

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

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から発症時期と予後の関連を明らかにし、タンデムマスによる新生児スクリーニングによる早期発見の有用性を検討した。特に 2001 年以降に診断され予後が明らかな症例については、発症後診断群とスクリーニング発見群とを後方視的に解析した。2007 年には島根大学で 37 症例が新規に診断され、内訳は有機酸代謝異常症が 30 症例、脂肪酸代謝異常症が 6 症例、アミノ酸代謝異常症が 1 症例であった。2001 年以降 2007 年までに診断され予後が明らかな症例 143 例について発症時期と予後を年齢ごとに解析し、以下の事柄が明らかとなった。1) 有機酸代謝異常症：新生児期発症は全体の 41% を占め、初発症状は哺乳不良などの非特異的症状であった。この時期の発症は 50% が死亡し正常発達を獲得した症例は 13% のみであった。乳児期後期の発症では生命予後は良好だが、学童期以前までは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、特に生後 1 か月から 2 歳までの乳幼児期早期の発症が全体の 48% を占めた。初発症状は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かった。学童期以降の発症は全例正常発達を獲得できているが、乳幼児期の急性脳症様発症では死亡例や後遺症を残す症例が 50-60% と少なくなく、発症が早いほど予後不良であった。3) スクリーニングで発見された症例：発症後に診断された群に比べ有意に予後良好であった。以上より、乳幼児期以降に発症する症例の多くでは新しい新生児マススクリーニングで発症前診断による発症/障害予防が強く期待された。しかし軽症型も少なからず発見する可能性があり、生涯無症状なのかを長期にわたって検討する必要がある。

研究協力者

長谷川有紀（島根大学小児科助教）
小林弘典（島根大学小児科助教）
遠藤充（島根大学小児科大学院生）
山田健治（大田市立病院小児科医師）
虫本雄一（島根大学小児科大学院生）
山口清次（島根大学小児科教授）

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。2001 年から 2007 年に当科で診断した先天代謝異常症例の自然歴を検討し、さらに発症後診断例と発症前にスクリーニングで診

断された症例の予後を比較し、タンデムマススクリーニングの効果について分析した。

B. 研究方法

1) 有機酸代謝異常症の発症形態と予後

2001 年 1 月から 2007 年 12 月に当科で診断され、2007 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。

2) 脂肪酸代謝異常症の発症形態と予後

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。

3) 発症前にスクリーニングで診断された症例の予後の検討

有機酸代謝異常症と脂肪酸代謝異常症において、

それぞれ検討した。

C. 研究結果

1) 有機酸代謝異常症の発症形態と予後 (図 1、表 1)

2001-07年に診断され、発症時期および初発症状、予後の明らかな 114 症例を検討した。新生児発症は 46 症例 (41%) で、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た。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へ変化した。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た。

新生児期発症例では 50%が死亡しており、正常発達は 13%のみであった。1 か月以降の遅発例では死亡率は減少するが、正常発達は乳幼児期発症で 29%、学童期以降で 64%であり、後遺症を残す例が少なくなかった。

2) 脂肪酸代謝異常症の発症形態と予後 (図 2、表 1)

2001-07年に診断された症例は 29 症例であった。新生児期に発症した症例は 3 症例で、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、学童期以降はほとんどが骨格筋症状を示した。

予後については、新生児期発症例が 3 例中 2 例 (33%) 死亡した。年齢が高くなるに連れて正常発達例が増加するが、乳幼児期の急性脳症様発症では死亡例や後遺症を残す症例が 50-60%を占めた。

3) 発症前にスクリーニングで診断された症例の予後

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は、有機酸代謝異常症で 13 例 (メチルマロン酸血症 4 例、プロピオン酸血症 3 例、メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症 2 例、グルタル酸血症 1 型 2 例など)、脂肪酸代謝異常症で 4 例 (VLCAD 欠損症 1 例、MCAD 欠損症 1 例など) であった。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おり、予後は非常に良好であった。

D. 考察と結論

今回の研究で以下のことが明らかとなった。

- ア) 発症時期：有機酸代謝異常症 (OA) では新生児期発症が 41%と最も高く、年齢が高くなるほど減少した。脂肪酸代謝異常症 (FAOD) では乳幼児期発症が 65%で、特に乳幼児突然死症候群 (SIDS) の好発年齢と重なる乳幼児期早期の発症が 48%を占めた。FAOD において発症時期が遅い傾向が認められたが、尿素サイクル異常症では幼児期以降にも 1/3 の患者が発症した。
- イ) 予後：新生児期発症例では OA で 50%、FAOD で 67%が死亡する一方、学童期以降には正常発達例が 64%、100%となり、発症の早いほど予後不良である事を示した。
- ウ) 発症前にスクリーニングで診断された 17 症例：全症例は、いずれも未発症のまま現在良好な発達を獲得している。これらの疾患には軽症型も含まれている可能性があり、生涯無症状が長期の検討を要する。

以上の結果は特に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。我々はすでに学会でタンデムマススクリーニングが有機酸・脂肪酸代謝異常症の短期予後の改善に有用であることを報告した (表 2)。しかし長期予後についてはまだ明らかになっておらず、スクリーニング診断例を今後も長期に評価する事が重要である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 長谷川有紀、遠藤充、小林弘典、宇都宮靖、由井崇子、山口清次：尿中有機酸分析が早期診断に有用であったビタミン B1 欠乏症の 2 例。日本小児科学会雑誌 in press
- 2) Yotsumoto Y, Hasegawa Y, Fukuda S, Kobayashi H, Endo M, Fukao T, Yamaguchi S: Clinical and molecular investigations of Japanese cases of glutaric academia type 2. Mol Genet Metab. in press
- 3) Kobayashi H, Hasegawa Y, Endo M, Purevsuren J,

Yamaguchi S: A retrospective ESI-MS/MS analysis of newborn blood spots from 18 symptomatic patients with organic acid and fatty acid oxidation disorders diagnosed either in infancy or in childhood. J Inherit Metab Dis. 2007, 30: 606

4) Kobayashi H, Hasegawa Y, Endo M, Purevsuren J, Yamaguchi S: ESI-MS/MS study of acylcarnitine profiles in urine from patients with organic acidemias and fatty acid oxidation disorders. J Chromatogr B 2007, 855: 80-87

5) Oyama C, Takahashi T, Matsumori M, Shoji Y, Tajima G, Sakura N, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Kakinuma H, Takada G: Novel mutation of methylmalonyl-CoA

mutase gene causing the mut0 form of methylmalonic acidemia in a Japanese girl. Mol Genet Metab. 2007, 91:384-389

2. 学会発表

1) 長谷川有紀、小林弘典、遠藤充、重松陽介、大浦敏博、福士勝、鈴木健、田崎隆二、山口清次: タンデムマススクリーニングによる予後改善効果の検討: 発症後に診断された症例との比較 第34回マス・スクリーニング学会. 千葉, 2007.

