

分担研究課題：タンデムマス診断精度向上・維持、対象疾患設定に関する研究

札幌市における 5 年 4 か月のタンデムマスによるマス・スクリーニング・パイロットスタディ結果とこれをふまえた事業化について

研究要旨

札幌市では、2005 年 4 月から希望者を対象とした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。2010 年 7 月までの 5 年 4 か月間で、保護者の希望に基づいて 86,005 名を対象にタンデムマスによる多項目検査を実施した。その結果、要再採血 242 例 (0.28%)、要精査 21 例であり、要精査 21 例中 12 例が患者と診断された。一方で、見逃し例としてプロピオン酸血症 1 例が確認された。見出された 12 例のうち、11 例は十分な治療効果が得られ良好に経過していることと、検査の感度及び精度がある程度良好なことが確認できたことから、札幌市は 2010 年 8 月よりタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングを母子保健事業として開始した。

研究協力者

野町祥介、雨瀧由佳、吉永美和、花井潤師、
高橋広夫、三觜雄（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（NHO 北海道医療センター小児科）

A. 研究目的

従来の新生児マス・スクリーニングにタンデムマスによる検査を導入することでその有用性を高める。

B. 研究方法

新生児マス・スクリーニング申込時に保護者から希望を取得することでタンデムマスによる検査を追加して行った。フォロー検査は札幌市の調査研究事業「代謝異常依頼検査システム」により、追跡調査は札幌市の当該追跡調査事業により実施した。（倫理面への配慮）

札幌市衛生研究所倫理審査委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

札幌市が実施した 5 年 4 か月間のパイロットス

タディを通じて発見された患者 12 例を表 1 に示す。見出した 12 例の患者のうち、表 1 中症例 8 は治療困難な病型であり、生後 2 ヶ月で死亡したが、他の 11 例はこれまで良好な経過を辿っている。症例 6 は産科医療機関においてアシドーシス、高アンモニアから代謝異常症を疑い、日齢 3 採血検体により当該疾患の疑いを指摘することができ、ただちに持続的血液濾過透析を中心とした特殊治療に結びつけることができた。症例 7 は日齢 4 の時点で正常値を示し、タンデムマスによる新生児マス・スクリーニングとしては「正常」の結果であったが、兄がフォロー中であったことからコンサルタント医の勧奨により再検査の機会があり、日齢 26 の検査で陽性が判明した「見逃し例」である。しかし、追跡調査において他に見逃し例に相当する報告は現在までない。札幌市では検査の有用性を認め、2010 年 8 月 1 日よりタンデムマスによる検査を調査研究事業から母子保健事業に移行した。新たに札幌市が新生児マス・スクリーニングの対象に加えた 20 疾患を表 2 に示す。

D. 考察及びその他の関連事項のまとめ

要精査 21 例中 12 例が患者だったことから陽性

反応的中率は57%と良好で、発見された12例中11例が良好な予後を辿っていることから、タンデムマスによる新生児マス・スクリーニングは公的事業として実施するだけの十分な有用性を持っていることが示された。札幌市はこれらの結果を踏まえて2010年8月1日から新生児マス・スクリーニングの対象疾患を、従来の6疾患に20疾患加えて26疾患とした。新たに対象とした疾患は厚生労働省科学研究・研究班「タンデムマス等の新技術を導入した新生児マススクリーニング体制の研究」が2009年にまとめた「タンデムマスQ&A」により1次対象疾患とされた13疾患に、札幌市のパイロットスタディで発見例に高い治療効果が認められたカルニチントランスポータ異常症、及び1次対象疾患と共通の指標で発見されるグルタル酸尿症Ⅱ型等7疾患を加えた。

事業化にあたって、(1)従来の対象疾患と異なり、重症例では十分な治療効果を得られない場合もある疾患が対象に含まれること、(2)全国的に実施されている6疾患と実施背景が異なること、(3)日本マス・スクリーニング学会等が提唱する「遺伝学的検査に関するガイドライン(<http://www.congre.co.jp/gene/11guideline.pdf>)」に従う必要があること、の3点を考慮し、札幌市衛生研究所倫理審査委員会の委員長、及び札幌市新生児・乳児連絡協議会の助言により、新規対象となった20疾患については、保護者が検査を拒否できる選択肢を申込書に設けることとした。

