

2. 学会発表

- 1) 小田絵里、田中藤樹、右田王介、小須賀基通、岡田美智代、小崎里華、大矢 寧、大澤真木子、奥山虎之：成人型ポンペ病における酵素補充療法の評価. 第 50 回日本小児神経学会総会. 東京, 2008.
- 2) 奥山虎之：酵素補充療法、イソフラボン療法の現状-MPS I・VI. 第 12 回日本ムコ多糖症研究会. 東京, 2008.
- 3) 小田絵里、田中藤樹、右田王介、岡田美智代、小須賀基通、小崎里華、大澤真木子、奥山虎之：ろ紙を用いたポンペ病スクリーニング法の検討. 第 35 回日本マス・スクリーニング学会. 松江, 2008.
- 4) Torayuki Okuyama, Toju Tanaka: ENZYME REPLACEMENT THERAPY FOR MUCOPOLYSACCHARIDOSIS TYPE I IN JAPAN. SOCIETY FOR THE STUDY OF INBORN ERRORS OF METABOLISM ANNUAL SYMPOSIUM, LISBOA 2-5 SEPTEMBER 2008
- 5) Toju Tanaka, Mahoko Furujo, Tetsuo Kubota, Tohya Ohashi, Akemi Tanaka, Yasuyuki Suzuki, Yoshikatsu Eto, Tadao Orii, Torayuki Okuyama: ERT USING GALSULFASE FOR MAROTEAUX-LAMY SYNDROM IN JAPAN. SOCIETY FOR THE STUDY OF INBORN ERRORS OF METABOLISM ANNUAL SYMPOSIUM, LISBOA 2008
- 6) 奥山虎之：保険収載された遺伝病的検査と遺伝カウンセリング加算. 日本人類遺伝学会 第 53 回大会. 横浜, 2008.
- 7) 田中藤樹、右田王介、小田絵里、岡田美智代、三原喜美恵、李紅蓮、小須賀基通、小崎里華、林聡、左合治彦、奥山虎之：先天代謝異常症に対する出生前遺伝カウンセリング. 日本人類遺伝学会 第 53 回大会. 横浜, 2008.
- 8) Torayuki Okuyama: RECENT CLINICAL PROGRESS IN LSDS: NEW DATA FROM LSD CLINICAL TRIALS AND REGISTRIES, MPS I DISEASE, Japanese case. 11th Annual Asia LSD Symposium. Beijing, 2008.
- 9) 田中藤樹、田中あけみ、鈴木康之、井田博幸、奥山虎之、衛藤義勝、折居忠夫：Hunter 症候群成人 10 例における酵素補充療法 JET Study の治療成績第 50 回日本先天代謝異常学会総会. 米子, 2008.
- 10) 田中藤樹、古城真秀子、小倉和郎、久保田哲夫、大橋十也、田中あけみ、鈴木康之、奥山虎之、衛藤義勝、折居忠夫：Maroteaux-Lamy 症候群に対する酵素補充療法～国内 3 症例の治療例. 第 50 回日本先天代謝異常学会総会. 米子, 2008.
- 11) 田中藤樹、三原喜美恵、種元智洋、中村知夫、石毛信之、奥山虎之：タンデムマスキリーニングによる PTPS 欠損症の早期診断～出生前遺伝カウンセリングの効用. 第 50 回日本先天代謝異常学会総会. 米子, 2008.
- 12) 小田絵里、田中藤樹、右田王介、岡田美智代、小須賀基通、小崎里華、大澤真木子、奥山虎之：ポンペ病スクリーニング；日本人特有の遺伝子多型の影響. 第 50 回日本先天代謝異常学会総会. 米子, 2008.
- 13) 三原喜美恵、李紅蓮、四元淳子、右田王介、小須賀基道、田中藤樹、小崎里華、奥山虎之：オルニチントランスカルバミラーゼ (OTC) 欠損症の遺伝カウンセリング. 第 50 回日本先天代謝異常学会総会. 米子, 2008.
- 14) 小須賀基通、田中藤樹、小田絵里、岡田美智代、右田王介、小崎里華、奥山虎之：ムコ多糖症 I 型に対する酵素補充療法-長期投与における有効性・安全性の評価-. 第 13 回日本ライソゾーム病研究会. 東京, 2008.

F. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

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

研究分担者 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スクリーニングの効果の検討

研究分担者 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・九州地区の現行マススクリーニング実施機関で、引き続き試験研究が実施され、2008 年 1 月から 12 月に、205,312 新生児をスクリーニングし、27 例の対象疾患患者を発見した。この試験研究の累積受検者数は約 81 万新生児、発見された患者数は 92 例となり、対象疾患患者の頻度は約 1/8,800 新生児と計算された。疾患別頻度は、プロピオン酸血症が 1/40,000 と最も多く、次いでフェニルケトン尿症が 1/58,000、シトリン欠損症 1/90,000、メチルマロン酸血症 1/116,000、MCAD 欠損症 1/135,000 であった。脂肪酸酸化異常症全体の頻度は 1/32,000 であり、新生児期発症の重症型グルタル酸尿症 2 型 1 症例以外は、早期発見・治療により順調に成長発達しており、乳児突然死予防の観点からも有意義なスクリーニングと考えられた。ただ、地域別に見ると、疾患の種類や頻度は均一ではなく、頻度的には徳島県、宮城県、福井県、東京都などで多く、九州地区、広島県、札幌市では平均的、大阪府・市で少なかった。またスクリーニングでの患者の早期診断・治療システムは、当研究班での試験研究が開始された地域でも機能するようになってきた。

検査法に関しては、新しい分析キットの検討が行われ、非誘導体化法の有用性について更に確認が進んだ。検査経費の検討から検査対象疾患を精選すれば現行の枠内でのタンデムマススクリーニング実施も可能であることも判明したが、スクリーニング規模にあわせた対応と検査費用の確保は今後とも検討すべき点である。

対象疾患は上記のように希少疾患であり、今後も継続して情報を共有し対応を向上させていくために、対象疾患のスクリーニング指標とそのカットオフ値の統一化、精査のための検査支援システムの改善、対象疾患の絞り込みなどが更に必要と考えられた。

研究協力者

- 野町祥介（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（横浜市立大学附属市民総合医療センター小児科）
- 稲岡一考（大阪府母子保健総合医療センター）
- 岡野善行（大阪市立大学大学院医学研究科発達小児医学）
- 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 GC/MS 医学応用研究施設）
- 田崎隆二（財団法人化学及血清療法研究所）

A. 研究背景

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疾患として世界的に実施されているが、研究者らは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を指摘してきた。また、わが国では都道府県及び政令指定都市毎に検査機関がスクリーニングを実施してきており、小規模な検査体制ではタンデムマス・スクリーニング事業規模としては経済的でない。

この試験研究の課題は、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、スクリーニング規模と経済的問題点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である。

B. 研究方法

昨年度に引き続き、主として、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 (MS/MS) を用いて試験研究が行われた。久留米大学では新生児スクリーニングにおける GC/MS 尿分析と MS/MS 濾紙血分析の比較検討が行われた。神奈川県予防医学協会では、全県規模の実施の前に、横浜市大市民総合医療センターでの試験研究を本年度後半から開始した。大阪市では、大阪市環境保健協会に MS/MS を設置し正規の新生児スクリーニングとして開始する準備が始まった。

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。

Cambridge Isotope Laboratories より、標識 glutaryl-carnitine や標識 3-hydroxyisovalerylcarnitine などを追加した試用内部標準キットが提供されたので、東京都予防医学協会、大阪府母子保健総合医療センターおよび島根大学で、その非誘導体化分析における有用性について検討が行われた。

