

200923006A

厚生労働科学研究費補助金

子ども家庭総合研究事業

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体制の確立に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山口清次

平成22（2010）年3月

（3年目）

# 目 次

## I. 総括研究報告

- 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体制の確立に関する研究  
(研究代表者：山口清次) … 5

## II. 分担研究報告

1. 新しい新生児マススクリーニング体制の検討 (分担：山口清次) …… 15
  - 1) タンデムマススクリーニング対象疾患の予後調査  
長谷川有紀、小林弘典、虫本雄一、山口清次 …… 22
  - 2) タンデムマス・スクリーニングの再検査、フォローアップにおける血清アシルカルニチン  
分析の必要性  
虫本雄一、小林弘典、長谷川有紀、坂本 修、大浦敏博、山口清次 …… 26
  - 3) 迅速酵素活性測定+遺伝子解析によるタンデムマス新生児スクリーニング陽性例の  
確定診断実績  
佐倉伸夫、但馬 剛、岡田 賢、白尾謙一郎、原 圭一、宇都宮朱里、津村弥来、  
西村 裕、小野浩明、中常千代美、渡川美弥子、吉井千代子、濱川以行、畑 郁江、  
重松陽介 …… 29
  - 4) メチルマロン酸血症におけるミトコンドリア呼吸鎖活性低下について  
高柳正樹 …… 32
  - 5) 本邦における遺伝子診断ネットワークの構築とその運用  
松原洋一、青木継稔、奥山虎之、鎌谷直之、呉 繁夫、小崎健次郎、小杉眞司、  
櫻井晃洋、堤 正好、成澤邦明、福嶋義光、山口清次、斉藤加代子、高田史男 …… 34
  - 6) 遺伝子診断体制およびそのネットワークづくり  
アミノ酸を変えない塩基置換でも病因となりうるExonic Splicing Enhancer (ESE) 変異：  
 $\beta$ -ケトチオラーゼ欠損症例の解析から  
深尾敏幸 …… 37
  - 7) 日本人イソ吉草酸尿症の遺伝子診断  
坂本 修、大浦敏博 …… 40
  - 8) タンデムマスによる新生児マススクリーニング体制の検討  
ータンデムマスによる新生児マススクリーニングの検査費用の低減化と体制整備に向けてー  
福士 勝、山口清次 …… 43
  - 9) 食事調査からみたBH4反応性高フェニルアラニン血症患者の食事・栄養素摂取の状況  
小松祥子、山口清次、新宅治夫 …… 46
  - 10) 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例の長期予後 (第3報)  
ーたんぱく質代替物の役割ー  
大和田 操 …… 50
  - 11) 新生児ろ紙血液のグリコサミノグリカンの測定と新生児スクリーニングの可能性  
木田和宏、窪田 満、藤井 正、小熊敏弘、野町祥介、花井潤師、福士 勝 …… 53

12) ムコ多糖症Ⅱ型の乳児期早期の身体発育について 鈴木康之、戸松俊治、アドリアナ・モンタノ .....	56
13) ライソゾーム病のマスクリーニング体制の確立に向けての試行的研究 坂口知子、斉藤三佳、田中あけみ、鈴木 健、北川照夫、奥山虎之 .....	58
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：重松陽介) .....	61
1) 札幌市におけるタンデムマスによる新生児マスクリーニング： パイロットスタディ4年7か月の実績とこれから 野町祥介、雨瀧由佳、花井潤師、福士 勝、矢野公一、窪田 満、長尾雅悦 .....	68
2) 東京都におけるタンデム質量分析計による有機酸・脂肪酸代謝異常症スクリーニングの 経験と課題 ー第6報ー 北川照男、石毛信之、穴澤 昭、鈴木 健、石毛美夏、大和田 操 .....	71
3) タンデムマスを用いた大阪府の新生児スクリーニングシステム 稲岡一考、竹島清美、笠原敏喜、中山雅弘、和田芳直、重松陽介、山口清次 .....	75
4) 大阪市地域におけるタンデムマスクリーニングの状況 (8年間のパイロットスタディを踏まえて) 酒本和也、大竹治美、井上勝昭、藤本昭栄、岡野善行、山野恒一、重松陽介 .....	80
5) 島根大学におけるタンデムマス・スクリーニングの研究状況 小林弘典、虫本雄一、長谷川有紀、坂本 修、大浦敏博、山口清次 .....	84
6) 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5報) 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 .....	87
7) 新生児マスクリーニングにおけるタンデムマス法の有効性 田代恭子、猪口隆洋、渡邊順子、青木久美子、稲場美佐、井上かおり、柳内千尋、 松石豊次郎 .....	90
3. 新生児マスクリーニングの精度管理体制に関する研究 (分担：原田正平) .....	93
1) 新生児マスクリーニング・システム全体の精度保証のための先天性代謝異常等 検査実施要綱に関する記述的分析 竹原健二、鈴木恵美子、渡辺倫子、加藤忠明、顧 艶紅、原田正平 .....	97
2) タンデムマスを用いた精度管理血液ろ紙の検討 小田切正昭、宮崎元伸、渡辺倫子、原田正平 .....	100
3) タンデムマスクリーニングにおける精度管理検体の作製 渡辺倫子、木村委美、鈴木恵美子、野町祥介、福士 勝、石毛信之、鈴木 健、 木下洋子、山上祐次、小田切正昭、稲田佳美、安片恭子、久保田倫子、稲岡一考、 酒本和也、重松陽介、小林弘典、田崎隆二、青木久美子、猪口隆洋、田代恭子、 加藤忠明、松井 陽、原田正平 .....	103
4) タンデムマスによる新生児スクリーニングにおけるCDC精度管理検体を用いた 内部精度管理について 花井潤師、野町祥介、雨瀧由佳、福士 勝、矢野公一 .....	107

5) 精度管理検体を用いたタンデムマスの分析条件に関する検討	
小田切正昭、宮崎元伸、原田正平 .....	111
6) 外部精度管理システムへのブラインドサンプル導入の現状 (平成21年度)	
鈴木恵美子、渡辺倫子、前田昌子、成瀬 浩、望月孝一、山上祐次、安片恭子、	
田崎隆二、九曜雅子、園山京子、吉井千代子、安部真理子、中村多加良、栗原秀子、	
佐々木純子、木谷美枝、松本智津子、平原史樹、加藤忠明、松井 陽、原田正平 .....	114
7) 新生児マススクリーニングの新技术開発への濾紙血の利用	
説明と同意書の標準化にむけての調査報告	
芳野 信、鈴木智恵子、渡邊順子、福士 勝、原田正平 .....	117
8) 自動時間分解蛍光測定法 (AutoDELFIA法) を用いたTSHと17-OHP測定の評価に関する研究	
穴澤 昭、桜井恭子、鈴木 健、北川照男、山上祐次、河地 豊、大竹治美、	
酒本和也、稲岡一考、田崎隆二、福士 勝 .....	119
4. 新生児マススクリーニングの費用対効果に関する研究 (分担: 大日康史) .....	123
5. 新生児マススクリーニングの臨床的効果に関する研究 (分担: 加藤忠明)	
1) 小児慢性特定疾患治療研究事業からみた、新しい新生児マススクリーニングで	
発見されうる疾患	
加藤忠明、顧 艶紅、原田正平、竹原健二、重松陽介、山口清次 .....	127
2) Two-source Capture Recapture Methodを用いた日本におけるメチルマロン酸血症の	
発症率及び小児慢性特定疾患治療研究事業での登録率の検討	
顧 艶紅、小林弘典、原田正平、長谷川有紀、加藤忠明、山口清次 .....	129
3) 有機酸・脂肪酸代謝異常症患者家族と医師のグループインタビュー	
伊藤龍子、加藤忠明 .....	132
6. 新生児聴覚スクリーニングに関する研究 (分担: 高田 哲) .....	143
1) 岡山県新生児聴覚検査事業の現状 - 実施主体移行の影響の検討 -	
御牧信義 .....	147
2) 岡山県新生児聴覚検査事業 - システム変更による影響の検討 -	
御牧信義 .....	150
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	155
IV. 研究成果の刊行物・別刷 .....	161