広報媒体としては、新たに表裏印刷された1枚もののリーフレットを作製し、市内の保健センターで母子健康手帳交付時に全ての妊婦に配布することとした。従来から使用しているパンフレットはこれまで通り市内の産科医療機関で配布することとし、このたび事業化に合わせてA5版4ページのものに内容を変更した(<http://www.city.sapporo.jp/eiken/org/health/newborn/appli.html>)。加えて札幌市の新生児マス・スクリーニングに関するホームページ(<http://www.city.sapporo.jp/eiken/org/health/newborn/index.html>)を全て改訂し、対象が26疾患であること等を明記した。これらの体制整備により新

しい新生児マス・スクリーニングが円滑に運営される環境を整備した。

陽性例については、精査医療機関の依頼に基づいて尿中有機酸検査を中心とした化学診断を実施できる体制を継続すること、また、小児慢性疾患登録事業における医療意見書を利用した追跡調査についても引き続き継続することが重要である。

E. 結論

パイロットスタディの結果を踏まえ、新生児マス・スクリーニングの対象疾患を6疾患から26疾患に拡充することで、より有用な検査を提供できる体制を確保した。

F. 健康危険情報

(該当なし)

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 野町祥介, 雨瀧由佳, 花井潤師 他: 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 20, 21-26 (2010)

2. 学会発表

1) 雨瀧由佳, 野町祥介, 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5年間の実施成績, 第37回日本マス・スクリーニング学会 2010年8月 横浜市
2) 窪田 満, 長尾雅悦, 野町祥介 他: 軽症プロピオン酸血症は発見すべき疾患か - タンデムマススクリーニング陽性例と見逃し例の検討-, 第52回日本先天代謝異常学会 2010年10月 大阪市

H. 知的財産権の出願・登録状況

(特になし)

表 1 パイロットスタディ期間中に発見された 12 症例と 1 見逃例の検査値及び遺伝子型 略称は慣例に従う

症例	疾患名	指標検査値 (採血日齢)		遺伝子型
		初回採血	2 回目採血	
1(男児)	プロピオン酸血症	C3/C2 0.30 (4) C3 6.9nmol/ml	C3/C2 0.51 (12) C3 5.9nmol/ml	<i>PCCB I430L / Y435C</i>
2(男児)	プロピオン酸血症	C3/C2 0.29 (4) C3 8.9nmol/ml	C3/C2 0.50 (12) C3 12.7nmol/ml	<i>PCCB Y435C / Y435C</i>
3(女児)	プロピオン酸血症	C3/C2 0.44 (4) C3 11.2nmol/ml		<i>PCCB Y435C / Y435C</i>
4(男児)	プロピオン酸血症	C3/C2 0.31 (5) C3 8.5nmol/ml	C3/C2 0.39 (22) C3 5.2nmol/ml	<i>PCCB Y435C / ?</i>
5(男児)	プロピオン酸血症	C3/C2 0.27 (6) C3 4.6nmol/ml	C3/C2 0.30 (15) C3 6.2nmol/ml	<i>PCCB I430L / Y435C</i>
6(女児)	プロピオン酸血症	C3/C2 0.90 (3) C3 12.7nmol/ml	C3/C2 8.81 (4) C3 122nmol/ml	<i>PCCA R347Q / IVS18+1G>A</i>
7(2の弟)見逃例	プロピオン酸血症	C3/C2 0.23 (4) C3 5.9nmol/ml	C3/C2 0.51 (26) C3 5.5nmol/ml	<i>PCCB Y435C / Y435C</i>
8(女児)	グルタル酸尿症 II 型	C10 1.0nmol/ml (5)		<i>ETFDH A360P / Y507D</i>
9(男児)	カルニチントランスポータ異常症	COH 6.0nmol/ml (4)	COH 6.8nmol/ml (11)	<i>OCTN2 S467C / S467C</i>
10(女児)	カルニチントランスポータ異常症	COH 6.6nmol/ml (5)	COH 6.7nmol/ml (21)	<i>OCTN2 S467C / ?</i>
11(男児)	MCAD 欠損症	C8 1.5nmol/ml (9) C8/C10 4.75	C8 0.9nmol/ml (29) C8/C10 8.43	<i>ACADM 449-452delCTGA / Q45R</i>
12(11の妹)	MCAD 欠損症	C8 2.9nmol/ml (5) C8/C10 10.59		<i>ACADM 449-452delCTGA / Q45R</i>
13(女児)	VLCAD 欠損症	C14:1 0.6nmol/ml (5)	C14:1 0.6nmol/ml (18)	