前年度に提案された新しいスクリーニング指標とそのカットオフ値を追加してスクリーニングが行われ、偽陽性頻度の低減に有用であるか検討が行われた。

福井大学では、イソ吉草酸血症スクリーニングにおける濾紙血中イソバレリルグリシン濃度測定の意義について検討が行われた。また、メチルマロン酸血症スクリーニングのための二次検査として、GC/MS による濾紙血中メチルマロン酸濃度測定法の開発を行い、その有用性について検討した。更に、シトリン欠損症スクリーニングにおけるシトルリン濃度 ($>38\text{nmol/ml}$) とシトルリン/セリン比 (Cit/Ser >0.24) の指標の有用性についても、引き続き検討が行われた。

C. 研究結果

図1及び表1に示したように、本試験研究では平成20年12月までに約81.2万新生児を分析し92人の対象疾患患者を発見した(患者頻度:1/8,800)。表2に示したように、直近1年間では、約20.5万新生児を分析し、発見患者数は27(患者頻度:1/7,600)、内7例はカルニチントランスポータ異常症を含む脂肪酸酸化異常症であった。また、プロピオン酸血症、3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ (3MCC) 欠損症といった有機酸代謝異常症も着実に増え、更に本年度は新生児期発症のシトルリン血症1型2例が新たに発見された。

患者頻度には地域差が大きく、徳島県 1/3,800 と宮城県 1/4,900 が高頻度、福井県、札幌市、東京都で約 1/7,000、広島県と九州地区で約 1/11,000 であったが、大阪府・市は約 1/36,000 と低頻度であった。

疾患別頻度は、プロピオン酸血症が 1/40,000 と最も多く、次いでフェニルケトン尿症が 1/58,000、シトリン欠損症 1/90,000、メチルマロン酸血症 1/116,000、MCAD 欠損症 1/135,000 であった。

発見された患者の予後については、脂肪酸酸化異常症では、新生児発症の重症型グルタル酸尿症2型患者が早期治療によっても乳児期に死亡した以外、一部の患者で低血糖発作や横紋筋融解を経験したものの順調に成長発達が得られている。

有機酸代謝異常症では、発見されたほとんどのプロピオン酸血症は軽症型であり、全て正常発達が見られており、本年度診断された新生児期発症型患者でも早期治療により予後良好である。これに対し、メチルマロン酸血症では、新生児期発症型の患児の割合が多く、乳児期死亡例2例、中枢神経障害あり2例であった。本年度発見されたイソ吉草酸血症は重症型の生化学データを示したが、新生児期急性発症はなく、早期治療により順調に発育している。グルタル酸尿症1型は、本年度発見された症例も含め、4例とも早期治療開始により順調に生育しているが、重症型で摂食障害が見られている。3MCC 欠損症では、2例で新生児期に低カルニチン血症を伴ってアンモニアの軽度上昇が見られたものの、カルニチン投与と治療用ミルク使用による治療により順調に発育している。

アミノ酸代謝異常症では、本年度発見されたシトルリン血症1型患者は2例とも新生児期発症の重症

型であり、1例は治療によって症状改善したものの、1例では中枢神経障害を残した。

スクリーニング精度に関しては、各施設でスクリーニング指標の追加やカットオフ値の調整などを行うことにより偽陽性率が大きく低減した。

Cambridge Isotope Laboratories より提供された内部標準キットは、非誘導体化分析における glutaryl carnitine や 3-hydroxyisovaleryl carnitine 測定の精度向上に有用であった。

福井大学での二次検査法検討結果については、研究協力者報告書に詳述した。

タンデムマス・スクリーニング試験研究の継続に関して、機器の維持費や測定キットの購入費などに関して研究費が不足しており、長期の継続は困難であることが研究協力機関から指摘された。札幌市衛生研究所からは、現行スクリーニングにおけるアミノ酸3項目とガラクトース血症スクリーニング関連検査項目の検査費用をタンデムマス分析に充てれば、タンデムマス・スクリーニングを加えた新生児スクリーニングが可能であるとの試算が示された。

D. 考察

我々のタンデムマススクリーニング試験研究の累積受検者数は約 81 万新生児に達し、発見患者数は 92 例となり、対象疾患患児の頻度は約 9,000 新生児に 1 人と計算された。当初対象疾患を新たな 22 疾患と現行のアミノ酸代謝異常症 3 疾患としたが、これまでに発見された疾患は新たな 15 疾患と PKU の計 16 疾患であり、最近発見された SCHAD 欠損症を加えても 17 疾患であり、これらの疾患を重点対象疾患として試験研究を進めることになると考えられた。

まだ発見されていない当初の対象疾患の中で、高アルギニン血症は新生児期にアルギニン高値を呈さないとする報告もあり、また治療効果も未定であるので、対象疾患から外すのが妥当と考えられた。LCHAD 欠損症/三頭酵素欠損症、HMG-CoA リアーゼ欠損症、2MB-CoA 脱水素酵素欠損症などは単に疾患頻度が極めて低いためと考えられ、網羅的なアシルカルニチン分析により検出可能であり、医学管理も可能であるので、このまま対象疾患として残し

ておけばよいと思われる。高チロシン血症 1 型も頻度は極めて低いと考えられるが、早期診断・治療の効果は高いので、サクシニルアセトン定量を二次検査として行える場合に限り、実施すべきと考えられる。

特に脂肪酸酸化異常症のスクリーニングは、疾患頻度が 1/32,000 と希でなく、グルタル酸尿症 2 型の重症型を除き、乳幼児突然死の防止の観点からも有意義であると判断される。

これまでの試験研究で、対象疾患頻度は地域によって大きく異なっていることが示された。まだタンデムマススクリーニングが実施されていない特定の地域でどの程度の疾患頻度になるか判定が難しいところはあるが、疾患頻度の高い県や、あるいは出生児数が多く効率のよい県を中心にタンデムマススクリーニングを実施していくのが現実的な拡大の進め方と考えられる。

本年度になり、各地で精密検査と早期治療の体制が整うようになってきており、更にそれぞれの経験を共有することにより、よりよいタンデムマススクリーニング実施体制を構築していくことが出来るのではないかと考えられた。

E. 結論

タンデムマススクリーニング実施体制としては、偽陽性率の低減がすずみ、二次検査法の開発により再採血の負担も減り、精密検査や早期治療の体制が築かれつつあるので、今後更に対象疾患の厳選による検査経費の効率化をはかることで全国規模の新生児マススクリーニングとして行くべく検討を続ける必要がある。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 (別掲、個別に掲載)

H. 知的財産権の出願・登録 なし

図1 タンデムマススクリーニング試験研究での発見患者数とその分布

タンデムマス・スクリーニング発見患者

総数：811,692新生児（2008年12月末現在）

実施地域：

発見患者：92（1/8,800）

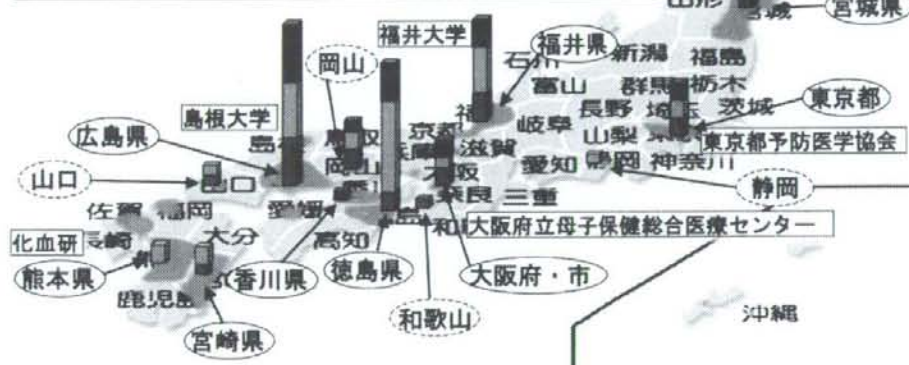


表1 タンデムマス・スクリーニング試験研究結果(2008年12月末まで)