# I. 総括研究報告書

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体制の確立に関する研究

研究代表者 山口清次（島根大学医学部教授）



## 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体制の確立に関する研究

研究代表者 山口清次（島根大学医学部小児科教授）

### 研究要旨

タンデムマス等の新技術導入によるわが国の新生児スクリーニング体制を立て直すための研究を6つの分担で進めた。今年度以下のような研究成果を得た。

1. **タンデムマス対象疾患の自然歴の調査**：新生児期発症例は有機酸代謝異常症の46%、脂肪酸代謝異常症で19%であった。発症形態は感染時などに引き続く急性脳症様の症状が多かった。その転帰は、有機酸代謝異常症では30%が死亡し、発達障害が52%にみられた。また脂肪酸代謝異常症でも28%が死亡、20%が発達障害を残していた。タンデムマス・スクリーニングで発見された症例71例では、症例全体の約90%は現在まで正常に発達していた。発症してから診断された患者に比べ、新生児マススクリーニングによって発見された症例の予後はよいことが明らかであった。

2. **タンデムマス・スクリーニングの再検査データの検討**：スクリーニング以後に再検したり経過追跡する際、血液ろ紙のみならず血清分析が望ましいことがわかった。

3. **簡便な酵素診断の効果の検討**：タンデムマス陽性例を対象にリンパ球とHPLCを用いる酵素活性測定系で確定診断を進め、その有用性を証明した。

4. **メチルマロン酸血症のミトコンドリア呼吸鎖複合体活性の検討**：メチルマロン酸血症では呼吸鎖複合体活性の低下がみられることがわかった。

5. **遺伝子診断によるサポート体制のあり方の検討**：稀少遺伝性疾患の遺伝子検査ネットワーク「オーファンネット・ジャパン」でタンデムマス・スクリーニング対象疾患9種を対象とした診断体制を構築し、これまでに14例の診断を行った。またいくつかの遺伝子解析経験から遺伝子診断のピットフォールを明らかにした。

6. **タンデムマス・スクリーニングの社会啓発**：タンデムマス・スクリーニングの知識普及のため、主に行政関係者やスクリーニング検査関係者を対象とした「タンデムマスQ&A」を刊行した。

7. **タンデムマス検査施設の配置に関する検討**：1台のタンデムマスで年間3万～5万検体を検査するよう施設配置を再構築すれば、理論的には150円～600円程度の費用増加で検査が可能となると試算された。タンデムマス検査施設の適正配置により効率的な体制が望ましい。

8. **現行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の検討**：PKUでは、Phe摂取量が健常児の摂取量の約1/5～1/4と低かった。BH4反応性高フェニルアラニン血症では食品選択の自由度が増しQOLは向上した。学童期以降では低Pheペプチドを併用する例が増加していた。

9. **ムコ多糖症のスクリーニング技術開発**：血液ろ紙とタンデムマスによるムコ多糖症スクリーニングのパイロットスタディを行った。これまで患者は発見されていないが、既知のMPS患者のろ紙血、治療開始前と酵素補充療法開始3週間後の検体の測定によって本方法の有用性は確認された。測定時間の短縮、検査コストの問題などが課題である。

10. タンデムマスによるパイロットスタディー：平成21年の1年間では約22.8万新生児を分析し発見患者数は27人で、患者頻度は1/8,450と計算された。頻度は昨年までに計算されたものとほぼ同じであった。

11. 測定精度向上に関する研究：新生児スクリーニング研究開発センターで作成された精度管理用濾紙血でテストしたところ、概ね良好な測定値が報告された。ただし、CIL社の“Set B OP”キットを使用しないと、C5DC値やC5OH値が一定しなかった。

12. カットオフ値、二次検査や精密検査の検討：二次検査法として、ろ紙血中isovaleryl-glycine分析を開発した。メチルマロン酸血症患者のろ紙血中MMA濃度のGC/MS測定法を確立した。シトリン欠損の診断指標としてシトルリン濃度(>38nmol/ml)とシトルリン/セリン比(Cit/Ser>0.24)、CPT2欠損症/トランスロカーゼ欠損症のスクリーニング指標としての(C16+C18:1)/C2の有用性を証明した。

13. 現行スクリーニングの精度管理の検討：ブラインドサンプルを導入した外部精度管理を行いその有効性を確認した。ブラインドサンプルを計37検体送付して1検体「見逃し例」があった。

14. タンデムマスの精度管理のあり方の検討：アシルカルニチン12種類・アミノ酸5種類添加のろ紙検体を作製し測定した。C5DCが目標値より+80%、C8は+60%の測定値を示した。パイロット研究施設等で測定したところ、検体の目標値の-25%から+40%の範囲で測定された。

15. 使用済み血液ろ紙の利用の検討：現行の新生児マススクリーニングの説明と同意書の内容は実施主体毎に異なり、タンデムマス導入に対応しているものは数少ないことがわかった。

16. タンデムマス・スクリーニングの費用対効果：タンデムマスで発見された患者の転帰を考慮して、便益費用比を計算したところ、検査にかかる諸費用を8,000円としたとき1.7、そして2,000円と安く設定して試算したとき6.44であった。費用対効果は優れている。

17. ムコ多糖症の費用対効果：本症では1QALY獲得するのに1億円と計算された。医療経済学的な基準からは費用対効果は優れていると言えないが、別の観点から、患者数と費用規模、医学研究の意義などを勘案して社会が受け入れるかどうか判断されるべきであろう。

18. 小慢事業での登録人数：タンデムマスで発見できる疾患のうち法制化後の小慢事業で対象となっている17疾患（現行新生児マススクリーニング対象疾患を除く）の合計登録人数は716人、延べ人数は2,225人であり、昨年度の報告数に比べて、それぞれ83人と337人増加していた。小慢事業の対象疾患患者の小児期の死亡率については、疾患全体に比べて、先天代謝の改善の幅が小さい。スクリーニングによる発症前診断、早期発見技術、および治療法の向上が望まれる。

19. 聴覚スクリーニングの啓発活動：産婦人科・小児科医師、助産師、保健師などの医療関係者、教育関係者を対象としたガイドブック「赤ちゃん、聴こえているかな」を作成した。

20. 自治体における聴覚スクリーニングの状況：岡山県における平成21年度のスクリーニング実施率は82.8%と市町村への事業移行後も上昇していた。発見率は約1,000人に1人である。現状の課題として早期支援システムが十分でない点と地域格差が挙げられる。また発見された時の家族へのサポート体制、フォローアップ体制の整備も十分であるとはいえない。聴覚スクリーニングの意義を家族や保健機関へ正しく情報提供する仕組みが必要である。

