

## C. 研究結果

AgilentのLC-MS装置6410を使用して、札幌衛生研究所で検討した。その結果、質量分析装置の感度不足からヒト血漿中のKSおよびHS由来の二糖体の検出はできなかった。別途、同一試料をアプライド・バイオ社にて測定し、検出可能であったことから、前処理方法には問題はないことが確認できた。今後の血液ろ紙での測定を考慮した結果、アプライド・バイオ社のAPI4000クラス以上の感度を有する機器が必要であることが明らかになった。

## D. 考察

ヒト血漿、血液ろ紙中の GAG 由来の二糖を分析する場合、イオン化効率と使用生体試料量の制限から、測定する分析機器の感度が大きな影響を与えることが確認された。また一つの分析法を用いて、複数施設で測定する場合、詳細な分析方法が記載された文書が必須であり、さらにキット化も有用であると考えられる。将来的には、施設での質量分析装置の効率的な稼働を考えた場合、さらに分析時間を短縮化することが重要と考えられた。

## E. 結論

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。施設および今後の展開を視野に入れた本法の最適化は重要であり、今後の課題として、手順書の作成、前処理法のキット化、分析時間の短縮化などが考えられた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) T. Oguma, S. Tomatsu, O. Okazaki, Analytical method for disaccharides derived from keratan sulfates in human serum and plasma by high-performance liquid chromatography / turbo-ion-spray ionization tandem mass spectrometry, Biomed. Chromatogr. 21, 356-362 (2007).
- 2) T. Oguma, S. Tomatsu, O. Okazaki, Analytical

method for disaccharides derived from keratan, heparan and dermatan sulfates in human serum and plasma by high-performance liquid chromatography / turbo-ion-spray ionization tandem mass spectrometry, Anal. Biochem. 368, 79-86 (2007).

### 2. 学会発表

- 1) T. Oguma, S. Tomatsu, N. Murayama, O. Okazaki and K. Sudo: A new neonatal screening method for mucopolysaccharidoses using tandem mass spectrometry. The 6th meeting of the international society for neonatal screening (2006/9/18, Hyogo)
- 2) 小熊敏弘、戸松俊治、岡崎治、須藤賢一：LC/MS/MS によるムコ多糖症マススクリーニング法の開発 第31回日本医用マススペクトル学会年会(平成18年9月29日、名古屋)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

出願済み(特願2006-255869)

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

MPS I 型（Hurler・Scheie 症候群）および GSD II 型（Pompe 病）の  
新生児スクリーニング法の検討

研究要旨

ムコ多糖症 I 型（MPS I 型、Hurler・Scheie 症候群）、II 型（MPS II 型、Hunter 症候群）および糖原病 2 型（GSD II 型、ポンペ病）は、何れも早期に発見し治療をしないと予後不良の経過をとる。特に、ポンペ病は早期に酵素補充療法を開始しないとほとんどの症例が 1 歳以下で死亡することから、新生児時期にスクリーニングすることが必要であると考えられている。我々は、現在我が国の新生児スクリーニングに使用されている乾燥濾紙血液のこれらの疾患の酵素活性を Chamoles らの方法を用いて測定し、本疾患の早期発見法を検討した。

研究協力者

北川照男（財）東京都予防医学協会  
鈴木健（財）東京都予防医学協会  
石毛信之（財）東京都予防医学協会  
穴澤昭（財）東京都予防医学協会  
大和田操 女子栄養大学大学院

A. 研究目的

わが国におけるこれら 3 疾患の発生頻度は未だに明らかにされておらず、しかも新生児期に発見して早期治療を行った報告はまだ行われていない。これを可能にする本研究は臨床的に重要である。また、MPS I 型、MPS II 型、特に GSD II 型の酵素補充療法（ERT）は、その効果に期待がもたれており、効果を高める上で早期発見が重要とされている。そのため、本年度は MPS I と GSD II の新生児スクリーニング法を確立することを目的として本研究を行った。

B. 研究方法および対象

1) GSD II 型スクリーニング法

(1) 方法：血液濾紙ディスク 1 枚と  $\alpha$ -glucosidase に対する人工基質である 4-methylumbelliferyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside 溶液、ならびに LA $\alpha$ -glu と類似の活性を示す maltose-

glucoamylase を阻害する目的で maltose（もしくは acarbose）を添加し、40mM リン酸緩衝液 pH3.75 および 7.0 の 2 系列を準備した後、37°C で incubate し、20 時間反応させて、酸性および中性  $\alpha$ -glucosidase 活性を測定した。

(2) 判定基準：①酸性  $\alpha$ -glucosidase 活性値から阻害剤を加えて測定した酸性  $\alpha$ -glucosidase 活性値を引いたものを酸性  $\alpha$ -glucosidase 活性値で割ったもの、即ち阻害の度合いのパーセント、②中性  $\alpha$ -glucosidase 活性値を、阻害剤を加えて測定した酸性  $\alpha$ -glucosidase 活性値で割ったもの、③阻害剤を加えて測定した酸性  $\alpha$ -glucosidase 活性値を阻害剤を加えないで測定した酸性  $\alpha$ -glucosidase 活性値で割ったパーセント、これら 3 種類の基準を用いて判定した。

2) MPS I 型スクリーニング法

酵素活性の測定は、人工的な蛍光基質である 4-Methylumbelliferyl- $\alpha$ -L-idopyranosiduronic acid (4MUI) を使用して反応を行い、 $\alpha$ -L-iduronidase の関連酵素である  $\beta$ -glucuronidase 活性を阻害剤するために、saccharolactone を添加した。試料は、新生児代謝異常等スクリーニングで使用されている濾紙血液 3mm ディスク 2 枚を用い、これに 200mM ギ酸緩衝液を加え、37°C、20 時間 incubate し、反応後停止液を加え、EX355, EM460 の波長で

蛍光強度を測定し、濾紙血液ディスク当りの  $\alpha$ -L-iduronidase 活性量を算出した。

3) 対象：DSB II型患者6名、保護者からインフォームドコンセントが得られた正常対象新生児146名、およびMPS I型患者6例、保護者からインフォームドコンセントが得られた正常対照新生児42例を対象として本研究を行った。

#### 倫理面への配慮

血液の採取においては、その用途、研究目的を文書にて説明し、承諾書（検査申し込み書）に署名を得たのちに、本研究を行った。

#### C. 研究結果

- 1) GSD II型スクリーニング結果は、正常対照新生児1例異常値を示したものの以外はいずれの判定基準においても患者群では75%以上、25倍以上あるいは25%以下であり、正常対照群と比較して明らかな差が認められ、患者の判定は容易であった(図1)。
- 2) MPS I型スクリーニング結果は、正常対象群の活性値が72.4-233.5 pmol/hr/disk (mean $\pm$ SD: 139.2 $\pm$ 34.1 pmol/hr/disk)であったのに対して、患者群では3.3-233.5 pmol/hr/disk)と著しく低値を示して、患者の判定は容易であった(図2)。

#### D. 考察

ERTが有効とされているMPS IおよびGSD IIの2疾患について、酵素活性を測定するChamolesらの方法を基に、新生児濾紙血液を用いたパイロットスクリーニングを試みた。GSD II型、MPS II型、いずれのスクリーニング法の場合でも、患者群の活性値は正常対照群と比較して明らかに低値を示しており、患者の発見は容易であった。

本法の操作手順は、ELISA法など比較してやや煩雑で反応時間も長い、感度・得意度も良好であり、確実に捕捉することが可能である。

#### E. 結論

本法を用いて新生児期にスクリーニングを行えば、早期発見・早期診断につながって、幼児期に死亡するなど重篤な症状を呈する症例を救命することが可能で、その意義は大きいと考える。

#### F. 研究発表

##### 1. 原著・論文

- 1) Toyama Ohashi, Mio Sakuma, Teruo Kitagawa, et al: Influence of antibody formation on reduction of globotriaosyl-ceramide (GL-3) in urine from Fabry patients during agalsidase beta therapy. *Mol Genet Metab* 92: 271-273, 2007
- 2) 北川照男: Fanconi型腎性くる病を伴う肝腎型高チロジン血症をめぐって. *小児内科*, 39: 1421-1429, 2007.
- 3) 北川照男: 糖尿病と私 —学童糖尿病検診の経験から—「肥満と糖尿病」、6:533-536, 2007
- 4) 鈴木健、笹島薫、大和田操、他: 尿によるウィルソン病スクリーニング法の研究 *日本マススクリーニング学会誌*, 17(1):21-26, 2007.