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

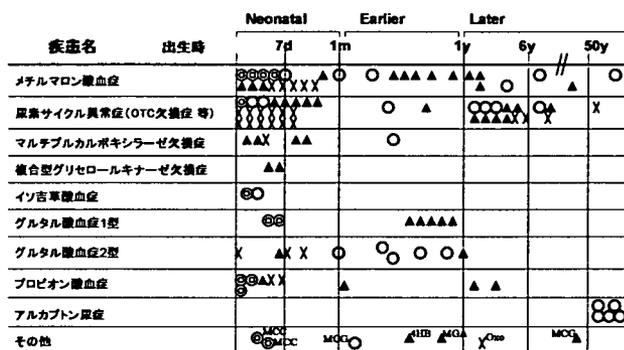


図1. 有機酸代謝異常症の発症時期と予後

(島根大学小児科 2001-07年)

○: 正常発達、 ▲: 発達障害
 ×: 死亡、 ◎: 未発症

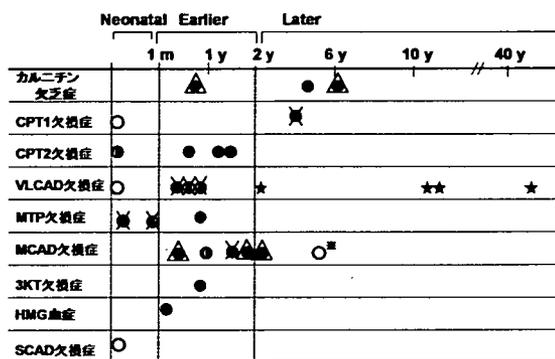


図2. 脂肪酸代謝異常症の発症時期と予後

(島根大学小児科 2001-07年)

⊕: 非特異的症状、 ●: 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

表1. 発症時期と予後との関係

1) 正常発達例

	新生児	乳幼児	学童期~
OA (%)	13	29	64
FAOD (%)	33	47	100

2) 死亡例

	新生児	乳幼児	学童期~
OA (%)	50	7	14
FAOD (%)	67	26	0

表2. 発症前スクリーニング群と発症後診断群における予後の比較

疾患	発症前スクリーニング	発症後診断
患者数	54	153
有機酸代謝異常症	39	120
正常発達	31 (79%)	38 (32%)
後遺症	6 (15)	54 (45)
死亡	2 (5)	28 (23)
脂肪酸代謝異常症	15	33
正常発達	15 (100%)	17 (52%)
後遺症	-	6 (18)
死亡	-	10 (30)

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

島根大学で診断した中鎖アシル CoA 脱水素酵素（MCAD）欠損症の発症形態

研究要旨

中鎖アシル CoA 脱水素酵素（MCAD）欠損症は、欧米では最も頻度の高い脂肪酸代謝異常症として多くの国で新生児マススクリーニングが行われている。しかし、我が国における報告はほとんどなく、稀な疾患と考えられていた。1997年より我が国でも、タンデムマス・スクリーニングのパイロットスタディが開始され、約 10 万に 1 人の頻度であることが分かってきた。我々は最近 3 年間に 5 例の MCAD 欠損症を診断したので、これらの発症形態を検討した。2 例は、1 歳代に感染を契機として重度の低血糖と意識障害を発症し、うち 1 例は発症当日に死亡した。その後、この 2 例の同胞をスクリーニングしたところ、1 例ずつ（2 例）を新たに発見した。このうち 1 例は 1 歳代に重症の低血糖発作を起こし、重症心身障害児となっていた。もう 1 例は 5 歳 5 ヶ月の時点で無症状であった。第 5 例目は、新生児期から間欠的な低血糖発作を起こしていたが、2 歳時の低血糖発作を契機に診断された。また 5 例中 2 例の新生児ろ紙血が入手できたため、後方視的にタンデムマス分析を行なったところ、いずれも新生児期に発見できることを確認した。発症前に診断し無症状で経過する患者もいる一方で、一旦発症すると予後は不良であった。本疾患は新生児期にタンデムマスで発見できる疾患である。タンデムマス・スクリーニングが導入され、発症予防や障害予防につながることを望まれる。

研究協力者

虫本雄一、小林弘典、遠藤 充、長谷川有紀、
山口清次（島根大学小児科）

A. 研究目的

MCAD 欠損症は、一旦発症すると必ずしも予後は良好ではない。MCAD 欠損症日本人症例の発症形態を検討し、発症後診断症例と発症前診断症例の予後を比較した。タンデムマス・スクリーニングでの発症前診断による発症予防や障害予防への有効性について検討した。

B. 研究方法

当院で MCAD 欠損症と診断した 5 例について、診断方法、臨床像、予後を検討した。5 例中 2 例の新生児ろ紙血が入手できたため、後方視的にタ

ンデムマス分析を行った。

C. 研究結果と考察

(1) MCAD 欠損症 5 症例の発症形態（表 1）

診断時年齢は 1 歳 4 ヶ月～8 歳 10 ヶ月。

症例 3 は症例 2 の、症例 5 は症例 4 の診断を契機に同胞スクリーニングにより診断された。既往歴として、症例 1 と 2 では新生児期の一過性の低血糖があり補液を受けていた。症例 1 では診断までに中等度の低血糖（BS 40-50 mg/dl）のエピソードが頻回にみられていた。一方、症例 3、症例 4 は初回の低血糖発作が重篤であり、代謝異常が疑われ診断に至った。発症したいずれの症例（症例 1 から 4）も、感冒や胃腸炎罹患時の飢餓状態が発作の契機となっていた。

初発症状は様々であったが、全例に低血糖がみ

られ、痙攣、急性脳症の症状をしめした症例 2、3、4 では絶食期間が 12 時間以上経過していた。無症状の時点で同胞スクリーニングで発見された症例 5 以外は 1 例が死亡、3 例が知的障害などの後遺症をのこしていた。一度発症した際の予後は不良であることが明らかとなった。

(2) 診断について (表 2)

初回検査で診断ができなかった症例 1 と症例 3 では、初回発作時は尿中有機酸分析のみで、タンデムマス分析は行われていなかった。尿中有機酸分析は安定期や、急性期でも点滴加療後などでは、異常値をしめさないことがある。一方タンデムマスによるアシルカルニチン分析では急性期、安定期に関わらず初回の検査で診断することが可能であった。

(3) 新生児ろ紙血の後方視的検討

5 症例中 2 症例 (症例 1、2) では新生児ろ紙血を入手することができた。後方視的にタンデムマス分析を行ったところ、発症時と同様の所見を得ることができ、発症前診断が可能であることが確認された。症例 1 は後遺症としての知的障害があり、症例 2 では死亡している。タンデムマス・スクリーニングが普及すれば、このような症例の予後を改善することができると考えられた。

D. 結論

- 1) 島根大学で診断した MCAD 欠損症の 5 例の発症形態について比較検討した。
- 2) 自然歴に新生児一過性低血糖をきたす症例があった。
- 3) 発症時は重篤な低血糖を来し、一度発症すると予後不良であった。(死亡：1 例、後遺症：3 例)
- 4) タンデムマスによる新生児スクリーニングが普及すれば、突然死や障害の予防に貢献できる。

E. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

1. 虫本雄一、小林弘典、遠藤 充、長谷川有紀、山口清次. 島根大学で診断した中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症の発症形態. 第 59 回中国四国小児科学会 (2007 年 10 月 21 日, 高松)

表 1. MCAD 欠損症の発症形態

	診断時年齢	低血糖の既往歴	発作の契機	初発症状	経過
症例1	2歳5ヶ月	新生児期～2歳 4回	感冒	低血糖	知的障害
症例2	1歳8ヶ月	新生児期	感冒	けいれん	死亡
症例3	8歳10ヶ月 (同胞スクリーニング)	2歳4ヶ月 (急性脳症発症時)	胃腸炎	急性脳症	重度障害
症例4	1歳4ヶ月	特になし	胃腸炎	けいれん	重度障害
症例5	5歳5ヶ月 (同胞スクリーニング)	特になし	なし	無症状	無症状

表 2. 尿中有機酸分析、タンデムマス分析結果

	初回検査		2回目の検査	
	尿中有機酸分析	タンデムマス分析	尿中有機酸分析	タンデムマス分析
症例1	非特異的	Not done	異常	異常
症例2	異常	異常		
症例3	非特異的	Not done	異常	異常
症例4	異常	異常		
症例5	Not done	異常		