<疾患名>	福井大学	島根大学	札幌市	東京都	化血研	大阪府	(計)
脂肪酸酸化異常症							
CPT 1 欠損症	1	1			1		3
CPT 2 欠損症/CT 欠損症	2						2
VLCAD 欠損症	2	2					4
MCAD 欠損症	3	1		2			6
SCHAD 欠損症	1						1
グルタル酸尿症 2 型	3		1			1	5
カルニチントランスポート異常症	1		2			1	4
有機酸代謝異常症							
メチルマロン酸血症	4	3					7
プロピオン酸血症	11	2	4	1	1	1	20
イソ吉草酸血症	1	1					2
複合カルホキシラセ欠損症	2						2
3MCC 欠損症	2	1		1	2		6
グルタル酸尿症 1 型	3				1		4
アミノ酸代謝異常症							
フェニルケトン尿症	5	4	2	1	1	1	14
シトルリン血症I型		1			1		2
シリン欠損症	8			1			9
アルギニコハク酸尿症	1						1
<患者数>	50	16	9	6	7	4	92
<分析総数>	454,696	86,878	59,893	41,851	83,176	95,198	811,692

表2 タンデムマス・スクリーニング試験研究結果(2007年1月～2008年12月)

<疾患名>	福井大学	島根大学	札幌市	東京都	化血研	大阪府	(計)
脂肪酸酸化異常症							
CPT1欠損症					1		1
CPT2欠損症/CT欠損症	1						1
VLCAD欠損症		(1)					(1)
MCAD欠損症		(1)		(2)			(3)
SCHAD欠損症	1						1
グルタル酸尿症2型	1					(1)	1(1)
カルニチントランスポート異常症	(1)		(1)			1	1(2)
有機酸代謝異常症							
メチルロン酸血症	(1)	2					2(1)
プロピオン酸血症	2(2)	1	4	(1)	1	(1)	8(4)
イソ吉草酸血症	(1)						(1)
複合カルボキシラーゼ欠損症							0
3MCC欠損症	(1)			(1)	(1)		(3)
グルタル酸尿症1型					(1)		(1)
アミノ酸代謝異常症							
フェニルケトン尿症		(3)	1	(1)	(1)	1	2(5)
シトルリン血症I型		(1)			(1)		(2)
シトリン欠損症	1(3)			(1)			1(4)
アルギニコハク酸尿症							0
<患者数 (07.1-07.12)>	6	3	5	0	2	2	20
<患者数 (08.1-08.12)>	(9)	(6)	(1)	(6)	(4)	(2)	(27)
<分析数 (07.1-07.12)>	47,466	25,007	16,216	14,585	28,799	40,774	172,847
<分析数 (08.1-08.12)>	50,325	24,965	16,561	15,953	43,084	54,424	205,312

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 カルボキシラーゼ

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

平成20年度のタンデムマス・スクリーニング実績と新たな二次検査法による精度向上の検討

研究要旨

福井大学では昨年度と比べ更に多い約5万新生児をスクリーニングし9例の対象疾患患児を発見した。低出生体重児である重症型メチルマロン酸血症1例は新生児期に急性発症し死亡したが、他の患児は早期治療により順調に成長している。特にカルニチントランスポータ異常症患児は、遺伝子解析で早期に診断確定しカルニチン治療も早期に開始できた。希と考えられてきたイソ吉草酸血症患児が、我々の開発した濾紙血中イソバレリルグリシン濃度分析の二次検査法で早期診断し早期治療が開始出来たので、重症型でありながら急性発症なく順調に経過している。シトリン欠損症スクリーニングでは、複数の指標を組み合わせることで検出感度が向上し、発症前の患児を発見することが出来た。メチルマロン酸血症スクリーニングでは、GC/MSによる濾紙血中メチルマロン酸濃度高感度測定法を開発し、初回濾紙血を用いた二次検査法として有用であることを確認した。この方法は、プロピオン酸血症との鑑別に有用であり、両疾患のスクリーニング精度向上に寄与すると考えられた。

研究協力者

重松陽介（福井大学医学部看護学科教授）

畑 郁江（福井大学医学部小児科助教）

A. 研究目的

タンデムマス・スクリーニング試験研究を継続して実施し、対象疾患患児を更に発見し治療することにより、このスクリーニングの効果を明らかにする。また、偽陽性率を低減することでスクリーニング精度を向上させる目的で、これまでに開発した二次検査法の有用性を検証し、また更に新たな二次検査法を開発する。

B. 研究方法

1) タンデムマス・スクリーニング

昨年度と同様、非誘導体化試料調整法でスクリーニングを実施した。内部標準品もこれまでと同様既製のキットは使用せず、自家合成品及び単品購入品を使用した。

2) 濾紙血中メチルマロン酸（MMA）濃度測定

濾紙血3パンチ（各径3mm）に少量のメタノール・アセトニトリル・水（4:4:1）溶液を加えて蛋白固定した後、 d_3 -MMA 6ngを含む99%メタノール

液を加え、20分間振盪抽出操作を行った。メタノール液は遠沈後上清を小試験管に移し、窒素気流下で乾涸し、MTBSTFAを加えてtBMS化し、既報のグルタル酸分析法に準じてGC/MS(SIM)分析した。

3) その他の二次検査法

濾紙血サクシニルアセトン(SA)定量は既報の通りの方法を継続して使用したが、新たに重水素標識SAを購入し、その精度も検討した。濾紙血及び血清イソバレリルグリシン濃度測定も既報の通りの方法で行った。

C. 研究結果

1) タンデムマス・スクリーニング成果

2008年1月から12月の1年間で50,325新生児をスクリーニングし、9例の対象疾患患児を発見した。患児の内訳は、シトリン欠損症3例、プロピオン酸血症2例、カルニチントランスポータ異常症1例、メチルマロン酸血症1例、イソ吉草酸血症1例、3メチルクロトニルCoAカルボキシラーゼ(3MCC)欠損症1例であった。

メチルマロン酸血症患児は低出生体重児であり、生後8日に急性発症し、高度の高アンモニア

血症を伴っており、治療の甲斐なく乳児期早期に死亡したが、その他の患児は早期治療により順調に経過している。

シトルリン欠損症患児は3例ともシトルリン濃度(カットオフ値 38nmol/ml)とシトルリン/セリン比(カットオフ値 0.25)の組み合わせでスクリーニングされた。内2例は再採血時に NICCD を発症していたが、大浦らの治療指針に基づいて治療され、症状の寛解を得ている。上記スクリーニング指標の有用性が確認できた。

プロピオン酸血症2例はともに遺伝子解析などから軽症型と診断され、重松の治療指針に基づいて、カルニチン投与のみにて治療され、無症状で成長している。

イソ吉草酸血症患児は、初回濾紙血で著しい低カルニチン血症が見られ、イソパレリルカルニチンよりイソパレリルグリシンの濃度の方が高く、残存酵素活性値も極めて低く、重症型と判断された。一時的にアンモニア値の軽度上昇と血小板値の軽度減少が見られたが、母乳とロイシン除去ミルクによる栄養とカルニチン(120mg/kg/日)服用により、急性発症することなく順調に成長している。

カルニチントランスポータ異常症患児は、遊離カルニチンが初回と再採血濾紙で6 nmol/mlと低値であり、尿中遊離カルニチン排泄率も17.6と増加していた。遺伝子解析は京都大学小泉教授によって行われ複合ヘテロ異常が確認された。カルニチン(100mg/kg/日)服用により、無症状で順調に成長している。

3MCC欠損症患児は、初回濾紙血でC5OH上昇(12.4nmol/ml)と遊離カルニチン低下(4.2 nmol/ml)が特徴であり、再採血時にアンモニア値の軽度上昇が見られたが、尿有機酸分析による化学診断後、カルニチン(100mg/kg/日)服用と母乳とロイシン除去ミルクによる栄養で検査値異常は見られなくなり、以後無症状で順調に経過している。

2) 濾紙血中メチルマロン酸濃度測定

濾紙血 MMA 濃度は、対照新生児で 0.10-0.26 mg/ml, MMA 患者で 3.73-86.1 mg/ml, PA 患者で 0.10-0.21 mg/ml であった(図1)。