##### 2. 学会発表

- 1) 北川照男: 欧米で検討されている新しい対象疾患. 第110回日本小児科学会学術集会 111(2): 292, 2007.
- 2) 新宅治夫、大和田操、山野恒一、他: テトラヒドロビオプテリン反応性軽症フェニルケトン尿症の診断と日本における頻度. 第110回日本小児科学会学術集会 111(2): 184, 2007.
- 3) 新宅治夫、大浦敏博、小山田美香、他: テトラヒドロビオプテリン反応性軽症フェニルケトン尿症の長期治療. 第110回日本小児科学会学術集会 111(2): 291, 2007.
- 4) 石毛信之、鈴木健、大和田操、他: 尿  $\alpha$  ガラクトシダーゼ A タンパクとグロボトリアオシルセラミド測定によるファブリー病ハイリスク・スクリーニングに関する研究. 題 34 回日本マス・スクリーニング学会 17(2):60, 2007.
- 5) 鈴木健、石毛信之、大和田操、他: 新生児濾

紙血を用いた 4-methylumbelliferyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside 法によるグリコーゲン蓄積症 II 型 (ポンペ病) スクリーニング法の検討. 題 34 回日本マス・スクリーニング学会 17(2):60, 2007.

- 6) 石毛信之、原淳、穴澤昭、鈴木健、大和田操、北川照男：MS/MS を用いた複数のマススクリーニングシステムへの対応. 第 32 回日本医用マススペクトル学会 p35, 2007
- 7) K. Suzuki, N. Ishige, A. Anazawa, et al: Diagnosis of  $\alpha$ -l-iduronidase deficiency and lysosomal acid

$\alpha$ -glucosidase deficiency using dried blood spots on filter paper based on the methods by Nestor Chamoles. International Symposium of Lysosomal Storage Disease p30, 2007

- 8) T. Kitagawa, K. Suzuki, N. Ishige, et al: Utility of combining methods measure urinary  $\alpha$ -galactosidase A protein and globotriaosylceramide as a non-invasive high risk screening tool for Fabry disease hemizygote and heterozygote. International Symposium of Lysosomal Storage Disease p37, 2007

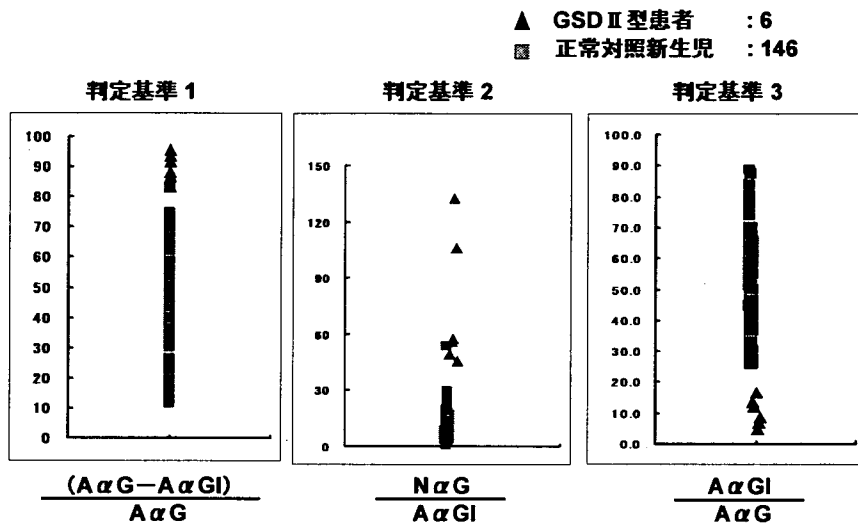


図 1. 各判定基準における測定結果の比較

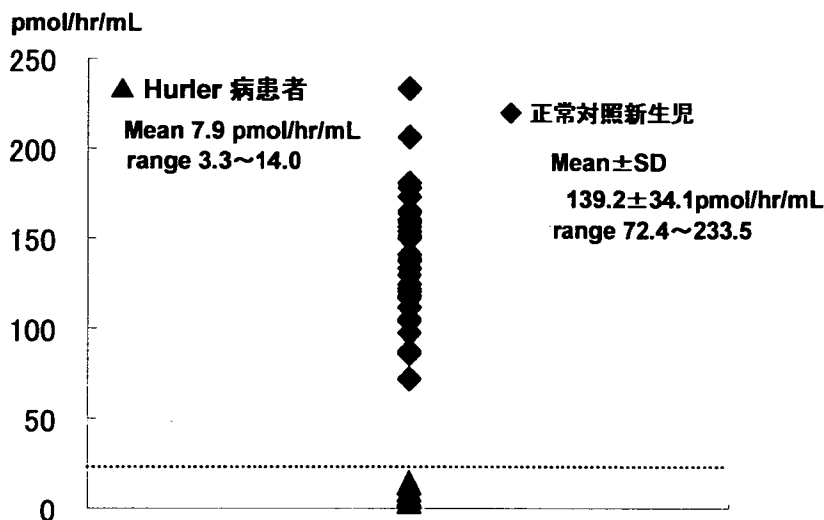


図 2. Hurler 病患者および正常対照患者における  $\alpha$ -iduronidase 活性値

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

ライソゾーム病の包括的診療システムの構築

研究要旨

2007 年 4 月にライソゾーム病のひとつであるポンペ病の酵素製剤アルグルコシダーゼ  $\alpha$ （マイオザイム<sup>TM</sup>）が国内承認された。患者全例に投与可能となった現在、早期診断・早期治療の手段の検討、治療の評価指標の検討が重要になってきている。我々は成人型ポンペ病に対し、酵素補充療法を行い臨床症状、検査所見とともに文献的考察を含め上記を検討し、より良いライソゾーム病の包括的システムの構築を考察する。

研究協力者

奥山虎之（国立成育医療センター・臨床検査部）  
小崎里華（国立成育医療センター・遺伝診療科）  
田中藤樹（国立成育医療センター・遺伝診療科）  
右田王介（国立成育医療センター・遺伝診療科）  
三原喜美恵（国立成育医療センター・遺伝診療科）  
岡田美智代（国立成育医療センター・遺伝診療科）  
小田絵里（国立成育医療センター・遺伝診療科）

A. 研究目的

我々は、ポンペ病における診断・治療・長期フォロー・遺伝カウンセリングを包括した診療システムの構築を検討している。

ポンペ病はライソゾーム内のグリコーゲン分解酵素である酸性  $\alpha$ -グルコシダーゼの欠損によりグリコーゲンが蓄積し、著明な筋力低下、呼吸筋障害、心肥大をきたす常染色体劣性遺伝病である。2007 年 4 月に酵素製剤アルグルコシダーゼ  $\alpha$ （マイオザイム<sup>TM</sup>）が承認された。患者全例に投与可能となった現在、早期診断・早期治療の手段の検討、治療の評価指標の検討が重要になってきている。

今回、成人型ポンペ病に対し、一年間酵素補充療法を行い臨床症状、検査所見とともに文献的考察を含め有効性、安全性を検討した。治療経過をもとにライソゾーム病の包括的診療システムの

構築を考察する。

B. 研究方法

症例は 37 歳女性。20 歳より易疲労性にて発症し 21 歳時に筋生検を行い、最終的には培養皮膚線維芽細胞の酸性  $\alpha$ -グルコシダーゼの活性低下より、ポンペ病の確定診断を得た。33 歳から 24 時間 NIPPV を必要とするような呼吸困難や体重減少、反復性気胸などを認めており、車椅子の生活をしている。マイオザイム<sup>TM</sup> 20mg/kg を隔週で点滴静注している。投与前より骨格筋量検査、呼吸機能検査、筋力測定検査、ADL を評価する FIM（Functional Independence Measure）質問紙を用いたアンケート調査を施行しそれぞれ評価する。