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

タンデムマス新生児スクリーニングにおける確定診断：
酵素診断法の利点と問題点

研究要旨

タンデムマス新生児スクリーニング試験研究で、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）による酵素診断を実施した。我々が最近 1 年間に確定診断を試みた新生児スクリーニング陽性例は 9 例で、うち 5 例に酵素診断を試みた。この 5 例中 4 例は C3 高値例で、全例とも初診時の尿中メチルマロン酸増加はなく、酵素活性から 2 例をプロピオン酸血症（PA）と診断した。

全実績では、これまでに確定診断を行った MS/MS-NBS 陽性例の総数は 43 例となった。そのうち 35 例については HPLC 法にてリンパ球中の酵素活性を測定しており、正常活性と判定されたものが 13 例あった。諸検査の結果、43 例中 11 例が偽陽性と判定されたが、そのうち 8 例については HPLC 酵素診断法で除外できており、確定検査として有用であった。偽陽性例が多かった疾患としては、PA（13 例中 3 例が偽陽性）、MCAD 欠損症（7 例中 3 例）などが挙げられ、これらの疾患のスクリーニングでは特に酵素診断の重要性が高いと考えられた。

我々の酵素活性測定系で正しく診断できなかった 5 例は、3-メチルクロトニルグリシン尿症（3 例）と SCAD 欠損症（2 例）であった。前者は生化学的所見と遺伝子解析で確定診断された症例でも活性低下を示せず、現在の測定法では実用困難と判断された。後者は遺伝子変異を同定後、過剰発現させた変異タンパクについて、同じ HPLC 測定法を応用し、酵素活性低下を証明した。

HPLC によるリンパ球中の酵素活性測定が可能な疾患は、偽陽性例を容易に除外診断することができ、信頼性の高いスクリーニング実施体制の構築に不可欠な検査法と考える。

研究協力者

佐倉伸夫（重症心身障害児施設鈴が峰）
但馬剛，津村弥来，白尾謙一郎，岡田賢
（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）
小野浩明（県立広島病院小児科）
中常千代美，渡川美弥子，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）

加えた。

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¹⁾

2) 酵素活性測定²⁾

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砕液を反応させ、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

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。

A. 研究目的

我々はこれまで、タンデムマス新生児スクリーニング（MS/MS-NBS）の主要対象について、陽性例の迅速な確定検査として高速液体クロマトグラフィ（HPLC）を用いた酵素活性測定法の有用性を検討してきた。特に偽陽性例においては、異常所見陰性に基づいて除外診断する尿中有機酸分析や遺伝子解析よりも、正常酵素活性を直接証明できる酵素診断法が有利と考えられる。このような観点から、最近の陽性例および、これまでの全実績について検討を

(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 (表1を参照)

1) 最近1年間の新規検討症例について

最近1年間に確定診断を試みた MS/MS-NBS 陽性例は、プロピオン酸血症 (PA) 4 例、3-メチルクロトニルグリシン尿症 (MCG) 1 例、グルタル酸尿症 II 型 (GA2) 1 例、カルニチン輸送異常症 (CTD) 2 例、シトリン欠損症 (CD) 1 例であった。このうち、PA は酵素活性測定結果より 2 例を罹患と診断した。MCG 例は生化学的所見・遺伝子解析から罹患と確定されていたが、我々の酵素診断法では活性低下を示せず、測定系の問題が明らかとなった。GA2 (尿中有機酸分析) と CD (遺伝子解析) は罹患と診断され、CTD はいずれも偽陽性と判定された。

2) 新規症例を含む全検討症例について

これまでに確定診断を行った MS/MS-NBS 陽性例の総数は 43 例で、そのうち 35 例については HPLC 法にてリンパ球中の酵素活性を測定した。諸検査の結果、43 例中 11 例が偽陽性と判定されたが、そのうち 8 例については HPLC 酵素診断法で除外できており、確定検査として有用であった。偽陽性 11 例の疾患内訳は、PA (13 例中 3 例が偽陽性)、MCAD 欠損症 (7 例中 3 例)、メチルマロン酸血症 (MMA; 4 例中 2 例)、CTD (2 例中 2 例)、GA2 (3 例中 1 例) となった。

3) 酵素診断が困難であった症例について

これまでに MCG が疑われる 3 例の酵素診断を試みたが、いずれも正常活性と判定された。これらのうち 2 例は、臨床経過 (高アンモニア血症など) や尿中有機酸・遺伝子解析結果などから罹患者と診断されており、1 例は母体の罹患による一過性の影響から偽陽性を示したと結論された。責任酵素 3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ (MCC) の活性測定系は、反応産物の標品がないため定性的な確認ができておらず、基礎的検討から明らかに反応産物と考えられた HPLC 上のピークを定量してきたが、現状のままでは実用困難となった。

SCAD 欠損症疑い例は 2 例を経験し、いずれも尿中エチルマロン酸の著増が続くことから罹患者と考えられたが、ブチリル CoA を基質とするリンパ球中の酵素活性測定では、活性低下を示すことができなかった。これは MCAD も同じ基質に対する代謝活性を示すことが原因と考えられる。遺伝子解析では 2 症例の 4 アレル中 3 アレルに変異が検出されたので、変異 SCAD を過剰発現させて酵素活性測定を行い、これらの変異がブチリル CoA に対してほとんど代謝活性を持たないことを証明した。

D. 考察と結論

有機酸代謝異常症の診断において、尿中有機酸分析での特異的所見の存在は、罹患者であることの有力な診断根拠となるが、異常所見が検出されない、あるいは軽微な異常にとどまる場合の解釈は容易ではない。特に発症前スクリーニングでは、代謝異常が代償された安定状態であるが故に異常所見がマスクされている可能性を、十分に考慮する必要がある。この懸念は、有機酸血症を伴わない脂肪酸代謝異常症の血中アシルカルニチン分析についても同様 (あるいはより深刻) である。

今回の検討で呈示した偽陽性の要因として、PA 疑い例のうち 1 例は後日 Leigh 脳症を発症しており、ミトコンドリア機能異常が何らかの機序で PA 類似の代謝障害をもたらしたものと推測される。MCAD 欠損症疑いのうち 2 例は MCT オイルの使用が C8-アシルカルニチン異常高値の原因と考えられ、CTD 疑いの 2 例はいずれも生後の栄養困難に伴う一過性の低カルニチン血症と考えられた。この疾患は酵素診断できないが、正常レベルの血中カルニチン濃度が観察できれば除外できるので、スクリーニング偽陽性の判定は容易である。MMA では従来、尿中メチルマロン酸の軽度増加がみられるだけで臨床的意義が不明瞭な症例が少なくないことが知られている。今回、偽陽性とした 2 例も同様の症例であるが、これらがビタミン B₁₂ 反応型 MMA と診断すべきケースであるかについては、我々の酵素活性測定法では鑑別できないという問題がある。GA2 疑いの 1 例は、体調不良時の血液と尿による再検を繰り返して異常がみられなかったため偽陽性としたが、より強い身体的ストレス負荷時に初めて代謝不全が顕在化する可能性を完全に否定できたとはいえない。

遺伝子診断は被検児の状態に左右されない結果が得られるが、変異が検出されない場合には、それが解析技術上の限界による「偽陰性」である可能性が否定できない。PA を除き高頻度変異が見出されてい

ない状況もあり、完了までに日数を要する遺伝子解析を、スクリーニング偽陽性例の除外診断法として用いるのは、効率性の点で難がある。

これらの方法と比較した場合、酵素診断法では、十分な酵素反応産物の生成が見られれば、明確に偽陽性例を除外診断することができるので有利である。所要時間も半日程度で、このような目的に伴う負担の軽減にも貢献できる。また、我々の方法は HPLC システムがひとつあれば、どの施設でも容易に導入可能な簡便なものである。これまでも実際に、論文の提供と電子メールでのやり取りで、国内および海外のいくつかの研究機関が我々の酵素診断法を利用するに至っている。今後、国内での MS/MS-NBS 施行地域の拡大に伴い、複数の基幹的検査センター

で主要疾患を酵素診断できる体制を築いていくことによって、このスクリーニング検査が、より信頼性の高いものになると考える。

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: HPLC を用いた有機酸・脂肪酸代謝異常症の迅速酵素診断. 日本マス・スクリーニング学会誌 16, 27-32, 2006.

