパイロット研究が始められたのでそれらの成績も参考にして、ここに「タンデムマス導入にともなう新しい対象疾患の治療指針」を作成した。

本ガイドラインの特徴は、タンデムマスによる新生児スクリーニングの対象疾患について、その概念、臨床所見、治療と予後などが判り易く記載されていることである。特に治療については、有機酸と脂肪酸の代謝異常症にわけて、急性期と慢性期の治療の原則が判り易く表で説明されており、治療経験の乏しい医師でも、このガイドラインを参考にすれば、救急処置を含めて一応治療が可能である。また、各疾患を理解しながら対応できるように、9つの代謝マップが付録として掲載されており、参考になる。

タンデムマスによるスクリーニングで発見され、治療された症例の予後を追跡調査することは、スクリーニングの精度や治療法を向上する上で極めて大切である。幸い、発見された症例を新規登録するのに用いる書式や、患者を追跡調査する用紙も、成育医療研究委託事業の研究班で作られているので、

これを参考資料として掲載した。なお、これらの疾患の予後を向上するには、栄養士、看護師、保健師の協力を得ることが必須である。脂肪酸代謝異常症である極長鎖アシル-CoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症の治療の項では、幼児の食事献立の具体例を例示している。今後は、各疾患について患児の家族の参考になる献立例を示した「有機酸・脂肪酸代謝異常症の治療ガイドブックー患児と家族用ー」を編集することが必要と思われる。また、これらの疾患の治療には各種の治療用ミルクが必要であり、この点についても厚生労働省とミルクを製造しておられる企業の関係各位の暖かいご理解とご援助をお願いしたい。

この治療ガイドラインを編集するにあたって、終始ご指導いただいた厚生労働省児童家庭局母子保健課の各位に心から感謝したい。特殊ミルク改良開発部会・第一部会委員、並びに専門委員は、このガイドラインがタンデムマスで新生児期に発見された患児の診断と治療に一層役立つものになりたいと念願している。ご一読の上、暖かいご助言やご叱正を賜われれば幸いである。

タンデムマスによるスクリーニング対象疾患について

1. タンデムマス分析では、血液ろ紙(3mmパンチ)の1回の分析によって、理論的には30種類以上の疾患が検出できるといわれている。
2. このうち、偽陽性、偽陰性が比較的少なく、発見後に速やかに対応すれば、障害を予防できる可能性の高い22疾患をスクリーニング対象疾患として取り上げた。22疾患の中には現行のアミノ酸代謝異常症の3疾患が含まれているが、これらについてはすでに治療指針が出ているので、本ガイドラインでは19疾患について編集した。

表1 タンデムマススクリーニングの対象疾患

	タンデムマスの対象疾患	発症時期	主な臨床症状	適切性	
有機酸代謝異常症	1)メチルマロン酸血症	新～乳	アシドーシス、発達遅滞	○	
	2)プロピオン酸血症	新～乳	アシドーシス、発達遅滞	○	
	3)βケトチオラーゼ欠損症	新～乳	ケトアシドーシス発作	◎	
	4)イソ吉草酸血症	新～乳	アシドーシス、体臭	◎	
	5)メチルクロトニルグリシン尿症	新～乳	筋緊張低下、ライ症候群	○	
	6)HMG血症	新～乳	ライ症候群、低血糖	◎	
	7)マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	新～乳	湿疹、乳酸アシドーシス	◎	
	8)グルタル酸血症1型	新～幼	アテトーゼ、発達遅滞	○	
β酸化異常症	9)MCAD欠損症	乳～幼	ライ症候群、SIDS	◎	
	10)VLCAD欠損症	乳～成	低血糖、骨格筋・心筋障害	○	
	11)TFP(LCHAD)欠損症	新～成	ライ症候群、SIDS	○	
	12)CPT1欠損症	新～乳	ライ症候群、肝障害	○	
	13)CPT2欠損症	新～成	ライ症候群、筋肉症状	◎	
	14)TRANS欠損症	新～乳	ライ症候群、SIDS	○	
	15)全身性カルニチン欠乏症	乳～幼	ライ症候群、SIDS	◎	
	16)グルタル酸血症2型	新～乳	ライ症候群、低血糖	○	
アミノ酸代謝異常症	17)高チロジン血症1型	新～乳	肝硬変・腎性くる病	○	
	18)シトルリン血症(1型)	新～乳	興奮、発達遅滞、昏睡	○	
	19)アルギニノコハク酸尿症	新～乳	興奮、発達遅滞、昏睡	○	
	20)フェニルケトン尿症	新～乳	けいれん、発達遅滞	◎	
	21)メープルシロップ尿症	新～乳	発達遅滞、昏睡、アシドーシス	○	
22)ホモシスチン尿症	新～乳	発育異常、水晶体脱臼、血栓症	○		
現行マススクリーニングの対象疾患	糖質代謝異常症	-	新～乳	肝障害、肝不全、発達遅滞	○
フェニルケトン尿症 メープルシロップ尿症 ホモシスチン尿症	内分泌疾患	-	新～乳	発達遅滞、成長障害	◎
ガラクトース血症*	-	-	新～乳	ショック、男性化	○
クレチン症*	-	-	新～乳	発達遅滞、成長障害	◎
先天性副腎過形成症*	-	-	新～乳	ショック、男性化	○