（倫理面への配慮）

本研究は、国立成育医療センター倫理委員会により承認され、治療を行った。

C. 研究結果

投与開始後一年経過し、骨格筋量、筋力測定では有意な変化は認めなかった。しかし、背部において椎骨、肩甲骨、肋骨が浮き上がる、いわゆる scapular winging sign については、約一年経過し肉付きが良くなり、また顔貌もふっくらとしてきている。呼吸機能検査においては経過中に気胸が再

発したため努力肺活量、一秒率ともに一旦は低下したものの、一年経過時点では投与前の値まで改善してきている。

臨床面においては食欲亢進、体重増加、気胸再発の頻度減少、座位における姿勢改善、呼吸器離脱時間の延長、等の改善を認めている。これらの改善点を総じて、FIM スコアにおいても上半身更衣、下半身更衣、整容及び排尿コントロールの項目でそれぞれ 2 点以上の改善を認めた(FIM スコア;上半身更衣 2→5、下半身更衣 3→5、整容 3→5、排尿 3→5)。

また、経過中、投与関連反応は認められなかった。

#### D. 考察

本症例において、マイオザイム™ は忍容性があり、有効性を示す点も認められた。有効性を評価する指標としては、ADL の改善を示す FIM 質問紙が有用であることが示唆された。また、投与一年間では呼吸機能及び骨格筋量の有意な改善はまだ認めていない。そのため、さらなる酵素補充療法の継続が必要であること、また筋萎縮が進行し不可逆的変化となる前に酵素補充療法を行うことが肝用である。

これより、成人型ポンペ病においても早期発見する必要があり、ポンペ病のスクリーニングの開発を検討中である。また、遺伝子診断により表現型との相関、治療の判定や出生前診断などへの応用が可能である。今後、酵素補充療法、スクリーニングシステム、遺伝子診断、遺伝カウンセリングを含めた包括的診療システムを構築していく。

#### E. 結論

今回成人型ポンペ病に対し、一年間酵素補充療法を行った。ポンペ病の酵素補充療法の評価指標として ADL の改善を示す FIM 質問紙の利用が有用である。ポンペ病において早期診断、早期の酵素補充療法導入、出生前診断を含めた遺伝子診断、遺伝カウンセリングといった包括的診療システムを構築していく。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- 1) 田中藤樹、右田王介、松本務、有瀧健太郎、東範行、守本倫子、小林靖明、望月弘、小崎里華、奥山虎之：ラロニダーゼによるムコ多糖症 I 型酵素補充療法：2 年間の成績。第 110 回日本小児科学会学術集会、京都、2007.4.22
- 2) 右田王介、岡田美智代、田中藤樹、三原喜美恵、小崎里華、奥山虎之：ムコ多糖症の遺伝子検査とその臨床的意義。第 110 回日本小児科学会学術集会、京都、2007.4.22
- 3) 奥山虎之、田中藤樹、右田王介、田中あけみ、鈴木康之、大橋十也、古城真秀子、今井憲、久保俊英、久保田哲夫、衛藤義勝、折居忠夫：ムコ多糖症 VI 型酵素製剤ガルサルファーゼの国内臨床開発について。第 49 回日本先天代謝異常学会、山形、2007.11.15
- 4) 小田絵里、田中藤樹、右田王介、三原喜美恵、岡田美智代、小崎里華、奥山虎之、水口浩一、阿部裕一、長澤哲郎、岡明、大矢寧：アルグルコシダーゼ α を用いた成人型ポンペ病の治療例。第 49 回日本先天代謝異常学会、山形、2007.11.15
- 5) Toju Tanaka, Ohsuke Migita, Eri Oda, Kimie Mihara, Rika Kosaki, Torayuki Okuyama: Enzyme Replacement Therapy for Japanese Patients with Mucopolysaccharidoses. International Symposium of Lysosomal Storage Diseases, Maihama, 2007.11.30

#### 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

## 新生児マス・スクリーニングで発見されたフェニルケトン尿症 25 例の日常生活調査

## 研究要旨

新生児期にマス・スクリーニングで発見されるフェニルケトン尿症に対しては、早期からフェニルアラニン摂取制限食治療が行われ、食事療法の継続によって知的障害、脳波異常、痙攣等の神経症状が予防されるが、一部では、厳しい食事療法が心理的、精神的抑圧を助長することが危惧されている。そこで、マス・スクリーニング開始当初から現在まで継続治療を行っている 25 例の患者の治療経過と日常生活についての調査を施行した。その結果、患者全例が食事療法を受容し、身体発育のみでなく心理的、精神的にも健康に発育・発達していることが確認された。患者・保護者と医療従事者の密接な連携が必須であると結論される。

## 研究協力者

大和田 操(女子栄養大学大学院 小児栄養学)

## A. 研究目的

新生児マス・スクリーニング(MS)で無症状のうちに発見されるフェニルケトン尿症(phenylketonuria, PKU)では、知的障害を予防するために厳しい食事療法が必要であるが、適切な治療の継続に必要な要因を明らかにする目的で以下の研究を行った。

## B. 研究方法

1980 年～2003 年に、新生児 MS で発見された phenylalanine hydroxylase 障害症、即ち古典的 PKU 17 例、および高フェニルアラニン血症(hyperphenylalaninemia, HPA)8 例を対象とした。PKU における診断時の血中フェニルアラニン(Phe)濃度は 21.6～51.9mg/dl(平均 39.2mg/dl)、HPA における血中 Phe 濃度は 10.9～19.4mg/dl(平均 15.2mg/dl)であり、2007 年における就学、就職状況は表 1 のようである。

全例が Phe 摂取制限食治療を継続し、定期的に、血中 Phe 濃度、血液一般検査、血液生化学検査を施行しているが、各例の 2006～2007 年度の平均血中 Phe 濃度を算出するとともに、2006 年度の 3 日間の食事記録の提出を依頼して平均 1 日 Phe 摂取量を計算した。また、表 2 に示す日常生活に関するアンケート調査を依頼して、健常児と異なる食生活の受容状況、学校での生活を検討した。

表 1 新生児マス・スクリーニングで発見され治療中の PKU、HPA 25 例の 2007 年現在の状況

年齢	例数	2007 年現在の状況
18 歳以上	8	高校卒業後就職(1) 高校、専門学校卒業後就職(1) 専門学校在学中(1) 4 年制大学卒業後就職(1) 4 年制大学在学中(3) 大学浪人中(1)
6～17 歳	11	高校生(2) 中学生(3) 小学生(6)
3～6 歳	6	幼稚園、保育園通園中(6)

表 2 アンケート調査の内容

質問の種類	質問内容
食事療法について	1) Phe 摂取制限食に対する患児の理解度 2) Phe 摂取量の詳しい計算の頻度 3) 治療ミルクの摂取量 4) 学校給食への対応 5) 治療用低たんぱく食品の利用と費用
日常生活について	1) 外食の有無と内容 2) 旅行の有無(国内、国外) 3) 日常生活に関する情報の入手方法

## C. 研究結果

25 例の 2007 年における平均血中 Phe 濃度は図 1 のようであり、27 歳の 1 例を除く 24 例で各年齢の血中 Phe 維持濃度に保たれていた。この濃度を維持するための Phe 摂取量は図 2 のよ

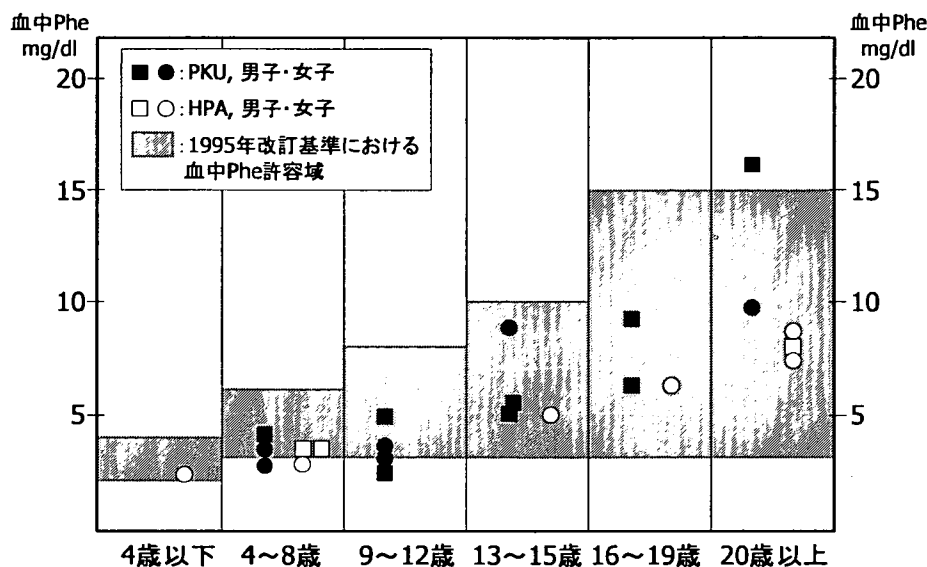


図1 新生児スクリーニングで発見された PKU、HPA 25 例の年齢別平均血中フェニルアラニン濃度 (mg/dl)