表 1. 広島大学小児科で精査したタンデムマス新生児スクリーニング陽性全症例の確定診断結果

疾患	陽性例数 (うち新規例数)		酵素活性 低下例数	正常活性 症例数	酵素活性正常例の追加検査		最終診断での 偽陽性例数	
					尿中有機酸 異常(+)	遺伝子変異 同定		
MMA	4	(0)	2	2	2	(検査なし)	2	VB ₁₂ 反応型の可能性あり
PA	13	(4)	10	3	1	1例のみ検査 →変異なし	3	尿中有機酸異常(+) 例 → Leigh 脳症を発症
GA1	3	(0)	3	0			0	
MCG	3	(1)	0	3	2	2	0	1例は母性 MCG と判明
IVA	1	(0)	1	0			0	
MCD	1	(0)	(検査なし)				0	
GA2	3	(1)	(検査なし)				1	
SCAD	2	(0)	0	2	2	2アレル=1例 1アレル=1例	0	変異タンパクの酵素 活性低下を証明
MCAD	7	(0)	4	3	0	(検査なし)	3	
VLCAD	2	(0)	2	0			0	
CPT-1	1	(0)	(検査なし)				0	
CTD	2	(2)	(検査なし)				2	低カルニチンが正常化
CD	1	(1)	(検査なし)				0	
計	43	9	22	13			11	

MMA: メチルマロン酸血症, PA: プロピオン酸血症, GA1: グルタル酸尿症 I 型, MCG: メチルクロトニルグリニン尿症, IVA: イソ吉草酸血症, MCD: 複合カルボキシラーゼ欠損症, GA2: グルタル酸尿症 II 型, SCAD: 短鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症, MCAD: 中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症, VLCAD: 極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症, CPT-1: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1 欠損症, CTD: カルニチントランスポーター異常症, CD: シトリン欠損症

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

グルタル酸血症 2 型の β 酸化能評価

研究要旨

タンデムマスによる新生児マススクリーニングの普及に伴い、有機酸、脂肪酸代謝異常症が疑われた症例に対する診断方法の確立が必要となる。脂肪酸代謝異常症のスクリーニングには血中アシルカルニチン分析が有用であるが、確定診断が困難な場合がある。最近、タンデムマスを用いた線維芽細胞のアシルカルニチンプロファイル測定の有用性が報告されている。当科では、脂肪酸代謝異常症患者の皮膚線維芽細胞を用いて、タンデムマスによる脂肪酸 β 酸化能評価法を確立した。さらに、グルタル酸尿症 2 型(GA2)14 例の線維芽細胞に対し、パルミチン酸、ミリスチン酸及びオクタン酸を添加した培地で培養し、96 時間後にタンデムマスで上清のアシルカルニチン分析を行った。結果は、脂肪酸代謝異常症の診断確定に有用であった。GA2 については、新生児型 3 例と遅発型 10 例、無症状 1 例でプロファイルに違いがみられ、診断確定に有用であるだけでなく、重症度も評価することができた。本法はマススクリーニング後の診断法の一つとして期待できる。

研究協力者

遠藤 充、小林弘典、長谷川有紀、虫本雄一、Li H, P. Jamiyan、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普及に伴い、有機酸、脂肪酸代謝異常症が疑われた症例に対する診断方法の確立が必要となる。特にグルタル酸血症 2 型 (GA2) は診断が難しい場合がある。さらに表現型によって、予後に大きな違いがみられる。このため、スクリーニングで発見される脂肪酸代謝異常症の診断を確立する事、及びグルタル酸血症 2 型の重症度を評価するために、皮膚線維芽細胞を用い、タンデムマスによる脂肪酸 β 酸化能の評価について検討した。

B. 研究方法

GA2 患者 14 人の皮膚線維芽細胞を対象とした。診断の有用性を確認するために GA2 以外に、中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症、三頭酵素 (TFP) 欠損症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II (CPT II) 欠損症、全身性カ

ルニチン欠乏症(PCD)のそれぞれ例を解析した。これらの患者は、GC/MS、MS/MSによって生化学診断され、遺伝子解析及び酵素活性測定で診断確定した症例である。

GA2の病型は、新生児型3例、遅発型10例、スクリーニングで発見された無症状の患者が1例であった。

アシルカルニチン分析は Juren G. Okun らの方法を一部改変して行った。パルミチン酸及びオクタン酸を添加した培地で皮膚線維芽細胞を培養し、96時間後に上清を採取し、タンデムマスでアシルカルニチン分析を行った。GA2については、上記に加えて、ミリスチン酸の添加を行った。

C. 研究結果

C-1. 線維芽細胞 β 酸化能の特徴 (図1)

全身性カルニチン欠乏症のみ、特徴的な所見がみられなかった。MCAD 欠損症ではパルミチン酸負荷とオクタン酸負荷の両方で、C4、C6、C8 といった中鎖アシルカルニチンの上昇が特徴的であった。VLCAD 欠損症では、パルミチン酸負荷時に C12、C14、C14:1 が上昇した。CPT II 欠損症ではパルミチン酸負荷時に C16、C16:1 が上昇し、TFP 欠損症では C16、C16:1、C16-OH が上昇していることが明らかとなり、疾患に特徴的なプロファイルを示した。VLCAD 欠損

症、CPTII欠損症、そしてTFP欠損症では、オクタン酸負荷時に特異的なアシルカルニチンの上昇はみられなかった。GA2の新生児型では、パルミチン酸負荷時にC16が増加し、オクタン酸負荷時にC8の増加がみられた。遅発型では、パルミチン酸負荷時に短鎖～長鎖アシルカルニチンの広範な増加を認めた。

C-2 GA2の表現型によるアシルカルニチンプロファイルの違い(図2)

GA2患者14症例の臨床的重症度とアシルカルニチンプロファイルを比較した。パルミチン酸を負荷した時、新生児型では、C8、C10の上昇はほとんどなく、C16の著明な上昇が認められた。遅発型では、C8、C10の上昇が認められ、C16の上昇は目立たなかった。ミリスチン酸を負荷した時、新生児型はC14が上昇したが、一方、遅発型はC14よりもC8、C10が上昇した。オクタン酸を負荷した時では、新生児型でC8の上昇が特徴的であった。無症状の1例は、遅発型と同じプロファイルを示した。アシルカルニチン比をみると、パルミチン酸を負荷した時に、遅発型と比較して、新生児型でC16/C8が高かった。また、遅発型のうち、乳児期発症の群と学童期発症の群を比較したところ、アシルカルニチンプロファイルとその比には有意な差を認めなかった。ETF- α 、ETF- β 、ETF-DHの遺伝子間にも明らかな違いはみられなかった。

D. 考察

D-1. 線維芽細胞 β 酸化能の特徴

培養線維芽細胞とタンデムマスを用いた β 酸化能評価の有用性は以前にも報告されているが、本法では、安定同位体を用いない事と長鎖脂肪酸と中鎖脂肪酸を別々に負荷することが特徴である。2種類の鎖長の脂肪酸を負荷することで、長鎖の β 酸化能だけでなく、中鎖の β 酸化能も知ることができる。