結語：わが国の新生児マススクリーニングにおけるタンデムマスや聴覚スクリーニングな

どの新技術の導入について検討した。タンデムマス導入については、今年度パイロット研究に参加した新生児は102万人に達し、その有効性は明らかになった。またタンデムマス導入に向けた診療サポート体制も順調に整いつつある。またスクリーニングで発見された患者家族のQOLの改善も重要な課題である。さらにタンデムマスの検査施設の適正配置によって効率的な体制作りを目指すべきである。また聴覚スクリーニングで発見される患者頻度もほぼ明らかになったが、自治体によって聴覚スクリーニングサポート体制の温度差が大きいことは今後の課題である。今年度の研究目標はほぼ達成されたと思われる。

## 研究分担者

山口 清次（島根大学小児科）  
重松 陽介（福井大学看護学科）  
原田 正平（国立成育医療センター）  
大日 康史（国立感染症研究所）  
加藤 忠明（国立成育医療センター）  
高田 哲（神戸大学医学部保健学科）

## A. 研究目的

新生児スクリーニングが昭和52年より開始されて32年が経過したが、とりまく環境は大きく変化している。少子化が急速に進行したこと、これまでの自治体ベースのスクリーニングでは無駄が多くなったこと、タンデムマスのような新しい検査技術が開発されたこと、スクリーニングで発見された患者が成人となり当初考えられなかった問題が出てきたこと、患者家族のQOL向上への関心が高まってきていること、スクリーニング対象疾患の拡大に対する社会的関心の高まりなどである。新技術導入による障害発生子防事業の拡大のみならず、少子化対策、医療費低減のためにも、わが国の新生児スクリーニング体制を立て直す時期である。そこで現行の新生児スクリーニング事業の効果を検証すると同時に、新しい検査技術であるタンデムマス法等の導入の効果を検討した。

## B. 研究方法

### 1) 新しい新生児マススクリーニング体制の検討（山口）

タンデムマス導入に向けた効率的で精度の高いスクリーニング体制の整備、およびスクリーニング新技術の開発を目的に以下の研究を行った。

a. タンデムマス対象疾患の自然歴の調査：最近8年間に発症後に診断された有機酸・脂肪酸代謝異常症を対象に、各疾患の発症時期と転帰を調査し、タンデムマス・スクリーニングで発見された患者と比較検討した。

b. タンデムマス・スクリーニングにおける再検：診断後の患者の検査データの推移について検討した。

c. 簡便な酵素診断の効果の検討：末梢血液とHPLCを用いる酵素診断法を検討した。

d. メチルマロン酸血症と高乳酸血症の関連：ミトコンドリア呼吸鎖複合体活性を検討した。

e. 遺伝子診断によるサポート体制のあり方の検討：効率的な診断体制について検討した。

f. タンデムマス・スクリーニングの社会啓発：ガイドブックを作成した。

g. タンデムマススクリーニング検査施設の配置に関する検討：検査費用と地域的検査施設の配置について検討した。

h. 現行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の検討：15歳以上になった患者の栄養方法などQOLについて検討した。

i. ムコ多糖症のスクリーニング技術開発：血液ろ紙とタンデムマスによるスクリーニング検査法のパイロットスタディーを行った。

### 2) タンデムマスによるスクリーニングの効果の検討（重松）

a. タンデムマスによる新生児マススクリーニング・パイロットスタディー：全国8箇所（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、平成21年度より大阪市環境保健協会、神奈川県予防医学協会)で行った。このうち神奈川は横浜市立大学で出生した新生児のみを対象に行われた。

**b. 測定精度、カットオフ値、二次検査や精密検査の検討:** 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 (IVG) 濃度測定、メチルマロン酸血症スクリーニングのための二次検査法 (GC/MS) による濾紙血中メチルマロン酸濃度測定法を検討した。シトリン欠損症スクリーニングの診断指標について検討した。

### 3) 新生児マススクリーニングの精度管理体制に関する研究 (原田)

**a. 現行スクリーニング (ガスリー法、HPLC法、酵素プレート法等) の精度管理の検討:** ブラインドサンプルを導入した外部精度管理の効果を検討した。

**b. タンデムマスの精度管理のあり方の検討:** 世界標準の血液ろ紙の必要性について検討した。

**c. 使用済み血液ろ紙の利用の検討:** 倫理的な面からのパブリックコメントをまとめた。

### 4) 新生児マススクリーニングの費用対効果に関する研究 (大日)

タンデムマス・スクリーニングとムコ多糖症スクリーニングについて現時点での費用対効果を検討した。

**a. タンデムマス・スクリーニングの費用対効果:** 採血や検査関連の費用を2,000~5,000円で検討し感度分析を行った。また、この3年間で蓄積されてきた先天性代謝異常の予後に関する知見を反映させた。スクリーニング陽性例について100%発症を阻止できるとせず、スクリーニング陽性例でも最重症型の予後不良となる可能性を考慮した。スクリーニング陽性例に治療・介入を行わなかった場合は必ず「発症する」と仮定して試算した。

**b. ムコ多糖症スクリーニングの費用対効果:** ムコ多糖症は進行性疾患であるために、早期の発

見と治療開始は病状の進行に伴う障害の予防と症状の軽減に重要といわれている。かつて治療は骨髄移植と対処療法が中心であったが、酵素補充療法が治療に用いられるようになってきた。新生児スクリーニングによるムコ多糖症の早期発見によって、遅滞なく酵素補充療法が開始された場合、軽症例では死亡転帰が5年延伸され20歳、重症例では3年延伸され13歳となる自然史をモデルとして想定した。治療法は酵素補充療法のみとし新生児スクリーニングの感度、特異度はともに1とする。割引率は0%として試算した。

### 5) 新生児マススクリーニングの臨床的効果に関する研究 (加藤)

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有効性を検証するため、小児慢性特定疾患治療研究事業 (以下、小慢事業) に登録された患児数をまとめた。タンデムマスで発見されると推定されている25疾患のうち、小慢事業で対象となっているのは20疾患である。このうち現行のスクリーニング対象疾患であるフェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症の3疾患を除く17疾患の全国的な登録状況を調査した。

### 6) 新生児聴覚スクリーニングに関する研究 (高田)

聴覚スクリーニングの正しい知識を社会に啓発させるため、ガイドブックを作成した。この資料とするため岡山県や兵庫県下の市町村における新生児聴覚スクリーニングの把握状況を照会した。

## C. 研究結果と考察

### 1) 新しい新生児マススクリーニング体制の検討 (山口)

**a. タンデムマス対象疾患の自然歴の調査:** 発症してから診断された症例152症例 (内訳: 有機酸代謝異常症108症例、脂肪酸代謝異常症44症例) の発症時期は、有機酸代謝異常症では新生児期発症が46%、1歳までに全体の66%が発症していた。脂肪酸代謝異常症では新生児期発症は19%で、1か月以上2歳未満に全体の61%が発症し、その多

くが感染時などに急性脳症様の症状を呈した。その転帰は、有機酸代謝異常症では30%が死亡し、発達障害が52%にみられ、正常発達例は18%のみであった。また脂肪酸代謝異常症でも28%が死亡、20%が発達障害を残していた。

タンデムマス・スクリーニングで発見された症例71例のうち、新生児期に発症した3症例は死亡し、新生児発症2例を含む4例に発達障害を認めた。しかし発見された症例全体の約90%は現在まで正常に発達していた。発症してから診断された患者に比べ、タンデムマス・マススクリーニングによって発見された症例の予後はよいことが明らかであった。