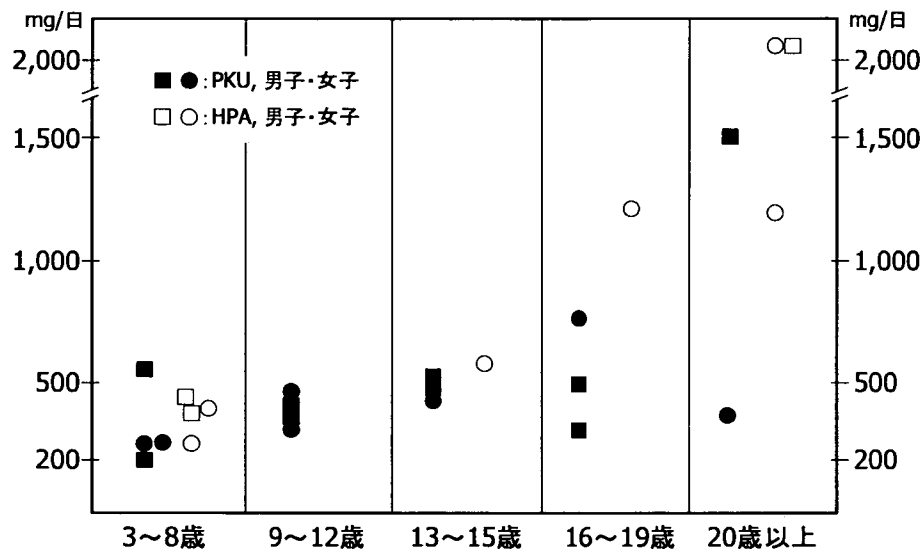


図2 新生児スクリーニングで発見された PKU、HPA 25 例におけるフェニルアラニン摂取量 (mg/dl)

うであり、診断時の血中 Phe 濃度が低い HPA に比べ、PKU に属する例における Phe 摂取量が有意に低かった。そのような例の自然蛋白摂取量は、同年齢の健常児におけるたんぱく質摂取量の 1/3~1/4 と低いため、成長に必要な窒素分の大部分は Phe を除くアミノ酸を混合して調整した PKU 治療用特殊ミルクを使用しなければならないが、対象例ではそれを十分に摂取して身体発育に異常を認める例は見られなかった。このような治療を継続するためには、食事療法に対する理解が必須なため、今回、PKU 患者と保護者に行った調査のうち、日常生活に関する調

査結果の要約を表 3 に示す。

PKU の食事療法の基本は各症例に必要な Phe 量を決定することにあるが、Phe 摂取制限が必要な理由を正しく把握し、理解できるようになるのは小学生高学年以後であることが示された。勿論、幼児期後半になると、保護者の食事指導によって患児達は、たんぱく質を含む食品を経験的に「食べてはいけないもの」として受け容れ、学校給食も全例が摂取せず、低たんぱく食の昼食を持参しており、その結果患児の血中 Phe 濃度は基準域に保たれている。そして、このような極めて特殊な食環境に置かれているが、



表3 アンケートによる日常生活調査結果

質問内容	回 答
Phe 摂取制限の理解	・ 充分理解している(15/25): 小学校高学年から理解が可能になる。
Phe 制限食の遵守	・ 全例、指示量を守り、高たんぱく食品は摂取していない。 ・ Phe 摂取量を細かく計算している例は年少例に多い。 ・ 日常の食事内容が健常児に比べて単純な為、小学校中学年以降ではかなりアウトに摂取しているが、血中 Phe 濃度は治療域に保たれている。
学童期の給食	・ 6歳以降の19例では、基本的に弁当を持参し、数例が低たんぱくのデザートは摂取していた。給食当番は全員が行っている。
外食の有無	・ 全例、外食を行っている(事前にメニューのたんぱく質量を調べたり、低たんぱくご飯を持ち込む等の工夫をしている)。
旅行について	・ 25例中23例が国内旅行をしており、11例は海外旅行にも参加している。 ・ 学校行事の遠足、キャンプなどには全例が参加している。
日常生活に関する情報の入手先	・ PKU 親の会ニュースから。 ・ 保護者同士の交流から。

精神的、心理的な抑圧を受けずに順調に発達していることが今回の調査で示された。

#### D. 考 察

食事療法を中断した年長(或いは成人)PKU に知的退行を含む様々な神経症状が出現することが報告されて以来、PKU の食事療法は終生行うべきとされ、各国で治療基準が見直され、わが国でも 1995 年に治療基準が厳しい基準に改定された。そして PKU の食事は健常者のそれとは著しく異なる為、実際の治療に携わっていない一般小児科医からは PKU 患者の心理的、精神的抑圧の存在も指摘されているので、今回、長期追跡中の患者および保護者に対してアンケートによる生活状況の調査を行った。その結果、極めて特異な食環境にある PKU 患者達が、心理的、精神的抑圧を受けずに順調に発達・発育していることを確認した。

先天性代謝異常症の日常診療では、患者・保護者と医療従事者(主に小児科医、栄養士)の関係が密接で、研究協力者も今回の対象者一人ひとりを理解していると認識してきたが、それが今回の調査で裏付けられたものと考えられる。

#### E. 結 論

PKU の長期予後をよくする為には、適切な食事療法を長期間継続することが必要であり、そのためには、患者・保護者と医療従事者の密接な関係を築くことが最も重要な要因と結論され

る。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 和泉美奈、山崎弘貴、大和田 操：フェニルケトン尿症における脳波の検討. 日本小児科学会雑誌, 108(11), 1366-1371, 2004
- 2) 大和田 操：先天性代謝異常症と栄養、小児科臨床, 57(12), 2542-2546, 2004

##### 2. 学会発表

- 1) 阿部紀子、大和田 操、鈴木 健、中林啓記：新生児マス・スクリーニングで発見されたフェニルケトン尿症の長期予後に関する研究. 第110回日本小児科学会学術集会, 2007年4月20日~22日, 京都
- 2) 笹島 薫、間下充子、鈴木 健、大和田操：濾紙血中フェニルアラニン分析の信頼性に関する研究—新生児マス・スクリーニング並びにフェニルケトン尿症管理における信頼度の検討—。第34回日本マス・スクリーニング学会, 2007年9月8日~9日, 千葉
- 3) 碓井ひろみ、中林啓記、佐藤智英、大和田操：フェニルケトン尿症の長期追跡—食事療法の重要性の検討—2. 第34回日本マス・スクリーニング学会, 2007年9月8日~9日, 千葉

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

新旧マススクリーニング疾患患児の民間保険加入について  
- H19 年度民間保険会社へのアンケート調査 -

**研究要旨**

新生児マススクリーニング（MS）疾患患児の保険加入について、保険会社 41 社に対して再度調査を行った。質問内容は、従来の MS 疾患患児の基本契約または特約保障の締結の可否、疾患ごとの条件、およびタンデムマス法による新規 MS 疾患患児の保険加入の対応とした。15 社から回答が得られ、前者については基本契約、特約保障とも会社ごとの対応が異なり、後者についてはほとんどの会社が未定や検討課題とした。リスクの読み方に差があることが推測され、今後各社への認識喚起を続行するとともに、長期予後の基礎データの提示も必要になると考えられる。

**研究協力者**

小松祥子（大手前栄養学院講師）  
平田陽一（PKU親の会連絡協議会）  
松原陽一（東北大学教授）  
原田正平（国立成育医療センター研究所室長）  
新宅治夫（大阪市立大学准教授）

**A. 研究目的**

前班研究で行った PKU 患児の家族に対する保険加入についての調査結果<sup>1)</sup>より、患児の成人後の生命保険などの加入可否が新たな調査課題となった。加えて、2007 年 10 月 1 日に日本郵政公社の簡易保険事業を引き継いで民営化したかんぽ生命保険について、従来の新生児マススクリーニング（MS）対象 4 疾患に対する加入機会拡大の条件が継続されるかどうか確認する必要が生じた。また、タンデムマス法導入により新規対象 22 疾患が挙げられており、従来の疾患と同様に保険加入の可否が問題になると推測される。再度生命保険会社の動向調査を行い、これらの問題について対応策を検討した。

**B. 研究方法**

日本生命保険協会に加盟している 41 社に対し

て調査用紙を送付し、同封の封筒にて回収した。調査内容は、各社の全商品を対象に、①従来の MS 疾患患児について、保険の基本契約の締結、および特約保障付加が可能かどうかを訊ねた。また、可能であれば締結可能な商品名の提示を依頼した。次に、②タンデムマス法による新規 MS 疾患患児の保険加入への対応を尋ねた。調査用紙には参考資料として H18 年度の班研究報告書<sup>1)</sup>、タンデムマスによる新生児スクリーニングの対象疾患の一覧表<sup>2)</sup>を添付した。また、かんぽ生命保険のホームページには、日本郵政公社時に発表された MS4 疾患患児に対する機会拡大条件が掲載されておらず、この条件が新会社でも継続されているかどうかを尋ねるため質問状を別途送付した。（倫理面への配慮）

調査は文部省・厚労省の疫学調査に関する倫理指針（平成 14 年 6 月 17 日）に基づいて行なった。また、本研究の公表は、大阪市立大学医学部倫理委員会の承認を受けている。

**C. 研究結果**

保険会社 41 社中 15 社から回答を得た（表 1）。うち 4 社は会社名不明（A・B・C・D 社）であった。

表 1 回答した保険会社 15 社 (50 音順)

朝日生命保険
アメリカンファミリー生命保険
ウインタートウル・スイス生命保険
かんぽ生命保険
クレディ・アグリコル生命保険
チューリッヒ・ライフ・インシュアランス
東京海上日動フィナンシャル生命保険
日本興亜生命保険
日本生命保険
三井住友海上きらめき生命保険
三井生命保険
不明 A・B・C・D 社

①従来のMS疾患患児の保険加入については、回答内容は5つに分類された。分類と会社名は表2の通りである。加入条件を詳細に明示したのは、アメリカンファミリー生命保険であった(表3)。

表 2 従来のMS疾患患児の生命保険加入について 15 社の回答内容

<p><b>【基本契約の締結可 (入院予定/中を除く)】</b></p> <p>クレディ・アグリコル生命保険、C社 (一時払個人年金のみ、医療・特約保障の扱いはない)</p>
<p><b>【判断機会に乏しく回答難】</b></p> <p>東京海上日動フィナンシャル生命保険 (年金商品中心)</p>
<p><b>【原則的に基本契約、特約ともに引受け不可】</b></p> <p>三井住友海上きらめき生命保険、B社、 D社 (個別に対応する場合もある)</p>
<p><b>【基本契約、特約ともに総合判断】</b></p> <p>朝日生命保険、ウインタートウル・スイス生命保険、 かんぽ生命保険、チューリッヒ・ライフ・インシュアランス、 三井生命保険、日本興亜生命保険、日本生命保険、A社 (判断基準の開示はできない)</p>
<p><b>【加入条件を明示】</b></p> <p>アメリカンファミリー生命保険</p>

表 3 アメリカンファミリー生命保険の加入条件

<p><b>がん保険</b></p> <p>6疾患とも基本契約と特約(死亡保障・医療)ともに締結可能</p>
<p><b>生命保険(死亡保障)および医療保険</b></p> <p>①10歳以上 ②長期入院歴なく、長期にわたって安定してコントロール ③主治医の意見書で病状確認を満たしていれば、</p> <p><u>クレチン症・古典的フェニルケトン尿症</u> (生命保険) 標準体料率で締結可能 (医療保険) 条件付加で締結可能</p>
<p><b>他の4疾患</b></p> <p>社内の医長による審査で加入可否を決定</p>

②タンデムマス法による新規MS疾患患児の保険加入への対応についても、回答内容は5つに分類された(表4)。

表 4 タンデムマス法による新規MS疾患患児の保険加入への対応

<p><b>【基本契約の締結可 (入院予定/中を除く)】</b></p> <p>クレディ・アグリコル生命保険、C社 (一時払個人年金のみ、医療・特約保障の扱いはない)</p>
<p><b>【従来疾患と同様に総合判断】</b></p> <p>ウインタートウル・スイス生命保険、かんぽ生命保険、 日本興亜生命保険、日本生命保険、三井生命保険</p>
<p><b>【検討課題】</b></p> <p>アメリカンファミリー生命保険 (長期予後のデータなどがあれば提示を希望) 三井住友海上きらめき生命保険 (詳細の分析段階に至らず、見通しが立っていない) D社 (長期予後について疫学的な結論ができれば検討)</p>
<p><b>【未定】</b> A社、B社</p>
<p><b>【明確な回答なし】</b></p> <p>チューリッヒ・ライフ・インシュアランス、朝日生命保険、 東京海上日動フィナンシャル生命保険</p>

一方、加入機会拡大条件の継続について、かんぽ生命保険からの回答は、従来の4疾患に関して

「先の発表内容（平成 15 年 3 月 25 日付け）と同じ考え方に基づき契約締結の可否を日本郵政公社時と同じ考え方により判断」しているということであった。また、特約保障については、「責任開始後（ご加入後）に疾病にかかりまたは思いがけない事故によって傷害を受け、それらを直接の原因として所定の入院等をされた場合に入院保険金等の支払対象」となるとしている。

#### D. 考察

MS 疾患患児の保険加入について、各社の対応の違いはリスクの読み方の差が影響しているものと思われる。MS 疾患についての認識の強化に向け、情報発信を続けることが必要である。かんぽ生命保険は、加入機会拡大条件を継続し、特約付加について明確な回答を示した。これらが守られるよう、PKU 親の会などの患者団体によるモニターが望まれる。タンデムマス法による新規対象疾患患児の生命保険の契約締結については、保険会社はリスク高、あるいは予測不可の懸念をもつ。今後、各疾患の予後に関するデータの収集、提示により、円滑な保険加入を支援することが必要である。

#### E. 結論

MS 疾患患児の保険加入について、保険会社 41 社に対して再度調査を行った。新体制の確立に際しては、患児の長期 QOL を見据え、保険加入など社会生活の環境を整備することも必要である。

#### 文献

1) 小松祥子、新宅治夫、平田陽一、松原洋一、原田正平：新生児マススクリーニング対象疾患患児の保険契約の動向について - 保険会社および平成 18 年度 PKU 親の会へのアンケート調査結果の報告 - 厚生労働科学研究費補助金（こ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 平成 18 年度総括・分担研究報告書 156 - 160、2007 年 3 月

2) 特殊ミルク共同安全開発委員会 編：タンデムマス導入にともなう新しいスクリーニング対象疾患の治療方針 社会福祉法人 恩賜財団母子愛育会 2007 年 4 月

#### G. 研究発表

##### 2. 学会発表

1) 新宅治夫、小松祥子、原田正平、松原洋一、平田陽一、山野恒一 フェニルケトン尿症をもつこどもの保険加入状況と問題点 第 110 回日本小児科学会、2007.4.20-22、(京都)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## Ⅱ. 分担研究報告書

### 2. タンデムマスによるスクリーニングの効果の検討

分担研究者 重松陽介（福井大学医学部教授）

## 分担研究課題

### タンデムマスによるマススクリーニングの効果の検討

分担研究者 重松陽介（福井大学医学部教授）

#### 研究要旨

わが国におけるタンデム質量分析計による新生児代謝異常症マススクリーニング（タンデムマス・スクリーニング）の有用性を実証するために、福井大学、島根大学、および札幌市・東京都・大阪府・熊本県の現行マススクリーニング実施機関で、引き続きパイロット研究が実施され、2007年1年間の分析新生児数は約17.3万、発見患者数20であった。カルニチントランスポータ異常症と短鎖ヒドロキシアシルCoA脱水素酵素欠損症患者が新たに発見され、脂肪酸酸化異常症スクリーニングの重要性が示される一方、患者数としてはプロピオン酸血症を中心とした軽症型の有機酸代謝異常症が多かった。また地域ごとに疾患分布の多様性があり、本スクリーニングの全国展開を進める上で考慮すべき点である。発見患者については、ほとんどの例で医療介入による良好なQOLが得られており、長期管理データが今後集積される予定である。一方、方法論の検討として、脂肪酸酸化異常症やシトリン欠損症のスクリーニングにおける指標とそのカットオフ値が本年度に発見された患者のデータを基に再検討され、今後更に患者データにより改定していく必要性が確認された。また、市販キットを使用した分析の利点や問題点の検討も行われ、概ね良好な検査精度が確認されたが、検査費用を考慮に入れて検討する必要があると考えられた。医療機関の動向として、対象疾患で突然死した症例を経験した医療機関が個別に本試験研究に参加を希望するようになっており、タンデムマス・スクリーニング対象疾患に対する理解の深まりが、本スクリーニング全国展開への推進力になると考えられた。

#### 研究協力者

福士 勝（札幌市衛生研究所）  
北川照男（東京都予防医学協会）  
菊池信行（横浜市立大学市民総合医療センター）  
稲岡一孝（大阪府立母子保健総合医療センター）  
岡野善行（大阪市立大学発達小児医学）  
小林弘典（島根大学医学部小児科）  
猪口隆洋（久留米大学医学部）  
田崎隆二（化学及血清療法研究所）

この試験研究の主たる課題は、引き続き、精度管理を実施しつつ偽陽性頻度や見逃し例を検討すること、わが国における対象疾患患者頻度を明らかにすること、発見患者に対する新生児期からの早期治療の効果を検討することであり、これらによりタンデムマス・スクリーニングを全国展開することの効果と意義を明らかにすることを目的とする。

#### B. 研究方法

福井大学、島根大学、札幌市衛生研究所、東京都予防医学協会、大阪府母子保健総合医療センター、熊本化学及血清療法研究所に設置されているタンデム質量分析計を用いて試験研究が行われた。対象は試験研究について同意の得られた新生児濾紙血である。福井大学と大阪府母子保健総合医療センターでは非誘導体化試料を分析し、その他の施設では誘導体化試料を分析した。

#### A. 研究目的

タンデム質量分析法による新生児マススクリーニング（タンデムマス・スクリーニング）は、乳幼児突然死に関連した先天代謝異常症を主な対象として世界的に実施されているが、研究者らのわが国での試験研究の結果からすると、人種差のため欧米での知見は必ずしもわが国には当てはまらないことが示唆されている。

札幌市衛生研究所と大阪府母子保健総合医療センターでは、試薬メーカーから提供された非誘導体化分析用キットを用いて分析精度の検討を行った。

カットオフ値については、福井大学の設定値を参考にしながら、各々の施設で集積した分析データを基に適宜改変して設定した。また、引き続き各施設において収集した既診断患者の濾紙血などの検体や、米国CDC (Centers for Disease Control and Prevention) より供与された標準濾紙血も分析し、精度などが検討された。

福井大学では、シトルリン欠損症のスクリーニング指標として、シトルリン濃度高値 (>38nmol/ml) とシトルリン/セリン比 (Cit/Ser>0.24) を採用し、シトルリン欠損症をさらに感度よくスクリーニング出来るかどうか検討した。また、高チロシン血症1型スクリーニングのための二次検査法 (濾紙血サクシニルアセトン分析) とイソ吉草酸血症スクリーニングのための二次検査法 (濾紙血イソバレリルグリシン分析) を昨年度から継続して行った。

### C. 研究結果

表1に示したように、本試験研究では平成19年12月までに約60.6万新生児を分析し65人の対象疾患患者を発見した (患者頻度: 1/9,300)。直近1年間では、約17.3万新生児を分析し、発見患者数は20 (患者頻度: 1/8,700) であり、中でもカルニチントランスポータ異常症2例と短鎖ヒドロキシアシルCoA脱水素酵素 (SCHAD)欠損症1例が試験研究では始めて発見された。

表2にSCHAD欠損症患者のデータを示した。SCHAD欠損症はまだ正式なスクリーニング対象疾患でなかったため、新生児濾紙血でのスクリーニング指標は異常値を示していたものの精密検査対象とされず、発症後にあらためて精密検査対象となり診断された。生後7ヶ月時の尿中3-hydroxyglutarate排泄量は38.7 $\mu$ g/mgCr (対照値: <3) と増加していた。現在、遺伝子解析が進行中である。

表1に示したとおり、発見患者を全体としてみると、プロピオン酸血症やメチルマロン酸血症を中心とした有機酸代謝異常症の頻度が比較的高いものの、脂肪酸酸化異常症も一定の頻度で発見された。また、札幌や福井ではプロピオン酸血症が多く、大阪ではカルニチ

ントランスポータ異常症とフェニルケトン尿症のみ発見されるなど、スクリーニング地域により発見される疾患に偏りがあった。特に、札幌で発見された軽症型プロピオン酸血症患児の中には、新生児・乳児期に血中アンモニア値が軽度ながらも上昇する例があった。

新しいシトルリン欠損症スクリーニング指標を用いることにより、5新生児が再採血検査対象となり、この内1例がシトルリン欠損症と診断された。この患児は、ガラクトース高値からNICCDを発症し診断されていた患者の同胞であるが、新生児期からNICCDを発症することなく無症状で経過している。

濾紙血サクシニルアセトン分析の結果、陽性例はなく、高チロシン血症1型患者は発見されていない。

濾紙血イソバレリルグリシン分析の結果も、要精密検査例が1例あったものの、尿有機酸分析によりイソ吉草酸血症は否定された。外国からの発症者濾紙血検査依頼において、この方法で1例のイソ吉草酸血症が化学診断された。

発見されたCPT2欠損症患者について、初回濾紙血分析でスクリーニング指標であるC16アシルカルニチンの濃度が12.2nmol/mlとカットオフ値 (6.3) を大きく上回っていたものの、再採血濾紙では3.9nmol/mlと低下していた。血清C16アシルカルニチン濃度が3.9nmol/ml (対照: <0.2) と上昇していたため、本症の診断に至った。濾紙血分析のみでの評価を行う場合は、別途(C16+C18:1)/C2比のカットオフ値0.6を適用するが、初回濾紙血で3.26、再採血濾紙血で1.80であり、診断は可能であった。

札幌市衛生研究所と大阪府母子保健総合医療センターでの分析キットを用いた検討では、非誘導体化法での良好な分析精度が得られたが、機器によっては感度面で不十分な点もあることが示され、また機器のメンテナンスに関する検討課題も指摘された (詳細は研究協力者報告書を参照されたい)。

化学及血清療法研究所の試験研究では、熊本県の他に香川県、福岡市、宮崎県からの濾紙血も分析したが、熊本県では現行のマススクリーニング受診者のほとんどがタンデムマス・スクリーニングの受診したのに対し、その他の自治体では4割から6割程度がタンデムマス・スクリーニングを希望したに過ぎなかった。その

背景として、関係機関での連携不足や、関心を示さない地域の存在、タンデムマス用に改定された採血濾紙への不適応、結果報告法に対する不満などが挙げられた。

東京都予防医学協会では、大学附属病院などの大規模医療機関で出生した新生児を中心に東京都内出生新生児の約15%を分析した。このマススクリーニングではまだ患者は見つかっていないが、171例のハイリスク患者の分析ではタンデムマス・スクリーニング対象疾患患児を3例発見した。

島根大学での試験研究では、島根県と宮城県を中心に、それ以外の自治体での特定の病院からの検体を分析した。再採血検査を要する新生児について、低出生体重児やNICU管理を受けている児であることが相対的に多かった。

福井大学での試験研究でも、福井県、広島県、徳島県、大阪市を中心として、その他の自治体の特定の病院からの検体を分析したが、対象疾患で突然死した症例を経験した医療機関や、関心のある小児科医が勤務する医療機関の参加希望が増えている。

#### D. 考察

本年度のタンデムマス・スクリーニング研究事業では、6施設での年間分析新生児数が約17万となり、着実にスクリーニング規模が拡大された。発見された患者の疾患スペクトルは有機酸代謝異常症が比較的多いものの、脂肪酸酸化異常症も着実に発見されている。特に、わが国で頻度が高いとされていたもののこれまでスクリーニングでは発見されていなかったカルニチントランスポータ異常症が大阪府で発見された。

累積約60万新生児の分析で65例の患者が見つかり、ほとんどの対象疾患の患者が発見されてきたことになるが、個々の疾患についてははまだまだ数も少ないし、発見患者の医学管理についての経験も充分とは言えない。また地域ごとにまた年度ごとに疾患の種類や頻度にばらつきがあり、今後も発見患者の医学管理については情報収集に万全を期す必要がある。頻度的にはプロピオン酸血症が発見患者の1/4を占めている。これらの患者のほとんどは最軽症型の遺伝子変異を有し、残存酵素活性値からは急性発症する可能性の低い病型と

考えられた。しかしながら、このような患者の中に、言語発達の遅れが見られる患者や新生児・乳児期に軽度とはいえ高アンモニア血症を呈した患者がいたことから、飢餓の防止とカルニチン治療を組み合わせた医学管理が必要であり、このような医学管理下での患者情報を集積していく必要があると考えられた。

SCHAD欠損症は、近年、新生児乳児期に持続性高インスリン血症による低血糖症状を呈する疾患であり、ジアゾキサイド治療が有効であることが報告されていたが、わが国での症例報告はなかった。C4OHアシルカルニチン濃度上昇がスクリーニング指標として有用だろうと考えられたが、その実用性についてはこれまで確認されていなかった。そのため、これまでこの指標を用いたスクリーニングは行っていなかったが、今回の症例でC4OH濃度とC4OH/C2比やC5DCカルニチン値との組み合わせが有用であることが示唆されたので、今後これらの指標でのスクリーニングの有用性を実証していく予定である。

我々の開発した濾紙血中イソバレリルグリシン濃度測定法は、わが国で新生児に対して比較的高頻度で投与されている抗生剤のスクリーニングシステムへの干渉を克服する二次検査法として有用である。この方法を用いてイソ吉草酸血症をマススクリーニングで発見したことはまだないが、外国からの濾紙血による化学診断依頼においてはイソ吉草酸血症が化学診断できることが証明されている。

わが国においては、欧米諸国と比べると、脂肪酸酸化異常症がタンデムマス・スクリーニングで発見される頻度は高くない。一方で、欧米に滞在中の日本人の両親から生まれた脂肪酸酸化異常症患児がタンデムマス・スクリーニングで少なからず発見されている。この背景として、わが国における新生児マススクリーニングの濾紙血採取時期が欧米に比べ遅いという点が指摘される。脂肪酸酸化異常症患児では、生直後の絶食の時期に脂肪酸異化亢進のためアシルカルニチン異常が著明であるものの、その後哺乳が進むとその異常が軽減し、スクリーニング用濾紙血作成時には異常の検出が困難になっていて見逃される可能性も考えられる。このため、可能なら脂肪酸酸化異常症スクリーニング専用濾紙血を設定し採血時期を現行より早期にする必



要があるかもしれない。また、少なくとも、アセチルカルニチンと指標アシルカルニチンとの比を用いるなどの工夫をする必要はあると考えられる。本年度はCPT2欠損症のスクリーニングにおいてこの点での検討を行ったが、今後、他の脂肪酸酸化異常症についての検討も必要と考えている。

## E. 結論

本年度の研究で、わが国でも2大学・4検査機関によるタンデムマス・スクリーニング研究事業における受検新生児は年間約17.3万（全国出生の約16%）となり、新たな疾患も次々に診断され、今後もスクリーニング規模が拡大される情勢である。スクリーニング法についてはまだ改良の余地があるので検討を加えるとともに、対象疾患についての認知度がまだまだ低い面もあるのは否めない。更に広報に努め、非スクリーニング地域で発症後に診断された患者が不幸な転帰をとっている現状を可及的速やかに改善する必要があると考えられた。

## F. 研究発表

### 1 論文発表

- 1) Shigematsu Y, Hata I, Tanaka Y: Stable-isotope dilution measurement of isovaleryl-glycine by tandem mass spectrometry in newborn screening for isoval-eric acidemia. *Clin Chim Acta*. 386(1-2): 82-86, 2007.
- 2) 重松陽介、畑郁江、眞弓光文、田中幸枝、小林圭子、佐伯武頼：タンデム質量分析法によるシトリン欠損症の新生児マススクリーニング：新生児期濾紙血アミノ酸ではスクリーニング困難な患者の存在. *日本マス・スクリーニング学会誌*. 17(1): 43-48, 2007.
- 3) 重松陽介：広がりはじめたタンデムマス・スクリーニングの現況. *日本マス・スクリーニング学会誌*. 17(3) : 19-24, 2007.
- 4) 重松陽介：タンデム質量分析計を用いた新生児代謝異常症マススクリーニング, 最新プロテオミクス・メタボロミクス (丹羽利充：監修). 細胞工学別冊. 秀潤社 (東京). 166-172, 2007.

### 2 学会発表

- 1) 重松陽介、畑郁江：わが国のタンデムマスによる先天代謝異常症マススクリーニング試験研究の現況. ワークショップ「30年を迎えたわが国の新生児マススクリーニングの評価と今後」. 第110回日本小児科学会学術集会. 2007, 4. 京都.
  - 2) 重松陽介、畑郁江、但馬剛、他：タンデムマススクリーニングにおけるシトリン欠損症のスクリーニング指標の検討. 第34回日本マス・スクリーニング学会. 2007, 9. 千葉.
  - 3) 稲岡一孝、宮城晶子、竹島清美、他：大阪府における非誘導体化タンデムマス法を用いた新生児スクリーニング. 第34回日本マス・スクリーニング学会. 2007, 9. 千葉.
  - 4) 但馬剛、西村裕、小野浩明、他：広島県のタンデムマス新生児スクリーニング8年間の経過報告. 第34回日本マス・スクリーニング学会. 2007, 9. 千葉.
  - 5) 長谷川有紀、小林弘典、遠藤充、他：タンデムマススクリーニングによる予後改善効果：発症後に診断された症例との比較. 第34回日本マス・スクリーニング学会. 2007, 9. 千葉.
  - 6) 但馬剛、佐倉伸夫、畑郁江、重松陽介：タンデム質量分析法による極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症スクリーニングにおける陽性例の確定診断. 第32回日本医用マススペクトル学会. 2007, 9. 京都.
  - 7) 重松陽介、畑郁江、田中幸枝：MS/MSスクリーニングにおける精密検査から診断確定への問題点. シンポジウム「新生児マススクリーニングにおける質量分析法の課題」. 第32回日本医用マススペクトル学会. 2007, 9. 京都.
  - 8) 重松陽介、畑郁江、田中幸枝：Camitine-palmitoyl-transferase (CPT) II欠損症/translocase欠損症の濾紙血中長鎖アシルカルニチン濃度の検討. 第49回日本先天代謝異常学会. 2007, 11. 山形.
  - 9) 白尾謙一郎、但馬剛、佐倉伸夫、畑郁江、重松陽介：タンデムマス新生児スクリーニングで発見されたSCAD欠損症2例の分子遺伝学的解析. 第49回日本先天代謝異常学会. 2007, 11. 山形.
  - 10) 起塚庸、竹島泰弘、八木麻理子、栗野宏之、但馬剛、佐倉伸夫、依藤亨、重松陽介、松尾雅文：新生児タンデム質量分析スクリーニングでプロピオニルカルニチンの増加を認めたミトコンドリア脳症の一例. 第49回日本先天代謝異常学会. 2007, 11. 山形.
- (研究協力者の研究発表は、各々の報告書を参照)

表1 タンデムマス・スクリーニング試験研究結果 (2007年12月末まで)