従来のタンデムマスでは、長鎖アシルカルニチンが蓄積するような疾患、特にCPT2欠損症やGA2は化学診断が困難な場合がある。これらは本法で、パルミチン酸を負荷した場合にいずれもC16を中心に上昇した。しかし、オクタン酸の負荷を加えるとGA2の症例は中鎖アシルカルニチンが上昇した。これはGA2において、長鎖から中鎖まで広く β 酸化能が障害されていることを示している。これによって

疾患の鑑別が容易にできた。

D-2 GA2の表現型によるアシルカルニチンプロファイルの違い

GA2は臨床型として、1) 新生児型と2) 遅発型に大別される。1) 新生児型は、新生児期早期に重症の非ケトン性低血糖や代謝性アシドーシスをきたし、致死経過をとる。2) 遅発型は、様々な程度に間欠発作を繰り返すのが特徴である。タンデムマスやGCMSによってスクリーニングされるが、非特異的な結果しか得られないことも多く、診断が困難な疾患の一つである。

今回、GA2患者14症例の検討を行った。新生児型3例、遅発型10例、無症状1例であった。新生児型では、パルミチン酸負荷時にC16が上昇し、ミリスチン酸を負荷するとC14が上昇した。さらにオクタン酸負荷時にC8が上昇した。これらの結果は、添加された脂肪酸が下流まで β 酸化されていない事を示唆している。他方、遅発型はパルミチン酸負荷時にはC16の上昇は顕著ではなく、C8、C10の上昇があった。このことは遅発型が新生児型よりも酵素活性が残っていて、添加した基質がある程度代謝されて中間代謝過程の産物が蓄積するためと考えられる。つまり、新生児型では、負荷した脂肪酸そのものに対応する脱水素酵素活性がより強く障害されている。遅発型では、負荷した脂肪酸はある程度代謝され、脱水素酵素活性の障害の程度が軽い、ということが言える。

この方法によって、GA2の鑑別診断と重症度評価が同時にできることが示された。

E. 結論

タンデムマスによる新生児マススクリーニングが普及することで、新生児期に診断困難な症例が増えることが予想される。本法は、*in vitro*で飢餓状態を作り、炭素鎖の異なる脂肪酸を加えて細胞の β 酸化能を測定することができ、脂肪酸代謝異常症の診断に有用である。また、本法がGA2の鑑別診断としてだけでなく、重症度を予測することができ、マススクリーニング後の診断法の一つとして期待できる。