表 2 2010 年 8 月 1 日から札幌市が新生児マス・スクリーニング対象に加えた 20 疾患 略称は慣例に従う

疾患	指標	疾患	指標
シトリン欠損症	Cit	シトルリン血症	Cit
アルギニノコハク酸尿症	ASA	メチルマロン酸血症	C3/C2
プロピオン酸血症	C3/C2	イソ吉草酸血症	C5
グルタル酸尿症 I 型	C5DC	メチルクロトニルグリシン尿症	C5OH
マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	C5OH	3- ケトチオラーゼ欠損症	C5:1
メチルグルタコン酸尿症	C5OH	3-OH-3- メチルグルタル酸尿症 (HMG 血症)	C5OH
グルタル酸尿症 II 型	C10, C8	極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症	C14:1
中鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症	C8	長鎖 3-OH- アシル-CoA 脱水素酵素欠損症	C16OH
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)	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
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症	C16, C18	カルニチントランスポータ異常症	C0

分担研究課題：タンデムマス診断精度向上・維持、対象疾患設定に関する研究

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 — 第 7 報 —

研究要旨

東京では 2010 年 12 月までの 5 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 78,000 人の新生児を検査して 11 名の患児を発見した。そのうち有機酸・脂肪酸代謝異常症の患児は 6 名あり、これら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。これまでに、ろ紙血液に加えて血清のアシルカルニチンを測定し、確定診断に至った VLCAD 欠損症 1 例を経験しているが、さらに、本試験研究で無症状のうちに発見された他の有機酸・脂肪酸代謝異常症の症例と、症状が現れてから代謝異常症が疑われて検査し、診断されたハイリスク症例の血清アシルカルニチンを分析し、ろ紙血液の検査結果と比較したところ、とくに長鎖脂肪酸代謝異常症の疑いでろ紙血液の再採血値がカットオフ付近の時は、血清アシルカルニチン分析が診断に有用であった。このように、新生児医療機関に血清の採取を依頼する場合があります、この点について理解を求めておくことが必要と思われた。また、診断に際しては GC/MS による尿中有機酸分析や酵素活性測定、遺伝子解析等が必要で、これらの検査が可能な医療機関の協力を得ることが重要であり、診断のための全国的なネットワーク組織の構築が望まれる。また、治療する専門医療機関との連携も密にする必要がある。我々は本研究班の一員として有機酸・脂肪酸代謝異常症のスクリーニング事業の発展に寄与したいと考えている。

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主査)
穴澤 昭 ((財) 東京都予防医学協会次長)
鈴木 健 ((財) 東京都予防医学協会参与)
大和田操 ((財) 東京都予防医学協会研究部長)
石毛美夏 (日本大学医学部小児科助教)

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試験的 newborn スクリーニングとハイリスク・スクリーニングを 5 年間実施したのでその成績を報告すると共に、患者検体を用いて血清とろ紙血液中アシルカルニチン値を比較する研究をした。また、今年度のスクリーニング陽性者が精査にいたるまでの経緯についても検討し、

精査が必要と思われるアシルカルニチン値並びにこれらの症例を診断する上で必要な検査項目とその数値を明らかにするのが本研究の目的である。

B. 対象および研究方法

(倫理面への配慮)

本研究に使用した新生児血液を採取するに際しては、その用途、研究目的を新生児の家族に事前に文書にて十分に説明し、理解を得たのち、承諾書(検査申込書)に署名を求めた。

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 による本試験研究に参加することに同意を得た 22 施設から 2010 年 12 月までに送付された新生児 78,097 名のろ紙血液、ならびに本症が疑われる症状があったり、遺伝的背景がみられるハイリスク