D. 考察

脂肪酸酸化異常症患児の突然死を経験した医療機関のタンデムマスマスクリーニング試験研究への参加や大阪市での同意率の上昇から、福井大学でのスクリーニング数は増加し年間5万検体を越える分析規模となった。今後更に小規模な自治体あるいは個別医療機関からの需要に応えるべく体制を整備する予定である。患者頻度については明らかな地域差があり、徳島県や福井県は頻度が高く、大阪市は頻度が低く、広島県は中間的な頻度であり、このスクリーニングの有用性は地域差を含めて評価されるべきであろう。

スクリーニングデータの特徴として、脂肪酸酸化異常症や有機酸代謝異常症では、新生児期早期に既に著しい遊離カルニチンの減少が見られ、これが急性発症のリスク因子になっている場合があるので、低カルニチン血症に注目して迅速な診断と治療の対応が必要と考えられた。

今回開発した濾紙血 MMA 濃度測定法により C3 高値例での迅速なメチルマロン酸血症患者診断が可能であることがわかった。今回発見したメチルマロン酸血症の化学診断にも有用であった。B12 反応型で軽症型例の場合のデータは無いので、今後検討が必要である。

日本人での頻度が高いと考えられ、治療効果の点からもスクリーニングの有用性が指摘されていたカルニチントランスポータ異常症患者が発見された。遺伝子解析を含めた診断システムが完成しているので、これを利用して更に患者が見つかっていくものと期待される。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tajima G, Sakura N, Shirao K, Okada S, Tsumura M, Nishimura Y, Ono H, Hasegawa Y, Hata I, Naito E, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Kobayashi M.: Development of a new enzymatic diagnosis method for very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency by detecting 2-hexadecenoyl-CoA production and its application in tandem mass spectrometry-based selective screening and newborn screening in

Japan. Pediatr Res. 64(6):667-72, 2008.

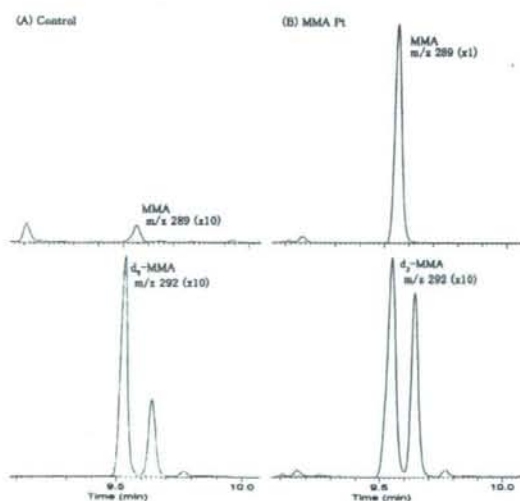
- 2) 重松陽介, 畑 郁江, 七條光市, 吉田哲也, 内藤悦雄: タンデムマス・スクリーニングでの短鎖3ヒドロキシアシル CoA 脱水素酵素欠損症発見の問題点. 日本マス・スクリーニング学会誌. 18(3):41-46, 2008.

2. 学会発表

- 1) Shigematsu Y, Hata I, Tanaka Y, Shichijo K, Umemoto T, Nakatsu T, Yoshida T, Naito E: Short-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (SCHAD) deficiency and newborn screening by tandem mass spectrometry. The 2008 SSIEM annual symposium. Lisboa, Portugal, 2008. 9.
- 2) 小野浩明, 但馬剛, 佐倉伸夫, 重松陽介: タンデムマス新生児スクリーニングの尿素サイクル異常症に対する有用性. 第35回日本マス・スクリーニング学会. 松江, 2008.8.
- 3) 重松陽介, 畑郁江, 内藤悦郎, 但馬剛, 小林圭子: タンデムマス・スクリーニングにおけるシトリン欠損症スクリーニング指標の検討(第2報). 第35回日本マス・スクリーニング学会. 松江, 2008.8.
- 4) 重松陽介, 畑郁江, 七條光市, 梅本多喜子, 杉本真弓, 松浦里, 東田栄子, 渡邊力, 中津忠則, 吉田哲也, 内藤悦郎: 短鎖3ヒドロキシアシル CoA 脱水素酵素 (SCHAD) 欠損症とタンデムマス・スクリーニング指標. 第35回日本マス・スクリーニング学会. 松江, 2008.8.
- 5) 重松陽介: 多施設タンデムマス・スクリーニングの実績と検討課題. 第33回日本医用マススペクトル学会. 東京, 2008.9.
- 6) 重松陽介, 畑郁江, 金岡裕夫: タンデムマススクリーニング発見イソ吉草酸血症の低カルニチン血症と治療. 第50回日本先天代謝異常学会
- 7) 重松陽介, 畑郁江, 但馬剛, 内藤悦郎: 重水素標識脂肪酸負荷後の末梢リンパ球中アシルカルニチン分析による脂肪酸酸化異常症診断法の検討. 第50回日本先天代謝異常学会. 米子, 2008.11.
- 8) 重松陽介, 畑郁江: イソ吉草酸血症: 発症後診断、出生前診断からタンデムマス・スクリーニングまで. 第29回北陸臨床遺伝研究会. 福井, 2008.11.

F. 知的財産権の出願・登録状況 特になし。

図1: 濾紙血中メチルマロン酸 GC/MS 分析



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

島根大学で行っているタンデムマス・スクリーニング研究状況

研究要旨

我々は 2005 年 4 月からタンデムマスによる新生児マス・スクリーニングのパイロットスタディーを開始している。2008 年 1 月 1 日から 12 月 31 日までに、25,007 検体を分析した。再採血率は 0.46%であった。精査となった 10 例のうち 5 例を先天代謝異常症と診断した。その内訳は、古典型メチルマロン酸血症(MMA) 1 例、軽症 MMA 3 例、軽症プロピオン酸血症(PPA) 1 例であった。古典型 MMA ではスクリーニング前の発症例であったが、他の 4 例は診断時無症状であった。軽症 MMA の多くは無治療で経過観察されており、今後は自然歴を明らかにして軽症例のマス・スクリーニングの必要性などについても再検討を行う必要がある。また、これまでのスクリーニングで発症された MCC 欠損症、CPT-1 欠損症、VLCAD 欠損症、IVA の患者も治療により無症状で経過している。

研究協力者

小林弘典、長谷川有紀、虫本雄一、山口清次
(島根大学小児科)
大浦敏博 (仙台市立病院小児科)
重松陽介 (福井大学看護学科・小児科)

同意を得られた場合にタンデムマスによるアミノ酸分析とアシルカルニチン分析を行った。分析検体は現行スクリーニングで使用済みとなった検体を各スクリーニング施設の協力を得て島根大学小児科に転送した。

A 研究目的

島根大学でタンデムマスによるパイロットスタディーを行い、我が国における疾患頻度を前方視的に調査するとともに、発見される患者の予後や生育歴についても調査する。また、タンデムマスによるスクリーニングを行う際の問題点を明らかにする。これらを踏まえて、我が国にマス・スクリーニングにおけるタンデムマス分析の役割について検討する。

B 研究方法

2005 年 4 月からパイロットスタディーを開始した。参加施設は愛媛県、岡山県、山口県、神戸市については県内の特定の施設、宮城県、島根県では県下の全産科施設にパイロットスタディーへの参加を呼びかけて希望のあった施設を対象とした。これらの施設で出生した児のうち保護者の