F. 学会発表

- 1) 遠藤充、小林弘典、長谷川有紀、山口清次：第110回日本小児科学会学術集会、2007年4月、京都

2) 遠藤充、小林弘典、P. Jamiyan、長谷川有紀、山口清次：
第 34 回日本マス・スクリーニング学会学術集会、2007
年9月

3) 遠藤充、小林弘典、P. Jamiyan、長谷川有紀、山口清次：
第32回日本医用マススペクトル学会年会、2007年9月

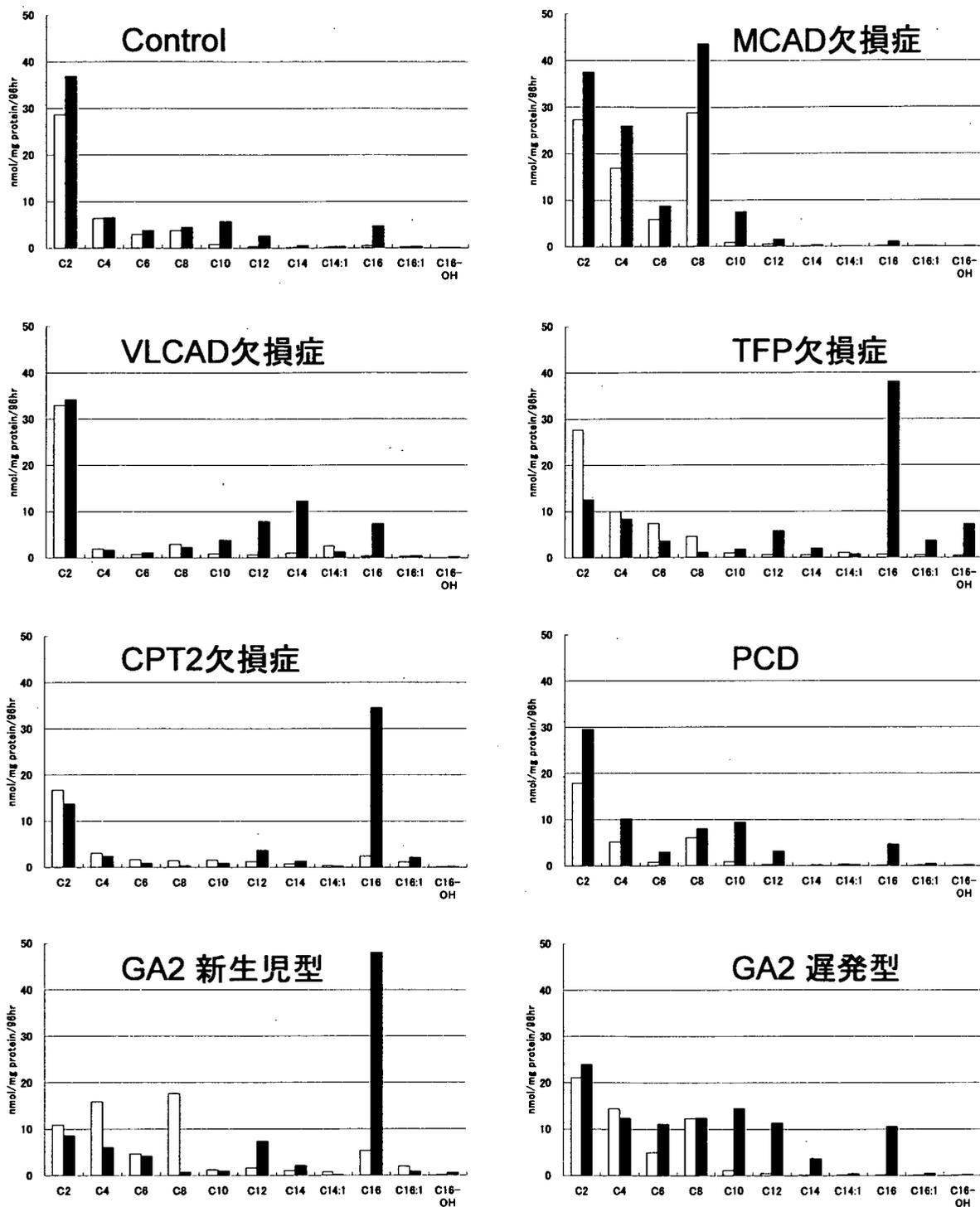


図 1. 線維芽細胞のアシルカルニチンプロファイル
■パルミチン酸負荷、□オクタン酸負荷

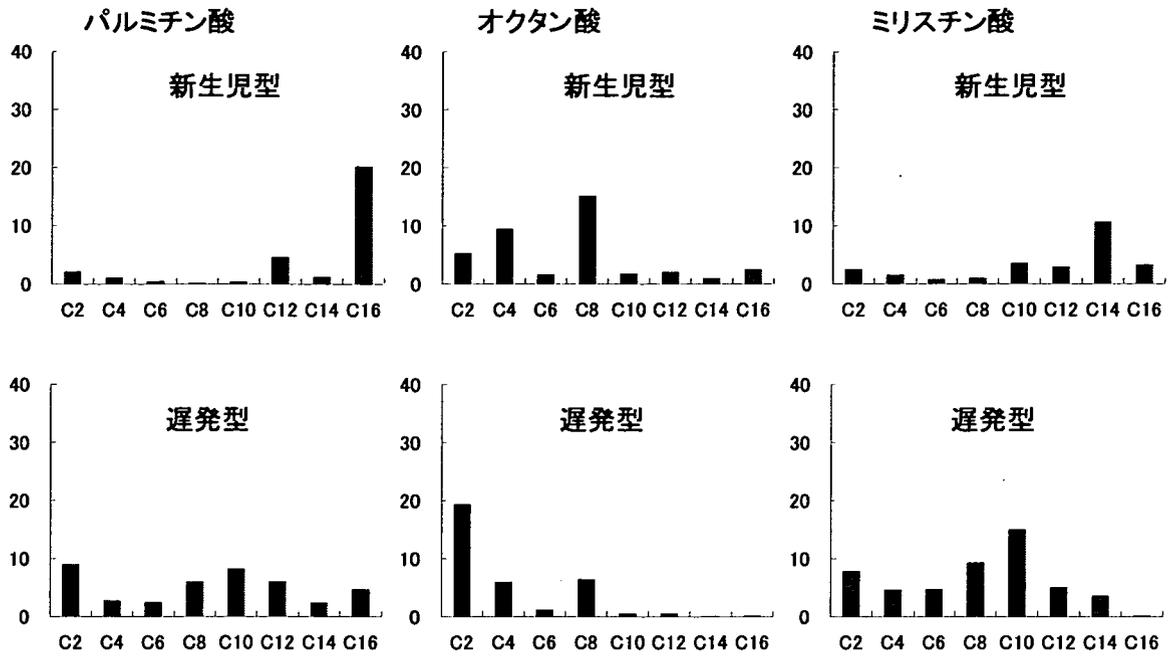


図 2. GA2 のアシルカルニチンプロファイル

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

新しいマススクリーニング対象疾患の遺伝子診断：
β-ケトチオラーゼ欠損症の解析から

研究要旨

新しいマススクリーニングをサポートするシステムとして、確定診断としての酵素診断、遺伝子診断が重要である。タンデムマス導入に伴う新しいスクリーニング対象 22 疾患（特殊ミルク情報第 42 号）について、患者遺伝子変異を同定し、Phenotype/genotype correlation を検討することは、次世代のスクリーニング陽性患者のフォローをどうするかということにもつながり重要である。年間日本で 110 万人が出生し、1 万人に 1 名の割合でタンデムマススクリーニングにより 22 疾患のうちのどれかの疾患が見つかることとすれば、年間 100—200 名程度の遺伝子解析を行うこととなる。1 疾患で平均 20 エクソンをシークエンスする（両方向 40 シークエンス）とすれば、200 人分で、これを 200 日でするとすれば 1 日 40 シークエンスを解析していけばよい。それは 1 施設で、研究助手 2 名で、PCR およびオートシークエンサーを 2 台もっていれば、十分対応可能な仕事量と考えられる。

研究協力者

深尾 敏幸（岐阜大学 教授）

A. 研究目的

新しいマススクリーニングをサポートするシステムとして、確定診断としての酵素診断、遺伝子診断が重要である。タンデムマス導入に伴う新しいスクリーニング対象 22 疾患（特殊ミルク情報第 42 号）について、患者遺伝子変異を同定し、Phenotype/genotype correlation を検討することは、次世代のスクリーニング陽性患者のフォローをどうするかということにもつながり重要である。

我々はこれまで β-ケトチオラーゼ欠損症について遺伝子解析を行ってきた。各エクソンを PCR で増幅、ダイレクトシークエンスするという手段は最も簡便な遺伝子変異スクリーニングであるが、それでは検出率をあげるには不十分であることもまた報告してきた。

上記 22 疾患についての遺伝子変異報告は日本においてもほとんどの疾患でなされている（表 1）が、研究レベルであり、実際には継続して行われていない疾患もあるのが現状である。個々の研究者に頼った現状の体制は、新

たなマススクリーニングシステムをサポート体制としては不十分である。新しいマススクリーニングが行われるにあたっては、各エクソンを PCR で増幅、ダイレクトシークエンスするという最も簡便な方法であっても、システムティックにできれば 1 つの施設で行われるのが望ましいと言える。

B. 研究方法

タンデムマス導入に伴う新しいスクリーニング対象 22 疾患（特殊ミルク情報第 42 号）について、病因遺伝子の検索、遺伝子のエクソン数、また日本からの変異の報告などをコンピューターサーチした。

日本先天代謝異常学会の過去 5 年間の発表（抄録）も参考にした。

C. 研究結果

年間日本で 110 万人が出生し、1 万人に 1 名の割合でタンデムマススクリーニングにより 22 疾患のうちのどれかの疾患が見つかることとすれば、年間 100—200 名程度の遺伝子解析を行うこととなる。表 1 は 22 疾患の遺伝子をリストし、そのエクソン数を示している。1 疾患で

平均 20 エクソンをシークエンスする（両方向 40 シークエンス）とすれば、200 人分で、これを 200 日でするとすれば 1 日 40 シークエンスを解析していけばよい。それは研究助手 2 名で、PCR およびオートシーケンサーを 2 台もっていれば、十分対応可能な仕事量と考えられる。問題はそのランニングコストをどのように得るかであろう。

D. 考察

日本においては先天代謝異常症の酵素診断や遺伝子解析は、個々の研究者に負うところが大きく、ある研究者が転勤した、もしくは海外出張しているなどの理由で、一時的に検査が不可能になったり、もう施行されなくなったりということがあり、一貫性のある体制とはいえない。

日本で新たなタンデムマスをもちいたスクリーニングが開始されれば、1) 確定診断としての酵素診断、遺伝子診断 2) 実地での患者フォロー体制 3) 全体としての予後調査を含むプロジェクトとしてのフォロー体制が整備される必要がある。

この疾患はどの大学でというのではなく、システムとして対象疾患の遺伝子解析を行うしくみが必要ではないかと思われる。

E. 結論

対象疾患をタンデムマス導入に伴う新しいスクリーニング対象 22 疾患（特殊ミルク情報第 42 号）として、年間日本で 110 万人が出生し、1 万人に 1 名の割合でどれかの疾患が見つかると思えば、十分に 1 施設ですべての 1 次遺伝子変異解析を行うことは可能である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamada K, Fukao T, Zhang G, Sakurai S, Ruiten JPN, Wanders RJA, Kondo N: Single-base substitution at the last nucleotide of exon 6 (c.671G>A), resulting in the skipping of exon 6, and exons 6 and 7 in human

Succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) gene Mol Genet Metab. 90:291-297, 2007

- 2) Sakurai S, Fukao T, Haapalainen AM, Zhang G, Yamada S, Lilliu F, Yano S, Robinson P, Gibson MK, Wanders RJA, Mitchell GA, Wierenga RK, Kondo N: Kinetic and Expression Analyses of Seven Novel Mutations in Mitochondrial Acetoacetyl-CoA Thiolase (T2): Identification of a Km Mutant and an Analysis of the Mutational Sites in the Structure. Mol Genet Metab 90:370-378, 2007
- 3) Fukao T, Zhang G, Aoki Y, Arai T, Teramoto T, Kaneko H, Sugie H, Kondo N. Identification of Alu-mediated, large deletion-spanning introns 19-26 in PHKA2 in a patient with X-linked liver glycogenosis (hepatic phosphorylase kinase deficiency). Mol Genet Metab. 92(1-2): 179-182, 2007
- 4) Fukao T, Kursula P, Owen EP, Kondo N. Identification and characterization of a temperature-sensitive R268H mutation in the human succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) gene. Mol Genet Metab. 92(3):216-221, 2007
- 5) Fukao T, Zhang G, Rolland M-O, Zobot M-T, Guffon N, Aoki Y, Kondo N. Identification of an Alu-mediated tandem duplication of exons 8 and 9 in a patient with mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency. Mol Genet Metab 92(4):375-378, 2007