症例 1,189 例を研究対象とした。

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。

3) 患者の診断には、当会ではろ紙血液と血清のアシルカルニチン分析を行い、異常値を示した症例の尿中有機酸分析、酵素活性測定、遺伝子解析等については協力していただける医療機関にその検査を依頼した。

C. 研究結果

1) パイロット・スクリーニングの結果、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 390 例 (0.50%) であった。そ

表 1. 2005 年～ 2010 年までのスクリーニング成績

● 検査数	78,097
● 再採血依頼数	390 (0.50%)
● 精査数	35 (0.04%)
● 発見患者数	11 (0.01%)
PKU,高フェニルアラニン血症	2
シトリン欠損症	3
プロピオン酸血症	1
3-メチルクロニルグリシン尿症	2
MCAD 欠損症	2
VLCAD 欠損症	1

のうち代謝異常症が疑われて精密検査の対象となったものは 35 例 (0.04%) で、その中で 11 例 (有機酸・脂肪酸代謝異常症 6 例、アミノ酸代謝・尿素サイクル異常症 5 例) が患者と診断された (表 1)。これらのうち有機酸・脂肪酸代謝異常症 6 例の発見頻度はおよそ 1 万 3 千人に 1 人の割合であった。再採血例では、2008 年度にカットオフ値を見直して以降、カルニチントランスポーター異常症 (CTD) の指標である遊離カルニチン (C0) の低値例 (カットオフ値 < 9.00 nmol/mL) が最も多く、68 例 (17.4%) を占めた。この中で再々採血が必要とされた例は 1 例あったが、これも含めて最終的には全例が正常と判定されたので、CTD のスクリーニングの判定基準については、偽陽性を減少させる目的で、カットオフ値の変更や他のアシルカルニチン値との組み合わせについて検討する予定である。

2) ろ紙血液に加えて血清アシルカルニチンを測定し、確定診断に至った VLCAD 欠損症 1 例について、2009 年度の本研究班報告書ならびに 2010 年度の日本マス・スクリーニング学会で報告したが、他の有機酸・脂肪酸代謝異常症の血清アシルカルニチンを分析し、ろ紙血液の値と比較したところ (表 2)、他の有機酸・脂肪酸代謝異常症において

表 2. 患者検体を用いたろ紙血液と血清中のアシルカルニチン値の比較

疾患	指標 (カットオフ値ろ紙血液/血清)	測定値		
		ろ紙血液	血清	
MCAD 欠損症	C8 (0.30 / 0.25)	症例 1	0.49-0.79	0.69-1.45
		症例 2	1.48-5.03	4.65-8.03
		症例 3*	0.73-7.90**	25.30**, 4.23
	C8/C10 (1.00 / 1.00)	症例 1	2.26-3.62	2.39-3.08
		症例 2	9.37-10.85	10.59-11.37
		症例 3*	9.18-11.57**	13.48**, 11.48
	C8/C2 (- / 0.016)	症例 1	0.02-0.05	0.040-0.099
		症例 2	0.15-0.36	0.348-0.586
		症例 3*	0.06-0.76**	3.725**, 0.310
VLCAD 欠損症	C14:1 (0.40 / 0.20)	症例 1*	0.44-3.36	1.57-5.48
		症例 2	0.06-2.72	0.09-4.86
	C14:1/C2 (0.013 / 0.023)	症例 1*	0.073-0.632	0.265-1.159
		症例 2	0.003-0.119	0.007-0.225
プロピオン酸血症	C3 (5.0 / -)	16.38-88.08	31.75-154.50	
	C3/C2 (0.25 / -)	0.43-5.77	0.66-12.54	
イソ吉草酸血症	C5 (1.00 / 1.00)	0.63	1.34	
3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸尿症*	C5OH (1.00 / 0.50)	4.27	0.97	
カルニチントランスポーター異常症*	C0 (<9.00 / <10.00)	0.6-11.65	1.50-27.70	