C パイロット研究結果と考察

(1) パイロット研究成果について

2005 年 4 月～2008 年 12 月末までに 86,459 名をスクリーニングし、19 名の患者を発見した。その内訳は、有機酸代謝異常症では軽症メチルマロン酸血症(MMA) 6 例、古典型 MMA 1 例、軽症プロピオン酸血症(PPA) 3 例、3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ(MCC)欠損症 1 例、イソ吉草酸血症(IVA) 1 例、脂肪酸代謝異常症では極長鎖アシル CoA 脱水素酵素(VLCAD)欠損症 2 例、中鎖アシル CoA 脱水素酵素(MCAD)欠損症 1 例、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1 (CPT-1)欠損症 1 例、アミノ酸代謝異常症ではシトルリン血症 1 型(CIT-1) 1 例、フェニルケトン尿症(PKU) 3 例であった。このうち古典型 MMA と CIT-1 はスクリーニング前発症であり、救命できたものの障害を残した。

軽症 MMA および軽症 PPA は PCCB 遺伝子に変異を認めた PPA の 1 症例を除いてすべて 2-9 ヶ月の間に尿中有機酸分析における所見が消失した。これらの軽症例では異常所見が一過性、もしくは治療が不要な場合も多いと予想される。MMA、PPA の典型例はスクリーニングの効果が期待される有機酸代謝異常症であるが、これらの軽症例とのスクリーニングにおける判別が困難である。軽症例の自然歴の追跡と、スクリーニングにおける今後の位置付けについては議論を要する。

脂肪酸代謝異常症については多くは生活・食事指導により急性発症なく経過している。VLCAD 欠損症の 1 例では感染を契機に横紋筋融解症を来したが、早期の輸液などで比較的良好な経過をとっている。

(2) スクリーニングにおける問題点

我が国の現状では、スクリーニング陽性患者に対して精密検査や確定診断を行える施設が極めて少ない。確定診断に必要な化学分析や酵素診断、遺伝子解析などは個々の研究室が研究の一環として行っており、スクリーニング事業に必要な迅速性や安定した検査の供給が達成しにくい。また、各疾患はいずれも稀少疾患であり、それらの病態や臨床像の知識を有する専門医も非常に限られている。陽性患者が発生しても適切な診断と治療、および遺伝カウンセリングなどをトータルに提供することが困難であった。スクリーニングを拡大するにあたり、スクリーニング陽性新生児を速やかに精査できるシステムを構築する必要がある。

D 結論

- 1) 島根大学ではこれまでに 86,459 名の新生児をスクリーニングし、19 例の患者を発見した。
- 2) 発症後に診断された 2 例を除いて、予後は良好であり、スクリーニングによる効果が期待される。
- 3) 今後の普及へ向けて、対象疾患の診断支援体制や遺伝カウンセリングへの情報の整理な

どが重要と考えられた。

E 論文発表

1. Purevsuren J, Hasegawa Y, Kobayashi H, Endo M, Yamaguchi S: Urinary organic metabolite screening of children with influenza-associated encephalopathy for inborn errors of metabolism using GC/MS. *Brain & Development* 30(8): 520-526, 2008
2. Purevsuren J, Fukao T, Hasegawa Y, Fukuda S, Kobayashi H, Yamaguchi S: Study of deep intronic sequence exonization in a Japanese neonate with a mitochondrial trifunctional protein deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism* 95(1-2): 46-51, 2008
3. Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Li H, Fukuda S, Shigematsu Y, Fukao T, Yamaguchi S: A Novel Molecular Aspect of Japanese Patients with Medium Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency (MCADD): 449-452delCTGA is a Common Mutation in Japanese Patients with MCADD. *Molecular Genetics and Metabolism* 96: 77-79, 2009
4. 山田健治、小林弘典、遠藤充、長谷川有紀、白石英幸、山口清次：ピボキシル基をもつセフェム系抗菌薬 11 間投与後に 2 次性カルニチン欠乏症を来した 2 歳男児例。小児科学会雑誌。112(9): 1382-1385, 2008

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

札幌市の実績を踏まえたタンデム対象疾患と判定プロトコルの提案

研究要旨

札幌市では 2005 年度からタンデム質量分析計（タンデムマス）による新生児マススクリーニングを研究的に開始した。2008 年 12 月までに脂肪酸 β 酸化異常症 3 例、有機酸血症 4 例（確定分）を見出す等の実績を上げている。今後このスクリーニングが全国的に普及するために、これらのスクリーニングが現行 6 疾患の新生児スクリーニングと比較して、発見頻度に対する要再採血率及び要精密検査率が同等で、十分に効率的な検査が可能であることを示す必要があるため、今回私たちの検討を通じて得られた要再採血、要精密検査の判定プロトコルを対象疾患ごとに提案する。

研究協力者

野町祥介、穂積哲彦、花井潤師、福士 勝、矢野公一（札幌市衛生研究所）

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について、札幌市の検査実績に基づいて現在の判定プロトコルをまとめ、これによって効率的なスクリーニングの実施が可能であることを示す。

B. 研究方法

1) 再採血率等の適切性の検討

有機酸代謝異常症群、脂肪酸 β 酸化異常症群、尿素サイクル異常症群に分別した上で、それぞれの発見患者数、要再採血率、要精密検査率を現行の新生児マス・スクリーニング対象疾患と比較することで、陽性数からみた検査の適切性を検討した。

2) カットオフ値の適切性の検討

札幌市で発見例のあった疾患については、その検査値を正常群と比較することで、必要に応じてカットオフ値を再考した。また、他の疾患については、研究班により提案されたカットオフ値に準拠し、札幌市の研究事業「代謝異常症依頼検査」により収集された患者検体の検査値等を参考に加え、再考した。

C. 研究結果と考察

従来の新生児代謝異常症等検査の対象疾患とタ

ンデムマス対象疾患群のそれぞれの要再採血率、要精密検査率については表1にまとめた。表1に示す通り、患者1人を発見するための再採血率等を比較すると、札幌市では従来の対象疾患とほぼ同様の効率で患者を見出しており、この点で私たちが現在用いている判定プロトコルによる検査は適切な偽陽性率範囲内で実施されていると考えられた。

次に判定プロトコルの詳細を紹介する。私たちは検査結果の判定を、当初は厚生労働省の科学研究費補助金：子ども家庭総合事業研究班がまとめた「手引き」のカットオフ値に基づいて行ってきた。さらに3年間のタンデムマススクリーニングを実施する中で、再採血率の適正化のためのいくつかの改変を経て、現段階で用いている判定プロトコルが表2である。

シトルリン血症は、I型（古典型）の場合、Citの高値とともにArgの低値が有用な指標と考えられる。そのため、Citの微高値が継続する場合であっても、Argの正常値により、除外することができる。成人発症型とよばれるII型の場合、必ずしも新生児期にCitが高値とはならないため、すべての病型を見出すことはできないが、新生児期の肝機能障害により血中Phe、Met、galactoseなどが特徴的に高値を示す場合があることが知られており、スクリーニング時の検査データを総合的に判断することが重要である。

アルギニノコハク酸尿症の患者ではアルギニノコハク酸が顕著に増加し、またCitがやや高値、Argがやや低値を示すと考えられるが、スクリーニングの指標としてはアルギニノコハク酸だけで十分である

と考えられる。

メチルマロン酸血症及びプロピオン酸血症においては既報でまとめたようにC3/C2比を指標とすることで、精度の高いスクリーニングが可能だと考えられる。

グルタル酸尿症Ⅱ型は、新生児期の一過性の飢餓から偽陽性が多くなるが、当所の発見例などの場合、主要な指標であるC8、C10に加えて、C12、C14:1などの中長鎖域のアシルカルニチンも高値を示していたため、これの測定値も疾患の疑いの強さの指標として有用であると考えられる。しかし一方で私たちは代謝異常症依頼検査で寛解期には異常な検査所見を認めない当該疾患例も経験していることから、新生児期の検査所見では異常が認められず、発見が困難な例も存在することが考えられる。

中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症は、C8を指標としているが、グルタル酸尿症Ⅱ型や新生児期の飢餓、あるいは未熟児ミルクなどを使用した場合の高値との判別のため、C6やC8/C10比、C8/C2比等の参考指標が提案されている。しかし一般に欧米に比べて国内での当該疾患の発症頻度は低く、私たちの検討も十分とはいえない。C8高値例の場合、使用しているミルクの種類と哺乳量などの情報を把握することも重要である。

複合カルボキシラーゼ欠損症等の指標であるCSOHは、低出生体重児などの再採血例で日齢4から6の通常採血時データに比して高値を示す傾向にあることから、今後は日齢依存性のカットオフ値を

考慮する余地があると思われる。また、その他にも新生児期のアシルカルニチンには、その血中濃度が日齢により変動するものが多くあるため、新生児期のスクリーニングでは、そのような傾向をあらかじめ踏まえておくことも重要であると考えられる。

また、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼⅡ欠損症ではC16、C18とともにC18:1が指標となるとの報告があり、札幌市でも2007年10月以降、C18:1を測定対象に追加しており、参考指標に加えている。

D. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 野町祥介、花井潤師、福士 勝、矢野公一、長尾雅悦、窪田満：タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニング -札幌市における2年半の実施成績-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。日本マス・スクリーニング学会誌。18, 61-67, 2008.