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

Tandem MSスクリーニングで発見される代謝異常症の遺伝子診断

疾患名	遺伝子	エクソンの数	日本での報告	
Methylmalonic acidemia	MUT	13	東北大学小児科	2007
Propionic acidemia	PCCA	24	東北大学小児科	2003
	PCCB	15		
T2 deficiency	T2	12	岐阜大学小児科	2007
Isovaleric acidemia	IVD	12	ND	
Methylcrotonylglycineuria	MCCA	19	東北大学小児科	2007
	MCCB	17		
HMG-CoA lyase deficiency	HMGL	9	京都大学小児科	2000
Multiple carboxylase deficiency	biotinidase	4	ND	
	holocarboxylase	14	東北大学遺伝病学	2001
GA1	GCDH	11	山形大学小児科	1998
MCAD deficiency	MCAD	12	島根大学小児科	進行中
VLCAD deficiency	VLCAD	20	島根大学／岐阜大学	2002
TFP deficiency	TFPa	20	島根大学小児科	進行中
	TFPb	16		
CPT1 deficiency	CPT1A	19	ND	
	CPT1B	19	ND	
CPT2 deficiency	CPT2	5	福岡大学第3内科	2007
Carnitine translocase deficiency	CACT	9	ND	
Systemic carnitine deficiency	OCTN2	10	中外製薬	1999
GA2	ETFA	12	島根大学小児科	2002
	ETFB	6		
	ETFDH	13		
Tyrosinemia type 1	FAH	14	ND	
Citrullinemia	ASS	16	鹿児島大学生化学	2003
Argininosuccinic aciduria	ASL	16	札幌医大小児科	2002
Phenylketonuria	PAH	13	大阪市立大学小児科	2004
Maple syrup urine disease	E1alpha	9	熊本大学小児科	1998
	E1beta	11		
	E2	11		
Homocystinuria	CBH	23(16)	東北大学小児科	2006
平均		19		

検索できたうちで最近の文献をしめした。

ND: 検索にて見つからず。

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

稀少遺伝性疾患に対する遺伝子診断ネットワーク構築の検討

研究要旨

新生児マススクリーニングで発見される疾患の多くは遺伝性疾患である。その診断確定や治療方針の決定、さらに家族への遺伝カウンセリングをおこなうために、しばしば遺伝子診断が必要となる。しかしながら、現在のわが国の診療体系では、遺伝子診断を医療として提供するシステムが整備されていない。そこで、稀少遺伝性疾患に対する全国的な遺伝子診断ネットワークの構築について検討をおこなった。

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）
奥山 虎之（国立成育医療センター部長）
鎌谷 直之（東京女子医科大学教授）
呉 繁夫（東北大学准教授）
小崎健次郎（慶應義塾大学准教授）
小杉 眞司（京都大学教授）
櫻井 晃洋（信州大学准教授）
堤 正好（エスアールエル）
成澤 邦明（東北文化学園大学教授）
福嶋 義光（信州大学教授）
山口 清次（島根大学教授）

A. 研究目的

新生児マススクリーニングで発見される疾患の多くは稀少遺伝性疾患である。このような遺伝性疾患においては、その診断確定や治療方針の決定、さらに家族への遺伝カウンセリングをおこなうために、しばしば遺伝子診断が必要とされる。しかしながら、現在のわが国の診療体系では、染色体検査以外の遺伝学的検査提供システムが整備されておらず、実際に遺伝学的検査を実施するためには様々な困難が存在する。第一に、遺伝学的検査そのものが、院内はもとより検査会社でも提供されておらず、当該疾患の研究を行なっている研究室を探し出して検査を依頼する必要があ

る。また、遺伝学的検査の費用については、保険未収載のため従来は各研究室が研究の一環として無償提供してきた。しかしながら、財政的・人支援がないため、診断サービスの維持が困難となりつつある。

このような現状を踏まえ、わが国における稀少遺伝性疾患の遺伝子診療ネットワークを整備・維持するための組織構築を検討した。

B. 研究方法

わが国における稀少遺伝性疾患にたいする遺伝学的検査の現状を分析し、つぎに、遺伝子診療ネットワークを整備・維持するための組織構築をデザインした。

（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

平成 15 年に、本研究協力者の松原らが厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）「遺伝子医療の基盤整備に関する研究（古山班）」の分担研究でおこなった「遺伝性疾患の診断サービスについての現状調査」では、以下のような結果が得られている。

- 1) 検査対象疾患数は、のべ569件(126施設)。
- 2) 遺伝子検査提供施設の90%は、検査費用を研究室で負担していた。
- 3) 診断サービス提供の中止を考えている研究室が、26%存在した。その理由としては、①検査施行に必要な人員が確保できない、②もはや研究対象ではなくなった、③検査費用を負担することができない、が多かった。
- 4) 検査提供施設の43%では、すでに診断サービス提供を中止してしまった検査が存在した。その理由として①検査施行に必要な人員が確保できない、②もはや研究対象ではなくなった、が多かった。
- 5) 診断サービスを中止した検査を別の施設や検査会社に移管したものは、31%にすぎなかった。
- 6) 診断サービスの継続に当たって、費用負担を現状でよいと考える回答は4%に過ぎず、高度先進医療の適用、健康保険収載、受益者負担を望む回答が多かった(各62%、44%、38%、複数回答可)。また、施設・人員についても現状でよいと考える回答は6%だけで、全国ネットワーク構築による役割分担、中央検査センターの設立、民間検査会社への移管を望む回答が多かった(各60%、44%、33%、複数回答可)。

以上の結果を集約すると、これまで研究の一環として遺伝子診断を提供してきた研究室も、財政的・人的支援がないため、臨床サービスを維持していくことが困難となってきた現状が浮き彫りにされた。このままでは、わが国における稀少遺伝性疾患に対する遺伝子検査の多くが存続の危機にさらされていると考えられる。

一部の施設では高度先進医療として遺伝子検査を提供しているが、患者さん自身が遠方からその施設を受診する必要があること、また、多くの遺伝性疾患の遺伝子検査はその稀少性ゆえ高度先進医療への申請自体がなされていないことなどから、この現況を補完するには至っていない。