*: 臨床発症例 ** : 発症時

※アシルカルニチン濃度の単位: nmol/mL

も、ろ紙血液で判定が困難であるにもかかわらず、血清アシルカルニチン値では明らかな異常を示す症例があるのを経験した。

CTD (臨床発症例、1歳11ヶ月児)においては、同時に尿も分析し、遊離カルニチンクリアランス (FCC)を算出したところ、46.7%(正常対照2%以下)と著明な異常値を示し、患児と診断されたので、ろ紙血液や血清だけではなく、尿アシルカルニチンの分析も行い、FCCを求めて判断することが重要と考えられ、本法を診断に用いることとした。

3) 本年度は現在、有機酸・脂肪酸代謝異常症を疑って精査中の症例が2例 (MCAD欠損症1例、3-メチルクロトニルグリシン尿症疑い1例)認められた (表3)。

3-1) MCAD欠損症疑い例：初回検査時にC8 0.63nmol/mL、C8/C10 1.69と高値であったので、再採血、精査とあわせて3回のろ紙血液のアシルカルニチンを測定したところ、C8値は次第に低下し、3回目にはカットオフ値付近の値となったが、精査時の尿中有機酸分析では異常がみられなかったにもかかわらず、C8/C10比はいずれの採血時にも高値を示した。本症患者においてC8/C10比が高値のまま経過することは以前の症例²⁾にもみられ、本症スクリーニングではC8/C10比に着目することが重要と考えられた。そして、同時に採取された血清ではこれらの指標がろ紙血液よりも明

らかに高値を示したので、血清の分析は有用性であった。

3-2) 3-メチルクロトニルグリシン尿症 (3-MCC) 疑い例：本症例は、これまでに確定診断が得られた3-MCC2例のうちの1例の同胞であり、新生児医療機関から本症例が生まれる旨の連絡を受け、日齢0日のろ紙血液を入手して検査した結果、異常値であったので早期に有機酸代謝異常症を疑って精査が必要と判定された。現在、確定診断のために尿中有機酸分析と遺伝子解析を依頼中である。同胞が患児であることが確認されている場合は、出来る限り早い日齢のろ紙血液を入手して検査することが大切であり、今後同様に対応することとした。

D. 考察

未熟児や哺乳不良、飢餓時にはしばしば遊離カルニチンの低値例がみられるので、注意が必要と思われた³⁾。

再採血のろ紙血液の値がカットオフ値付近で中鎖・長鎖脂肪酸代謝異常症が疑われている時は、血清アシルカルニチン分析を行うことでこれらの疾患の見逃し例を減少できると考えられた。そして新生児医療機関には、血清、尿、全血の採取を依頼する場合もあるので協力をお願いしたい。

表3. 精査中の症例の検査結果 (2010.1 - 12)

疑われる疾患	採取日齢	検査値 (カットオフ値)	
精査例1: MCAD欠損症	5	ろ紙C8 (0.30)	0.63
		ろ紙C8/C10 (1.00)	1.69
	12	ろ紙C8	0.46
		ろ紙C8/C10	1.61
	21 (精査)	ろ紙C8	0.34
		ろ紙C8/C10	1.10
		血清C8 (0.25)	0.68
		血清C8/C10 (1.00)	1.21
		血清C8/C2 (0.016)	0.039
		尿中有機酸分析	(-)
	MCAD 相対残存活性	依頼中	
	ACADM 遺伝子解析	依頼中	
精査例2: 3-メチルクロトニルグリシン尿症 (※疑診断例の同胞)	0	C0	3.92
		C5OH	6.96
	4	C0	6.79
		C5OH	7.31
	6 (精査)	C0	6.52
		C5OH	5.83

※アシルカルニチン濃度の単位：nmol/mL

E. 結論

本スクリーニングを実施するには、MS/MSによるろ紙血液のアシルカルニチン分析だけではなく、血清アシルカルニチンを分析することが必要な場合もあり、また、尿中有機酸分析や末梢リンパ球β酸化能試験、酵素活性測定、遺伝子解析等の検査が必要なこともあるので、これらの検査が可能な医療機関の協力を得ることが重要であった。本研究班によって、その全国的なネットワークが構築されることを望んでいる。

F. 謝辞

本研究に協力して新生児ろ紙血液を提供して頂いた22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、長谷川有紀先生、小林弘典先生、虫本雄一先生、福井大学医学部看護学科 重松陽介教授、千葉県こども病院代謝科 高柳正樹先生、村山 圭先生、広島大学医学部小児科 但馬剛先生に深謝する。

G. 引用文献

1) 石毛信之 他：VLCAD 欠損症の診断に血清ア

シルカルニチン測定が有効であった一例. 日本マス・スクリーニング学会誌 20 (2) : 159, 2010.