2. 学会発表

- 1) 野町祥介：PerkinElmer 非誘導体化キット neobase を用いたタンデムマス新生児スクリーニングへの初期検討。第33回日本医用マススペクトル学会、東京、2008.

E. 知的財産権の出願・登録状況 特になし

表1 札幌市の3年間(2005年4月～2008年3月)の検査実績からみた現行の新生児マススクリーニングと、タンデムマス導入時のスクリーニングの再採血数、精査数、患者数の比較

	検査数	再採血数	精査数	患者数	疾患頻度	患者1人当たりの	
						再採血数	精査数
クレチン症	48,069	714	57	35	1/1,400	24.2	1.69
副腎過形成症		202	4	2	1/24,000		
ガラクトース血症		9	1	0	-		
アミノ酸代謝異常症3疾患	47,356	18	4	2	1/24,000	18.4	1.67
脂肪酸β酸化異常症		84	5	3	1/16,000		
有機酸血症		53	5	4	1/12,000		
尿素サイクル異常症		11	1	0	-		
合計					1/1,050	23.7	1.67

注：表中のアミノ酸代謝異常症3疾患は、従来からの対象疾患であるフェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、メーブルシロップ尿症のことであり、札幌市では2005年4月以降そのスクリーニング検査法をタンデムマス法に移行している。

表2 2008年4月現在の札幌市におけるタンデム検査の対象疾患とその指標及び再採血、精査基準の概略

主な対象疾患	再採血基準	直接精査基準	備考
シトルリン血症Ⅰ型	Cit \geq 40nmol/ml	Cit \geq 100nmol/ml かつ Arg低値	再採血において、なおCitがカットオフ近傍であっても、Arg低値がなければ正常とする
シトルリン血症Ⅱ型			
アルギニン血症	Arg \geq 100nmol/ml		再採血で状況が変わらなければ精査
アルギニノコハク酸尿症	ASA \geq 100nmol/ml		患者ではCitも微高値と考えられる
メチルマロン酸血症	C3/C2 \geq 0.25	C3/C2 \geq 0.35	C3が高値であっても、C3/C2<0.25で正常とする
プロピオン酸血症			
グルタル酸尿症Ⅰ型	C5DC \geq 250pmol/ml	C5DC \geq 400pmol/ml	再採血で状況が変わらなければ精査
グルタル酸尿症Ⅱ型	C8 \geq 300pmol/ml かつ C10 \geq 500pmol/ml	C8 \geq 300pmol/ml かつ C10 \geq 1000pmol/ml かつ C4~C16が全般に高値	体重減少の顕著な新生児の場合、飢餓から偽陽性となり易い傾向がある
イソ吉草酸血症	C5 \geq 1nmol/ml	C5 \geq 2nmol/ml かつ 抗生剤の未使用を確認	
複合カルボキシルゼ'欠損症	C5OH \geq 1nmol/ml	C5OH \geq 2nmol/ml	再採血で状況が変わらなければ精査
3メチルクロニルグリシン尿症			
β クetoラーゼ'欠損症	C5:1 \geq 100pmol/ml		同上
中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症	C8 \geq 300pmol/ml	C8 \geq 500pmol/ml かつ C4、C6、C10:1高値	同上
極長鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症	C14:1 \geq 400pmol/ml		同上
カルニチントランスポート異常症	COH<9nmol/ml		同上
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ'Ⅰ欠損症	C0/(C16+C18) \geq 100		同上
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ'Ⅱ欠損症	C16 \geq 8nmol/ml あるいは C18 \geq 3nmol/ml		同上
カルニチントランスロカーゼ'欠損症			カルニチントランスロカーゼ'欠損症の場合、かつCOH低値

Cit; citrulline Arg; aspartic acid ASA; argininosuccinic acid COH; free carnitine C2; acetyl carnitine C3; propionyl carnitine C4; butyryl carnitine C5; isovaleryl carnitine C5:1; tiglyl carnitine C5DC; glutaryl carnitine C5OH; 3-OH-isovaleryl carnitine C6; hexanoyl carnitine C8; octanoyl carnitine C10; decanoyl carnitine C10:1; decenoyl carnitine C14:1; myristoyl carnitine C16; palmitoleyl carnitine C18; steroyl carnitine

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

九州地区を中心としたタンデムマスによるパイロットスタディ状況（第 4 報）

研究要旨

九州地区では平成 18 年 8 月から熊本県全域を対象にしたパイロットスタディを開始し、その後順次対象地域を拡大した。実施地域は平成 20 年 12 月までに熊本県、宮崎県、福岡市、香川県、佐賀県の各全域、沖縄県（琉球大学のみ）、神戸市（1 産科医療機関）となっている。本研究での検査同意率（保護者）は熊本県・佐賀県 99%、福岡市・宮崎県 40%、香川県 90% であり、香川県のみが前年度（59%）と比べ大きく上昇した。

検査実績として平成 20 年 12 月末までに 79,546 名（累計）をスクリーニングし、23 名を陽性報告した。この中で、3MCC 欠損症が 2 例、プロピオン酸血症が 1 例、CPT-1 欠損症 1 例、グルタル酸血症 1 型 1 例、シトルリン血症 1 型 1 例の合計 6 例が患者と診断された（発見頻度：1/13,258）。

診断された 6 例は全てが治療管理中で現在、ほぼ良好な経過を示している。しかし、シトルリン血症 1 型の症例は日齢 2 の時点で NICU 搬送されており、タンデムマスによる検査結果は有用であるものの早期スクリーニングという点では難しい例であった。今後、本スクリーニング事業が本格開始されるまでに対象疾患の絞込み等、検討が必要と思われた。

研究協力者

氏名：田崎隆二¹⁾、武田聖子¹⁾、藤田春雄¹⁾、中村公俊²⁾、三沢浩²⁾、遠藤文夫²⁾、梅橋豊蔵³⁾
所属：1)財団法人化学及血清療法研究所、2)熊本大学大学院医学薬学研究部小児科学分野、3)熊本保健科学大学

A. 研究目的

九州地区を中心としたタンデムマス・スクリーニングで、対象地域の拡大を図り、より多くの新生児を対象とすることで、今後の全新生児を対象としたスクリーニング事業の体制を確立することと有機酸・脂肪酸代謝異常症等のより早期な発見と、早期治療の有効性を確認することを目的とした。

B. 研究方法

1.測定に用いた装置並びに試薬、分析方法

平成 16 年度分担研究報告書に記載した装置、試薬、分析方法を用いた。

カットオフ値については分担研究者である重松教授のデータを基に、適宜変更して試験を行った。

2.スクリーニングシステムについて

基本的なシステムは平成 17 年度～19 年度分担

研究報告書の内容と同じである。今年度は特に大きな変更は行わなかったが、対象地域が 1 自治体、民間産科医療機関が一箇所拡大した。

3.対象地域

スクリーニングの対象地域は順次拡大し、平成 20 年末までに熊本県（全域）、福岡市（全域）、佐賀県（全域）、宮崎県（全域）、香川県（全域）、沖縄県（琉球大学）、神戸市（1 産科医療機関）の 5 自治体、2 医療機関となった。

4.再検査と検査結果の報告

再検査は前年度と同様に、各測定項目でカットオフ値を超えた場合に再採血（専用様式）を依頼した。検査結果報告書（病院用・保護者用）も熊本県、福岡市、佐賀県については前年同様の結果報告書を発行（郵送）し、委託（公費負担 6 疾患）自治体以外の宮崎県、香川県、沖縄県、神戸市の各担当施設には結果一覧表を E-mail を利用して送付した。尚、この内容には個人情報含まれていない。

5.検査検体の受け渡し

検査対象となる濾紙血液検体は、委託（公費負担 6 疾患）自治体である熊本県、福岡市、佐賀県については受付た当日に検査を開始し、それ以外の地域は宮崎県と香川県が検査機関によるガスリー濾紙からの 1 スポット切り離し、琉球大学と

神戸市の産科医療機関がガスリー検査用とは別に採血して提供（郵送）する方式で前年どおりにした。

C. 研究結果

1. スクリーニング成績

1) 検査数、再採血率、陽性数

平成20年1月から12月末までの年間検査数は43,421件（平成20年度12月末までは34,287件）、再採血率264件（0.77%）、陽性報告数は11名、その内2名が患者と診断された。再採血項目はC5高値が全体の19%（50件）、C0が基準未満となった例17%（45件）、Tyrosine高値が13%（35件）、C8,C10の同時高値例が12%（31件）、C16,C18:1同時高値例が11%（28件）となり、この5項目で全体の72%を占めた。スクリーニング開始からの累計では検査数83,517件、再採血数637件（再採血率0.76%）、陽性報告数25名、患者確定数は6名となった。発見頻度は1/13,920であった。

最終診断された患者の内訳は①3MCC欠損症2例（熊本県、宮崎県）、②CPT-1欠損症1例（香川県）、③プロピオン酸血症1例（熊本県）、④グルタル酸血症I型1例（宮崎県）、⑤シトルリン血症I型1例（宮崎県）の合計6例である。

確定された患者の自治体毎頻度は熊本県で1/22,637、宮崎県1/3,216、香川県1/11,119、検査数が1万件を超えた福岡市や佐賀県、その他の地域では確定例はなかった。発見された3地域では宮崎県が高い頻度であった。

2) 発見例の治療経過概要

発見された6例の治療経過を以下に示す。①3MCC欠損症：カルニチン内服、経過良好（熊大小児科にて管理中）、②CPT-1欠損症：経過良好、香川県から千葉県へ（千葉県こども病院にて管理中）、③プロピオン酸血症：軽症型、特殊ミルクとカルニチン投与、経過良好（熊大小児科にて管理中）、④グルタル酸血症I型：リジン、トリプトファン制限、カルニチン投与、その他、神経学的異常は認めず、⑤3MCC欠損症：Leucine除去ミルクとカルニチン投与、体重増加良好、C5-OHは軽度高値が継続（④⑤宮崎大学小児科にて管理中）、⑥シトルリン血症I型：S-23ミルクによる蛋白制限、アルギニン、安息香酸Na、エルカルチン投与（県立延岡病院にて管理中）

D. 考察

平成20年4月から佐賀県（全域）の委託が開始され、神戸市の1医療機関の参加協力も得られたことから年間検査数は43,000件を超えた。また、既に実施中の香川県では受検率が64%から約90%へとアップした。この増加理由は小児科側から産科医療機関へのスクリーニング状況についての積極的な説明によるもので、やはり保護者への説明・同意取得を担当する産科医療機関の取組み次第で検査受検率は大きく変わることが伺えた。県（市）全域を対象とした地域において、まだ受検率の差が見受けられる為、産科医療機関への定期的な情報提供が必要と思われた。平成20年末での累計検査数は83,000件を超え、患者確定数は6例となった。担当治療機関からの通知内容によると現在の治療経過は全例ほぼ良好と思われたが、宮崎県で発見されたシトルリン血症I型は日齢2で既に発症した児であり、スクリーニング対象疾患としての難しさも見受けられた。

E. 結果

平成20年度に新たに委託自治体が増えたことで、今年度34,287件（平成20年12月末まで）を検査することができ、累計では83,000を超えるスクリーニングを行った。その結果、患者6名を発見することができたが、その内シトルリン血症I型の1例は日齢2で既にNICUに搬送されており、発症前の早期発見は行えなかった。

最終年もデータ蓄積のために本スクリーニングを継続することになるが、本格的な展開に向けた課題の克服や準備を進めていきたい。

F. 学会発表

1. 田崎隆二、武田聖子、藤田春雄、中村公俊、三淵浩、遠藤文夫、梅橋豊蔵：九州地区を中心としたタンデムマス・スクリーニング状況。第35回日本マス・スクリーニング学会。第30回技術部会、200.8.29-8.30（島根県）

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

東京都のアミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症スクリーニングの3年間の経験と問題点

研究要旨

我々は、2005年12月から2008年12月までの厚労省研究班のタンデムマス（MS/MS）によるアミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症試験的スクリーニングで、保護者の承諾が得られた新生児濾紙血液 41,865 例を検査し、25 例の精密検査対象者の中からプロピオン酸血症（PA）1 例、MCAD 2 例、3-MCC 1 例、BH₄欠乏症（PTPS）1 例、NICCD 2 例、合計 7 例の患者を発見した。PA では初期の段階でアンモニアが 322ug/dL まで上昇し、また MCAD では一次検査の段階で C8、C8/C10 が異常高値であったので、主治医にこれを報告し、診断がされる前に適切な対応がなされたために患者の予後は良好であった。MS/MS 質量分析計による新生児スクリーニングでは、このような急激な経過を辿る症例を対象とする場合も少なくなく、専門的な精密検査機関との密接な連携が必要であり、緊急性に即した全国的な規模の組織作りが望まれる。

今回、これまで研究班に協力して行ってきた MS/MS を用いたアミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症の試験的スクリーニングの方法と成績、3 年間の経験と問題点、および有機酸・脂肪酸代謝異常スクリーニングの今後の課題について検討した。

研究協力者

北川照男（財）東京都予防医学協会理事長
鈴木 健（財）東京都予防医学協会参与
石毛信之（財）東京都予防医学協会主査
穴澤 昭（財）東京都予防医学協会科長
和田美夏 日本大学医学部小児科助教
大和田操 女子栄養大学大学院
小児栄養学教授

A. 研究目的

我々は、アミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症スクリーニングについて、以下に述べる項目について研究を行った。

- 1) MS/MS のアミノ酸測定精度を確認するために、治療中のアミノ酸代謝異常患者の濾紙血液のアミノ酸を MS/MS で測定した結果と HPLC で測定した結果を比較し、また同時に採取された血清のアミノ酸を自動分析計で測定した結果とこれらの値とを比較した。
- 2) MS/MS による有機酸・脂肪酸代謝異常症の3年間のスクリーニング成績。

- 3) アシルカルニチン分析の判定基準を変更した前後での再採血率の比較検討。
- 4) 発見した症例の診断確定までの検査法、アシルカルニチン分析の結果で異常値が得られた場合の対応、およびスクリーニングで発見された症例の診断までの経過の検討。
- 5) 本試験的スクリーニングの検査～診断・治療開始までの流れ、および緊急を要する疾患に対する確定診断までの流れの検討。
- 6) アミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症スクリーニングの今後の課題。

B. 対象および研究方法

- 1) 対象 われわれの施設でマス・スクリーニングを行っている東京都の産科および新生児施設のうち、MS/MS によるマス・スクリーニングプログラムに参加することを同意した 16 施設から送付された 41,865 名の濾紙血液を対象とし、陽性検体としては駿河台日本大学病院小児科で治療されているアミノ酸代謝異常症患者の検体（PKU・HPA 41 例、HCU 2 例、MSUD 4 例）を使用した。

