

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

宮城県におけるタンデムマススクリーニング試験研究
—メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症精検例の検討—

研究要旨

宮城県では平成 17 年度よりタンデムマス試験研究に参加し、平成 19 年 12 月までに約 3 万 8 千人をスクリーニングした。受検率は約 70%と良好であり、この間 3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I 欠損症、極長鎖脂肪酸アシル CoA 脱水素酵素欠損症の計 3 名を発症前に診断することが出来た。精密検査依頼では C3、C3/C2 上昇によるものが 8 例と多かった。この内 2 例は正常であり、他の 6 例も精検時には微量の尿中異常代謝産物が検出されたが、経過と共に減少、消失した。一過性の異常であり、病的意義は無いと考えられるため、診断時に注意する必要がある。

研究協力者

大浦敏博、坂本 修（東北大学小児病態学）
島田美香、斉藤郁磨、名古屋裕子、一條敦子、
針生敬子、山本俊夫、遠藤善宏、秋山和夫、
白石廣行（宮城県公衆衛生協会）
虫本雄一、遠藤 充、小林弘典、長谷川有紀、
山口清次（島根大学小児科）

のろ紙血を週に 1 回島根大学小児科に発送し、タンデムマス質量分析計によるスクリーニングを行った。結果は島根大学より研究協力者の大浦に E-mail で連絡された。陽性検体が出た場合、大浦から直接分娩施設の担当者に連絡し、再採血、精検依頼を行った。

A. 研究目的

タンデムマススクリーニングにおいては、C3、C3/C2 高値を指摘され、再検、精査依頼となる症例が比較的多いが、多くは一過性の異常である。再採血、精検依頼は保護者への負担を与えるだけでなく、心理的不安をもたらすため極力避ける必要がある。宮城県におけるタンデムマス試験研究において 3 年間にメチルマロン酸血症、プロピオン酸血症疑いで精検依頼のあった 8 例について、その後の経過を解析し今後の方策について検討する。

B. 研究方法

（倫理面への配慮）

保護者への説明は分娩施設の医師により行われた。同意を取るに際しては、その目的、方法および異常が出たときの対応、予想される効果、危険性とそれに対する対処法、個人情報保護、検査費用、自由意志で撤回も可能でありそれによる不利益の無いことなどについて説明した。

書面で同意を得た検体は検査施設で分別され、従来の 6 項目のスクリーニング検査終了後、残り

C. 研究結果

宮城県では平成 17 年度より島根大学小児科との共同研究でタンデムマススクリーニング試験研究を開始した。平成 17、18 年度の 2 年間に 27344 名が受検し、3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I 欠損症、極長鎖脂肪酸アシル CoA 脱水素酵素欠損症の計 3 名を発見した。今年度は 12 月 26 日現在までに 11207 名（受検率 74%）が受検している。再採血は 36 名（0.3%）、精密検査依頼は 7 名であった。

平成 17 年 4 月から平成 19 年 12 月までの間に C3、C3/C2 がカットオフを越えたため精密検査が依頼されたのは 8 名（表）であった。その内 2 名（表中 1、2）は尿中有機酸分析で異常代謝産物が検出されず、正常と診断された。残り 6 名のうち、症例 3 と 6 では尿中有機酸分析で 3-ヒドロキシプロピオン酸（3HOPA）、メチルクエン酸（MC）が軽度排泄増加しており、その時点で軽症プロピオン酸血症と診断された。症例 4、5、7、8 ではメチルマロン酸の軽度排泄増加を認め、軽症メチルマロン酸血症と診断された。

症例 3、4、5、6 は家族歴、周産歴、既往歴に

特記すべきことなし。症例 7 は 40 週、2484g で出生、黄疸のため光線療法 3 日間施行された。症例 8 は新生児黄疸のため、24 時間光線療法を受けた。また、先天性副腎皮質過形成症のスクリーニングでも精密検査依頼となっていたが、精検で 17-ヒドロキシプロジェステロンは正常化した。全例、理学的所見に特記すべきことなく、検査上代謝性アシドーシス、高アンモニア血症も認めなかった。メチルマロン酸が検出された症例 4、5、7、8 において血中ビタミン B12 が測定されたが、4 例とも正常範囲内であった。

尿中有機酸分析の経時的変化では、症例 3 は月齢 9 ヶ月時、症例 4 は 2 ヶ月時、症例 5 は 8 ヶ月時、症例 8 は 5 ヶ月時に正常化していた。症例 6 は 4 ヶ月時点で 3OHPA は消失したが、軽度 MC の排泄が続いている。症例 7 は 5 ヶ月時点でメチルマロン酸は消失したが、MC の軽度排泄が認められた。

D. 考察

宮城県における 3 年間のタンデムマス試験研究中にメチルマロン酸血症、プロピオン酸血症疑いで精査依頼があった 8 症例について検討を行った。2 例は精検時には尿中異常代謝産物は検出されず、偽陽性例と考えられた (症例 1、2)。症例 3 と 6 では尿中有機酸分析で少量の 3OHPA、MC が排泄されていた。両者ともプロピオン酸血症の特異的マーカーであるが、排泄量は極めて微量であり、経過中に減少、消失した。一過性の排泄であり、病的意義は無いものと考えられた。症例 4、5、7、8 では尿中メチルマロン酸の軽度増加が認められた。4 例ともアミノ酸分析、ビタミン B12 測定の結果は正常範囲であった。4 例とも月齢が進むにつれ排泄量は減少し、ほとんどの例で消失した。全例一過性の異常であり、病的意義はないものと考えられる。症例 4 ではメチルマロン酸代謝に関係ある MUT、MCEE、MMAA、MMAB、MMACHC の 5 遺伝子の塩基配列を決定したが、変異は検出できなかった。

今回の症例では C3、C3/C2 の上昇により精密検査が依頼され、尿所見もメチルマロン酸、3HOPA の排泄増加が見られるなどタンデムマスの結果を反映する結果であった。しかし、その排泄量は極軽度であり、しかも一過性の変化であることが明らかにされた。すなわち、病的意義は無いものと考えられた。重松らは (日本マス・スクリーニ

ング学会誌、15 巻 13-18 頁) ABO 不適合による高ビリルビン血症患児において C3 が増加し、疑陽性の原因になると指摘している。我々の症例中 7、8 では新生児黄疸のため光線療法が施行されているが、他の 6 例では黄疸は認めていない。今後、偽陽性例を少なくするためにもカットオフ値の見直しなども考慮する必要があると考えられる。

E. 結論

タンデムマススクリーニングで発見される C3、C3/C2 上昇例の中には一過性の異常のものが含まれており、診断上考慮する必要がある。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mitsugu Uematsu, Osamu Sakamoto, Noriko Sugawara, Naonori Kumagai, Tetsuji Morimoto, Seiji Yamaguchi, Yuki Hasegawa, Hironori Kobayashi, Kenji Ihara, Makoto Yoshino, Yoriko Watanabe, Takahiro Inokuchi, Takato Yokoyama, Kohji Kiwaki, Kimitoshi Nakamura, Fumio Endo, Shigeru Tsuchiya, Toshihiro Ohura: Novel mutations in five Japanese patients with 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency. *J Hum Genet* 52: 1040-1043, 2007
- 2) 特殊ミルク共同安全開発委員会編集: タンデムマス導入に伴う新しいスクリーニング対象疾患の治療指針. 2007 年 4 月.

2. 学会発表

- 1) 大浦敏博他: 3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症: 日本人 5 症例の分子遺伝学的解析. 第 52 回日本人類伝学会、平成 19 年 9 月 12 日~15 日、東京
- 2) 大浦敏博他: 宮城県におけるタンデムマス質量分析計による新生児マススクリーニング. 第 34 回日本マス・スクリーニング学会、平成 19 年 9 月 8 日~9 日、千葉
- 3) 大浦敏博他: 3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症: 日本人 5 症例の分子遺伝学的解析. 第 49 回日本先天代謝異常学会総会、平成 19 年 11 月 15 日~17 日、山形

表：C3 で精密検査が依頼された児の経過

		C3	C3/C2	C3/C16	尿 GCMS
症例 1 (H17, 2598)	NBS	5.91	0.27	-	nd
	再検	1.95	0.11	3.08	wnl
症例 2 (H17, 7431)	NBS	10.7	0.27	7.38	nd
	再検	-	0.25	11.32	nd
	精検 (1m)	-	-	-	wnl
症例 3 (H17, 6771)	NBS	4.75	0.24	-	nd
	再検	4.62	0.3	7.22	nd
	精検 (1m)	nd	nd	nd	3-OHPA 軽度、MC 軽度
	9m	3.27	0.15	4.42	wnl
症例 4 (H17, 9496)	NBS	-	0.24	2.64	nd
	再検	-	0.26	5.87	nd
	精検 (1m)	-	0.13	5.41	MMA 軽度、MC 軽度
	2m	3.03	0.12	2.67	wnl
症例 5 (H19, 412)	NBS	8.01	0.23	3.45	nd
	再検	5	0.22	8.41	nd
	精検 (2m)	5.39	0.26	7.31	MMA 軽度
	8m	wnl	wnl	wnl	wnl
症例 6 (H19, 3283)	NBS	7.68	0.3	3.79	nd
	再検	4	0.41	13.1	nd
	精検 (1m)	4.25	0.23	8.84	3OHPA 軽度、MC 軽度
	4m	5.01	0.15	6.12	3OHPA (-) MC 軽度
症例 7 (H19, 4867)	NBS	4.43	0.25	4.17	nd
	再検	4.3	0.2	6.14	nd
	精検	3.97	0.13	4.46	MMA 軽度
	5m	4.04	0.13	5.52	MMA (-)、MC 軽度
症例 8 (H19, 4851)	NBS	7.39	0.23	2.33	nd
	再検	2.84	0.2	6.14	nd
	精検	nd	nd	nd	MMA 軽度
	5m	wnl	wnl	wnl	wnl

wnl : 正常範囲、nd : 測定せず、- : 結果未着

cut off 値 : C3 >4.4; C3/C2 >0.18; C3/C16 >2.5

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

拡大新生児マススクリーニングにて発見され、当科にてフォローされている 3 症例
—居住地近くに診療体制を整える重要性について—

研究要旨

最近拡大新生児マススクリーニングが各地で行われるようになり、発見症例も増えている。その治療管理はこれまでに増して重要な問題となっている。

これまでに当科でフォローしている拡大新生児マススクリーニングにて発見された症例は合計 3 例である。各症例の居住地はそれぞれ当院よりはかなり離れている。疾患の特異性から患者の居住地の近くに、24 時間救急医療を行っている施設と、かかりつけ医をきちんと確保する必要があると考えられた。

今後一般小児科医に対する代謝異常症の治療法の啓蒙や、フォロー中の患者のデータの共同管理法など、今後至急に検討しなければならないことは多いと思われる。

研究協力者

高柳正樹（千葉県こども病院）

A. 研究目的

最近拡大新生児マススクリーニングが各地で行われるようになり、発見症例も増えている。発見症例の確定診断および適切な治療管理はこれまでに増して重要な問題となっている。スクリーニングシステムとしては患者発見のみならず、診断治療がシステムの的に的確に行われることができるように、全国レベルで準備していく必要があると考えられる。

今回は実際の拡大新生児スクリーニングによる発見患者を経験し、どのようなことが患者のフォローアップに必要なかを検討したので報告する。

B. 研究方法

症例：これまでに当科でフォローしている拡大新生児マススクリーニングにて発見された症例は、CPT I 欠損症（徳島県スクリーニング）、MCAD 欠損症（米国スクリーニング）、グルタル酸尿症 2 型（福井県スクリーニング）のそれぞれ一例の合

計 3 例である。

C. 研究結果

当院へ初診なされたのは生後 3 ヶ月から 7 ヶ月と遅い時期になってからである。

各症例の居住地はそれぞれ立川、船橋、横浜である。疾患の特異性から小児科の 24 時間救急医療を行っている施設が管理上必須である。しかも重症症例に対しての治療管理経験が豊富なことが求められる。これまでは個人的なコネクションで患者住居地の近隣に適切な病院を確保できている。

脂肪酸代謝異常症は各病院でも経験がないため、最終的には小児専門病院が対応するシステムとなった症例もある。

今回は依頼した病院は大学病院 1 例、自治体立病院 1 例、小児専門病院 1 例であった。

また住居の近隣にかかりつけ医をきちんと確保し、予防接種や感冒罹患時の対応を依頼することも重要である。

以上の治療環境において、これまで何回か救急外来に受診した症例もあったが、治療などに混乱などが生じたことはない。

D. 考案

脂肪酸代謝異常症や有機酸代謝異常症は、先天代謝異常症の専門家が治療管理すべきではあるが、その人数は極めて少ない。今後拡大新生児マススクリーニングにて発見された患者は、代謝異常症にたいして経験のない小児科医と先天代謝異常症の専門家とが、協力して治療管理していくケースが多くなると思われる。

一般小児科医に対する代謝異常症の治療法の啓蒙や、実際のフォロー中の患者のデータの共同管理法など、今後至急に検討しなければならないことは多いと思われる。

E. 結論

拡大新生児マススクリーニング発見症例の、確定診断および適切な治療管理が的確に行われることができるように、全国レベルで早急に準備していく必要があると考えられる。

今後一般小児科医に対する代謝異常症の治療法の啓蒙や、フォロー中の患者のデータの共同管理法など、今後至急に検討しなければならないことは多いと思われる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Aoki J, Yasuno T, Sugie H, Kido H, Nishino I, Shigematsu Y, Kanazawa M, Takayanagi M, Kumami M, Endo K, Kaneoka H, Yamaguchi M, Fukuda T, Yamamoto T: A Japanese adult form of CPT II deficiency associated with a homozygous F383Y mutation. *Neurology*. 69: 804-806, 2007
- 2) Sakamoto O, Ohura Takayanagi M, et.al.: Mutation and haplotype analyses of the MUT gene in Japanese patients with methylmalonic acidemia. *J Hum Genet*. 2007; 52(1): 48-55. Epub 2006 Oct 31.

- 3) 藤浪綾子, 高柳正樹, 山本重則, 小川恵美, 小川真司, 金澤正樹, 阿部博紀, 大竹明: 本邦における Carnitine palmitoyltransferase I(CPT I)欠損症の臨床像について. *小児科臨床* 60: 2115-2120, 2007
- 4) 高柳正樹, 長坂博範, 村山圭, 藤浪綾子: 救急外来における先天代謝異常症. *小児科* 48: 211-220, 2007

2. 学会発表

- 1) 水落弘美, 村山圭, 高柳正樹: 新生児聴覚スクリーニングを契機に発見されたGM1ガングリオシドーシスの一例. 第34回日本マス・スクリーニング学会. 平成19年9月, 幕張
- 2) 藤浪綾子, 村山圭, 高柳正樹, 長坂博範: 米国ノースカロライナ州の新生児マススクリーニングにて発見された中鎖アシルCoA脱水素酵素(MCAD)欠損症日本人例. 第34回日本マス・スクリーニング学会. 平成19年9月, 幕張

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の検討

検査施設のあり方に関する研究

－検査施設におけるスクリーニング関連情報の収集・解析及びシステム改善の役割－

研究要旨

タンデムマス等の新技術を導入した新しい新生児マススクリーニングの確立には、現行の新生児マススクリーニングシステムの改善が必要となる。システムの改善には、新しい新生児マススクリーニングの導入前後における検査前（インフォームドコンセント、採血、検体の送付等）、検査（検体受付、一次検査、二次検査、再採血検査等）及び検査後（精査、診断、治療等）の各段階におけるスクリーニング精度に影響を及ぼす要因に関連するデータの収集と解析及び問題点の究明、関係機関との協議による新たなシステムの決定、新たなシステムによるスクリーニングの実施というサイクルを繰り返していくことが必須である。新生児マススクリーニング関連機関の中で、検査施設はマススクリーニング関連情報の大部分を把握できる環境にある。従って、各検査施設では自施設での検査実施状況ばかりでなく採血医療機関の採血実施状況及び精密検査医療機関の精査・診断・治療状況に関するデータの収集と解析業務に加えて、新生児マススクリーニング関係機関との協議に基づくシステムの改善と新システムによるスクリーニング実施における中心的な役割を果たしていくことが望まれる。

研究協力者

福士 勝（札幌市衛生研究所課長）

梅橋豊蔵（熊本保健科学大学教授）

山口清次（島根大学医学部教授）

A. 研究目的

タンデムマス等の新技術を導入した新しい新生児マススクリーニングを確立するためには、現行の新生児マススクリーニングシステムの改善が必要となる。そこで、システムの改善に必要な基本的な情報にどのようなものがあり、その情報の収集と解析をどのように行うか、関係機関との協議によるシステムの改善、改善されたシステムの実行等をどの部門が主体的に担うべきかを明らかにする。

B. 研究方法

新生児マススクリーニングシステムの改善に

必要と考えられる情報として、検査前（インフォームドコンセント、採血、検体送付、検体受付等）、検査（一次検査及び二次検査、再採血検査、検査結果報告）及び検査後（精査・診断・治療等）の各段階におけるスクリーニング精度に影響を及ぼす要因を現行スクリーニング及びタンデムマス等が導入されたマススクリーニングから検討した。さらに、要因として抽出されたデータの収集と解析、問題点の究明、関係機関との協議等をどのように実施していくべきかについても検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は、人を直接対象とするものではないため、倫理面での問題はないものと判断される。

C. 研究結果

1) 新生児マススクリーニングにおいて収集すべき情報と解析項目

以下の項目についてデータを収集し、定期的に解析を行う。

① 採血関連情報

- a) 出産取扱い医療機関の把握
 - ・最新の出産取扱い医療機関名の調査
- b) インフォームドコンセントの実施状況
 - ・実施方法
 - ・実施方法別 内容？
- c) スクリーニングの受検
 - ・スクリーニング受検率
 - ・スクリーニング拒否理由
 - ・出産取扱い医療機関以外での出産の把握
- d) 適正な採血日齢の確保
 - ・採血日齢の把握
- e) 適切な検体の確保
 - ・検査不能検体の割合
 - ・検査不能検体の再採血実施率
- f) 再採血依頼検体の確実な採血
 - ・再採血実施率
 - ・再採血日齢
- g) 迅速な検体送付
 - ・採血から検体受付までの日数
- h) 出生体重 2000 g 未満の児の 2 回目採血の実施の確保
 - ・実施率（医療機関別、全体）

② 検査関連情報

- a) 迅速な検査の実施
 - ・受付から検査結果判定までに要する日数及び判定日齢
 - ・検査成績の採血機関及び保護者への報告に要する日数
- b) 内部精度管理及び外部精度管理による検査精度の確保
 - ・内部精度管理の実施とその評価
 - ・検査対象物質の分布・統計値（平均値、標準偏差、中央値等）の評価
 - ・外部精度管理への参加
- c) 検査の妥当性の確認
 - ・再採血率、精査率
- d) 検査結果を含むデータ及び検査済み濾紙

血液検体の保管又は廃棄と利用

- ・保管中又は廃棄されたデータの内容
- ・保管中又は廃棄された検査済み濾紙血液検体内容
- ・検査済み濾紙血液検体の研究への利用

③ 精密検査、診断、治療関連情報

- a) 迅速な精密検査受診
 - ・精密検査受診日齢
 - ・検査結果判明から受診までに要する日数
 - ・精密検査台帳による管理（児氏名・生年月日・性別、母氏名、住所、出産医療機関名、スクリーニングデータ、精密検査担当医療機関名・主治医）
- b) 診断・治療経過把握
 - ・診断及び治療開始日齢（全体、疾患別）
 - ・患者追跡調査台帳による管理（児氏名・生年月日・性別、保護者氏名、住所、スクリーニング及び精密検査時データ、治療機関名・主治医）

④ 行政機関情報

- a) 出産取扱い医療機関以外での出産の把握
- b) 小児慢性特定疾患治療研究事業データの活用
 - ・医療意見書

2) 情報の評価と問題の改善

上記の必要な情報と解析項目に対する評価と改善

① 採血関連情報

- ・医師会・産婦人科医会との連携による最新情報の取得
- ・採血医療機関への採血日齢・方法・その他の基準の周知
- ・再採血依頼後の採血勧奨を定期的実施
- ・採血医療機関へのガイドラインの順守の依頼
- ・採血医療機関へのスクリーニングの成果などの情報提供

② 検査関連情報

- ・適切な日齢での検査結果の報告
- ・試薬・分析機器メーカーとの情報共有
- ・再採血率、精密検査率の適正化、カットオフ

値の見直し

- ・国・自治体の規程、検査施設の基準への準拠と研究・新しいスクリーニングに対応できる基準の制定

③ 精密検査、診断、治療関連情報

- ・適切な精密検査受診日齢の確保とコンサルタント医師、精査・治療機関との連携

④ 行政機関情報

- ・保健所・保健センターが所有するデータ利用による出産取扱医療機関以外での出産の把握
- ・小児慢性疾患治療研究事業医療意見書による見逃し例の把握

D. 考察

タンデムマススクリーニングの導入に伴う、検査施設の集約化が進むと複数の自治体のスクリーニングを1検査施設で実施することになる。そのため、検査施設の業務として、自治体間の採血関連基準の標準化、検査の標準化、精密検査・診断・治療機関との連携など新生児マススクリーニングシステムの改善において検査施設が果たすべき役割はこれまで以上に重要となっていくと思われる。従って、検査施設が新生児マススクリーニングの検査精度に影響を及ぼす要因に関連する情報の収集・分析、評価、改善のPDCA（Plan, Do, Check, Action）サイクルによるスクリーニングシステム全体の改善業務の中心的な役割を担って、標準化のためのガイドラインの作成を行っていかなければならない。

また、検査施設の評価基準として、定期的な情報の収集・解析・評価、プログラムの見直しと改善如何が重要な要因と考える。

E. 結論

タンデムマス等の新技術を導入した新しい新生児マススクリーニングの確立には、現行の新生児マススクリーニングシステムの改善が必要である。また、スクリーニングシステムの改善には、検査前、検査及び検査後の構成要因の質と機能の評価による新たなシステムの決定、実施

というPDCAサイクルの確立が必須である。さらに、検査施設では、検査関連情報ばかりでなく採血医療機関、精密検査医療機関、行政機関等のデータの収集・解析・評価、関係機関との協議に基づくシステムの改善、新システムによるスクリーニング実施の中心的な役割を果たすことができる体制の整備が求められる。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 福士 勝、第34回日本マス・スクリーニング学会、日本マス・スクリーニング学会誌 17巻 2号 32ページ、「タンデムマスによる新生児マススクリーニング導入時の検査施設基準」
- 2) 福士 勝、野町祥介、田上泰子、阿部敦子、藤倉かおり、吉永美和、太田 優、太田紀之、矢野公一、窪田 満、長尾雅悦、第32回日本医用マスペクトル学会年会、プログラム・要旨集 62ページ、2007年、「ESI/MS/MSによる新生児マススクリーニングで発見されたグルタル酸血症Ⅱ型及び軽症プロピオン酸血症」

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の検討

ムコ多糖症スクリーニングの実施に関する問題点の検討

研究要旨

近年わが国では、ムコ多糖症 I 型、II 型について酵素治療が承認され、多くの医療施設で治療が行われるようになった。スクリーニングによって早期診断を行い早期に治療を行うことは、ムコ多糖症患者の予後を大きく改善するものと推測される。しかし、酵素治療は完治療法ではなく、知能障害を免れる治療法でもない。また、これらの疾患は遺伝性であり特にムコ多糖症 II 型は X 連鎖性劣性遺伝であることから、次子の罹患のみならず血縁者の罹患も問題となる。したがって、スクリーニング体制の整備に先立ち遺伝カウンセリング体制の整備が欠かせない。

研究協力者

田中あけみ（大阪市立大学・准教授）

A. 研究目的

ムコ多糖症 I 型、II 型についての酵素補充療法が 2006 年 12 月および 2007 年 10 月にそれぞれ承認され、多くの医療施設で治療が行われるようになった。より早期の治療がより良い効果をもたらすものと推測され、早期診断のためのスクリーニングが検討されている。

他方、酵素補充療法が完治療法ではなく緩和療法であることや、全ての病型のムコ多糖症が治療できるわけではないことなど、スクリーニング実施以前に検討しておかなければ問題がある。この問題点を列挙し、ムコ多糖症のスクリーニング体制の整備について検討した。

B. スクリーニングの目的と治療効果についての検討

スクリーニングの目的は、「早期治療（発症前治療）により心身発達障害を免れる」こととされる。このためには、確立された治療法があり、その治療により心身発達障害を免れることが必要である。

ムコ多糖症の治療法には、造血幹細胞移植と

酵素補充療法とがある。前者はムコ多糖症 I 型、II 型、VI 型、VII 型で一定の効果が得られており、後者は I 型、II 型、VI 型において可能である。効果の状況は、ほぼ同等と推測される。しかし、造血幹細胞移植はドナーが無ければ不可能であることから、全患者に適応できる確立された方法とはいえない。

酵素補充療法は種々のムコ多糖症の症状に効果があるが、臓器により効果の様相は異なる。

(1) 正常に帰するものは、皮膚の肥厚、巨舌、肝脾腫である。これらは症状発現後の治療によってもほぼ正常化するため、スクリーニングのメリットはない。(2) 部分的改善が見られるものは、関節拘縮、閉塞性呼吸障害、聴力障害がある。これらは早期治療によりさらに良い効果が期待される。(3) 既存の障害が改善せず、進行の可能性もあるものには、骨変形、角膜混濁、心臓弁の肥厚、知能障害がある。これらは症状発現前の治療により良い結果が期待できるものの発症して進行し、症状を緩和するにすぎない結果にいたる可能性が高い。

長期予後としては、知能障害を伴わない軽症型の症例では身体症状が緩和され、QOL が良くなり寿命も伸びると推測される。知能障害を伴う重症型でも、軽症型と同様に身体症状が緩和

されることにより QOL が良くなり寿命も伸びると推測されるが、知能障害については緩和されるかもしれないが正常な知能が保たれるとは言えないだろう。

C. 方法についての検討

スクリーニングの方法には、酵素活性の測定とムコ多糖の分析とがある。前者は、特定の病型を診断するもので、すでに多くの報告があり方法としてほぼ確立されている。後者は、すべての病型の診断が可能であるが、特殊な機器が必要であり技術面と費用面の問題がある。

D. 対象疾患についての検討

国内で酵素補充療法が可能で I 型と II 型に限るべきか、すべての病型を対象とするかのどちらかである。後者では治療法がない病型も診断されるため、その後の対処が問題となる。

E. 経済性についての検討

検査費用は、機器整備の費用および人件費を除けば大きくないと思われるが、詳細は不明である。

他方、酵素治療の費用はかなりの高額である。I 型患者では小児で年間およそ 2,500 万円、成人で 5,000 万円が必要であり、II 型では小児で 5,000 万円、成人で 1 億円が治療費として必要である。スクリーニングを行うことにより、より早期からの治療が要求され、また寿命が延びることによってもさらに長期に治療費が必要となる。他方、就労可能であるのは軽症型の症例のみであり、早期治療によりどれだけより長く就労できるようになるかはまだ不明である。

F. 結論と考察

酵素治療は緩和療法であり完治療法ではないものの、より早期の治療は、より良い効果をもたらすと想像される。不完全であっても治療法が存在することから、診断が遅れるということは問題である。したがって、酵素治療が可能

である病型に対するスクリーニングは、必要であると思われる。

しかしながら、酵素治療の効果は不完全なものであり、また、スクリーニングによる早期治療の効果とスクリーニングでなく診断された後の治療効果との有意差が不明瞭であることから、対象は全新生児でなく希望者に限定すべきと思われる。さらに、ムコ多糖症は遺伝性疾患であり、特に II 型は X 連鎖性劣性遺伝であるため、次子の罹患のみならず血族の罹患も懸念される。したがって、ムコ多糖症のスクリーニング体制の整備に先立ち、遺伝カウンセリング体制の整備が欠くことのできないものであると結論する。

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

ムコ多糖症の尿によるスクリーニング成績「過去 20 数年間の経験」

研究要旨

1) 岐阜大学でのスクリーニング：ムコ多糖症の診断数は 441 症例でそのうち酵素診断数は 403 例であった。1982 年から簡易スクリーニング法を考案し、全国からの依頼検体の分析が可能となり、2000 年までの 19 年間のムコ多糖症の酵素診断数は 337 症例であった。I 型 49、II 型 182、IIIA 型 28、IIIB 型 27、IIIC 型 11、IVA 型 30、IVB 型 0、VI 型 4、VII 型 6 症例であった。なお、2001 年から 2002 年の診断数は 18 症例であった。

2) (株) SRL でのスクリーニング：2003～2007 年の 5 年間で 96 例（要再調査）を酵素診断した。I 型 16、II 型 53、III 型 12、IV 型 11、VI 型 4 例であった。

3) 6 ヶ月乳児尿ろ紙を利用したムコ多糖症マススクリーニングのパイロット成績（岐阜県）
1993 年 10 月から 2001 年 3 月まで、延 130,574 検体について dimethylmethylen blue 法にてスクリーニングを実施した。その結果、1 例の陽性例（Hunter 病）を見出した。岐阜県ではこの 7 年間に Hunter 病患者として他に 1 例が出生前診断されている。したがって岐阜県のムコ多糖症発生頻度を 5-6 万人に 1 人と推定した。また 1978-1994 年の 16 年間に岐阜県で出生したムコ多糖症患者を 6 例診断している。その間の出生数は 371,020 人である。発生頻度は 1:62,000 となり、パイロットスタディの値と一致していた。

研究協力者

折居忠夫（岐阜大学名誉教授）
早坂和子（元岐阜大学小児科）
田部美穂（(株) SRL 生化学課特殊生化学係）
折居恒治（岐阜県総合医療センター小児科）
鈴木康之（岐阜大学医学教育開発研究センター）

により、全国の医療機関より多くの検体が集まり本邦でのムコ多糖症の頻度の研究が企画された。

2) (株) SRL でのスクリーニング：岐阜大学でのスクリーニングは 2003 年から (株) SRL へ技術移転し、スクリーニングは継続され今日に至っている。

3) 6 ヶ月乳児尿ろ紙を利用したムコ多糖症マススクリーニングのパイロット成績（岐阜県）：岐阜大学では将来、ムコ多糖症の治療が可能となった段階での全国的マススクリーニングの実施を目指し、神経芽細胞腫のマススクリーニングに使用された尿ろ紙をインフォームド コンセントのもとに、使用させていただき、1993 年 10 月から 2001 年 3 月まで、7 年 6 ヶ月間、延 130,574 検体を dimethylmethylen blue(DMB)法にて、尿ろ紙中ムコ多糖を測定した。

A. 研究目的および研究方法

1) 1966 年以降、ムコ多糖症の研究を行ってきた過程で、診断の依頼を受ける機会が増加してきた。しかし、当時は尿中ムコ多糖の分析に約 1 か月を必要とし、多数の検体の処理は不可能であった。2 次元電気泳動では各種ムコ多糖の排泄パターン解析には極めて有用であったが、多数の検体の同時解析には不向きであった。そこで文献検索で Cappelletti ら（1979）の動物組織ムコ多糖の 1 次元電気泳動法を尿中ムコ多糖の分析に応用し、数日で多数検体の解析を可能とした。それ

B. 研究結果

1) 1981年までは簡易スクリーニング法の導入以前であるが、48症例が診断されている。1982年から2002年までは簡易スクリーニング法で岐阜大学においてスクリーニングされた(表1)。

1982年から2000年までのムコ多糖症の酵素診断数は337症例であった。I型49、II型182、IIIA型28、IIIB型27、IIIC型11、IVA型30、IVB型0、VI型4、VII型6症例であった。なお、2001年から2002年の診断数は18症例であった。

2) (株)SRLでのスクリーニング:2003年から(株)SRLへ技術移転後2007年までの5年間の酵素診断数は96症例(要再調査)であった。

I型16、II型53、IIIA型1、IIIB型11、IVA型10、IVB型1、VI型4症例であった。

3) 6ヶ月乳児尿ろ紙を利用したムコ多糖症マスキューニングのパイロット成績(岐阜県):1993年10月から2001年3月まで、延130,574検体についてdimethylmethylen blue法にてスクリーニングを実施した。その結果、1例の陽性例(Hunter病)を見出した(表2)。岐阜県ではこの7年間にHunter病患者が他に1例出生前診断されている。したがって岐阜県のムコ多糖症発生頻度を5-6万人に1人と推定した。また1978-1994年の16年間に岐阜県で出生したムコ多糖症患者を6例診断している。その間の出生数は371,020人である。発生頻度は1:62,000となり、パイロットスタディの値と一致していた。

C. 考察

1) 岐阜大学での簡易スクリーニング成績

1982年から2000年までの19年間に337症例を酵素診断し、I型49(14.5%)、II型182(54.0%)、III型は66(19.6%)で、そのうち、IIIA型28(8.3%)、IIIB型27(8.0%)、IIIC型11(3.3%)で、IVA型30(8.9%)、IVB型0、VI型4(1.2%)、VII型6(1.8%)症例であった。年間17.7症例が発見されたことになり、そのうち約10症例がII型であった。

2) (株)SRLでのスクリーニング

2003年から2007年までの5年間の診断数は

96症例を酵素診断した。I型16(16.7%)、II型53(55.2%)、III型は12(12.5%)症例で、そのうちIIIA型1(1.0%)、IIIB型11(11.5%)、IVA型10(10.4%)、IVB型1(1.0%)、VI型4(4.2%)症例であった。年間19.2症例が発見され、そのうち約10.6症例がII型であった。

上記の岐阜大学での19年、(株)SRLでの5年間の結果は年間診断数、II型の頻度と発見数は極めて類似していた。相違点は(株)SRLでの5年間のIII型の発見頻度の減少、特にIIIA型とIIIC型の発見数の減少である。その理由については、現在調査中であるが、1982年から2002年までは簡易スクリーニング法で、IIIA型とIIIB型はほぼ同数発見され、また、沖縄県の住民が多く人口移動したと考えられる関東、関西地域でもほぼ同数見出されており、ムコ多糖の抽出法や電気泳動法について再検討する予定である。

3) 6ヶ月乳児尿ろ紙を利用したムコ多糖症マスキューニングのパイロット成績(岐阜県)(表2):1993年10月から2001年3月まで、7年6ヶ月間で、延130,574検体をマスキューニングを実施し、1例の陽性例(MPSII)を見出した。岐阜県ではこの7年間にHunter病患者として他に1例が出生前診断されている。したがって岐阜県のムコ多糖症発生頻度を5-6万人に1人と推定した。また1978-1994年の16年間に岐阜県で出生したムコ多糖症患者を6例診断している。その間の出生数は371,020人である。発生頻度は1:62,000となり、パイロットスタディの値と一致する結果を得た。従来、本邦におけるムコ多糖症の発生頻度を5~6万人に一人と推定していたが、推論とほぼ合致したデータを得、満足している。

D. 結論

1) 岐阜大学(1982~2000年、19年間)では337例、SRL(2003~2007年、5年間)でのムコ多糖症のスクリーニングの結果、96例、札幌医大と岐阜大学で1981年までに、48例、さらに岐阜大学で2001~2002年に18例、合計499症例を酵素診断した。

2) 岐阜大学では1993年10月から2001年3月まで、7年6ヶ月間で、延130,574検体をマススクリーニングを実施し、1例の陽性例(MPSII)を見出した。岐阜県ではこの7年間にHunter病患者として他に1例が出生前診断されている。したがって岐阜県のムコ多糖症発生頻度を5-6万人に1人と推定した。また1978-1994年の16年間に岐阜県で出生したムコ多糖症患者を6例診断している。その間の出生数は371,020人である。発生頻度は1:62,000となり、パイロットスタディの値と一致する結果を得た。

3) ムコ多糖症の治療とマススクリーニング

本邦ではムコ多糖症IIとI型で約70%を占めており、これら2疾患には酵素補充療法(ERT)と骨髄移植が実施されてきているが、2歳未満で治療開始される機会は、極めて少ない。より効果的に治療を実施するためには、新生児期のマススクリーニングの可及的早期の実現が望まれる。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Montano AM, Sukegawa K, Kato Z, Carozzo R, Di Natale P, Christensen E, Orii KO, Orii T, Kondo N, Tomatsu S. Effect of 'attenuated' mutations in mucopolysaccharidosis IVA on molecular phenotypes of N-acetyl galactosamine-6-sulfate sulfatase. *J Inherit Metab Dis.* 30:758-67, 2007.
- 2) Ochiai T, Suzuki Y, Kato T, Shichino H, Chin M, Mugishima H, Orii T. Natural history of extensive Mongolian spots in mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): a survey among 52 Japanese patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 21: 1082-5, 2007.
- 3) Tomatsu S, Vogler C, Montano AM, Gutierrez M, Oikawa H, Dung VC, Orii T, Noguchi A, Sly WS. Murine model

(Galns(tm(C76S)sly)) of MPS IVA with missense mutation at the active site cysteine conserved among sulfatase proteins. *Mol Genet Metab.* 91: 251-8, 2007.

- 4) Montano AM, Tomatsu S, Gottesman GS, Smith M, Orii T. International Morquio A Registry: clinical manifestation and natural course of Morquio A disease. *J Inherit Metab Dis.* 30: 165-74, 2007.
- 5) Tomatsu S, Montano AM, Gutierrez M, Grubb JH, Oikawa H, Dung VC, Ohashi A, Nishioka T, Yamada M, Yamada M, Tosaka Y, Trandafirescu GG, Orii T. Characterization and pharmacokinetic study of recombinant human N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase. *Mol Genet Metab.* 91: 69-78, 2007.
- 6) Kato T, Kato Z, Kuratsubo I, Ota T, Orii T, Kondo N, Suzuki Y. Evaluation of ADL in patients with Hunter disease using FIM score. *Brain Dev.* 29: 298-305, 2007.

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

表 1. ムコ多糖症診断数

	I	II	III A	III B	III C	IV A	IV B	VI	VII	total
80前	2	19	4	5		14				44
81		4								4
小計	2	23	4	5	0	14	0	0	0	48
82	6	10	2	6	4	6			2	36
83	1	5	1	4	1	2		1		15
84	3	2	2	6		1				14
85	4	12	1	2		2				21
86	2	12	2	1		1				18
87		7	4	3	2	4				20
88	2	9	3		1				1	16
89	1	4		2		1				8
90	2	14	3			1				20
91	4	11	4			4		1		24
92	5	14		1	1				1	22
93	2	11		1				1	1	16
94	5	13	3			1				22
95	3	9	1	1	1					15
96	2	11	1		1	1		1		17
97	3	13	1			1				18
98	2	7				4			1	14
99	2	12				1				15
2000		6								6
小計	49	182	28	27	11	30	0	4	6	337
2001	3	10	1	0	0	1	0	0	0	15
2002	1	2	0	0	0	0	0	0	0	3
小計	4	12	1	0	0	1	0		0	18
2003	2	10	1	1	0	2	0	0	0	16
2004	5	7	0	0	0	0	0	1	0	13
2005	0	10	0	5	0	4	1	1	0	21
2006	2	6	0	3	0	1	0	0	0	12
2007	7	20	0	2	0	3	0	2	0	34
小計	16	53	1	11	0	10	1	4	0	96
計	71	270	34	43	11	55	1	8	6	499

分担研究報課題：新しい新生児マススクリーニング体制の検討

ムコ多糖症 I 型・II 型の全国実態調査：マス・スクリーニングに向けて

研究要旨

ムコ多糖症は造血幹細胞移植、酵素補充療法などの治療法が確立されつつあり、早期発見すれば、予後の飛躍的な改善が期待されることから、新生児マス・スクリーニングの有望な対象疾患である。今回、ムコ多糖症 I 型・II 型の全国実態調査（一次調査）を実施し、患者数、重症度、臨床経過、治療経過などを明らかにした。

研究協力者

鈴木康之（岐阜大学教授）
折居忠夫（岐阜大学名誉教授）
田中あけみ（大阪市立大学准教授）
奥山虎之（国立成育医療センター部長）
衛藤義勝（東京慈恵会医科大学教授）
井田博幸（東京慈恵会医科大学教授）

A. 研究目的

ムコ多糖症 I 型・II 型は造血幹細胞移植、酵素補充療法などの開発により、早期発見・早期治療を行えば、予後の飛躍的改善が期待されるようになり、新生児マス・スクリーニングの有望な対象疾患となっている。今回、ムコ多糖症の患者数を把握し、マス・スクリーニングの費用対効果などを算出する基礎データとして、ムコ多糖症の全国疫学調査を実施したので報告する。

B. 研究方法

全国の 200 床以上の病院小児科、整形外科、一般内科、循環器科、眼科、リハビリテーション科、小児病院など、合計 8969 診療科に対して往復はがきによる一次調査を実施し、「患者有り」と回答のあった施設に対して連結不可能匿名化の二次調査を行った。

（倫理面への配慮）

岐阜大学倫理委員会の承認を得て実施した。患者の個人情報含まず、連結不可能匿名化調査とした。

C. 研究結果

一次調査の回収率は27.0%で、I型42例、II型146例が報告された（重複例を含む）。二次調査ではI型25例（男11例、女14例）、II型109例（男108例、女1例）のデータを解析した。I型はHurler 12例（平均発症年齢 0.6歳）、Hurler/Scheie 7例（2.1歳）、Scheie 6例（5.8歳）で、年齢分布は10歳未満10例、10~19歳8例、20歳以上7例であった。II型は重症型69例（平均発症年齢1.7歳）、軽症型40例（3.1歳）で、年齢分布は10歳未満43例、10~19歳42例、20歳以上24例であった。10歳未満の症例数から年間約5例のムコ多糖症I型・II型が発病していると推定されるが、回収率の低さと、軽症型は年長になって診断されるケースが多いことを勘案すると、さらに多数がスクリーニングによって発見される可能性がある。

D. 考察

回収率が27%と低いが、ムコ多糖症患者の概略を明らかに出来た。今後、他の病型についても検討して行く予定である。

E. 結論

全国疫学調査により、ムコ多糖症 I 型、II 型の患者数の概略を明らかにした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato T, Kato Z, Kuratsubo I, Ota T, Orii T, Kondo N, Suzuki Y: Evaluation of ADL in patients with Hunter disease using FIM score. *Brain and Development* 28 : 298-305, 2007
- 2) Ochiai T, Suzuki Y, Kato T, Shichino H, Chin M, Mugishima H, Orii T. Natural history of extensive Mongolian spots in mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): a survey among 52 Japanese patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 21:1082-5, 2007
- 3) Kuratsubo I, Suzuki Y, Orii KO, Kato T, Orii T, Kondo N. Psychological Status of Patients with Mucopolysaccharidosis Type II and their Parents. *Pediatrics International* (in press)

2. 学会発表

- 1) 鈴木康之、折居建治、奥山虎之、田中藤樹、田中あけみ、井田博幸、衛藤義勝、折居忠夫. ムコ多糖症 I 型・II 型の全国疫学調査. 第 49 回日本先天代謝異常学会、2007.11.15-17, 山形
- 2) 鈴木康之、奥山虎之、田中あけみ、井田博幸、衛藤義勝、折居忠夫. ムコ多糖症 II 型の酵素補充療法：日本人 14 例の解析. 第 49 回日本先天代謝異常学会、2007.11.15-17, 山形

H. 知的所有権の取得状況

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の検討

ムコ多糖症の新生児スクリーニング開発

研究要旨

遺伝性ムコ多糖症患者のタンデムマス法による新生児スクリーニング法の開発をおこなうため蓄積物質である各種グライコースアミノグリカン (GAG) の測定の検討をおこなった。今回我々はタンデムマス法により、デルマタン硫酸 (DS)、ケラタン硫酸 (KS)、ヘパラン硫酸 (HS) を同時に測定する方法を開発することに成功した。DS, KS, HS を新生児の時期に計測する事でムコ多糖症患者の早期発見につなげることを試みた。

研究協力者

戸松俊治 (セントルイス大学准教授)
アドリアーナ モンターニョ
(セントルイス大学助教授)
小熊敏弘 (第一三共製薬)
鈴木康之 (岐阜大学教授)
折居忠夫 (岐阜大学名誉教授)
佐倉伸夫 (鈴が峯病院院長)
福士 勝 (札幌市衛生研究所所長)
山口清次 (島根大学教授)

A. 研究目的

ムコ多糖症はグライコースアミノグリカン (GAG) を分解するための酵素が欠損することによって起きるライソゾーム病の一群の病気である。分解されない GAG がライソゾームに蓄積し血中や尿中に排出される。現在 11 種類のムコ多糖症が知られており、各 GAG すなわちデルマタン硫酸 (DS)、ケラタン硫酸 (KS)、ヘパラン硫酸 (HS)、コンドロイチン硫酸 (CS) の蓄積がそれぞれの酵素欠損によって違ってくる。

ムコ多糖症患者は出生時には症状がなく、正常児と区別することが困難である。現在、酵素補充療法、骨髄移植、Substrate Reduction Therapy などがムコ多糖症患者に応用されているが、早期発見および早期治療の原則にもかかわらず、ムコ

多糖症患者への新生児スクリーニングは確立されていない。今回我々はタンデムマス法により、DS, KS, HS を同時に測定する方法を開発することに成功した。DS, KS, HS の新生児の時期に計測する事でムコ多糖症患者の早期発見につなげることを試みた。

本研究の目的は、稀少遺伝性疾患ムコ多糖症患者のタンデムマス法による新生児スクリーニング法の開発の検討をおこなうことにある。

B. 研究方法

ムコ多糖症患者血漿を keratanase, heparitinase および chondroitinase の各酵素によって KS, HS および DS の各 GAG を消化する。消化されたサンプルはフィルターでろ過後タンデムマス法により、KS, HS および DS を測定した。66 名のムコ多糖症患者 (ムコ多糖症 I 型、17 名; II 型 22 名; IIIA 型、5 名; IIIB 型、4 名; IIIC 型、2 名; IVA 型、12 名; VI 型、4 名) (年齢; 0.1-39.3 歳) と 150 名の正常人 (age; 0-51 years) の血漿を分析した。次に 3 人の I 型患者の新生児血液ろ紙から HS および DS を計測し正常新生児と比較した。

C. 研究結果

まず、患者血漿と正常人の血漿を比較した。すべてのムコ多糖症 I、II、III、VI 型患者で HS およ

び (あるいは) DS は上昇していた (ave. 3301 ng/mL, min. 829 ng/ml; max. 29200 ng/mL)。正常値は (ave. 506 ng/mL, P<0.0001)であった。cut off 値 800 ng/mL 以上で患者と正常人のグループで 100%の Sensitivity と Specificity があつた。同様に ムコ多糖症 I 型患者一名を除きすべての患者で HS は正常に比べて上昇していた(患者 ave. 1041 ng/mL, min. 231 ng/mL; max. 6810 ng/mL ; 正常 average 120 ng/mL, P<0.0001) 。また、ムコ多糖症 IVA 型患者一名を除きすべての患者で KS は正常に比べて上昇していた (ave. 8.8 µg/mL, min. 2.3 µg/mL; max. 12 µg/mL ; 正常 ave. 2 µg/mL, P<0.0001) 。

次に3人のI型患者の新生児血液ろ紙から HSおよびDS を計測し正常新生児と比較したところ、すべての患者で優位に上昇していた。これらのことは、出生児にすでにGAGが高くなっていることを示すもので、ムコ多糖症の新生児スクリーニングへの応用の可能性を記した。

D. 考察

タンデムマス法により、DS,KS, HS を同時に測定する方法の利点として (1) 方法は単純かつ特異性がある。(2) GAG は極めて安定である。(3) ナノグラムの値を計測することができ、HS,KS,DS のサブクラスを同定することができ、硫酸基の状態を把握することでムコ多糖症各病型の同定に役立てることが可能である。(4) GAG の上昇度によって臨床の重症度の推測を図ることができる。

E. 結論

以上の結果よりムコ多糖症 I,II,III,IV,VI 型の新生児スクリーニングの可能性を示唆している。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

論文発表

1. Tomatsu S, Montano AM, Gutierrez M, Grubb JH, Oikawa H, Dung VC, Ohashi A, Nishioka T, Yamada M, Yamada M, Tosaka Y, Trandafirescu GG, Orii T. Characterization and pharmacokinetic study of recombinant human N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase. *Mol Genet Metab* 91: 69-78, 2007.
2. Oguma T, Tomatsu S, Okazaki O. Analytical method for determination of disaccharides derived from keratan sulfates in human serum and plasma by high-performance liquid chromatography/turbo-ionspray ionization tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 21:356-62, 2007.
3. Montañó AM*, Tomatsu S#, Gottesman GS, Smith M, Orii T. International Morquio A registry: clinical manifestation and natural course of Morquio A disease. *J Inherit Metab Dis* 30:165-74, 2007. #Corresponding author
4. Tomatsu S*, Vogler C*, Montañó AM*, Gutierrez M, Trandafirescu GG, Oikawa O, Takarada T, Yamaguchi S, Orii T, Noguchi N. Murine model (*Galns^{tm(C76S)stu}*) of MPS IVA with a missense mutation at an active site among sulfatase proteins. *Mol Genet Metab* 9:251-258, 2007. *Equally contributed
5. Oguma T, Tomatsu S, Montañó AM, Okazaki O. Analytical method for determination of disaccharides derived from keratan, heparan and dermatan sulfates in human serum and plasma by high-performance liquid chromatography / turbo-ionspray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Biochem* 368:79-86, 2007.
6. Montañó AM, Sukegawa K, Kato K, Carrozzo R, Di Natale P, Christensen E, Orii KO, Orii T, Kondo N, Tomatsu S#. Characterization of novel mutations causing attenuated phenotype in Mucopolysaccharidosis IVA *J Inherit Metab Dis* 5:758-67, 2007. #Corresponding author