2) 石毛 (和田) 美夏 他: 当院における脂肪酸代謝異常症 6 例の臨床経過. 日本先天代謝異常学会誌 26 (2) : 154, 2010.

3) 窪田 満 他: 新しいスクリーニングの陽性者への対応. 日本先天代謝異常学会誌 26 (1) : 35-38, 2010.

H. 研究発表

学会発表

1) 石毛信之 他：VLCAD 欠損症の診断に血清アシルカルニチン測定が有効であった一例. 日本マス・スクリーニング学会, 神奈川, 2010.

2) 石毛信之 他：アミノ酸代謝異常症のマス・スクリーニング (MS) におけるタンデム質量分析計 (MS/MS) の役割. 日本先天代謝異常学会, 大阪, 2010.

I. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

分担研究課題：タンデムマス診断精度向上・維持、対象疾患設定に関する研究

大阪府におけるタンデムマスを用いた新生児スクリーニングの実績

研究要旨

大阪府立母子保健総合医療センター検査科では、大阪府所管・堺市所管の新生児スクリーニング検査を実施している。平成 19 年 4 月よりアミノ酸代謝異常症の分析装置としてタンデムマスを導入し、従来の基本スクリーニング (PKU、MSUD、HCU) に加え、希望者に対して脂肪酸 β 酸化異常症、有機酸代謝異常症、尿素サイクル異常症の拡張スクリーニングを公的パイロットスタディとして開始した。平成 22 年 1 月 1 日から 12 月 31 日までの 1 年間に受理した初回検査検体 52,642 件 (パイロットスタディ 51,680 件：同意率 98.2%) に対してタンデムマス分析を行い、うち 24 名の新生児に対して専門医療機関による精密検査を実施した。

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 検査科)
竹島清美 (大阪府立母子保健総合医療センター 検査科)
笠原敏喜 (大阪府立母子保健総合医療センター 検査科)
中山雅弘 (大阪府立母子保健総合医療センター 検査科)
和田芳直 (大阪府立母子保健総合医療センター 検査科)
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)

A. 研究目的

われわれは、大阪府立母子保健総合医療センター倫理委員会、大阪府先天性代謝異常検査等運営協議会(平成 22 年度より大阪府母子保健運営協議会「大阪府先天性代謝異常検査専門部会」と改名)の承認を得て、新生児スクリーニング検査にタンデムマスを導入し、平成 19 年 4 月 1 日より、従来の基本スクリーニングに加えて、保護者の追加同意の得られた新生児の検体に対して脂肪酸 β 酸化異常症、有機酸代謝異常症、尿素サイクル異常症の拡張スクリーニングを開始した。平成 22 年 1 月 1 日から 12 月 31 日に至る 1 年間の事業成績を報告する。

B. 研究方法

大阪府立母子保健総合医療センターでは、新生児スクリーニング検査申込書に改定を加え、新たに有機酸代謝異常症・脂肪酸 β 酸化異常症・尿素サイクル異常症などの拡張スクリーニングに関する説明文および同意確認項目を追加した。この拡張スクリーニングは、従来の新生児スクリーニング検体を用いて同時に実施され、全額公費負担による公的なパイロットスタディである。

用いた分析装置は、HPLC (島津製作所製) をフロントとする API-3200LC/MS/MS (ABSciex 社製) 2 台。分析法は非誘導体化法 (ブチルエステル誘導体化を行わない) を採用している。内部標準物質として Labeled Amino Acid Standards SetA (CIL 社)、Labeled Carnitine Standards SetB (CIL 社) を添加し、フローインジェクションモードで質量分析計に導入、NL モード (Amino Acid)、PS モード (Acylcarnitine) で疾患パターンをモニタしながら、MRM モードで定量計算を行った。なお、移動相は (MeOH:MeCN:H₂O=2:2:1) の組成で自家調整を行なっている。