略字(疾患名): HMG=3-OH-3-メチルグルタル酸; VLCAD=極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素; MCAD=中鎖アシル-CoA 脱水素酵素; LCHAD=長鎖3-OH-アシル-CoA 脱水素酵素; CPT=カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ。TRANS=トランスロカーゼ

*: タンデムマスでは検査できない(3種類)。現行の方法を続ける必要がある。

新～乳:(発症時期が) 新生児から乳児期(個人差がある)

適切性:スクリーニングによる障害予防の期待度(現時点での予想)

◎:偽陽性、偽陰性が少なく、かつスクリーニングの効果が大きいと思われるもの

○:発症前発見による障害予防が期待できる(スクリーニング効果が不十分なこともある)

(例)重症型に対する治療効果が不十分、または軽症例が見逃される可能性があるなど。

表2 タンデムマススクリーニングにおける生化学診断マーカー

疾患	タンデムマス	精査・確定診断
1) メチルマロン酸血症	C3>3.5 C3/C2>0.25	尿 GC/MS 酵素活性
2) プロピオン酸血症	C3>3.5 C3/C2>0.25	尿 GC/MS 酵素活性
3) βケトチオラーゼ欠損症	C5-OH>1.0 C5:1>0.2	尿 GC/MS 酵素活性
4) イソ吉草酸血症	C5>0.7	尿 GC/MS 酵素活性
5) メチルクロトニルグリシン尿症	C5-OH>1.0	尿 GC/MS 酵素活性
6) ヒドロキシメチルグルタル酸(HMG)血症	C5-OH>1.0	尿 GC/MS
7) マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	C5-OH>1.0	尿 GC/MS 酵素活性
8) グルタル酸血症1型	C5-DC>0.3	尿 GC/MS 酵素活性
10) MCAD 欠損症	C8>0.3	尿 GC/MS 酵素活性
9) VLCAD 欠損症	C14:1>0.4	酵素活性
11) TFP(LCHAD)欠損症	C16OH>0.2	尿 GC/MS 酵素活性
12) CPT1 欠損症	C0/(C16+C18)>100	酵素活性
13) CPT2 欠損症	C16>8	血清 C16>0.3 酵素活性
14) TRANS 欠損症	C16>8	血清 C16>0.3 酵素活性
15) 全身性カルニチン欠乏症	C0<8	カルニチンクリアランス
16) グルタル酸血症2型	C8>0.3 C10>0.35	尿 GC/MS
17) 高チロシン血症1型	Tyr>200	血中 SA>10 尿 GC/MS
18) シトルリン血症(1型)	Cit>100	アミノ酸分析 尿 GC/MS
19) アルギニノコハク酸尿症	Cit>100 ASA 上昇	アミノ酸分析 尿 GC/MS
20) フェニルケトン尿症	Phe>180	BH4 負荷試験
21) メープルシロップ尿症	Leu+Ile>350 Val>250	アミノ酸分析 尿 GC/MS
22) ホモシスチン尿症	Met>80	血・尿アミノ酸分析

単位は nmol/ml。比は絶対値。-DC=dicarboxyl- ; -OH=hydroxy- ; SA=succinylacetone。

表3 有機酸・脂肪酸代謝異常症の治療の原則

1. 有機酸代謝異常症治療の一般的事項

急性期の治療	① 絶食(タンパク負荷の制限) ② 高張ブドウ糖液による輸液 ③ アルカリ療法 ④ 血液浄化療法(血液透析、交換輸血、腹膜透析など) ⑤ ビタミン投与(チアミン 100-200mg/日;フラビン 100-300mg/日;B12 1-2mg/日(静注)、または B12 10mg/日(経口);ビタミン C 120mg/kg/日、ビオチン 5-20 mg/日など) ⑥ L-カルニチン(静注が有効という報告がある。市販されていない) ⑦ 高アンモニア血症に対して安息香酸ソーダの有効なことがある ⑧ 急性期にすぐに診断できないこともあるので、尿、血清、血液ろ紙等を保存して、鑑別しながら治療を進める
長期継続治療	① 基本:前駆物質の負荷を減らし、カロリーを十分に補給する。 ② 食事療法(特殊ミルクなど) ③ 食事間隔の指導(飢餓時間を長くしない) ④ 代謝ストレス時(感染、下痢など)、早めのブドウ糖輸液 ⑤ L-カルニチン(30-200mg/kg/日)経口投与 ⑥ ビタミン投与(疾患によって有効な場合がある) ⑦ 特異的薬物療法
特異的薬物治療	① ビオチン(10mg/日):マルチプルカルボキシルーゼ欠損症 ② ビタミン B12(10mg/日):B12 依存性メチルマロン酸血症 ③ リボフラビン(50-100mg/日):グルタル酸血症2型 ④ リオレサル(1.5-2.0mg/日):グルタル酸血症1型 ⑤ グリシン(250mg/日):イン吉草酸血症

2. 脂肪酸代謝異常症に対する治療の原則

疾患	長鎖脂肪酸の代謝異常	中鎖・短鎖脂肪酸の代謝異常
	CPT1欠損症、CPT2欠損症、TRANS欠損症、VLCAD欠損症、TFP/LCHAD欠損症	MCAD欠損症、GA2
急性期の治療		
1) 対症療法	① 十分量のブドウ糖輸液 ② 高血糖の時にインスリン併用 ③ アンドーシス補正 ④ 救急蘇生 ⑤ 心筋障害のつよい時は、3-ヒドロキシ酪酸の投与も考える	
慢性期の治療		
2) 生活指導	① 食事間隔の指導 ② 代謝ストレス時の対応(早めのブドウ糖輸液) ③ 必要に応じて十分な休息	
3) 食事間隔の目安	① 新生児期:3時間以内 ② 6ヶ月まで:4時間以内 ③ 1歳まで:6時間以内 ④ 3歳まで:8時間以内 ⑤ 4歳以上:10時間	
4) 食事療法	① 1才まで:症状に応じて低脂肪食(3g/日以下を目安) ② MCTミルクを使用する ③ 1才以後:脂肪はMCT:LCT(3:1)を目安 ④ 生コーンスターチ(2g/kg)を試みる	① MCTミルクは使用しない。 ② 制御困難な低血糖に対しては、生コーンスターチ(2g/kg)を試みる
5) カルニチン	① 血中カルニチンをモニター ② CPT1欠損症には投与しない。 ③ L-カルニチン(30-200mg/kg/日、分3)	① 血中カルニチンをモニター ② L-カルニチン(30-200mg/kg/日、分3)
6) その他の治療(有効例の報告)	① 3-OH-酪酸の投与 ② クレアチン投与 ③ 一部のスポーツドリンク(エネルゲン®など)	

略字: CPT1 and CPT2 = carnitine palmitoyltransferase 1 and 2; TRANS = carnitine acylcarnitine translocase; VLCAD = very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase; TFP/LCHAD = trifunctional protein/long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase; MCAD and SCAD = medium- and short-chain acyl-CoA dehydrogenase; GA2 = glutaric acidemia type 2.

対象疾患各論

1. メチルマロン酸血症

1) 概念 (図1)

メチルマロン酸血症は4種類のアミノ酸(バリン、イソロイシン、スレオニン、メチオニン)およびコレステロール、奇数鎖脂肪酸の中間代謝経路に存在するメチルマロニルCoAムターゼの活性低下により、体内に大量のメチルマロン酸が蓄積する有機酸代謝異常症である。活性低下の原因としてメチルマロニルCoAムターゼアポ酵素の異常とその補酵素であるコバラミン(ビタミンB12)代謝経路の異常に大別される。前者はmut、後者はcblと略され、細胞間相補性試験によりサブタイプに分類されている。また病態不明の良性メチルマロン酸血症の報告もある。常染色体劣性遺伝形式をとり、わが国での頻度は約8万人に1人である。

2) 臨床所見

典型例は新生児期から乳児期にかけて嘔吐、哺乳不良、嗜眠、筋緊張低下、呼吸障害などで発症し、著明なケトアシドーシス、高アンモニア血症が見られる。また、高グリシン血症や貧血、好中球減少、血小板減少なども合併することがある。早期に発見・治療されなければ予後不良であり、救命されても精神身体発育遅延を残すことが多い。ビタミンB12に反応するタイプでは予後は比較的良好である。長期的合併症として腎障害が知られている。

ガスクロマトグラフィー・質量分析計(GCMS)による尿中有機酸分析では大量のメチルマロン酸の排泄を認める。ろ紙血を用いたタンデムマス分析ではプロピオニルカルニチンの上昇が見られる。

3) 治療と予後

早期発見し重篤なケトアシドーシス発作を如何に予防するかが、予後を決める最大の要因である。ケトアシドーシス発作を繰り返す場合は発育遅延、知能障害は必発である。早期から食事療法、薬物療法が開始されれば予後は改善する。

4) 具体的な治療

(A) 急性期の治療

① 輸液：高張糖液による十分なカロリー補給(80-120kcal/kg/日)、必要に応じアルカリ剤の投与を行う。高カロリー輸液実施が望ましい。高血糖がみられるときはインスリンを併用(0.05u/kg/hから開始)。

② ビタミン投与：B12反応性メチルマロン酸血症をはじめ、他のビタミン反応性有機酸血症を考慮して診断が付くまで水溶性ビタミンを経静脈的に連日投与する。B1：100-200mg/日、B2：100-300mg/日、B12(ヒドロキシまたはシアノコバラミン)：1-2mg/日、ピオチン：5-20mg/日

③ カルニチン投与：静注薬は市販されていないので、各施設で調整し、書面での同意取得後使用する。静注の場合200-300mg/kg/日、経口の場合エルカルチン®100-150mg/kg/日投与する。

④ 血液浄化療法：治療に関わらず、重篤なアシドーシス、高アンモニア血症が改善しない場合は速やかに血液透析、持続ろ過透析を行う。

⑤ 輸血、GCSF：貧血や好中球減少に対して。

⑥ アミノ酸補給：急性期のアシドーシス改善後も腸管の動きが悪く経口摂取が進められない場合は高カロリー輸液に加えてアミノ酸輸液を考慮する。0.5g/kg/日から開始し、アシドーシス、高アンモニア血症の再燃に注意しながら漸増、目標は0.8-1.0g/kg/日。血中アミノ酸分析を行い、イソロイシン値が正常下限を下回らないように調節する。血中アミノ酸分析が適時実施出来る体制が必要であり、専門医の指導が望まれる。経口(経管)摂取が可能になれば漸減中止する。

(B) B12反応性メチルマロン酸血症の治療

ビタミンB12製剤(コバマミド)を10-40mg/日経口投与する。cblサブタイプではB12大量投与のみで食事療法も不要となることもある。

(C) B12非反応性メチルマロン酸血症の治療

① 食事療法：急性期を脱し、経口摂取が可能になれば食事療法を開始する。メチルマロン酸の前駆体であるスレオニン、バリン、イソロイシン、メチオニンの摂取を制限し、十分なエネルギーと必要なたんぱく質を与えてカタボリズムに陥らないようにするのが原則である。

自然蛋白は育児用ミルク、母乳を用いて0.5g/kg/日から開始し、各種臨床検査値(静脈血ガス分析、アンモニアなど)を参考にしながら1.0-1.5g/kg/日を目標に漸増する。制限アミノ酸を除去した特殊ミルク(S-22,S-10)を併用し、総蛋白摂取量を乳児期2.0g/kg/day、幼児期1.5-1.8g、学童期以降1.0-1.2gとする。

また、年齢相応のエネルギー、ビタミン、ミネラルを与えるために特殊ミルク(S-23無蛋白ミルク)、総合ビタミン剤を併用、乳児期以降はエネルギー補給のためにコナアメなども併用する。

②カルニチン：カルニチン(エルカルチン®)を経口的に50-150mg/kg/日投与する。遊離カルニチンの血中濃度は50nmol/ml以上を目標にする。

③抗生剤投与：腸内細菌によるプロピオン酸の産生抑制のためメトロニダゾールを10mg/kg/日投与。耐性菌出現を防ぐため4投3休で投与することもある。

(D) Sick dayの対応

患児は発熱、嘔吐、下痢などの急性疾患罹患時に急速にカタボリズムに陥り、致命的なケトアシドーシス発作を起こす危険性があることを知っておく必要がある。

①家族への教育：嘔吐、下痢などにより経口、経管摂取が十分でないときは必ず主治医に連絡をさせる。尿ケトン体を自宅でチェックさせ、陽性時には受診するよう指導する。ケトン体陰性でも状態がいつもと違う時は受診させたほうが良い。受診時は尿ケトン体、静脈血ガス分析などを測定し必要に応じ高張糖液、メイロンなどで補液を行う。来院時尿ケトン体陽性の場合は陰性化するまで補液を続ける。

②ブドウ糖輸液：カロリーが十分摂取できないときは入院させ、経静脈的にブドウ糖を補給する。末梢点滴のみで管理可能なのは1~2日であり、多少吐き気があっても、嘔吐がなければ経管栄養をゆっくり進め、総カロリー摂取を確保する。2日以上カロリーが確保できない場合は緊急的に高カロリー輸液を実施し、吐き気が収まるまでの間続ける。

(E) 合併症の治療

①神経合併症：精神運動発育遅延、てんかんを

しばしば合併する。小児神経専門医によって、適切に対応する。脳波、頭部MRI検査、知能検査を定期的に行う。

②腎障害：メチルマロン酸血症患児では加齢とともに腎機能障害が進行するので、その保存的療法、透析療法、腎移植を考慮する必要がある。

③膵炎：アシドーシス発作に伴いアミラーゼ上昇の報告がある。

(F) 移植療法

①肝移植：重症型では検討すべき治療法である。腎機能が悪化する前、すなわち乳児期に移植するのが望ましいと考えられるが、肝移植で中枢神経症状や腎機能の悪化が防げるかどうかは不明である。

②腎移植：腎不全例では適応となるが、移植後の腎機能の予後についてはデータがない。

2. プロピオン酸血症

1) 概念 (図1)

プロピオン酸血症は4種類のアミノ酸(バリン、イソロイシン、スレオニン、メチオニン)およびコレステロール、奇数鎖脂肪酸の中間代謝経路に存在する、プロピオニルCoAカルボキシラーゼの活性低下により、体内に大量のプロピオン酸およびプロピオニルCoAの代謝産物が蓄積する常染色体劣性遺伝疾患である。わが国ではタンデムマスキリーニングにより軽症型が高頻度(約3万人に一人)に発見されている。重症型の頻度は約40万人に一人とされる。

2) 臨床所見

典型例(重症例)では、新生児期哺乳開始後から重篤なケトアシドーシス、高アンモニア血症で発症する。初発症状では哺乳不良、嘔吐、嗜眠、筋緊張低下が多く、呼吸障害、低体温、昏睡へと進行する。適切な処置がなされないと、死の転帰をとることがある。救命されても感染などを契機に引き起こされる反復性アシドーシス発作により精神身体発育遅延を合併することが多い。また、心筋症発症例が報告されており、本症の合併症として注意しなければならない。検査上高グリシン血症や好中球減少、血小板減少、汎血球減少などもみられる。タンデムマスキリーニング試験研究により、本症の中には重篤な