7. Tomatsu S*, Montañó AM*, Ohashi A, Oikawa H, Oguma T, Dung VC, Nishioka T, Orii T, Sly WS. Enzyme replacement therapy in a murine model of Morquio A syndrome. *Human Molecular Genetics* 2007; doi: 10.1093/hmg/ddm353. *Equally contributed.
8. Montano AM*, Oikawa H*, Tomatsu S*, Nishioka T, Vogler C, Gutierrez MA, Oguma T, Tan Y, Grubb JH, Dung VC, Ohashi A, Miyamoto K, Orii T, Yoneda Y, Sly WS. Acidic amino acid tag enhances response to enzyme replacement in mucopolysaccharidosis type VII mice. *Mol Genet Metab* (in press). *Equally contributed.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. Method for detecting lysosomal storage diseases

Published: October 6, 2005

Filed: May 10, 2005

United States Patent Application: 20050221407 A1

Inventors: Okamura, Kazuo; (*Saitama, JP*) ; Miyaura, Shuichi; (*Kanagawa, JP*) ; Tomatsu, Shunji; (*Clayton, MO*)

2. PROTEINS WITH AN ATTACHED SHORT PEPTIDE OF ACIDIC AMINO ACIDS

Filed: June 10, 2004

Published: December 15, 2005

United States Patent Application: 20050276796 A1

a. US Pub No US 2005/0276796 (U.S. Patent App 10/864,758);

b. Int'l Patent Pub No WO 2005/121344 (PCT Patent App No PCT/JP2005/010760)

c. EPO Pub No EP 1766024 (EPO Patent App No 05748127.7)

Inventors: Tomatsu, Shunji; (*Clayton, MO*) ; Miyamoto, Ken'ichi; (*Ishikawa, JP*) ; Yamada, Masamichi; (*Hyogo, JP*) ; Tosaka, Yasuhiro; (*Hyogo, JP*) ; Yamada, Mana; (*Hyogo, JP*)

3. Beta-glucuronidase with an attached short peptide of acidic amino acids

Filed: October 7, 2005

Published: April 12, 2007

United States Patent Application: 20070081986 A1

Inventors: Tomatsu, Shunji; (*Missouri, MO*) ; Miyamoto; Ken'ichi; (*Ishikawa, JP*) ; Yamada; Masamichi; (*Hyogo, JP*) ; Tosaka; Yasuhiro; (*Hyogo, JP*) ; Yamada; Mana; (*Hyogo, JP*) ; Grubb; Jeffrey H.; (*Missouri, MO*)

4. Diagnostic Method of Mucopolysaccharidoses

Application number: 60/753,413

Published: July 12, 2007

Filed: December 27, 2006

United States Patent Application: 20070161074 A1

Inventors: Tomatsu, Shunji; (*St. Louis, MO*); Oguma; Toshihiro; (*Tokyo, JP*)

5. Compositions and methods for treating hypophosphatasia

SLU case number 05-023

United States Application number: 20070081984 A1

Published: April 12, 2007

Filed: July 11, 2006

Inventors: Tomatsu, Shunji; (*St. Louis, MO*) ; Sly; William S.; (*St. Louis, MO*) ; Grubb; Jeffrey H.; (*St. Louis, MO*) ; Nishioka; Tatsuo; (*US*) ; Miyamoto; Ken-Ichi; (*Kanazawa, JP*) ; Yamaguchi; Seiji; (*Izumo, JP*)

6. ENHANCING THE EFFECT OF THERAPEUTIC PROTEINS ON THE CENTRAL NERVOUS

SYSTEM Serial Number 11/614,970, filed December 21, 2006 (117263 (SLU 06-051)

Application number: 20070207139

Published: September 6, 2007

Filed: December 21, 2006

Inventors: Tomatsu, Shunji; (*St. Louis, MO*) ; Montano; Adriana; (*Hyogo, JP*) ; Nishioka; Tatsuo; (*Ishikawa, JP*) ; Grubb; Jeffrey H.; (*St. Louis, MO*) ; Sly; William S.; (*St. Louis, MO*) ; Gutierrez; Monica A.; (*US*) ; Rodriguez; Amelia Ortigoza; (*Cucuta Norte de Santander, CO*)

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 MPS 症の血液ろ紙とタンデムマスによるスクリーニング法の研究

研究要旨

ムコ多糖代謝異常症は、細胞外マトリックス成分であるムコ多糖(GAG)の分解酵素異常症であり、発症により GAG が生体内に蓄積する。現在までに、LC/MS を用いた臨床スクリーニング法を開発し、本法がヒト乾燥血液濾紙(DBS)中 GAG 分析へ応用可能であることを示している。現在、本法を用いた臨床スクリーニング法のパイロット試験が計画されており、本試験における検体測定予定施設(札幌衛生研究所)への本定量系の技術移管を開始した。その結果、タンデムマスによる MPS スクリーニング法の基本系は確立済みであるが、施設および今後の展開を視野に入れた本法の最適化および技術移管が今後の課題であると考えられた。

研究協力者

小熊敏弘 (第一三共・薬物動態研究所)
戸松俊治 (セントルイス大学・小児科)
福士 勝 (札幌衛生研究所)

A. 研究目的

ムコ多糖代謝異常症は、細胞外マトリックス成分であるムコ多糖(GAG)の分解酵素異常症であり、発症により GAG が生体内に蓄積する。その分析法に関し、近年、LC/MS/MS による血清、血漿中 GAG の高感度分析法の確立により、ムコ多糖症の特定の疾病型における血漿中のヘパラン硫酸(HS)あるいはデルマタン硫酸(DS)の高値が示されている^{1,2)}。さらにヒト乾燥血液濾紙(DBS)中の GAG 分析法へ応用した結果、同様にムコ多糖症の特定の疾病型における血漿中 HS あるいは DS の高値が示されている。現在、LC/MS/MS によるムコ多糖症の臨床マススクリーニング法は実用化段階まで到達しており、今後の実施が予定されているパイロットスタディへ向けての検討を開始した。

B. 研究方法

1. 試験材料

1.1. 装置

三連四重極型質量分析計 Agilent6410 (Agilent Technologies Inc.)、高速液体クロマトグラフ HP1200 system (Agilent Technology Inc.)。

1.2. 標準二糖

ウシ角膜由来 Keratan sulfate、 Δ DiHS-0S、 Δ DiHS-6S、 Δ DiHS-NS (Unsaturated Heparan/Heparin-disaccharide H kit)、コンドロシン。以上、生化学工業より購入。

2. 実験

LC/MS/MS によるヒト血漿中 KS、HS および DS の一斉定量法に関し、臨床検体測定が予定されている札幌衛生研究所へ技術移管を実施した。分析方法は既に報告されている分析条件²⁾に従い実施した。すなわち、KS、HS および DS の定量に関し、各 GAG をケラターナーゼ II、ヘパリチナーゼ、コンドロイチナーゼ B (全て生化学工業より購入)によりそれぞれ二糖レベルまで酵素消化した後に、LC/MS/MS へ注入し分析した。質量分析計はイオン化法 エレクトロスプレー、MS 検出 負イオンモード。