**b. タンデムマス・スクリーニングの再検査データの検討：**VLCAD 2例について血液ろ紙の検査結果を追跡した結果、検査7回中5回がカットオフ以下の値を示し、もう1例では12回中7回でカットオフ以下の値を示した。一方、血清の検査では症例1で5回中5回、症例2では2回中2回とも異常を示した。再検したり経過追跡する際、血液ろ紙のみならず血清分析が望ましいことが明らかになった。

**c. 簡便な酵素診断の効果の検討：**メープルシロップ尿症陽性者7例中3例で酵素活性低下が証明された。これまでの経験によるとタンデムマス陽性例53例のうち36例が、リンパ球とHPLCを用いる酵素活性測定系で確定診断できた。

**d. メチルマロン酸血症のミトコンドリア呼吸鎖複合体活性の検討：**メチルマロン酸血症の呼吸鎖複合体活性を調べた。症例1の肝臓で呼吸鎖複合体I、III、IVの低下、症例2の腎臓で呼吸鎖複合体Iの活性低下が認められた。2症例とも、呼吸鎖複合体I活性の著明な低下がみられた。

**e. 遺伝子診断によるサポート体制のあり方の検討：**稀少遺伝性疾患の遺伝子検査ネットワーク「オーファンネット・ジャパン」によって、タンデムマス・スクリーニング対象疾患9種を対象とした実費負担による診断体制を構築した。これまでに14例の診断を行った。またβケトチオラーゼ欠損症の遺伝子診断の経験から、エクソン内の点

変異によるエクソンスキップ、イントロン内の点変異による挿入などの起こりうる遺伝子診断のピットフォールを明らかにした。さらに新生児期に発見されたイソ吉草酸血症3例の遺伝子解析を行い、アジア諸国で報告されている変異と比較した。ごく一部に共通する変異のあることがわかった。

**f. タンデムマス・スクリーニングの社会啓発：**タンデムマス・スクリーニングの知識普及のため、主に行政関係者やスクリーニング検査関係者を対象とした「タンデムマスQ&A」を刊行した。

**g. タンデムマススクリーニング検査施設の配置に関する検討：**タンデムマス導入によって検体受付、検査、成績発行システムにかかる費用（事務的経費、人件費など）として増額分が発生する。1台のタンデムマスで年間3万～5万検体を検査すれば、理論的には100円から150円の費用増加で検査が可能となると予想された。タンデムマス検査を外部に委託する場合、年間検査数が年間5万検体以上実施可能な検査施設に委託すれば理論的には1検体で600円程度の増額で可能であると試算された。タンデムマス検査施設の適正配置により効率的な母子保健の行政サービスを向上させることが可能である。

**h. 現行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の検討：**BH4反応性高フェニルアラニン血症（HPA）と古典的フェニルアラニン血症（PKU）の食品使用数を比較したところ、PKU群で13.0品に比べ、HPA群が23.8品と食品選択の自由度が増しQOLは向上した。またPKUでは、Phe摂取量が健常児の摂取量の約1/5～1/4と低く、特殊ミルク等によるたんぱく質代替物の摂取比率は、たんぱく質摂取量の63～83%を占めていた。学童期以降では低Pheペプチド（MP-11、森永乳業）を併用する例が増加していた。

**i. ムコ多糖症のスクリーニング技術開発：**血液ろ紙とタンデムマスによるムコ多糖症スクリーニングのパイロットスタディを行った。約1年間（約1万人検査）患者は発見されていないが、既知のMPS患者3例（MPSI型患者の日齢5のろ紙血を含む）で有用性は確認された。またMPSII型

患者の治療開始前と酵素補充療法開始後3週間後の検体をこの方法で測定し比較したところ、ろ紙血中のGAG (KSを除く) が低下することも確認した。本法は被験者に対する侵襲も少なく、これまでと同様の血液ろ紙で検査できる点で優れており、これまで困難であったMPSの早期発見の一助となると思われる。本法の測定時間は約10分/検体であり、測定時間の短縮、検査コストの問題などが課題である。

j. 考察：タンデムマスによって新たに対象疾患となる疾患はいずれも稀少疾患であり、一般小児科医にとってもなじみがうすく、発症形態、頻度、診断法、および治療法などの点で、不明な点が多い。本研究によってスクリーニングされずに発症する時期や転帰がかなり明らかになった。そしてタンデムマスによる発症前診断の有効性が明らかになった。また確定診断、診療サポート体制の研究によって、診断後の効率的な治療評価法、酵素活性測定法の臨床的有用性も示された。さらに遺伝子診断の安定的提供システムも形作られつつある。タンデムマスを導入する際、効率的な検査施設の配置をすれば検査費用を安価に抑えることが可能であることも示した。本研究で、ムコ多糖症などのライソゾーム病の新しいスクリーニング技術を開発した。今後実用化についてはいろいろな角度から検討が必要である。新生児マススクリーニングの拡大によって小児の障害発生予防に効率的に貢献するために、体制の立て直しが必要である。

## 2) タンデムマスによるスクリーニングの効果の検討 (重松)

a. タンデムマスによる新生児マススクリーニング・パイロットスタディー：平成21年の1年間では約22.8万新生児を分析し発見患者数は27で、患者頻度は1/8,450と計算された。頻度は昨年までに計算された頻度とほぼ同じであった。発見された患者27例のうち6例は脂肪酸酸化異常症であった。プロピオン酸血症、メチルマロン酸血症といった有機酸代謝異常症や、シトルリン血症I

型、フェニルケトン尿症、シトルリン欠損症も加わった。

これまでに発見された主な疾患と頻度は、プロピオン酸血症が1/43,000と最も高く、次いでフェニルケトン尿症が1/54,700、シトルリン欠損症1/80,000、メチルマロン酸血症1/94,500、MCAD欠損症1/130,000であった。この他、発見されるVLCAD欠損症が増加し、MCAD欠損症と同程度の頻度になったのが本年度の特筆事項である。また新生児ろ紙血中C5OHアシルカルニチンの上昇を契機に、3人の無症状の母親がメチルクロトニル-CoAカルボキシラーゼ欠損症と診断された。スクリーニング結果を解釈する上で注意すべき点である。

b. 測定精度向上に関する研究：スクリーニング精度管理に関しては、新生児スクリーニング研究開発センターで作成された精度管理用濾紙血が各施設において、各々の施設での分析法で測定されたところ、概ね良好な測定値が報告された。ただし、CIL社の“Set B OP”キットを使用しないと、C5DC値やC5OH値が一定せず、また、一部のアシルカルニチンで期待値との解離が見られた。

c. カットオフ値、二次検査や精密検査の検討：二次検査法として、ろ紙血中 isovaleryl glycine (IVG) 分析を開発した。重症度に応じて低カルニチン血症が新生児期より明らかであり、C5アシルカルニチン濃度はそれほど上昇していなくてもIVG濃度は重症例での上昇が著明であることが観察された。保存されていたメチルマロン酸血症患者のろ紙血中MMA濃度を測定したところ24-252nmol/mlであり、健常対照者での濃度(0.34±0.11nmol/ml)よりも明らかに高値を示した。平成21年度に発見されたビタミンB<sub>12</sub>反応型メチルマロン酸血症患者検体でも著しい上昇が確認できた。シトルリン欠損症スクリーニングの診断指標としてシトルリン濃度(>38nmol/ml)とシトルリン/セリン比(Cit/Ser>0.24)が有用であった。この他、CPT2欠損症/トランスロカーゼ欠損症のスクリーニング指標として(C16+C18:1)/C2の有用性が確認された症例に遭遇した。

d. 考察：これまでわが国のスクリーニングでは、3-ケトチオラーゼ欠損症、3-メチルグルタコンニルCoAヒドラターゼ欠損症、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリルCoAリアーゼ欠損症、2-メチルブチリル-CoA 脱水素酵素欠損症の有機酸代謝異常症と、メープルシロップ尿症 (MSUD)、ホモシスチン尿症 (HCU)、高アルギニン血症、高チロシン血症1型のアミノ酸代謝異常症が発見されていない。軽症型は“見逃し例”となっている可能性も否定できない。

タンデムマス・スクリーニングは多項目一斉検査法によるスクリーニングであり、検査項目を意図的に追加あるいは削除することは可能である。しかし単に疾患頻度が低いからという理由で対象疾患から外す必要はない。しかし、“見逃し”の率が高いことがはっきりしている疾患があるとなれば、対象疾患として適切とはいえない。これらのことを考えると、現時点ではMSUD、3-ケトチオラーゼ欠損症、高チロシン血症1型は、第1選択の対象疾患ではないといえる。高アルギニン血症については、治療効果の点で疑問が残る。このような点を勘案して、家族や医療現場で混乱を避けるためにタンデムマス対象疾患を設定する必要があるだろう。

また今年度も進めてきたように、シトリン欠損症や、CPT-2欠損症／トランスロカーゼ欠損症のように、適切な診断指標を探し出す研究も望まれる。

プロピオン酸血症を中心に軽症例が今年度も発見された。プロピオン酸血症に関しては、既に治療指針私案を発表したところであり、予後追跡調査に期待したい。軽症例の中には診断確定が困難な症例の存在も想定される。遺伝子解析等による診断が必要であり、この点での精密検査体制の整備が課題である。

MCC欠損症のように、新生児のスクリーニング検査で偶然無症状の母親の疾患が発見されることがある。タンデムマス・スクリーニング受検の説明文の中に、母親の疾患あるいは体質に関する記述も必要である。この場合、無症状の母親の疾

患について、いわゆる“病気”という説明は適切でなく、“体質”などの言葉で説明するなどの配慮が必要であろう。

### 3) 新生児マススクリーニングの精度管理体制に関する研究 (原田)

a. 現行スクリーニング (ガスリー法、HPLC法、酵素プレート法等) の精度管理の検討：ブラインドサンプルを導入した外部精度管理の研究に全国13ヶ所の施設が参加した。検体受領から結果報告までの期間は、通常的外部制度管理検体で3～11日、ブラインドサンプルで4～13日であった。ブラインドサンプルを計37検体送付して1検体「見逃し例」があった。

b. タンデムマスの精度管理のあり方の検討：アシルカルニチン12種類・アミノ酸5種類添加のろ紙検体を作製し測定した。検体-1ではC5DCが目標値より+80%、C8は+60%の測定値であった以外は、ほぼ目標値に近い測定値であった。検体-2では、C4とC8で濃度の違う2種類ともに目標値の+50%以上の測定値であった。それ以外の物質は目標値に近かった。パイロット研究実施を含む計12施設で測定したところ、検体-1は目標値の-25%から+40%の範囲で測定された。

c. 使用済み血液ろ紙の利用の検討：現行の新生児マススクリーニングの説明と同意書は各自治体の定めた先天性代謝異常等検査実施要綱 (要領) に基づいて行われている。その内容は実施主体毎に異なり、タンデムマス導入に対応しているものは数少ないことがわかった。

d. 考察：精度管理については、自治体によるシステム整備が求められるが、検査施設からの積極的な働き掛けが重要である。連絡協議会設置など意識の高まりがある。ブラインドサンプルによる精度管理は、的確な現状把握、施設の検査精度保証のために有効な方法と考えられる。カットオフ値が測定方法や施設毎に異なる点、検体受領後結果報告までの日数に差がある点、採血量不足検体の存在等が浮き彫りにされ実情確認が必要となっている。目標値を大きくはずれて測定された物質

は、他施設の測定値からみて、当センターの測定  
のばらつきの可能性はあるものの、目標値に近い  
精度管理検体が作製できたと思われる。検査済み  
濾紙血の保管・目的外使用も前提とした上での、  
説明と同意を含めた標準化が必要である。

#### 4) 新生児マススクリーニングの費用対効果に関 する研究 (大日)

a. タンデムマス・スクリーニングの費用対効  
果：タンデムマスで発見された患者の転帰を考慮  
して、便益費用比を計算したところ、検査にかか  
る諸費用を8,000円としたとき1.7で、5,000円と  
したとき2.72、そして3,000円としたとき4.43で、  
2,000円と非常に安く設定した場合には6.44であ  
るので費用対効果は優れていると言えよう。

b. ムコ多糖症の費用対効果：新生児スクリー  
ニングを実施しない場合のQALYは、重症で5.4、  
軽症で8.1と計算される。新生児スクリーニング  
を実施し早期治療が開始された場合のQALYは、  
重症で6.5、軽症で10と計算される。新生児スク  
リーニングを実施し早期治療を行ったことによっ  
て重症で1.1、軽症で1.9QALYが増加する。一方  
で早期治療開始と余命延伸により重症で1億  
2,689万円、軽症で2億1,705万円の治療費がか  
かる。したがって、1QALY獲得するのに重症の場  
合1億1,535万円、軽症の場合1億1,424万円と計  
算される。

c. 考察：タンデムマス・スクリーニングの便  
益費用比は最低でも1.73 (~6.44) と計算され、  
費用対効果は非常に優れていると言えよう。これ  
は水痘、ムンプス、Hibといった小児予防接種の  
平均的な便益費用比よりも上回っている。一方で、  
スクリーニング陽性例で治療・介入しなくても未  
発症で終わる可能性も高く、その部分は過剰な診  
断、治療・介入ということになり費用対効果的  
には不利になる。これらの可能性を考慮すると、費  
用対効果が下方修正される可能性は否定できない。  
今後さらに検討すべき課題である。

ムコ多糖症の場合、治療が高額なため、  
1QALY獲得するのに1億円以上かかる計算にな

り、医療経済学的な基準からは新生児スクリー  
ニングの費用対効果が優れているとは言えない。し  
かしながら、こうした費用対効果の計算は科学的  
な判断材料とはなるが、別の観点から、患者数と  
費用規模、医学研究の意義などを勘案して社会が  
受け入れるかどうか、最終的には政治的な判断に  
ゆだねられるであろう。

#### 5) 新生児マススクリーニングの臨床的効果に関 する研究 (加藤)

a. 小慢事業での登録人数：タンデムマスで発  
見できる疾患のうち法制化後の小慢事業で対象と  
なっている17疾患（現行新生児マススクリーニ  
ング対象疾患を除く）の登録人数（10~20年度に一  
回以上登録された患児数）は以下の通りであった。  
17疾患の合計登録人数は716人、延べ人数は2,225  
人であり、昨年度の報告数に比べて、前者は83人、  
後者は337人増加していた。

b. 考察：昭和49（1974）年度に整備された小  
慢事業の対象疾患の1~19歳児の死亡率は全体と  
して、1975年の10.46から2006年に3.44に減少し  
た。一方、先天代謝疾患（体液異常を除く代謝障  
害）は同年0.19から0.13であり、他の疾患に比べ  
改善の幅は小さい。スクリーニングによる発症前  
診断、早期発見技術、および治療法の向上が望ま  
れる。

#### 6) 新生児聴覚スクリーニングに関する研究 (高田)

a. 聴覚スクリーニングの啓発活動：産婦人科・  
小児科医師、助産師、保健師などの医療関係者、  
教育関係者を対象としたガイドブック「赤ちゃん、  
聴こえているかな」を作成した（8章59ページ）。  
本ガイドブックの内容は以下のように設定した。  
新生児聴覚スクリーニングの概要、精密聴覚検査、  
新生児期にみられる聴覚障害、早期支援、支援の  
実際、地域における支援ネットワーク、日本にお  
ける普及状況とその実際、新生児聴覚スクリー  
ニングQ&Aであった。

b. 自治体における聴覚スクリーニングの状況：  
岡山県における平成21年度のスクリーニング実施

率は82.8%と市町村への事業移行後も上昇していた。8年9カ月間に101,465人がスクリーニング検査を受け、そのうち早期療育が必要な両側性聴覚障害は124人(0.12%)であった。兵庫県下41市町村(1政令指定都市を含む)の母子保健担当者に新生児聴覚スクリーニング受験者数について問い合わせたが、すべての市町村で実施状況が捕捉できなかった。

c. **考察**：現状の課題として早期支援システムが十分でない点と地域格差が上げられる。すなわち発見された時の家族へのサポート体制が不十分で、フォローアップ体制の整備も十分であるとはいえない。保健師自身の知識が不十分なために家族の要望に十分にこたえられない場合もあった。関係職種の教育、専門機関との緊密な連携、親の会などとの協力によってピアカウンセリンググループを地域で育成していくことが重要である。保育士や幼稚園教諭に対する基礎知識の普及も必要である。NICU退院時や外来において聴覚スクリーニング検査を確実に実施し、家族や保健機関へ情報提供する仕組みを確立しなくてはならない。また新生児聴覚スクリーニング事業に対する対応は都道府県によって大きく異なっている。市町村事業となった後も岡山県のように県レベルで情報の一元化を行っている地域と兵庫県のように県、市町村ともまったく関与していない地域とが混在していることも事実である。調査によると、スクリーニング事業の整備状況は過去の自治体の関与と密接に関係していた。今後、フォローアップ整備状況の違いによって、子どもたちの言語発達予後に差がでないかを注意深く見守る必要がある。

#### D. 結語

わが国の新生児マススクリーニングにおけるタンデムマスや聴覚スクリーニングなどの新技術の導入について検討した。タンデムマス導入については、今年度パイロット研究に参加した新生児は102万人に達し、発症してから診断された患者よりも発病前にスクリーニングで発見された患者の転帰が優れていることが明らかになった。またタンデムマス導入に向けた診療サポート体制も順調に整いつつある。一方現行のマススクリーニングで発見された患者が成人しつつあり実際の生活の中でQOLの改善を図る必要のあることもわかった。さらに新技術導入を機に検査施設の適正配置を考慮して効率的な体制作りを目指すべきである。タンデムマスと血液ろ紙を用いるムコ多糖症スクリーニングの新技術が開発し日本から発信する研究として期待される。また聴覚スクリーニングで発見される患者頻度もほぼ明らかになったが、自治体によって聴覚スクリーニングサポート体制の温度差が大きく今後の課題であることも明らかにされた。新生児マススクリーニング拡大によって、小児の障害発生予防、障害軽減、および効率的母子保健サービスの向上が期待される。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

(別掲、個別に掲載)

#### G. 知的所有権の取得状況

(別掲、個別に掲載)



## Ⅱ. 分担研究報告書

1

新しい新生児マススクリーニング体制の検討

研究代表者 山口清次（島根大学医学部教授）

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

研究分担者 山口清次（島根大学医学部小児科教授）

研究要旨

新生児マススクリーニングに、タンデムマスが世界的に普及しつつある。わが国でも厚労省研究班のパイロットスタディーで年間出生数の約1/5の新生児が検査を受けた。タンデムマス導入にあたり必要となる新しいマススクリーニング体制について研究し、以下の研究成果が得られた。

1) **タンデムマス対象疾患の自然歴**：有機酸・脂肪酸代謝異常症を対象に、発症してから診断された患者と、タンデムマスによるパイロットスタディーで発見された患者の発症時期、発症形態、予後を検討したところ、発症した時期は、有機酸血症の46%、脂肪酸代謝異常の16%が新生児期であった。発症前に発見された患者は、発症してから診断された患者に比べて予後は有意に良好であった。

2) **スクリーニングのサポート体制**：①タンデムマス検査の再検査、追跡する検体としては、血液ろ紙のみならず血清分析が望ましいことが明らかになった。②酵素診断体制：末梢リンパ球とHPLCを用いる酵素活性測定法を用いてタンデムマス陽性例53例のうち36例を確定診断できた。③遺伝子診断体制：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「オーファンネットジャパン」の構築によって36種類の遺伝子検査提供体制を整えた。タンデムマス・スクリーニング対象疾患はこのうち9種類が登録され、14例が遺伝子診断されている。④またエクソン内の点変異によってエクソンスキップが起こったり、イントロンの点変異で挿入が起こったりするなど遺伝子診断のピットフォールのあることが示された。⑤新生児期に発見されたイソ吉草酸血症3例の遺伝子解析で6種の変異を検出した。

3) **タンデムマス・スクリーニング検査施設の配置**：タンデムマス検査のできる施設で年間3万～5万検体の検査ができるように配置すれば、検査費用は理論的には現在より600円程度の増額ですむと試算された。

4) **フェニルケトン尿症の長期QOLの検討**：BH4反応性高フェニルアラニン血症（HPA）の食事と栄養素摂取量をPKU患者と比較した。HPAでは保護者・患児ともに食事のQOLが向上するが、HPA群ではカルシウム不足、PKUでは水溶性ビタミンの不足に注意が必要である。PKUでは、Phe摂取量は、健常児の摂取量の約1/5～1/4と有意に低く、乳幼児ではPhe除去アミノ酸末を窒素源とする治療乳、学童期以降では低Pheペプチドを併用する例が多かった。

5) **ムコ多糖症のスクリーニング技術開発**：タンデムマスを用いたムコ多糖症のスクリーニングを施行し、MPS患者3例と正常新生児検体、酵素補充療法の開始前後の検体の分析結果を比較したところ、開発した方法の有用性を確認した。2008年4月以降にパイロットスタディーを行い、現在までのところMPSを発症した例はみられていない。ムコ多糖症Ⅱ型（MPS-Ⅱ）患者の身体発育調査では、身長は新生児期から6才ころまでは正常より高く、6才ころを境に逆転し低身長となり、体重は、新生児期から6歳を過ぎても正常より大きい傾向がみられた。ムコ多糖症などのライソゾーム病のスクリーニング技術（血液ろ紙とタンデムマスによる検

査法)は、これまで診断が容易でなかったMPSの早期発見の一助となり、また追跡検査としても有用であると思われた。

タンデムマス導入により新たに約20種類の対象疾患が加わることになるが、いずれも稀少疾患であるため、マスキングの効果を上げるためには、診療サポート体制が不可欠である。本研究で、酵素診断、遺伝子診断などのサポート体制が着実に整備されつつある。また患者の追跡体制を充実して、発症形態、治療効果、費用対効果を明らかにすることも不可欠である。本研究で発症前にスクリーニングで発見された患者の予後は、発症してから診断された患者よりも明らかに優れていることが示された。今後、見逃し例の検討、長期の臨床経過の検討によってマスキング対象疾患を設定する必要もある。タンデムマスは、年間5万検体以上を検査する能力を持っており、検査施設の適正配置によってスクリーニング事業の効率化を進める好機でもある。障害発生予防対策としての新生児マスキングの拡大が母子保健により大きな恩恵をもたらすよう、効率的な体制作りが不可欠である。

## 研究協力者

長谷川有紀 (島根大学小児科)  
虫本 雄一 (島根大学小児科)  
佐倉 伸夫 (重症心身障害児施設鈴が峰)  
但馬 剛 (広島大学大学院小児科学)  
高柳 正樹 (千葉県こども病院)  
松原 洋一 (東北大学遺伝学)  
深尾 敏幸 (岐阜大学連合創薬医療情報研究科)  
坂本 修 (東北大学小児病態学)  
大浦 敏博 (仙台市立病院小児科)  
福士 勝 (札幌市衛生研究所)  
鈴木 康之 (岐阜大学医学教育センター)  
田中あけみ (大阪市立大学小児科)  
北川 照男 (東京都予防医学協会)  
新宅 治夫 (大阪市立大学小児科)  
大和田 操 (女子栄養大学)

## A. 研究目的

わが国の新生児マスキングに、タンデムマスを導入すると対象疾患が著しく拡大し、障害発生予防に貢献することが期待される。しかし新しい対象疾患の自然歴や、発症後診断例と発症前診断例との予後の違いを明らかにすることもきわめて重要である。タンデムマスの対象疾患はいずれも稀少疾患であり、正しく診断し、診療を進めるためには、サポート体制が不可欠である。またタンデムマス検査のコストを試算して効率的な

施設配置を検討する必要もある。さらに現行のマスキングで発見される患者QOLを向上させるための研究(フェニルケトン尿症の食事療法)や、次世代の新しいスクリーニング技術開発を目的としてムコ多糖症、ライソソーム病のスクリーニングを検討した。

## B. 研究方法

### 1) タンデムマス対象疾患の自然歴の調査

最近8年間に、発症後に診断された有機酸・脂肪酸代謝異常症を対象に、2009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転帰を調査した。そして、タンデムマス・スクリーニングで発見された患者と比較検討した。

### 2) スクリーニングのサポート技術の検討

#### ①タンデムマス検査の再検査の検討

タンデムマス・パイロットスタディーで発見された極長鎖アシル-CoA脱水素酵素(VLCAD)2例について、新生児以降に追跡しながら、検査血液ろ紙と血清中のアシルカルニチン測定値の再現性を比較検討した。

#### ②酵素診断によるサポート体制

メープルシロップ尿症(MSUD)陽性例を対象にして既報の方法で酵素活性を測定した。またMCAD活性低下を認めた症例についてゲノムDNAを用いて遺伝子解析を行った。

メチルマロン酸血症の増悪期に血中メチルマロン酸よりも血中乳酸が極めて高値を示すことが多く、高乳酸血症が神経症状を惹起するという報告もある。メチルマロン酸血症の肝臓のミトコンドリア呼吸鎖複合体活性を検討した。

### ③遺伝子診断によるサポート体制

- a. タンデムマス・スクリーニング対象疾患に限らず、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構築を進め、その運用を試行した。
- b.  $\beta$ ケトチオラーゼ欠損症症例の遺伝子解析で、c. 556G>T (D186Y, ex6) と c. 951C>T (D317D, ex10) の2つの塩基置換が認められた。RT-PCRによるcDNA解析では、一方が点変異、他方はex10スキップが認められた。この機序を明らかにするために、ミニジーンによるスプライシング実験を行った。
- c. 新生児期に発見されたイソ吉草酸血症3例の遺伝子解析を行った。

### 3) タンデムマススクリーニング検査施設の配置に関する検討

現行6疾患対象マススクリーニング検査コストとタンデムマススクリーニングの検査コストを試算した。タンデムマスの年間検体数、タンデムマス検査を外部検査施設に依頼する場合など導入形態の違いによる検査コストを検討した。

### 4) フェニルケトン尿症の長期予後の検討

- a. BH4反応性高フェニルアラニン血症(以下HPA)について、食事の記録調査を行い、食事療法を要するフェニルケトン尿症(PKU)を対照として食品使用数や栄養素摂取量の状況を分析した
- b. 25例(PKU 16例;非PKU高フェニルアラニン血症)の最近一年間の平均血中Phe濃度、Phe摂取量、治療乳および低Pheペプチドなどたんぱく質代替物摂取量、市販の低蛋白食品即ち、「たんぱく質調整食品」摂取量の調査を行った。

### 5) ムコ多糖症のスクリーニング技術開発

#### ①タンデムマスによるムコ多糖症スクリーニングのパイロットスタディ

札幌市で得られた日齢4から6に採血された血液ろ紙(3mmパンチ)を用いて、LC/MS/MSでムコ多糖症のマススクリーニングを試みた。MPS I型患者2名とMPS II型患者1名から計5検体を患者検体として使用した。ケラタナーゼII、ヘパリチナーゼ、コンドロイチナーゼBで検体を処理して、ケラタン硫酸(KS)、ヘパラン硫酸(HS)およびデルマトン硫酸(DS)をLC/MS/MS(アプライド社API4000)を用いて測定した。

#### ②ムコ多糖症患者の身体発育

ムコ多糖症スクリーニングの治療効果を評価するために、ムコ多糖症II型(MPS-II)患者46名から協力を得て身体発育の自然経過について調査した。

#### ③血液ろ紙を用いたライソソーム病のマススクリーニングの試み

大阪市立大学で出生し、家族の了解の得られた新生児の血液ろ紙を東京都予防協会に送り、ムコ多糖症I型(MPS-I)、II型(MPS-II)、およびポンペ病(GSD-II)の3疾患を対象にマススクリーニングの試験研究を行った。血液ろ紙パンチを検体として、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体と反応させたあと蛍光光度計を用いて、MPS-Iは $\alpha$ -L-iduronidase活性、MPS-IIはiduronate-2-sulfatase活性、およびポンペ病(GSD-II)はacid- $\alpha$ -glucosidase活性を測定した。

### C. 研究結果

#### 1) タンデムマス対象疾患の自然歴の調査

島根大学で診断された発症後診断症例で予後が明らかな152症例(内訳:有機酸代謝異常症108症例、脂肪酸代謝異常症44症例)の発症時期を調べた。有機酸代謝異常症では新生児期発症が46%、1歳までに全体の66%が発症していた。一方脂肪酸代謝異常症では新生児期発症は19%で、1か月以上2歳未満に全体の61%が発症し、その多くが感染時などに急性脳症様の症状を呈した。

その転帰は、有機酸代謝異常症では30%が死亡し、発達障害が52%にみられ、正常発達例は18%のみであった。また脂肪酸代謝異常症でも28%が死亡、20%が発達障害を残していた。

同時期にタンデムマスによるマススクリーニングで発見された症例71例では、新生児期に発症した3症例は死亡し、新生児発症2例を含む4例に発達障害を認めたが、発見された症例全体の約90%は現在まで正常に発達していた。以上より、発症してから診断された患者に比べ、タンデムマス・スクリーニングによる発症診断例の予後はよいことが明らかである。

## 2) スクリーニングのサポート技術の検討

### ①タンデムマス検査の再検査の検討

VLCAD欠損症2例の検査データを追跡したところ、症例1では、生後1ヶ月以降の血液ろ紙検査7回中5回がカットオフ以下の値を示し、症例2では、検査12回中7回でカットオフ以下の値を示した。一方、血清の検査では症例1で5回中5回、症例2では2回注2回とも異常値を示した。以上より、再検したり経過追跡する際、血液ろ紙だけでなく血清分析が望ましいことが明らかになった。

### ②酵素診断によるサポート体制

MSUDは陽性7例中3例で酵素活性が証明された。これらを加えたタンデムマス陽性例53例のうち36例が、我々の開発したリンパ球とHPLCを用いる酵素活性系で確定診断した。

メチルマロン酸血症の呼吸鎖複合体活性は、症例1の肝臓においては呼吸鎖複合体I、III、IVの低下が認められた。症例2の腎臓においては呼吸鎖複合体Iの活性低下が認められた。2症例ともに、呼吸鎖複合体Iは両方の臓器で著明な低下がみられた。

### ③遺伝子診断によるサポート体制

a. 稀少遺伝性疾患の遺伝子検査ネットワーク「オーファンネットジャパン」の構築：この遺伝子検査ネットワークによって、タンデムマススクリーニング対象疾患をふくむ36種類

の遺伝子検査提供体制を整えた。タンデムマス・スクリーニング対象疾患は、フェニルケトン尿症、プロピオン酸血症、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症、メチルマロン酸血症 (mut型)、メチルマロン酸血症 (cblA型)、メチルマロン酸血症 (cblC型)、カルニチンパルミトイル基転移酵素II (CPT2) 欠損症、ホモシスチン尿症 (I型)、 $\beta$ -ケトチオラーゼ欠損症の9種である。これまでの実績は、メチルマロン酸血症 (mut型) (4件)、メチルマロン酸血症 (cblA型) (3件)、プロピオン酸血症 (1件)、カルニチンパルミトイル基転移酵素II (CPT2) 欠損症 (2件)、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症 (4件)であった。

b.  $\beta$ ケトチオラーゼ欠損症における稀有なエクソンスキップの同定： $\beta$ ケトチオラーゼ欠損症の症例で、c. 556G>T (D186Y, ex6) と c. 951C>T (D317D, ex10) の2つの塩基置換が認められた。cDNA解析で一方が点変異であったが、他方はエクソン10スキップが認められた。ミニジーンによるスプライシング実験を行ったところ、正常およびex10の最初の塩基を941C>Gとex認識を増強した3つのミニジーンでは、エクソン10スキップのバンドは検出されなかった。以上からイントロン9のスプライスアクセプター部位が弱いためこの変異により、エクソン10スキップの発生することが明らかになった。

c. 新生児期に発見されたイソ吉草酸血症3例の遺伝子解析：症例1 (パイロットスタディで発見された症例)：c. 337G>A (p. E84K) /c. 491T>C (p. M135T)、症例2 (生後1ヶ月に発症)：c. 1199A>G (p. Y371C) /c. 1222G>A (p. E379K)、症例3 (生後10日に発症)：c. 149G>C (p. R21P) /c. 728T>C (p. L214P)であった。3例において6種の変異を検出した。c. 1199A>G (p. Y371C) は台湾とタイの患者でも検出されたものである。また韓国とタイで比較的高頻度に認められるといわれて

いる。c.457-3\_2CA>GGは今回の検索では認められなかった。

### 3) タンデムマス・スクリーニング検査施設の配置に関する検討

タンデムマス導入によって検体受付、検査、成績発行システムにかかる総費用（事務的経費、人件費など）は増加する。もしもタンデムマス検査を、現行新生児スクリーニングと同一検査施設で行い、また年間3万から5万検体の規模で実施すれば、従来のアミノ酸3疾患の検査費用をタンデムマススクリーニングに充当できることから、理論的には100円から150円の費用増加で検査が可能となると予想された。

タンデムマス検査を外部に委託する場合、年間検査数が年間5万検体以上実施可能な検査施設に委託すれば理論的には1検体で600円程度の増額で可能であるが、この場合には検査結果を迅速に提供するため採血用ろ紙の様式の変更とろ紙血液検体の送付システムの変更が必要である。

以上の結果から、タンデムマス検査施設の適正配置などによって大きなコストの増加なく、母子保健の行政サービスを向上させることが可能である。

### 4) フェニルケトン尿症の長期QOLの検討

①BH4反応性高フェニルアラニン血症（HPA）の食品使用数と栄養素摂取量：1日に摂取する普通食品のうちたんぱく食品を除く平均食品数はPKU群で13.0品に比べ、HPA群が23.8品と有意差に多かった（ $p=0.001$ 、 $0.003$ ）。

またPKU患者では水溶性ビタミンの不足が懸念される一方、HPA群ではカルシウム不足に傾く可能性がみられた。BH4服用によって食品選択の自由度が増し、保護者・患児ともに食事のQOLが向上するが、栄養素の摂取バランスを維持していく必要がある。

②PKU患者およびHPA患者のPhe濃度と食事摂取状況の調査：16歳以上の患者25例（PKU 16例；HPA 9例）は、全例が治療乳または低Pheペ

プチドを使用していた。うち1例を除く24例が各年齢の維持範囲の濃度を保っていた。

③Phe摂取量は、健常児の摂取量の約1/5～1/4と有意に低かった。Phe除去アミノ酸末あるいは低Pheペプチドなどのたんぱく質代替物の摂取比率は、たんぱく質摂取量の63～83%を占めていた。Phe除去アミノ酸末を窒素源とする治療乳（雪印乳業）が使用され、学童期以降では低Pheペプチド（MP-11、森永乳業）を併用する例が増加していた。

### 5) ムコ多糖症のスクリーニング技術開発

①タンデムマスによるムコ多糖症スクリーニングのパイロットスタディ：MPS患者3例（MPS I型患者の日齢5のろ紙血を含む）と正常新生児ろ紙血で測定結果を比較したところ、明らかな差が認められた。2008年4月以降に行ってきた新生児マス・スクリーニングでMPSを発症した例はみられていない。本法は被験者に対する侵襲も少なく、これまでと同様の方法で検体を収集できるという点において優れており、これまで困難であったMPSの早期発見の一助となると思われる。早期発見のみならず、その後の治療効果判定などにも使用できる可能性がある。一方、本法の測定時間は約10分/検体であり、測定時間の短縮を図らねばならない。

またMPS II型患者の治療開始前と酵素補充療法開始後3週間後の検体をこの方法で測定し比較したところ、治療開始後、ろ紙血中のGAG（KSを除く）が低下していた。

②ムコ多糖症患者の身体発育：ムコ多糖症II型（MPS-II）患者46名の調査の結果、身長は新生児期から6才ころまでは正常より高く、6才ころを境に逆転し低身長となる。体重は、新生児期から6歳を過ぎても正常より大きい傾向がみられた。

③血液ろ紙を用いたライソソーム病のマススクリーニングの試み

大阪市立大学で出生し家族の了解の得られた新生児の血液ろ紙を、東京都予防協会に送りMPS-I型とII型、およびポンペ病の3疾患を対象にマ