アシドーシス発作を起こさない軽症型が存在することが明らかにされた。

GCMSによる尿中有機酸分析ではメチルクエン酸、3-ヒドロキシプロピオン酸の検出が診断上重要である。ろ紙血を用いたタンデムマス分析ではプロピオニルカルニチンの上昇が見られる。

3) 治療と予後

早期発見し重篤なケトアシドーシス発作を如何に予防するかが、予後を決める最大の要因である。ケトアシドーシス発作を繰り返す場合は発育遅延、知能障害は必発である。早期から食事療法、薬物療法が開始されれば予後は改善する。

4) 具体的な治療

急性期の治療はメチルマロン酸血症の場合と同じである。慢性期の治療もビタミンB12非反応性メチルマロン酸血症の治療法に順ずる。本症では腎障害の合併は無いが、心筋症を発症することが知られており、定期的に心機能検査を行うことが薦められる。最近早期に肝移植を施行されたプロピオン酸血症が報告されているが、長期的予後はまだ不明である。

3. βケトチオラーゼ欠損症

1) 概念 (図1)

βケトチオラーゼ欠損症はミトコンドリア・アセトアセチルCoAチオラーゼ(T2)欠損症とも呼ばれている。このほかにも同義語として2-メチルアセトアセチルCoAチオラーゼ欠損症、2-メチルアセト酢酸尿症がある。常染色体劣性遺伝形式をとり、これまで世界で50例以上、国内で3家系の報告がある。

ヒトでは細胞内局在や基質特異性の異なる5種類のチオラーゼが存在し、それぞれの欠損症が報告されている。これらはすべてβケトチオラーゼと呼ばれるが、βケトチオラーゼ欠損症というときにはT2欠損症のみを意味している。T2はイソロイシンとケトン体の代謝の両方に関与しており、このことがその特徴的な検査成績を示す理由である。この疾患は日本人研究者によって病態が明らかになったもののひとつである。

2) 臨床所見

βケトチオラーゼ欠損症は感染などを契機に、重篤なケトアシドーシス発作を間欠的にきたす疾患である。発作時、筋緊張低下、痙攣、意識障害をきたす。2歳までに90%の症例が発作を起こす。90%の症例で胃腸炎などの感染が引き金となっている。75%の症例が傾眠から昏睡に至るまでのさまざまな程度の意識障害を呈する。発作後30%の患者が死亡もしくは精神運動発達遅滞を残す。

一般的な検査成績では強いケトアシドーシスがみられ、もちろん尿ケトン体は強陽性を示す。発作時のGCMSによる尿中有機酸分析では、2-メチル-3-ヒドロキシ酪酸、2-メチルアセト酢酸、チグリルグリシン、3-ヒドロキシ酪酸、アセト酢酸などの異常排泄が認められる。間欠期は無症状で、一般検査もすべて正常である。

3) 治療と予後

確定診断後は軽度の蛋白制限により、ほとんどの患者が重篤な発作をきたさず正常発達している。年長になると発作をきたさなくなる。早期診断、早期治療がもっとも大切である。

4) 具体的な治療

(A) 急性期の治療

イソロイシン異化およびケトン体産生を抑えるために、十分なブドウ糖の補給を行う必要がある。メイロンによるアシドーシスの治療は高ナトリウム血症に注意しながら行う必要がある。

(B) 安定期の治療

低蛋白食(1.5-2.0g/kg/日)が勧められている。カルニチン投与、グリシン投与が有効であったという報告がある。蛋白異化の亢進する感染時や絶食時などは経静脈的ブドウ糖投与を早期に行い、発作を未然に防止することが重要である。

4. イソ吉草酸血症

1) 概念 (図2)

イソ吉草酸血症は1966年に当時マサチューセッツ総合病院にいたK.Tanakaらによって初めて報告された。イソ吉草酸血症は、GCMSにより診断された最初の有機酸血症であることより、記念碑的な疾