2) 方法

(1) MS/MS: Waters Quattro micro API を使用して、ブチル誘導体化法によりアシルカルニチン、アミノ酸を分析した。

(2) 日本分光 Gulliver シリーズ HPLC により濾紙血液アミノ酸分析を、日立 L-8800 形自動分析計によって血清アミノ酸分析を行った。

(倫理面への配慮)

血液の採取には、その用途、研究目的を事前に文書にて十分に説明した後、承諾書(検査申込書)に署名を得て行った。

C. 研究結果

1) MS/MS と HPLC によるアミノ酸測定値は、例えば、同じ PKU 患者濾紙血液をタンデムマスと HPLC で測定した場合と、タンデムマスで濾紙血液と同時に採取された血清を自動分析計で測定したフェニルアラニン (Phe) 値を比較した場合、いずれも良好な相関を示した (図 1)。また、Met, Leu+iLeu の場合も同じように 2 つの方法で測定し、両者を比較したところ、同様に良好な成績であり (図 2)、スクリーニングに MS/MS を用いても、現在のスクリーニングに使用している HPLC 法と等しい精度で検査できることが確認された。

2) スクリーニング成績 (表 1)

アミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症が疑われ再採血を依頼した検体は 247 例 (0.59%) であり、精密検査の対象となったものは 25 例 (0.06%) で、7 例が患者と診断され、その内訳は PA 1 例、MCAD 2 例、3-MCC 1 例、BH₄ 欠乏症 (PTPS) 1 例、NICCD 2 例であった。

3) 判定基準については、開始当初は見逃しを防ぐために暫定的な cut-off 値を設定したが、over diagnosis、再採血率が多い点から判定基準を見直し、表 2 に判定基準変更前と最終的な判定基準での cut-off 値と再採血率を示した。メチルマロン酸血症・PA のスクリーニングの場合、C3/C2 の cut-off 値を 0.20 から 0.25 に増やし、C3 (>5.00) を判定に加えたところ、0.06%であった再採血率は 0.01%に減少した。グルタル酸血症 II 型、MCAD の cut-off 値を表 2 のように変更したところ、い

れも再採血率が約 1/3~1/6 に減少した。また、全身性カルニチン欠乏症のマーカーである C0 の cut-off 値を <7.0 から <9.0 に増やしたところ再採血率は約 3 倍に上昇した。これらの見直しによって、総再採血率は判定基準変更前の約 1/2 に減少し、全体で約 0.6%の再採血率に収めることができた。4-1) 表 3 に、これまでに発見した症例の MS/MS の初回測定値および診断確定のために行った検査項目を示した。

4-2) スクリーニングで発見された症例の診断までの経過

今回発見された PA は、日齢 7 日の初回 MS/MS によるアシルカルニチン (C3,C3/C2) 異常高値を主治医に連絡したところ、アンモニアが 322μg/dL まで上昇し、代謝性アシドーシスも認められるとの報告を受けた。その後、尿有機酸分析で 3OH-propionate が検出され、酵素 propionyl-CoA carboxy-lase 活性の低下が認められ、PA と診断された (図 3)。

MCAD 症例 No. 1 の場合は、日齢 10 日で C8 が異常高値を示し、2 回目の検体は日齢 11 で採血され、その測定結果は初回値よりも減少していたが、cut-off 値以上の値であった。尿有機酸分析で hexanoyl-glycine が認められ、精密検査の結果、酵素活性が正常の 31%、培養リンパ球中の C8,C8/C10 の上昇が認められ、DNA 診断で MCAD の compound heterozygote と診断された (図 4)。MCAD 症例 No.2 は、初回の C8 値が 5.53nmol/mL と、cut-off 値の約 18 倍であり、直ちに治療体制に入った。その後、尿中に hexanoylglycine も認められたことから MCAD と確定診断された。

4-3) 異常を示す各アシルカルニチンの測定値の経日変化は、MCAD 症例 No. 2 で日齢 15、他の MCAD 症例 No.1、PA および 3MCC では日齢 30 日を経過しても cut-off 値以上の測定値を示していた (表 4)。

5) 有機酸・脂肪酸代謝異常症スクリーニングでの受診から治療までの流れは、一次検査までは現行のアミノ酸代謝異常症のスクリーニングシステムと同じであるが、異常値を示した時の対応は緊急性を要することが多く、精密検査時には乾燥濾紙血液以外に尿や血液を必要とする場合もあ

るので、この点に配慮する必要がある(図5,6)。

6) アミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症スクリーニングの今後の課題について、スクリーニングの流れに沿って、表5にまとめた。

D. 考察

今回のスクリーニングで異常が発見された症例の診断を進めるに際して、幸い幾つかの精密検査医療施設の協力が得られ、尿有機酸分析、酵素診断、およびDNA解析等が行われて確定診断することができた。従って、今後本プログラムが全国的に実施される場合には、このような精密検査を行う施設の確保が重要である。

有機酸・脂肪酸代謝異常症スクリーニングの場合、初回検査結果が異常値を示しても、適切に対応すると状態が良くなるに従って異常を示した項目も正常範囲に収まって、再採血の時点で測定値が正常となる場合もある。従って、初回の測定値が重要であるが、今後例数を増やして、異常を示すマーカーの経日変化を追跡する必要がある。

アシカルニチンが異常値を示した場合、アミノ酸代謝異常症の場合と異なり、診断のために濾紙血液のみならず尿や血漿をできるだけ早く精査・治療医療機関に送る必要があるため、それに適切に対応できる体制の整備が必要である。特に、速やかな尿有機酸分析が重要であり、スクリーニング施設にもガスマスを整備することが望まれる。

E. 結論

本試験的スクリーニングで、多くの有機酸・脂肪酸代謝異常症が発見され、この中には放置した場合に、後遺症を残したり、生命の危機を生ずる疾患も認められ、本スクリーニングの重要性が確認された。

更に、これまでの検討で本スクリーニングの課題が明らかになり、対象疾患の選択、保護者への説明のためのガイドライン、臨床に即したcut-off値の見直し、採血機関と検査機関、および専門医療機関連携の整備、発見された症例の追跡体制の確立などが必要である。

F. 謝辞

本研究に協力して新生児濾紙血液を提供して頂いた16産科施設の先生方、並びに関係各位、および発見された患者の診断確定にご指導、ご協力頂いた島根大学医学部小児科山口清次教授、千葉県こども病院高柳正樹先生、広島大学医学部小児科但馬剛先生、国立成育医療センター奥山虎之先生、田中藤樹先生に深謝する。

G. 参考文献

- 1) 石毛信之 他. 東京都での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-3年間の経験について. 日本先天代謝異常学会誌 24(2): 79, 2008.
- 2) 穴澤 昭 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課題について. 日本マススクリーニング学会誌 18(2): 169, 2008.

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kitagawa T, et al: Non-invasive high-risk screening for Fabry disease hemizygotes and heterozygotes. *Pediatr Nephrol* 23: 1461-1471, 2008.
- 2) 石毛信之 他: タンデム質量分析計を用いたファブリー病の尿中グルコトリアシルセラミドの測定について. 日本マススクリーニング学会誌 18(1): 31-40, 2008.
- 3) Toya Ohashi, et al: Influence of antibody formation on reduction of globo-triaosylceramide (GL-3) in urine from Fabry patients during agalsidase beta therapy. *Mol Genet Metab* 92: 271-273, 2007.
- 4) 青木菊麿 他: 新生児マススクリーニングで発見されたフェニルトン尿症の長期追跡の意義. 日本マススクリーニング学会誌 17(1): 11-17, 2007.

2. 学会発表

- 1) 石毛信之 他: 先天性代謝異常症の新生児マススクリーニングにおけるタンデム質量分析計信頼度の検討. 日本マススクリーニング学会誌 18(2): 179, 2008.