<疾患名>	福井大学	島根大学	札幌市	東京都	化血研	大阪府	(計)	
<b>脂肪酸酸化異常症</b>	(-04.3.)	(04.4.-)						
CPT1欠損症	1		1		1		3	
CPT2欠損症/CT欠損症	1	1					2	
VLCAD欠損症	1	1	1				3	
MCAD欠損症	3						3	
SCHAD欠損症		1					1	
グルタル酸尿症2型	2	1	1				4	
カルニチントランスフェラーゼ異常症						2	2	
<b>有機酸代謝異常症</b>								
メチルマロン酸血症	2	1	5				8	
プロピオン酸血症	7	2	2	4	1		16	
イソ吉草酸血症			1				1	
複合カルボキシル欠損症	2						2	
3MCC欠損症		1	1		1		3	
グルタル酸尿症1型	3						3	
<b>アミノ酸代謝異常症</b>								
フェニルケトン尿症	3	2		1		2	8	
シトリン欠損症	4	1					5	
アルギニコハク酸尿症	1						1	
<患者数 (07.1~07.12)>	30	11	11	6	0	3	4	65(20)
<スクリーニング数>	220,875	173,496	61,913	43,332	25,898	40,092	40,774	606,380
(07.1~07.12)		47,466	25,007	16,216	14,585	28,799	40,774	172,847

CPT1:カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ1、CT:カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ、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、SCHAD:短鎖ヒドロキシアシル CoA 脱水素酵素、3MCC:3-メチルクロトニル CoA カルボキシルラーゼ

表2 SCHAD欠損症のスクリーニング指標と患者データ

スクリーニング指標	新生児期 (濾紙血)		生後7ヶ月 (血清)		カットオフ値 (濾紙血)
	初回	再採血	低血糖時	7日後	
C4OH	0.72	0.48	0.67	0.25	0.23
C4OH/C2	0.028	0.026	0.026	0.038	0.008
C5DC	0.28	0.22	0.50	0.21	0.25

C4OH: C4ヒドロキシアシルカルニチン、C2:アセチルカルニチン、C5DC: C5ジオイルカルニチン (グルタリルカルニチン)

分担研究課題：タンデムマスによるスクリーニングの効果の検討

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おける非誘導体化法の検討

研究要旨

タンデム質量分析計による新生児マススクリーニング検査では、アミノ酸、アシルカルニチンをブチル誘導体することで感度を高める方法を用いることが一般的である。しかし、ブチル誘導体化のための前処理に2時間程度を要すほか、複数のプレートの前処理を同時に行えないなどの非効率な側面が存在する。これを改良するために、PerkinElmer社製のキットを用いた非誘導体化法による一斉分析について検討したところ良好な結果が得られた。

研究協力者

野町祥介, 仲島知美, 櫻田美樹, 太田紀之, 富士勝, 矢野公一（札幌市衛生研究所）  
Ulrich G Jensen（PerkinElmer, Denmark）

PerkinElmer、(財)日本公衆衛生協会新生児スクリーニング研究開発センターの各精度管理用検体を用いた。各法のアッセイ内変動係数とアッセイ間変動係数は、PerkinElmerの精度管理用検体を用いて、6回測定することにより行った。

A. 研究目的

札幌市衛生研究所の機器システム<タンデム質量分析計 Quattromicro API(英 MicroMass)と送液装置 alliance-HT2795(Waters)>で非誘導体化法により十分な感度による検査が行えるか検討を行う。

B. 研究方法

検討は、Quattromicro API(英 MicroMass)と送液装置 alliance-HT2795(Waters)を用いて PerkinElmer社製キット“NeoGram Amino Acids and Acylcarnitines Non-Derivatized Tandem Mass Spectrometry Kit”による非誘導体化法で得られたデータを、札幌市が従来から行っている誘導体化法<sup>4)</sup>のデータと比較することで行った。非誘導体化法の前処理はキットの説明書に従った。

なお、両法における安定同位体スタンダードの内訳を表1に示す。

比較検討には、札幌市の新生児代謝異常症等検査において、タンデム質量分析計による多項目検査を希望し、かつ研究へ使用の了承の得られた621件の新生児検体<sup>5)</sup>のほか、アメリカ疾病予防管理センター(Centers for Disease Control and Prevention; CDC)、

C. 研究結果と考察

タンデム質量分析計による新生児マススクリーニングは多くの疾患について同時に検査できる有用な検査法であるが、検体処理能力を更に高めるためブチル誘導体化を経ない方法についても様々に検討されている<sup>6,7)</sup>。今回、私たちは札幌市衛生研究所の機器環境で、PerkinElmer社の非誘導体化キットを用いて測定を行うことで、非誘導体化法の適用性について検討した。

各法における621件の新生児検体を用いた主な測定項目の平均値と標準偏差を表2にまとめる。また、おもな指標物質について、その相関と相関係数を図にまとめる。

C0(free carnitine)の測定値については、特に非誘導体化法で低めを示す傾向があった。

各法におけるアッセイ内変動係数を表3に、アッセイ間変動係数を表4にまとめる。双方において非誘導体化法はやや変動が大きい傾向を示したが、変動係数はおおむね15%程度以下に収まった。

またC5DC(glutaryl carnitine)の変動係数は全法を通じて高かった。

主要な指標物質における相関係数(R)はいずれも0.95以上で良好であった(図;図中には相関係数の2乗 $R^2$ により表記)。このことから、カットオフ値の検討を行うことで、検査法を非誘導体化法へ移行することは十分可能であると考えられた。

なお、これらの検討におけるより詳細なデータ及び考察は別にまとめた<sup>4)</sup>。

#### D. 結語

タンデム質量分析計によるアミノ酸・アシルカルニチン一斉分析法において、非誘導体化法は、誘導体化法との間に十分な相関を示し、新生児マススクリーニングの検査法として十分使用可能なものである。

#### E. 文献

- 1) 野町祥介, 本間かおり, 花井潤師 他: 札幌市におけるタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングのための体制整備, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 65-72, 2006.
- 2) 本間かおり, 花井潤師, 野町祥介 他: 札幌市におけるタンデム質量分析計によるマス・スクリーニングのためのデータ処理システム(1)事務処理システム, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 73-77, 2006.
- 3) 花井潤師, 本間かおり, 野町祥介 他: 札幌市におけるタンデム質量分析計によるマス・スクリーニングのためのデータ処理システム(2)検査データ処理と内部精度管理, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 79-84, 2006.
- 4) 野町祥介, 仲島知美, 櫻田美樹 他: タンデム質量分析計による非誘導体化法アミノ酸・アシルカルニチン一斉分析 現行のプチル誘導体化法との比較, 札幌市衛生研究所年報, 34, 37-47, 2007.
- 5) 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.
- 6) Nagy K, Takats Z, Pollreisz F et al. Direct

tandem mass spectrometric analysis of amino acids in dried blood spots without chemical derivatization for neonatal screening, Rapid Communications in Mass Spectrometry, 17, 983-990, 2003.

- 7) 稲岡一孝, 竹島清美, 中村しのぶ 他: 検査施設におけるアミノ酸・アシルカルニチンの無誘導体化測定, 厚生労働科学研究費補助金 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 平成18年度研究報告書, 113-119, 2007.

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 野町祥介, 太田 優, 坂上絵理奈 他: タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングの試験研究—2006年度(2年目)実施成績—, 札幌市衛生研究所年報, 34, 29-36, 2007.
- 2) 野町祥介, 仲島知美, 櫻田美樹 他: タンデム質量分析計による非誘導体化法アミノ酸・アシルカルニチン一斉分析 現行のプチル誘導体化法との比較, 札幌市衛生研究所年報, 34, 37-47, 2007.

##### 2. 学会発表

- 1) 野町祥介, 阿部敦子, 太田 優, 坂上絵理奈, 臼井知美 他: 札幌市におけるタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニング 2年間の実施成績 第34回日本マス・スクリーニング学会 千葉市, 2007.
- 2) C.Paulette, U.G.Jensen, 野町祥介, 福士 勝 : 非誘導体化および誘導体化 MSMS キット、最適データ解析用のソフトウェアの組み合わせについて 第34回日本マス・スクリーニング学会 千葉市, 2007.
- 3) 福士 勝, 野町祥介, 田上泰子 他: 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尿症Ⅱ型及び軽症プロピオン酸血症 第32回日本医用マススペクトル学会 京都市, 2007.
- 4) 野町祥介: MS/MS 法におけるアミノ酸分析の問題点と精度管理 第32回日本医用マススペクトル学会 京都市, 2007.