そこで、稀少遺伝性疾患の全国的な診断検査ネットワークシステムについて検討した。まず、集約的な検査センターそのものを新たに構想する

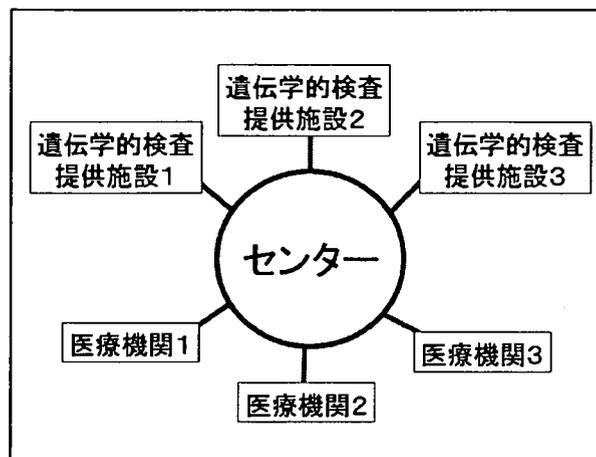


図1

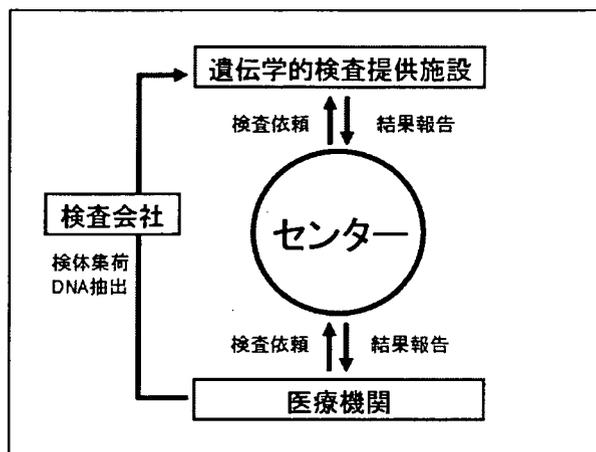


図2

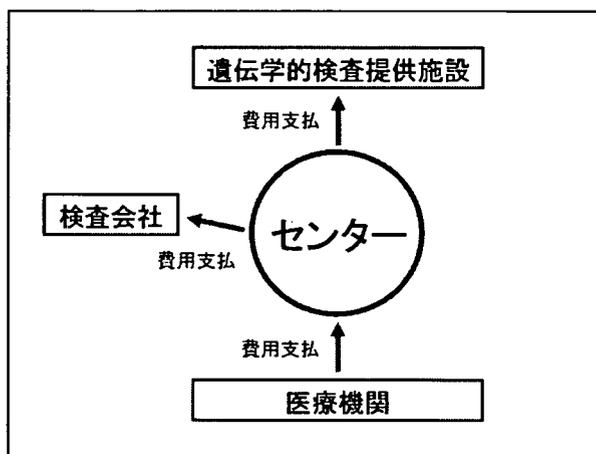


図3

ことは、わが国の医療行政の現状に鑑みて、とくに財政面で実現困難と考えられる。また、実務的にも各疾患における既知の遺伝子変異や多型(公表されていないものも多い)を熟知している必要があり、中央検査センターですべてを扱うことは難しい。したがって、既存の研究室の持つ検査提供能力を有機的にネットワーク化することが、国

内における先天代謝異常症の診断・検査を維持していくためにもっとも実現可能な方策ではないかと考えられる。そこで、図 1～3 に示すようなセンターの設置を構想した。

この構想におけるセンターは、それ自体が遺伝子検査を実施するのではなく、遺伝子検査を希望する医療機関と、その遺伝子検査を提供している研究室の間をコーディネートする役割を果たす。医療機関は、従来のように遺伝子検査実施施設を自ら探し出して交渉する必要はなく、センターに連絡するだけでよい。一方、検査を受諾する研究室は煩雑な連絡事務作業をセンターに委ねることができる。遺伝子検査結果は、センターを通じて医療機関側に伝えられ、このプロセスを通じて遺伝子検査の精度管理や報告書書式の標準化を行うことも可能となる。血液検体の輸送や DNA 抽出に関しては、商業的検査会社の既存のネットワークを活用することで全国的なサービス提供が可能である。

遺伝子検査の費用については、現状では受益者負担とし、医療機関が患者さんと協議の上何らかの形で負担していただく必要があると考えられる (図 3)。

D. 考察

稀少遺伝性疾患に対する遺伝子検査の提供については、米国政府の遺伝子検査特別委員会 (Task Force on Genetic Testing) が出した報告書 (Promoting Safe and Effective Genetic Testing in the United States, 1997) でもかなりのページを割いてその情報普及と存続、質の保証が検討されている。情報普及については、「稀少疾患の症状や徴候を訴える患者に遭遇する医師が、・・・どこに臨床診断・検査診断の援助を仰げばよいのかを知り、さらに、稀少疾患の検査を行う検査施設を捜し出すことができるようにしなければならない」と記されている。わが国においても、このようなインフラ整備が急務である。

上述の米国では、稀少遺伝性疾患の遺伝子検査が医療保険によってカバーされている。わが国で

は、稀少遺伝性疾患の遺伝子検査そのものが保険診療として認められておらず、このような側面についても解決を図っていく必要がある。

本報告書で提案したネットワークは、既存の遺伝子診断提供施設を活用するものであり、わが国における現行の医療体系の中では実現性が高いものと考えられる。

E. 結論

新生児マススクリーニング陽性例の診療にとって重要な遺伝子検査について、わが国における稀少遺伝性疾患の遺伝子検査ネットワーク構築を検討・提案した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kanno J, Kure S, Narisawa A, Kamada F, Takayanagi M, Yamamoto K, Hoshino H, Goto T, Takahashi T, Haginoya K, Tsuchiya S, Baumeister FA, Hasegawa Y, Aoki Y, Yamaguchi S, Matsubara Y. Allelic and non-allelic heterogeneities in pyridoxine dependent seizures revealed by ALDH7A1 mutational analysis. *Mol Genet Metab* 91:384-9, 2007.
2. Narumi Y, Aoki Y, Niihori T, Neri G, Cave H, Verloes A, Nava C, Kavamura MI, Okamoto N, Kurosawa K, Hennekam RC, Wilson LC, Gillissen-Kaesbach G, Wiczorek 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 A* 143:799-807, 2007.
3. Kanno J, Hutchin T, Kamada F, Narisawa A, Aoki Y, Matsubara Y, Kure S. Genomic deletion within GLDC is a major cause of non-ketotic

- hyperglycinaemia. *J Med Genet* 44:e69, 2007.
4. Nava C, Hanna N, Michot C, Pereira S, Pouvreau N, Niihori T, Aoki Y, Matsubara Y, Arveiler B, Lacombe D, Pasmant E, Parfait B, Baumann C, Héron D, Sigaudy S, Toutain A, Rio M, Goldenberg A, Leheup B, Verloes A, Cavé H. CFC and Noonan syndromes due to mutations in RAS/MAPK signaling pathway: genotype/phenotype relationships and overlap with Costello syndrome. *J Med Genet*, 44:763-71 2007
 5. Kamada F, Mashimo Y, Inoue H, Shao C, Hirota T, Doi S, Kameda M, Fujiwara H, Fujita K, Enomoto T, Sasaki S, Endo H, Takayanagi R, Nakazawa C, Morikawa T, Morikawa M, Miyabayashi S, Chiba Y, Tamura G, Shirakawa T, Matsubara Y, Hata A, Tamari M, Suzuki Y. The GSTP1 gene is a susceptibility gene for childhood asthma and the GSTM1 gene is a modifier of the GSTP1 gene. *Int Arch Allergy Immunol*. 144:275-86, 2007.
 6. Oda M, Kure S, Sugawara T, Yamaguchi S, Kojima K, Shinka T, Sato K, Narisawa A, Aoki Y, Matsubara Y, Omae T, Mizoi K, Kinouchi H. Direct correlation between ischemic injury and extracellular glycine concentration in mice with genetically altered activities of the glycine cleavage multienzyme system. *Stroke* 38:2157-64, 2007.
 7. Makita Y, Narumi Y, Yoshida M, Niihori T, Kure S, Fujieda K, Matsubara Y, Aoki Y. Leukemia in Cardio-facio-cutaneous (CFC) syndrome: a patient with a germline mutation in BRAF proto-oncogene. *J Pediatr Hematol Oncol* 29:287-90, 2007.
 8. Aoki Y, Matsubara Y. Human development and the RAS/MAPK pathway *Seikagaku* 79:34-8, 2007. (in Japanese)

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし