

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の試験研究は、平成21年度には、福井大学、島根大学、及び札幌市・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に、大阪市のマススクリーニング実施機関が加わり、更に石川県も実施地域として参加して、引き続き実施された。2009年1月から12月にスクリーニングされた新生児は228,279と昨年度から更に増加し、28例の対象疾患患児が発見され、累積受検者数は約104万新生児、累積発見患者数は120例となり、対象疾患患児の頻度は昨年と同様の約1/8,670新生児と計算された。疾患別頻度は、プロピオン酸血症が1/43,000と最も多く、次いでフェニルケトン尿症が1/54,700、シトリン欠損症1/80,000、メチルマロン酸血症1/94,500、MCAD欠損症とVLCAD欠損症が1/130,000であった。脂肪酸酸化異常症全体の頻度は1/33,500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、本年も早期発見・治療により順調に成長発達しており、試験研究地域外で未診断の脂肪酸酸化異常症患児の突然死が経験される中、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。本年度は特に大阪市・大阪府でスクリーニング体制が更に整い分析数が増え多くの患者が発見された。

検査法に関しては、我が国で合成された glutarylcarnitine 及び 3-OH-isovalerylcarnitine 標品を用いて、新生児スクリーニング研究開発センターからタンデムマス・スクリーニング用標準濾紙血の供給が開始され、C5DC、C5OH、C14、C18などの内部標準を含む新しい分析用キットでの分析の精度管理が可能となった。対象疾患についても暫定的に見直しが行われ、それぞれの対象疾患スクリーニング指標のカットオフ値の標準化に向けた取り組みを踏まえ、タンデムマス・スクリーニングの全国展開の基礎が出来たと考えられた。

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、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ので、大規模な試験研究が必要である。また、わが国の都道府県及び政令指定都市毎の小規模な検査機関を含む検査体制ではタンデムマス・スクリーニングの事業規模としては経済的でないことが指摘される。

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。大阪市では、平成21年4月より、大阪市環境保健協会に設置されたMS/MSを使用して正規の新生児スクリーニングとして開始された。神奈川県予防医学協会では、引き続き横浜市大市民総合医療センター出生の新生児に対し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ガスクロマト質量分析計 (GC/MS) 尿分析とMS/MS濾紙血分析の比較検討が行われた。

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・大阪府母子保健総合医療センター・大阪市環境保健協会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 (CIL) 社より、標識glutaryl carnitine、標識3-hydroxyisovaleryl carnitine、標識長鎖アシルカルニチン、標識セリンなどを追加した内部標準キット (Set A OP、Set B OP) が日本向けに市販され、主として大阪市環境保健協会での分析に使用された。

名古屋市立大学大学院薬学研究科の前田康博博士によりglutaryl carnitine及び3-OH-isovaleryl carnitine標品が合成・提供され、新生児スクリーニング研究開発センターでの精度管理用濾紙血作成に使用された。この精度管理濾紙血は上記検査機関に配布され、精度管理に試用された。

福井大学では、イソ吉草酸血症スクリーニングにける濾紙血中イソバレリルグリシン (IVG) 濃度測定の意義について、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法 (GC/MS) による濾紙血中メチルマロン酸濃度測定法の有用性について昨年度から引き続き検討した。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 ($\text{Cit/Ser} > 0.24$) 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

1. スクリーニング集計と患者発見頻度

表に示したように、本試験研究では平成21年12月までに約104万新生児を分析し120対象疾患患者を発見した。患者頻度としては1/8,670であり、昨年度とほぼ同等であった。直近1年間では、昨年より多い約22.8万新生児を分析し、発見患者数は27 (患者頻度: 1/8,450)、内6例は脂肪酸酸化異常症であった。また、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、シトリン欠損症も着実に増加した。

患者発見頻度は、本年も地域差が大きく、昨年まで少なかった大阪府・市で著しく上昇していた他、東京都、宮城県での発見頻度も高かった。

累積の疾患別頻度は、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であり、この頻度や順位は昨年から大きな変化はなかった。このほかVLCAD欠損症の発見が増加し、MCAD欠損症と同じ発見頻度となったのが本年度の特筆事項である。

2. 発見患者の疾患別の重症度と予後

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血症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、プロピオン酸血症については、本年発見例を含め、わが国で頻度の高いPCCB遺伝子Y435C変異を持つ軽症型が多く、ほ

表 タンデムマス・スクリーニング試験研究結果 [～2009.12]

(疾患名)	福井大	島根大	札幌市	東京都	化血研	大阪府	大阪市	(総計)
脂肪酸酸化異常症 ----- (31)								
CPT 1 欠損症	1	1			1			3
CPT 2 欠損症	(1)3							3
VLCAD欠損症	2	2	(1)1	(1)1	(1)1	(1)1		8
MCAD欠損症	3	1	1	2	(1)1			8
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ポート異常症	1		2				1	4
有機酸代謝異常症 ----- (51)								
メチルマロン酸血症	(1)5	(1)4				(2)2		11
プロピオン酸血症	11	(1)3	(1)5	1	(1)2	(1)2		24
イソ吉草酸血症	1	1		(1)1				3
MC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	(1)1		5
アミノ酸代謝異常症 ----- (38)								
フェニルケトン尿症	(1)6	(1)5	2	(1)2	(1)1	(1)3		19
シトルリン血症 1 型	(1)1	(1)2			1	(1)1		5
シトルリン欠損症	8			(1)2		(2)3		13
アルギニコハク酸尿症	1							1
<患者数>								
	53	20	12	10	10	15		120
2007. 1～12	6	3	5	0	2	2		18
2008. 1～12	8	6	1	6	3	4		28
2009. 1～12	4	4	2	4	4	9		27
<スクリーニング 新生児数>								
	493, 261	114, 005	76, 262	60, 560	131, 177	147, 532	17, 174	1, 039, 971
2007. 1～12	47, 466	25, 007	16, 216	14, 585	28, 799	40, 774		172, 847
2008. 1～12	50, 325	24, 965	16, 561	15, 953	43, 084	54, 424		205, 312
2009. 1～12	48, 565	27, 127	16, 369	18, 709	48, 001	52, 334	17, 174	228, 279

検査機関ごとの疾患患者数の () 内の数字は、2009年中の発見患者数を示す。

[略語] 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, MC: 複合カルボキシラーゼ, 3MCC: 3-メチルクロトニルCoAカルボキシラーゼ

ば正常発達が見られており、昨年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。

メチルマロン酸血症は、昨年まで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 例であったが、本年の発見患者 4 例ではビタミンB₁₂反応型や軽症例が多かった。このうち 1 例が濾紙血中MMA測定により迅速に診断され、早期のB₁₂治療が行われた。濾紙血中MMA濃度は中等症以上で見られる濃度域であったが、B₁₂治療により低下が見られた。

昨年度 IVG 濃度測定により発見された重症型イソ吉草酸血症は、早期治療によりその後も急性発症無く順調に成長発達がみられている。本年発見された新生児発症型患児については、転院等のタイミングでスクリーニングが遅れ高アンモニア血症を発症したため、中枢神経予後が懸念される。

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。3-メチルクロトニルCoAカルボキシラーゼ (3MCC) 欠損症では、カルニチン投与と治療用ミルク使用により順調に発育している。

アミノ酸代謝異常症では、シトルリン血症 I 型患者の 1 例は新生児期発症の重症型であったが、スクリーニング結果が迅速に伝達され迅速な治療により症状の改善が得られている。徳島県で発見された 1 例はシトルリン濃度が 120-130nmol/ml で、アンモニア上昇はなく無症状で経過している。

表の集計には含まれていないが、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 3MCC 欠損症と診断された。

3. 精度管理

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でにおいて、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。

4. カットオフ値、二次検査や精密検査の検討

福井大学での二次検査法開発について、ろ紙血中 isovalerylglycine (IVG) 分析では、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かった一方、IVG濃度は重症例での上昇が著明であった。

ろ紙血中MMA濃度測定では、保存されていたメチルマロン酸血症患者検体での濃度は24-252 nmol/mlであり、健常対照者での濃度 (0.34 ± 0.11 nmol/ml) とは明らかな差が見られた。平成21年度に発見されたビタミンB₁₂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。

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を採用し、血清での直接精密検査によりCPT2欠損症患者が発見された。

末梢リンパ球を用いた脂肪酸酸化能試験が精密検査として実施され、CPT2欠損症やVLCAD欠損症の診断の確定が可能であった。

D. 考察

1. 対象疾患の選択

タンデムマス・スクリーニング対象疾患のうち、これまでわが国のスクリーニングで発見されていないのは、3-ケトチオラーゼ欠損症、3-メチルグルタコニル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であり、疾患頻度については極めて低いと考えられる。こ

れらの疾患のうちで、MSUDとHCUについては、現行のマスクリーニング対象疾患であり、その頻度は各々約1/460,000、1/1,700,000とされており、早晚発見されるものと想像されるが、MSUDに関しては軽症型は新生児期にスクリーニング指標が正常範囲に留まることも指摘されており、“見逃し例”として診断される症例もあると思われる。3-ケトチオラーゼ欠損症も、既診断れの検査値から、特に軽症例では試験研究でのスクリーニング指標では新生児期に見いだされないであろうことが指摘されている。高アルギニン血症についても同様に、新生児期ろ紙血中アルギニン濃度は上昇していない例の存在が言われており、更に治療効果についても疑問が出されている。高チロシン血症1型は、欧米で頻度が高い疾患であり、それ経験から、この試験研究で試みられているチロシン濃度上昇 (200 nmol/ml以上) 例に対するサクシニルアセトン濃度測定で確認する方法では一定の割合で見逃し例が存在するとされている。

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、検査項目を多少追加あるいは削除しても、スクリーニング指標の精度が良ければ、検査効率はほとんど変わらないので、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といえる。上記疾患の内、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリルCoAリアーゼ欠損症は希ではあるものの、新生児期にC5OHアシルカルニチン値によりスクリーニング可能であり、低血糖発作による突然死を防ぐことで治療効果もあげられることから、本スクリーニングの良い対象疾患として残しておくのが望ましい。また、マトリック ス水酸化酵素 (HAD: 以前のSCHAD) 欠損症も同様の理由で、残しておくべきであろう。しかし、“見逃し”の率が高いものについては、適切な対象疾患とは言えない。この意味で、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ので対象疾患から外すと良いであろう。グルタル酸尿症2型についても、重症

例での治療効果が少ないと考えられ、この範疇で検討されるべきであるが、重症型以外ではB₂治療や他の脂肪酸酸化異常症と同様の治療の効果が期待されるので、二次的な対象疾患としては残しておいて良いと思われる。

試験研究で発見されている疾患についても、“見逃し”率が一定程度想定される疾患がある。例えば、シトリン欠損症は、遺伝子解析による保因者検索によると疾患頻度は1/17,000と計算されているが、本スクリーニングでの発見頻度は1/74,300でしかない。シトリン欠損症の多くは新生児期に生化学的な異常を呈していないことが想像され、その中で1/43,000程度の率で乳児期早期にNICCDとして発症していると想定される。本症では、しかしながら、鋭敏な指標によりスクリーニングし発症を予め察知し発症時の適切で迅速な治療に結びつけることが期待されるので、対象疾患に含めておくことの意義はあると考えられる。

また、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT)-2欠損症/トランスロカーゼ (CT) 欠損症についても、長鎖アシルカルニチンそのものの値を指標にした場合には見逃しが一定程度存在する。しかしながら、本年発見された患者において、(C16+C18:1)/C2の指標がこうした見逃しを少なくする上で有用であることが判明した。今後このような比を指標値として検討し、さらにスクリーニング精度を上げることが出来れば適切な対象疾患となると考えられた。

このような状況下で、これまで発見されて来ている疾患の内から第1選択の対象疾患を設定し、さらに患者発見効率や治療効果の確認を行っていくべきと考えられた。

2. 軽症例に対する対応

本年も、プロピオン酸血症を中心に軽症例が発見された。プロピオン酸血症に関しては、既に治療指針私案を公表したところであり、それに基づいた対応と予後追跡調査に期待したい。

このような軽症例については、診断確定が困難である場合も想定される。本年はシトルリン血症1型の軽症例と考えられる新生児が発見された。

スクリーニング指標値からはシトリン欠損症と鑑別が困難であり、遺伝子解析での診断が必要であり、この点での精密検査体制の整備が課題である。

3MCC欠損症においても、患者の多くは軽症例と考えられ、新生児期乳児期の急性発症の可能性について適切な対応が求められるものの、長期的な神経学的な予後は良いと考えられ、実際、無症状の母親がスクリーニングの中で発見されている。新生児のスクリーニング検査で母親の疾患が発見されることは、例えば母親の自己免疫性甲状腺機能低下症においても経験されてきていることであり、母親への適切な対応が必要である。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”などの環境条件によっては症状が出てくる可能性がある状況としての説明が必要であろう。

本年発見された軽症型メチルマロン酸血症のように、母親のビタミンB₁₂欠乏による可能性も考えられる症例も存在するので、血中・尿中有機酸分析結果を踏まえて、母親のB₁₂濃度測定も検討されなければならない。

また、低カルニチン血症についても、母親の低カルニチン血症（カルニチントランスポータ異常症やグルタル酸血症1型によるものが欧米では報告されている）を確認する必要があるかもしれない。

即ち、タンデムマス・スクリーニング受検の説明文の中に、このような母親の疾患あるいは体質に関する記述が必要と考えられた。そうでなければ、敢えて母親の検査は実施しないとの規定を定める必要も検討しなければならない。

3. 精密検査法の検討

タンデムマス・スクリーニング対象疾患の確定診断や治療方針を決定するための重症度判定には、酵素活性測定や遺伝子解析が必要である。一定の対象疾患については、末梢リンパ球とHPLCを用いた簡便な酵素活性測定が広島大学小児科で実施されている。遺伝子解析についても、東北大学のオーファンネットジャパンが利用可能であるが、全ての対象疾患に対応できている訳ではない。本

年見つかったシトルリン血症 I 型患児では、研究者間の情報交換で遺伝子解析実施施設を見つけることが出来たが、システムとして整備されているとはいえない。

福井大学では、酵素活性測定が困難な脂肪酸酸化異常症の簡易診断法として、末梢リンパ球脂肪酸酸化能試験を開発し、CPT2欠損症などで一定の精度があることが判明したので、利用を進めていく予定である。

メチルマロン酸血症とプロピオン酸血症については、同じスクリーニング指標を用いるので、重症例での治療的対応に遅れが生じる可能性がある。濾紙血メチルマロン酸濃度は普及型GC/MAで測定可能であり、尿有機酸分析に利用するための機器として検査機関に設置し対応できるようにすることが期待される。

本年度も試験研究実施地域でスクリーニング精度管理や、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し、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、精度管理体制が整備されてきており、二次検査法の開発など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。対象疾患の再検討も行われており、軽症例への対応も考慮した検査同意書の整備も行い、更に試験研究への参加を募り規模を拡大していくことで、全国規模の新生児マススクリーニングとして行くべきと考えられた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表（研究協力者報告書に個別掲載あり）

1. 論文発表

1) 重松陽介, 畑 郁江: 非誘導体化試料調製に

よるタンデムマス・スクリーニング. 日本マス・スクリーニング学会誌. 19(1); 11-17, 2009.

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—OTC欠損症を中心として—. 日本マス・スクリーニング学会誌. 19(1); 29-32, 2009.

3) Tsuburaya R, Sakamoto O, Arai N, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Takayanagi M, Ohura T, Tsuchiya S: Molecular analysis of a presymptomatic case of carnitine palmitoyl transferase (CPT I) deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening in Japan. *Brain Dev* (EPub). 2009.

4) 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): c.449-452delCTGA is a common mutation in Japanese patients with MCADD. *Mol Genet Metab.* 96(2); 77-79, 2009.

5) 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, 重松陽介, 平岡政弘: 短鎖3-ヒドロキシアシル-CoA脱水素酵素欠損症と遺伝子診断した1例. 日本小児科学会雑誌. 113(11); 1705-1710, 2009.

2. 学会発表

1) Shigematsu Y, Hata I: Useful methods for second-tier analysis in newborn screening of isovaleric acidemia and methylmalonic acidemia by tandem mass spectrometry. 7th International Congress Inborn Errors of Metabolism and Neonatal Screening. 2009, 12. Cancun, Mexico.

2) 重松陽介, 畑 郁江: パイロットスタディか

- ら見たタンデムマス新生児スクリーニングの重要性と今後の課題. シンポジウム「タンデムマスによる新生児スクリーニングシステムの全国展開—採血から検査, 精査, 診断, 治療システムの基盤整備に何が必要か—」. 第36回日本マス・スクリーニング学会. 2009, 8. 札幌.
- 3) 渡辺倫子, 鈴木恵美子, 原田正平, 加藤忠明, 松井 陽, 福士 勝, 鈴木 健, 山上祐次, 小田切正昭, 安片恭子, 石山 洋, 稲岡一考, 重松陽介, 小林弘典, 田崎隆二. タンデムマススクリーニングにおける制度管理の検討 (第2報). 第36回日本マス・スクリーニング学会. 2009, 8. 札幌.
 - 4) 重松陽介, 畑 郁江: タンデムマススクリーニング二次検査法としてのGC/MSによるろ紙血中メチルマロン酸分析. 第36回日本マス・スクリーニング学会. 2009, 8. 札幌.
 - 5) 但馬 剛, 佐倉伸夫, 津村弥来, 原 圭一, 白尾謙一郎, 岡田 賢, 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: 広島県におけるタンデムマス新生児スクリーニング10年間の経験. 第36回日本マス・スクリーニング学会. 2009, 8. 札幌.
 - 6) 重松陽介, 畑 郁江, 稲岡一考, 野町祥介, 石毛信之: タンデムマススクリーニングにおける対象疾患診断過程における進展. 第34回日本医用マススペクトル学会. 2009, 9. 大阪.
 - 7) 堀川玲子, 中村公俊, 大浦敏博, 重松陽介, 依藤 亨, 笠原群生, 伊藤秀一, 斉藤昭彦, 遠藤文彦: 尿素サイクル異常症, 有機酸代謝異常症, 肝型糖原病における肝移植治療指針の作成. 第51回日本先天代謝異常学会. 2009, 11. 東京.
 - 8) 重松陽介, 畑 郁江, 但馬 剛, 内藤悦雄, 大浦敏博: 重水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2報). 第51回日本先天代謝異常学会. 2009, 11. 東京.
 - 9) 金澤正樹, 加藤いずみ, 眞山義民, 村山 圭, 長坂博範, 高柳正樹, 坂本 修, 松原洋一, 重松陽介: 一過性の高トリグリセリド血症を呈したカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症の1例. 第51回日本先天代謝異常学会. 2009, 11. 東京.
 - 10) 白尾謙一郎, 但馬 剛, 佐倉伸夫, 畑 郁江, 重松陽介: SCAD欠損症のpathogenesisの検討. 第51回日本先天代謝異常学会. 2009, 11. 東京.
 - 11) 山本晶子, 松本志郎, 岩井正憲, 三淵 浩, 遠藤文夫, 重松陽介, 但馬 剛: 日齢2に心室細動で発症し救命できたVLCAD欠損症の1例. 第51回日本先天代謝異常学会. 2009, 11. 東京.
 - 12) 重松陽介: わが国におけるタンデムマス・スクリーニング試験研究の現状と課題. シンポジウム「タンデムマス導入による新生児マススクリーニングの新時代」. 第51回日本先天代謝異常学会. 2009, 11. 東京.
 - 13) 重松陽介: タンデムマス・スクリーニングにおける対象疾患とそのスクリーニング法. 第51回日本先天代謝異常学会. 2009, 11. 東京.
- H. 知的所有権の取得状況 なし

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

札幌市における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4年7か月の実績とこれから

研究要旨

札幌市では2005年4月から、タンデムマスによる新生児マス・スクリーニングを研究的に開始した。2009年10月まで、73,665人（希望率98.7%）を検査し、221例（0.30%）を要再採血、18例を要精査とし、精査となった18例のうち10例を患者と診断した。患者の内訳はプロピオン酸血症5例、カルニチントランスポータ異常症2例、グルタル酸尿症Ⅱ型1例、MCAD欠損症1例、VLCAD欠損症1例であった。うち1例は亡くなったが、他の9例は治療により良好に経過している。これまで、尿中有機酸検査を中心とした補助診断体制の構築、倫理環境の整備、追跡調査体制の整備等を並行して検討してきたが、今後は、加えて事業として検査レベルを維持する恒常的なシステムの構築と、追跡調査による有用性の評価の継続が必要である。

研究協力者

野町 祥介、雨瀧 由佳、花井 潤師、
福士 勝、矢野 公一（札幌市衛生研究所）
窪田 満（手稲溪仁会病院小児科）
長尾 雅悦（国立西札幌病院小児科）

「タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングの研究実施要領」に従い、保護者からインフォームド・コンセントを取得した新生児75,665例とした。検査は既報に従い行った¹⁾。

追跡調査は2005年度から2008年度までに札幌市で小児慢性疾患登録事業において登録があり、かつ医療意見書において追跡調査の同意が取得できたものを対象とした。追跡調査は医療意見書の情報を、新生児マス・スクリーニングのデータベースと照合することで行った²⁾。

補助診断の有用性の検討は、精査例を対象に、精査医療機関からの依頼に基づき、尿中有機酸GC/MS検査等の特殊検査により行った。

A. 研究目的

従来の6疾患を対象とした新生児マス・スクリーニングに、タンデム質量分析計を導入することで、新たに脂肪酸β酸化異常症群、有機酸血症、尿素サイクル異常症を見出し、後の治療とあいまって児の健全な成長に貢献し、スクリーニング事業の効果を高めることが可能かを検討する。また適切な対象疾患とカットオフ値についても検討を行うとともに、本検査を実施するための、診断・治療・追跡調査体制、倫理環境を整備し、新しい時代の新生児マス・スクリーニングとしてのシステムを構築する。

C. 研究結果

18例を精査とし、プロピオン酸血症5例、カルニチントランスポータ異常症2例、グルタル酸尿症Ⅱ型1例、MCAD欠損症1例、VLCAD欠損症1例の計10例が見出された（表）。プロピオン酸血症例は、カルニチン投与と特殊ミルク等により治療され、軽度な血中アンモニアの上昇を認める

B. 対象と研究方法

検査の対象は、2005年4月以降、札幌市の要領

表 2005. 4～2008. 10 札幌市のタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニング精査例

年度	初回検査結果		再採血検査結果		フォロー化学診断結果※	確定診断名・遺伝子型
	日 齢	タンデム質量分析計による血中アシルカルニチン、アミノ酸の検査	日 齢	タンデム質量分析計による血中アシルカルニチン、アミノ酸の検査		
2005	5	C14:1; 0.5nmol/ml			異常所見なし	一過性の高値
	5	C5; 3.7nmol/ml			異常所見なし	抗生剤の影響による偽陽性
	4	COH; 8.1nmol/ml	11	COH; 7.5nmol/ml	異常所見なし	一過性の低値
2006	5	C10; 1.0nmol/ml (C8; 0.6nmol/ml)			尿中有機酸 Glutaric, Adipic, Sebacic, Isovalerylglycine 高値	グルタル酸尿症Ⅱ型 ETFDH遺伝子 A360P / Y507D
	4	COH; 6.0nmol/ml	11	COH; 6.8nmol/ml	カルニチンクリアランス 試験 RRFC 85%	カルニチントランスポー タ異常症 OCTN2遺伝子 S467C / S467C
	4	C3/C2; 0.30 (C3; 6.9nmol/ml)	12	C3/C2; 0.51 (C3; 5.9nmol/ml)	尿中有機酸 Methylcitric 高値 尿中アミノ酸 Gly 高値	プロピオン酸血症 PCCB遺伝子 I430L / Y435C
	4	C3/C2; 0.29 (C3; 8.9nmol/ml)	12	C3/C2; 0.50 (C3; 12.7nmol/ml)	尿中有機酸 Methylcitric 高値 尿中アミノ酸 Gly 高値	プロピオン酸血症 PCCB遺伝子 Y435C / Y435C
2007	4	C3/C2; 0.44 (C3; 11.2nmol/ml)			尿中アミノ酸 Gly 高値	プロピオン酸血症 PCCB遺伝子 Y435C / Y435C
	4	C3/C2; 0.31 (C3; 8.5nmol/ml)	22	C3/C2; 0.39 (C3; 5.2nmol/ml)	尿中有機酸 Methylcitra, 3-OH-propionic, 3-OH- butyric, Acetoacetic 高値 尿中アミノ酸 Gly 高値	プロピオン酸血症 PCCB遺伝子 Y435C / ?
	5	COH; 6.6nmol/ml	21	COH; 6.7nmol/ml	カルニチンクリアランス 試験 RRFC 65%	カルニチントランスポー タ異常症 OCTN2遺伝子 S467C / ?
	4	Cit; 46.8nmol/ml	12	Cit; 101.6nmol/ml	異常所見なし	(フォロー中)
2008	9	C8; 1.5nmol/ml (C8/C10; 4.75)	29	C8; 0.9nmol/ml (C8/C10; 8.43)	尿中有機酸 Suberic 軽 微高値	中鎖アシルCoA脱水素酵素 (MCAD)欠損症ACADM遺伝 子 449-452delCTGA / Q45R
	4	C3/C2; 0.32 (C3; 3.0nmol/ml)	9	C3/C2; 0.33 (C3; 2.8nmol/ml)	異常所見なし	一過性の高値
2009	49	C5OH; 1.3nmol/ml COH/(C16+C18); 71	59	C5OH; 1.2nmol/ml COH/(C16+C18); 111	異常所見なし	大動脈弓離断による一過 性の異常
	4	C14:1; 1.1nmol/ml			異常所見なし	(フォロー中)
	5	C14:1; 0.6nmol/ml	18	C14:1; 0.6nmol/ml	異常所見なし	極長鎖アシルCoA脱水素酵 素(VLCAD)欠損症
	6	C3/C2; 0.27 (C3; 4.6nmol/ml)	15	C3/C2; 0.47 (C3; 6.2nmol/ml)	尿中有機酸 Methylcitric, 3-OH-propionic, 3-OH- butyric, 高値	プロピオン酸血症 PCCB遺伝子 I430L / Y435C
	5	C10; 0.9nmol/ml (C8; 0.4nmol/ml)			異常所見なし	母の極端な栄養不足によ る一過性の高値

Cit; citrulline COH; free carnitine C2; acetyl carnitine C3; propionyl carnitine C5; isovaleryl carnitine C5OH; 3-OH-isovaleryl carnitine C8; octanoyl carnitine C10; decanoyl carnitine C14:1; tetradecanoyl carnitine C16; palmitoyl carnitine C18; steroyl carnitine RRFC; Renal reabsorption rate for free carnitine
 ※ 尿中アミノ酸分析は2008年中旬以降実施していない

例があったが、いずれも症状は軽微で、経過は良好だった³⁾。カルニチントランスポータ異常症例はカルニチン投与等により治療された。うち1例は精査受診時、1日数回の嘔吐と痙攣があり、血中アンモニアが224 μ g/dlであったが、疾患の確定

による治療開始とともに様態を大きく改善することができた⁴⁾。グルタル酸尿症Ⅱ型例は、ただちにビタミンB₂、重曹投与等により治療開始したが、重篤な新生児型であったため、生後2か月で死亡した。MCAD欠損症例、VLCAD欠損症例は、と

もにカルニチン、MCTミルク等により治療され、経過は良好である。

追跡調査では、見逃し例の報告がないことを確認した。

補助診断法については、プロピオン酸血症では尿中メチルクエン酸、グルタル酸尿症Ⅱ型では尿中ジカルボン酸群が有用な指標であった。またカルニチントランスポータ異常症では、尿中アシルカルニチン測定によるカルニチンクリアランス試験が有用であった。一方で、MCAD欠損症、VLCAD欠損症では、有用な補助診断指標に乏しく、遺伝子解析等による確定診断を経る必要があった。

D. 考察と結論

札幌市のタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングでは、およそ7,400人に1人の発見頻度で10例の患児を見出し、うち9例が良好に治療されている。精査数から求められる陽性反応適中率 (Positive Predictive Value) は、およそ56%と良好であった。また、再採血率も0.30%程度であり、十分に効率的で効果的な母子保健事業となりうることが示唆された。今後、本検査を恒常的に実施するため、事業化を行う方向で検討する。対象疾患は厚生労働省科学研究・研究班により示された一次対象疾患⁵⁾に加え、治療効果の高かったカルニチントランスポータ異常症と、MCAD欠損症と共通の指標により見出されるグルタル酸尿症Ⅱ型等を加えたい。

現行の追跡調査は、小児慢性疾患登録事業未申請分や市外転出者を把握できない欠点があり、早くに全国的なシステムが構築されることを望む。

尿中有機酸検査等による補助診断のための検査は、疾患によってその有用性が異なった。脂肪酸β酸化異常症群の早期診断のために、今後は酵素活性測定法⁶⁾の導入等について検討する。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 野町祥介, 雨瀧由佳, 花井潤師, 福士 勝, 矢

野公一: 血中フリーカルニチン・アシルカルニチンの採血日齢との関連性について. 日本マス・スクリーニング学会誌 投稿中

2. 学会発表

- 1) 野町祥介, 雨瀧由佳, 花井潤師, 福士 勝, 矢野公一: 血中フリーカルニチン, アシルカルニチンの採血日齢との関連性について. 第36回マス・スクリーニング学会. 札幌, 2009.
- 2) 雨瀧由佳, 野町祥介, 花井潤師 他: タンデム検査で偽陽性を生じる抗生剤使用の問題点とその対応について. 第36回マス・スクリーニング学会. 札幌, 2009.

F. 文献

- 1) 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アミノ酸・アシルカルニチンの一斉分析ー現行ブチル誘導体化法との比較ー. 札幌市衛生研究所報, 34, 37-47, 2007.
- 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) 長尾雅悦, 白石秀明, 斉藤伸治 他: 新生児タンデムマススクリーニングにより発見されたカルニチントランスポータ異常症の診断と治療. 日本先天代謝異常学会雑誌, 24, 95, 2008.
- 4) 窪田 満, 竹田優子, 木田和宏: タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングで発見されたプロピオン酸血症. 特殊ミルク情報, 43, 32-35, 2007.
- 5) 厚生労働研究科学研究・研究班: 新しい新生児マススクリーニング タンデムマス Q&A 2009.
- 6) 但馬 剛, 佐倉伸夫: HPLCを用いた有機酸・脂肪酸代謝異常症の迅速酵素診断. 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(3), 27-32, 2006.

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

研究要旨

東京では2005年12月からの4年間のタンデム質量分析計（MS/MS）による新生児スクリーニングの試験研究でおよそ59,000人の新生児を検査して10名の患児を発見した。そのうち5名が有機酸・脂肪酸代謝異常症の患児であったが、これらMS/MSによるパイロットマス・スクリーニングの協力病院で出生した症例はいずれも無症状で発見され、その後、順調に発育・発達している。これに対し、本パイロットスクリーニングに参加していない地域で出生し、有機酸・脂肪酸代謝異常症を疑う症状が現れてから診断された患児2例（イソ吉草酸血症ならびに中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症）は発症時に重篤な経過をとっていた。患児の予後の向上のためには、新生児期にMS/MSで無症状のうちに発見し、速やかに診断し、治療できる体制の構築が求められ、その必要性について研究した。

研究協力者

北川 照男（財東京都予防医学協会理事長）
石毛 信之（財東京都予防医学協会小児スクリーニング科主査）
穴澤 昭（財東京都予防医学協会上科長）
鈴木 健（財東京都予防医学協会参与）
石毛 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）

現れてから検査の依頼を受けて診断された患児の治療経過の比較。

4) 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。

A. 研究目的

我々は、MS/MSを用いてアミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症のマス・スクリーニングとハイリスクスクリーニングを施行し、次の項目について研究した。

- 1) MS/MSによる有機酸・脂肪酸代謝異常症の4年間のマス・スクリーニング成績。
- 2) 今年度に発見した症例のスクリーニングから診断確定に至るまでの検査とその分析結果で異常値が得られた場合の対応。
- 3) 本パイロットマス・スクリーニングで発見され、診断が確定した患児の治療経過と、症状が

B. 対象および研究方法

1) 対象：本会でマス・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による新生児スクリーニング試験研究に参加することを同意した20施設から送付された58,410名のろ紙血液、ならびに有機酸・脂肪酸代謝異常症を疑う症状が現れてから検査の依頼を受けた症例（ハイリスク症例）927例を対象とした。

2) 方法：MS/MSはWaters Quattro micro API（Waters）を使用し、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。（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) マス・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306例(0.52%)であった。精密検査の対象となったものは31例(0.05%)で、そのうち10例が患者と診断され、その内訳はプロピオン酸血症(PA)1例、中鎖アシルCoA脱水素酵素(MCAD)欠損症2例、3-メチルクロトニルグリシン尿症(3-MCC)1例、極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症1例、Citrin欠損症3例、高フェニルアラニン血症2例で、これらのうち有機酸・脂肪酸代謝異常症例5例の発見頻度はおよそ1万2千人に1人の割合であった。

表1. 2005年~2009年までのスクリーニング成績

● 検査数	58,410
● 再採血依頼	306/58,410 (0.52%)
● 精査数	31/58,410 (0.05)
● 発見患者数	10/58,410 (0.02)
PA	1
MCAD欠損症	2
3-MCC	1
VLCAD欠損症	1
Citrin欠損症	3
HPA	2

2) 2009年4月にVLCAD欠損症1例を発見した。本症例はろ紙血液でC14:1が初回0.71、2回目0.57nmol/mL (cut off値: 0.40)と高値を示したので、3回目の検査でろ紙血液と同時に血清も採取し、ともに本会で検査した。その結果、C14:1値はろ紙血液ではカットオフ値未満の値となったが、血清では0.48nmol/mL (cut off値: 0.20)と高値を示したのでVLCAD欠損症を疑って精査とし、島根大学で確定診断のための検査を施行していただいた結果、本症と診断された。

3) スクリーニングで発見された症例の経過

パイロットマス・スクリーニングで発見された有機酸・脂肪酸代謝異常症5例はいずれも無症状のうちに発見され、主治医の適切な治療のもとで順調に発育、発達しているとの連絡を受けている。

3-1) PAの経過: 本症例は日齢7日目に出生し

た病院の新生児科で血中アンモニアを測定され、 $322\mu\text{g/dL}$ と上昇したが、出生した病院と転院先の治療した病院の連携で速やかに急性期を離脱できた。その後、RSウイルス感染で入院したこともあったが、適切な治療によって速やかに低下して症状は徐々に改善し、入院後16日目に退院し、順調に経過していると主治医から連絡を受けている。

3-2) MCAD欠損症2例の経過: これらのうち一例はアシルカルニチンの値が軽度上昇にとどまっており、もう一例は高値を示した症例であった。ともに出生時から現在に至るまで適切な治療により、成長・発達ともに良好に経過しているとの連絡を受けている。両者ともに咽頭炎で発熱して入院し、ごく軽度の食欲低下がみられたが、医師の適切な管理の下で重篤な症状を呈することなく3日で退院できたとのことである。

3-3) VLCAD欠損症の経過: 前記のVLCAD欠損症においても、出生から現在に至るまで特記すべき事項はなく、metabolic crisisを来すことなく順調に経過しているとのことである。

4) ハイリスク症例のうち、重篤な経過をとったイソ吉草酸血症(IVA)とMCAD欠損症について報告する。これらはMS/MSで本パイロットマス・スクリーニングに参加していない地域で出生した症例である。

4-1) IVA症例の診断にいたるまでの経過(図1): 日齢10でろ紙血液の検査依頼時に、血中アンモニアが $1,300\mu\text{g/dL}$ 以上との連絡を受けた。MS/MSによる検査の結果、C5が著増しており、本症が強く疑われたので、主治医に緊急連絡した。その翌日に主治医から、千葉県こども病院の高柳先生に依頼した尿中有機酸分析の結果、IVAと診断が得られたとの連絡を受けた。後日、主治医の依頼で、新生児期のろ紙血液を検査したところ、新生児期においてもC5が明らかな異常値を示していた。主治医の話によると、患児は現在も入院しており、状態不良で慎重に経過を観察しているとのことである。

4-2) MCAD欠損症例の診断にいたるまでの経

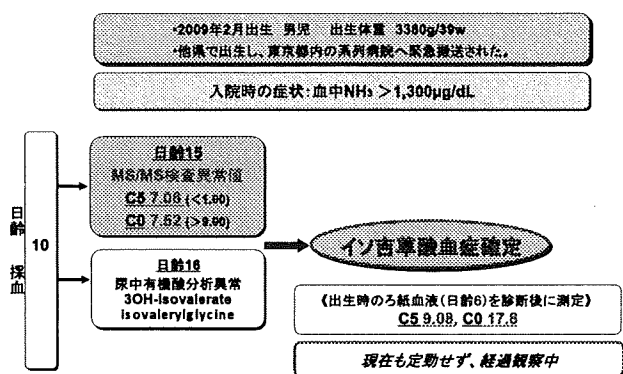


図1. 臨床症状が現れた症例1：イソ吉草酸血症

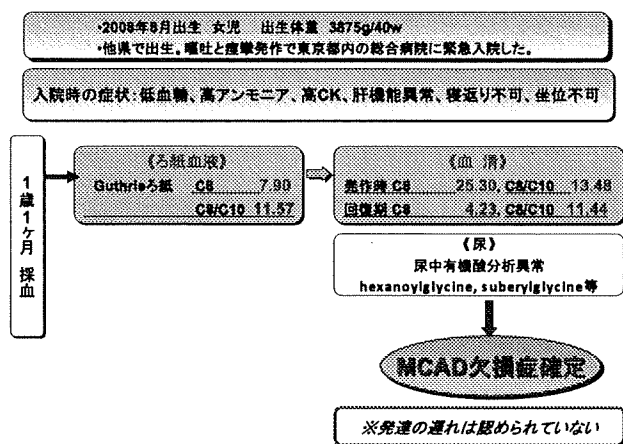


図2. 臨床症状が現れた症例2：MCAD欠損症

過(図2)：症例は13ヶ月女児で、嘔吐を繰り返して痙攣をきたし、都内の病院に入院した。その時には低血糖、高アンモニア血症、寝返りがうてないなどの重篤な症状があらわれ、主治医から急性期のろ紙血液でMS/MSの検査依頼を受けた。検査の結果、C8、C8/C10の著明な上昇がみられたため、本症を疑って精査した。血清のアシルカルニチンは本会で測定し、尿中有機酸分析は島根大学に分析依頼した。その結果、血清C8、C8/C10の著しい高値、尿hexanoylglycine、suberylglycineの排泄増加がみとめられ、MCAD欠損症と診断された(その後、島根大学で施行した末梢リンパ球培養によるβ酸化能試験でもC8、C8/C10の上昇がみられ、ACDAM遺伝子の変異も確認された)。本症例は発達も発作以前と同等の月齢相当にまで回復し、現在は外来フォローとなり、発達の遅れや低血糖発作は認められていないとのことである。

D. 考察

長鎖脂肪酸代謝異常症が疑われる場合には、ろ紙血液のみで再採血を繰り返すだけでは見逃される可能性があることが指摘されているが、我々の経験でも同様の知見を得た。そのためVLCAD欠損症のような疾患が疑われる場合には、スクリーニング施設においても血清や尿のアシルカルニチン分析をすることが必要と考えられた。

本パイロットマス・スクリーニングで発見された有機酸・脂肪酸代謝異常症5例は全て無症状のうちで発見されて、出生からこれまで大きな障害もなく順調に発育・発達している。これに対し、症状が現れてから検査して診断された症例では、現在に至るまで状態が不良であったり、発症時に重篤な経過をとった症例があった。これらの経験から患者予後の向上のためにはMS/MSによる有機酸・脂肪酸代謝異常症の新生児スクリーニングが全国的に導入され、無症状のうちで発見して早期に診断し、迅速に適切な治療を行う体制の構築が望まれる。

E. 結論

患者予後の向上のためには、発症前の新生児期にMS/MSでスクリーニングし、疾患が疑わしいものについてはスクリーニング施設と出生病院の担当医師や指導医、専門医が連携して早期に診断と治療にあたる必要があると、これを目的とした全国的なネットワークの構築ならびに診断された症例のフォローアップ体制の確立が望まれる。

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20産科施設の先生方、ならびに関係各位、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、小林弘典先生、長谷川有紀先生、虫本雄一先生、福井大学医学部看護学科重松陽介教授、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—第2報—. 日本先天代謝異常学会誌 25(2): 113, 2009.
- 2) 鈴木 健 他. 東京都におけるMS/MSによる新生児マススクリーニング成績—第二報—. 日本マス・スクリーニング学会誌 19(2): 162, 2009.

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 北川照男. 第50回日本先天代謝異常学会開催を記念して—本学会から世界に発信した日本の業績に触れながら—. 日本先天代謝異常学会誌 25(1): 3-26, 2009.
- 2) 北川照男. PKUの予後を向上させた人々と患者達. 日本マス・スクリーニング学会誌

19(3): 109-115, 2009.

2. 学会発表

- 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—第2報—. 日本先天代謝異常学会, 東京, 2009.
- 2) 鈴木 健 他. 濾紙血液を用いたライソゾーム病ハイリスクスクリーニング. 日本先天代謝異常学会, 東京, 2009.
- 3) 鈴木 健 他. 東京都におけるMS/MSによる新生児マススクリーニング成績—第二報—. 日本マス・スクリーニング学会, 北海道, 2009.

I. 知的所有権の取得状況

特になし

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

タンデムマスを用いた大阪府の新生児スクリーニングシステム

研究要旨

大阪府立母子保健総合医療センターでは、タンデムマス分析計（LC/MS/MS）を用いた新しい新生児スクリーニングのパイロットスタディを、平成19年4月より行政的に開始し平成21年12月までに、保護者の同意の得られた156,404件の新生児に対して分析を実施した。われわれは、施設内外に指導医を持ち、複数の自治体から受理した年間5万件を超える検体を、複数のタンデムマス（LC/MS/MS）を用いて分析し、その成果を専門的に評価する先天性代謝異常等検査運営協議会を有するなど、本研究で示された新生児スクリーニング実施施設基準を満たす機関であるので、その3年間のパイロットスタディの現状を報告する。

研究協力者

稲岡 一考（大阪府立母子保健総合医療センター）
 竹島 清美（大阪府立母子保健総合医療センター）
 笠原 敏喜（大阪府立母子保健総合医療センター）
 中山 雅弘（大阪府立母子保健総合医療センター）
 和田 芳直（大阪府立母子保健総合医療センター）
 重松 陽介（福井大学医学部看護科・小児科）
 山口 清次（島根大学医学部小児科）

トスタディへの同意率はおおよそ98%で、LC/MS/MS導入から本報告書作成までの2年9ヶ月間に156,404件の新生児に新しい項目のスクリーニングを実施した。

平成21年4月からは、大阪市所管地域においても同様にLC/MS/MSを用いた新しいスクリーニングが大阪府環境保健協会により開始されたため、

表1. パイロットスタディ実施件数

期 間	大阪府所管		堺市所管	
	同意数	率	同意数	率
H19.04-H20.03	45,756	94.7%	6,088	98.1%
H20.04-H21.03	46,500	97.5%	6,294	99.1%
H21.04-H21.12	45,853	97.8%	5,923	99.4%
合 計	138,099 件		18,305 件	

A. はじめに

大阪府立母子保健総合医療センター（以下府立母子医療センター）検査科では、大阪府所管、堺市所管両地域（大阪市を除く大阪府下全域）のおおよそ年間5万5千件の新生児のスクリーニング検査を行なっている。

平成19年4月より、新生児スクリーニング検査のうちアミノ酸3疾患（PKU、MSUD、HCU）の分析装置を、高速液体クロマトグラフィ（HPLC）から、タンデムマス分析計（LC/MS/MS）へ変更し、加えて保護者の同意の得られた検体については、有機酸代謝異常症・脂肪酸β酸化異常症・尿素サイクル異常症などの新しいスクリーニングのパイロットスタディを行政的に開始した。従来からの新生児スクリーニング検体数に対するパイロ

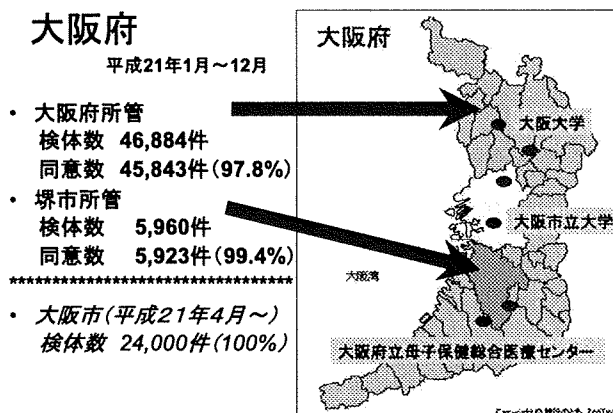


図1. 大阪府の新生児スクリーニング

現在大阪府下全域で、新しい新生児スクリーニングを保護者が希望すれば受検できる体制が整った。(図1)

B. パイロットスタディ開始までの経緯

1. 分析機器のリース化

日々進歩する新しい分析法へ対応するために、使用する高額検査機器のリース契約化を進め、検査法の選択には、技術論を優先できる体制を整えた。このような機器のリース化は、事務面においても購入費用の均等分散化に利点がある。

2. 非誘導体化法の検討

試薬コストとマンパワーの軽減を目的に、新たに開発された非誘導体化分析法を採用することで、LC/MS/MS導入の可能性を模索した。また、スクリーニング検査の多量検体数を処理するためには、分析器を複数台利用することが避けられないため、コストパフォーマンスに優れた小型機の能力で非誘導体化分析が可能か否かを検討した。

3. 現行アミノ酸代謝異常症への導入検討

LC/MS/MSの導入には、現行の新生児スクリーニング項目であるアミノ酸代謝異常症3疾患(PKU、HCU、MSUD)の検査法変更から着手すべきと考え、Phe、Tyr、Met、Leu、Valの分析結果についてHPLC法とLC/MS/MS法の比較検討を行った。

4. 院内倫理委員会での承認

上記基礎検討結果とパイロットスタディ実施計画を府立母子医療センター倫理委員会(以後倫理委員会)に提出し、施設の方針としてLS/MS/MS導入の承認を得た。

5. 大阪府運営協議会での承認

大阪府に設置されている大阪府先天性代謝異常等検査運営協議会(以降運営協議会)において大阪府の方針として新生児スクリーニング検査へのLC/MS/MS導入と、パイロットスタディの開始について承認された。

6. 先天性代謝異常等検査事業実施要綱の変更

大阪府先天性代謝異常等検査事業実施要綱に記載されているアミノ酸代謝異常症の検査法を、

LC/MS/MS法に変更した。

7. パイロットスタディの方法

有機酸・脂肪酸代謝異常症などの新しいスクリーニングは、従来の正規スクリーニングとは別に保護者の同意を得るパイロットスタディとして実施することとした。検査方法の細部については、日本マススクリーニング学会や厚生労働科学研学会議での報告を参考に構築した。

7.1. 説明文

大阪府・堺市が配布している新しい新生児スクリーニングの説明書(図2)は、大きく4つの内容から構成される。

- ① 現行新生児スクリーニングについて。
- ② パイロットスタディについて。
- ③ 対象疾患の増減の可能性について。
- ④ 想定されている対象疾患名と発生頻度。

特に「対象疾患の説明」については、議論が分かれたが、専門的にならざるを得ない詳しい説明を避け、わかりやすい必要最低限の説明にする方が、保護者の理解を得る事ができると最終的に判断された。

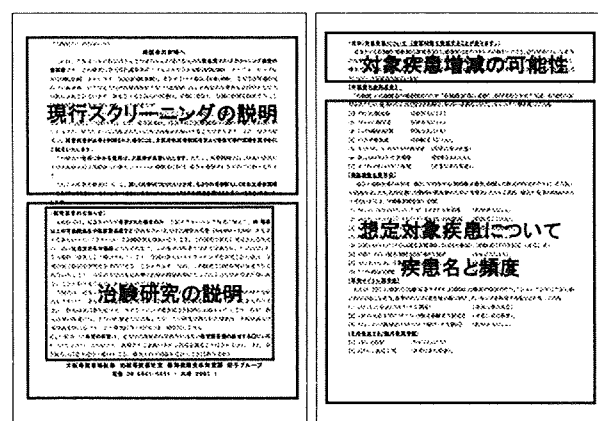


図2. 新生児スクリーニング説明書

7.2. 同意書

同意書(図3)は、宛先が行政機関の首長(大阪府知事、堺市長)と、検査施設長(府立母子医療センター総長)の連記で

- ① 保護者控え
- ② 採血医療機関控え
- ③ 検査室(府立母子医療センター)控え
- ④ 大阪府健康医療部保健医療室控え

の4枚複写になっている。

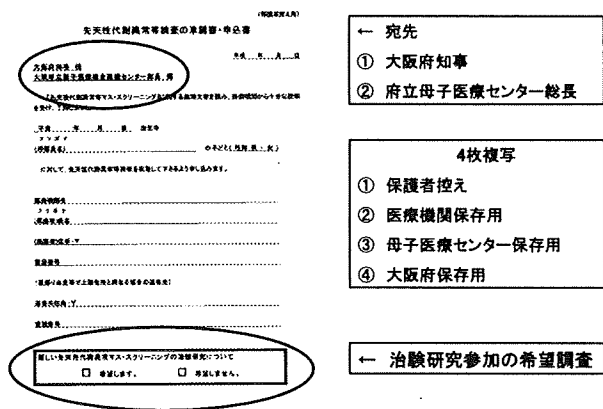


図3. 申込書・同意書

8. 組織

われわれは、従来から採血医療機関、大阪府保健医療室、院内各診療科、精査機関（大阪大学医学部、大阪市立大学医学部など）、他自治体のスクリーニング検査施設と密接に連絡を取りながら検査を実施している。加えて、LC/MS/MSを用いた新しいスクリーニングに関しては、施設内研究所、福井大学医学部、島根大学医学部の指導を仰ぎ、施設内にSIDS・質量分析・遺伝疾患を専門とする各分野のコンサルタント医との相談体制を確立することができた。

また、そのスクリーニング成果は、組織外有識者を含めた専門家を委員とする府運営協議会によって、再採血率、精査率、発見率から精密検査結果にいたるまで評価され、より良いスクリーニングシステムに向けた発展的検討が定期的に行われている。（図4）

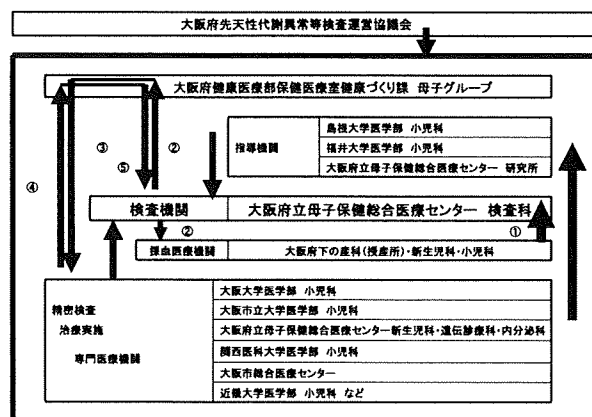


図4. 大阪府の新生児スクリーニング組織

C. 結果

平成19年4月1日から、平成21年12月31日まで

の2年9ヶ月の期間に、保護者の同意の得られた156,404件の新生児のLC/MS/MS分析を行い、疾患の疑われた79名に精密検査を実施した（精査率0.05%）。確定された診断名は（表2）に示したとおりであるが、現在経過観察中の症例も多く含まれるため、最終診断される疾患はこの表より増加するものと思われる。

表2. タンデムマス導入後の精査状況
（平成19年4月～平成21年12月）

対象疾患名	頻度（件）
フェニルケトン尿症	1
高フェニルアラニン血症	11
高チロシン血症	1
一過性高チロシン血症	1
高メチオニン血症	1
全身性カルニチン欠乏症	2
プロピオン酸血症	2
メチルマロン酸血症	2
グルタル酸血症Ⅱ型	1
シトルリン血症	1
シトリン欠損症	5
SCAD欠損症	4
VLCAD欠損症	1
経過観察中	30
その他の疾患	1
正 常	15
合 計	79

これらスクリーニング陽性例には、新生児スクリーニングが不得意とする状況、すなわち自治体単位で実施され、検体提出に郵送を用いる現行システムでは手遅れになり得る状況にありながら、早期治療の成果の得られた症例が数例含まれるので、その詳細を報告する。

1. 里帰り分娩例（グルタル酸血症Ⅱ型）

出生体重2,976g男児。里帰り分娩にて、大阪府下の病院でスクリーニング検査受検。LC/MS/MS分析で、アシルカルニチンの広範囲な上昇を認めたため、他県帰宅先へ連絡。同時に病院間の連絡で居住地近くの市民病院受診手続きを行い精密検査実施、頭囲拡大が指摘された。その後、島根大学医学部での有機酸分析にてグルタル酸血症Ⅱ型と診断された。（表3、図5）

2. 緊急搬送例（シトルリン血症）

出生体重2,812g男児。生後4日、意識障害に

表3. グルタル酸血症Ⅱ型の分析結果

物質名	H		判定基準	物質名	H		判定基準
	20.3.18	20.3.31			20.3.18	20.3.31	
Val	113.7	126.9	> 250	C5	1.11	0.86	> 0.70
Leu+Ile	226.4	216.1	> 350	C5OH	0.14	0.21	> 0.70
Met	24.9	31.8	> 80	C5DC	0.15	0.18	> 0.25
Phe	41.5	40.1	> 180	C6	0.69	0.97	> 0.30
Cit	12.8	18.8	> 38	C8	0.66	0.76	> 0.30
Tyr	58.4	72.9	> 350	C10	1.01	1.08	> 0.35
C0	31.4	48.6	< 10.0	C12	2.65	2.35	> 0.40
C2	23.1	20.0		C14	2.47	1.34	> 0.50
C3	1.30	2.19	> 3.50	C14:1	1.22	0.85	> 0.40
C4	0.65	0.98	> 1.00	C16	5.24	2.40	> 6.00
C4OH	0.13	0.07	> 0.23	C18:1	4.29	2.34	> 3.00

単位 (nmol/ml)

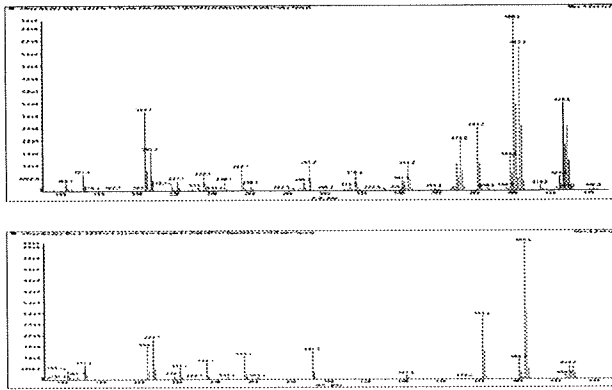


図5. グルタル酸血症Ⅱ型患児のマススペクトル (検体：血液濾紙)

て府下の病院から府立母子医療センター新生児科へ緊急搬送が行われた。入院時の緊急検査にて、高アンモニア血症 (NH₃ : 1,761 μg/dl) が指摘され、至急LC/MS/MSによる分析を実施、Cit : 1,075 nmol/ml、Met : 186 nmol/ml、Tyr : 238 nmol/mlとの結果からシトルリン血症と診断され、直ちに治療が開始された。出生医療機関で採血された同患児のスクリーニング検体の到着以前に治療が開始されており、小児専門病院で新生児スクリーニング検査を実施している効果が顕著にあらわれた症例である。(表4、図6)

3. 軽度上昇例 (VLCAD欠損症)

出生体重 3,358 g 女児。初回検体の LC/MS/MS 分析にて、C14:1 カルニチン : 0.38 nmol/ml (CutOff値 : 0.40 nmol/ml) とわずかに基準値を下回ったが、正常検体の測定値分布に比してやや高値である旨を主治医に伝え、入念にその後の対処を相談、最終的に臨床経過を観察しながら、時期をあけての再採血扱いとなった。ほぼ1ヵ月後の

表4. シトルリン血症患児の分析結果

物質名	H		判定基準	物質名	H		判定基準
	20.3.14	20.3.31			20.3.14	20.3.31	
Val	192.5		> 250	C5	0.15		> 0.70
Leu+Ile	306.0		> 350	C5OH	0.20		> 0.70
Met	185.9		> 80	C5DC	0.09		> 0.25
Phe	90.7		> 180	C6	0.11		> 0.30
Cit	1074.7		> 38	C8	0.17		> 0.30
Tyr	237.5		> 350	C10	0.30		> 0.35
C0	21.1		< 10.0	C12	0.52		> 0.40
C2	35.0			C14	0.42		> 0.50
C3	1.45		> 3.50	C14:1	0.37		> 0.40
C4	0.36		> 1.00	C16	3.33		> 6.00
C4OH	0.24		> 0.23	C18:1	2.05		> 3.00

単位 (nmol/ml)

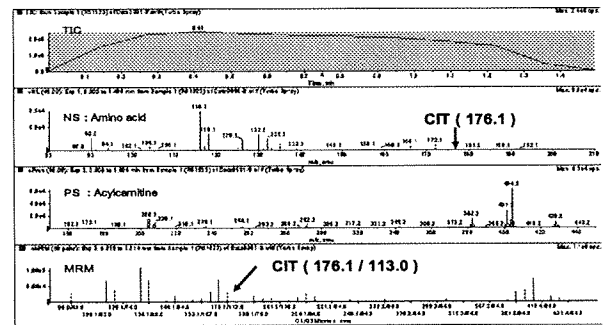


図6. シトルリン血症患児のマススペクトル (検体：血液濾紙)

表5. VLCAD欠損症患児の分析結果

物質名	H		判定基準	物質名	H		判定基準
	20.3.18	20.3.31			20.3.18	20.3.31	
Val	113.7	126.9	> 250	C5	1.11	0.86	> 0.70
Leu+Ile	226.4	216.1	> 350	C5OH	0.14	0.21	> 0.70
Met	24.9	31.8	> 80	C5DC	0.15	0.18	> 0.25
Phe	41.5	40.1	> 180	C6	0.69	0.97	> 0.30
Cit	12.8	18.8	> 38	C8	0.66	0.76	> 0.30
Tyr	58.4	72.9	> 350	C10	1.01	1.08	> 0.35
C0	31.4	48.6	< 10.0	C12	2.65	2.35	> 0.40
C2	23.1	20.0		C14	2.47	1.34	> 0.50
C3	1.30	2.19	> 3.50	C14:1	1.22	0.85	> 0.40
C4	0.65	0.98	> 1.00	C16	5.24	2.40	> 6.00
C4OH	0.13	0.07	> 0.23	C18:1	4.29	2.34	> 3.00

単位 (nmol/ml)

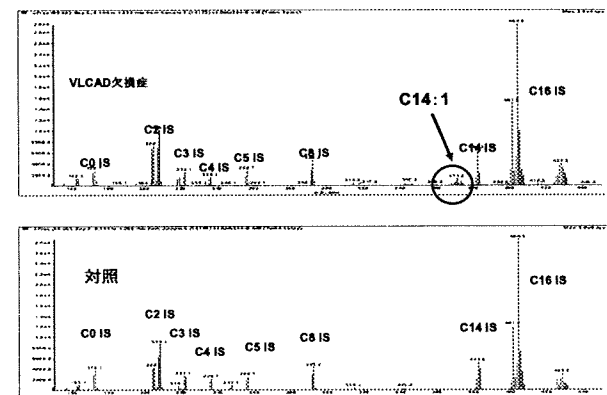


図7. VLCAD欠損症患児のマススペクトル (検体：血液濾紙)

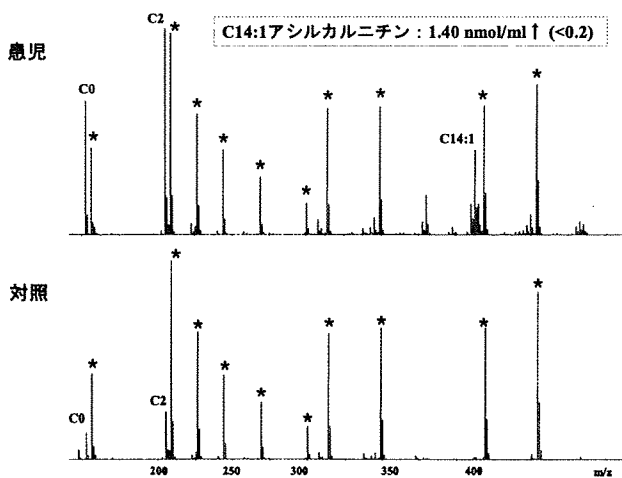


図8. VLCAD欠損症患儿のマススペクトル
(検体：血清、分析：福井大学医学部)

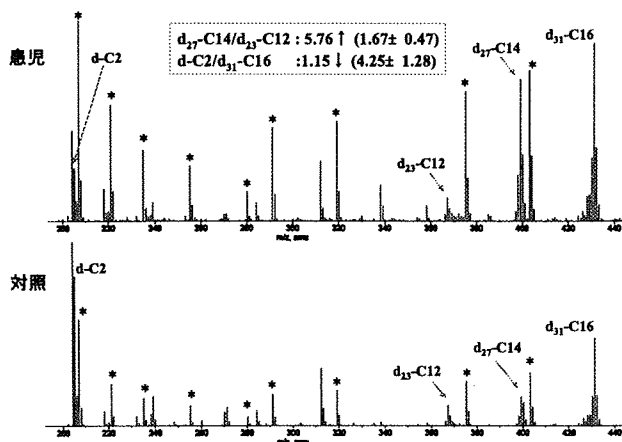


図9. VLCAD欠損症患儿
d31-C16脂肪酸負荷末梢リンパ球アシルカルニチン分析
(分析：福井大学医学部)

採血にて血液濾紙中C14:1カルニチンが0.59 nmol/mlと上昇したことを確認、大阪市立大学医学部での精査受診となった。福井大学医学部での分析では、極長鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症(VLCAD欠損症)と診断された。(表5、図7、図8、図9)。

D. 考察

新しい新生児スクリーニングが対象とする有機酸代謝異常症・脂肪酸β酸化異常症・尿素サイク

ル異常症は、希少疾患でありながら、感染症罹患などを契機に重篤な臨床症状を示す。しかし、これら疾患の日本人における発生頻度、測定物質の生理変動を含む各疾患の自然歴は未知なる部分も多い。血液濾紙を用いた分析では、生後の哺乳の確立とともに疾患の発見が困難になるとの報告もされており、カットオフ値の設定、再採血のあり方、軽症例の取り扱いなど解決すべき問題が数多く残されている。そのためには、これら臨床研究に先駆けて、検査技術の諸問題の解決、たとえばLC/MS/MS分析における内部・外部精度管理法の確立、分析手順の標準化を行い、分析値の施設間差の解消に努めなければならない。

また、このような希少疾患を対象とする新しいスクリーニング事業を円滑に行なうためには、採血医療機関、コンサルタント医を備えた検査機関、対象疾患を専門とする精査・治療機関各研究機関、それらを的確に評価検討できる自治体主導の協議会などから成るネットワークの構築が重要である。特にスクリーニングシステム内にこれらの疾患を専門とする精査・治療機関の確保し、遺伝カウンセリングも可能な体制を確立することが必要不可欠と言える。

E. 研究発表

- 1) 稲岡一考, 竹島清美, 笠原敏喜, 中山雅弘, 和田芳直, 小林弘典, 畑 郁江, 山口清次, 重松陽介: タンデムマス・スクリーニングにおける対象疾患診断過程における進展—大阪府のパイロットスタディー. 第34回日本医用マススペクトル学会. 大阪. 2009.9.

F. 知的所有権の取得状況 なし