(倫理面への配慮)

パイロットスタディの開始にあたっては、倫理委員会、運営協議会の承認を得、新たに保護者の

同意を確認するなど、倫理面には十分な配慮をしている。

C. 研究結果

平成22年1月1日から12月31日までの1年間に大阪府立母子保健総合医療センター検査科が受理した新生児スクリーニングの初回検査検体は、52,642件（対出生受検率100.2%）、うち拡張スクリーニングのパイロットスタディへの同意検体51,680件で、最終同意率は98.2%であった（表1）。

表1. マススクリーニング検体数

	大阪府所管	堺市所管	総数
新規検体数	46,488	6,154	52,642
パイロット・スタディ	45,578	6,104	51,680
同意数	(98.0%)	(99.2%)	(98.2%)

これらの検体について、タンデムマスによるアミノ酸・アシルカルニチンの同時分析を実施し、うち24名の新生児に対して専門医療機関による精密検査を行った。この中には、児の遊離カルニチン低値から母親の全身性カルニチン欠乏症が発見された一例が含まれる。最終的に正常と診断されたものを除外した精密検査結果16名については別表に示す（表2）。

D. 考察

大阪府立母子保健総合医療センターは、母子医療の診療部門と研究部門を併設する地方独立行政法人である。大阪府では、医師会、保健所、専門医、検査機関で構成される運営協議会を有している。また、精密検査機関として母子医療センター診療科、大阪大学、大阪市立大学を持ち、福井大学・島根大学の指導を仰いでいる。新生児スクリーニング検査室には、LC/MS/MS（2台）、確認検査用のHPLCやGCMSを設置し、複数の自治体からの5万件を超える検体を専任の学会認定技師が複数名で分析しており、本研究班で示されている検査施設基準を満たすモデルである。

われわれは、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等の拡張スクリーニ

ングを開始以来、公的パイロットスタディとして実施しているが、これは対象疾患や判定基準など研究中の成果に柔軟に対応するため、その効果は正式スクリーニングと変わるものではない。一方、疾病の自然歴や治療効果が未だ明瞭でない短鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症（SCAD 欠損症）、短鎖ヒドロキシアシル CoA 脱水素酵素欠損症（SCHAD 欠損症）等の疾患に関する予後調査を、当センター遺伝診療科とともに継続していくためには、かえってパイロットスタディ形式の運用がより望ましいと思われる。

今後、確認検査としてHPLCやGCMSの有効利用に着手する予定である。また、本分担研究で重松教授を中心に実施されている患者治療情報の追跡調査についても、専門医療機関として積極的に協力できるよう倫理委員会に申請中である。

E. 結論

1. 大阪府立母子保健総合医療センターでは、平成19年4月よりタンデムマスを導入し、大阪府所管・堺市所管の新生児スクリーニング検査を実施している。
2. 平成22年1月1日から12月31日までの1年間に初回検査検体52,642件（パイロットスタディ51,680件：同意率98.2%）の分析を行い、24名の精密検査を実施した。この中から母親の全身性カルニチン欠乏症1例を発見した。
3. 公的パイロットスタディとしての運用は、研究成果に柔軟に対応するため、その成果は正式スクリーニングと変わるものではない。
4. 今後、HPLCやGCMSを用いた確認検査や予後調査についても、倫理委員会や協議会専門部会の承認を得ながら、積極的に関与するつもりである。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表 現時点で予定なし
2. 学会発表 現時点で予定なし

表 2. 精査結果一覧 (最終診断が正常のものを除く)

No	性別	検査結果	疑疾患名	診断名	精密検査結果
1	女	Phe=271.5, Tyr=135.9。	フェニルケトン尿症	高フェニルアラニン血症	Phe=416, Tyr=155. B4 負荷正常。
2	女	C3=4.97, C3/C2=0.19。	メチルマロン酸血症 プロピオン酸血症	プロピオン酸血症	島根大学尿中有機酸分析にて プロピオン酸血症(軽症型?)と診断。
		C3=3.63, C3/C2=0.20。			
		C3=5.06, C3/C2=0.27。			
		C3=6.74, C3/C2=0.30。			
3	女	Tyr=846.5。	高チロジン血症	一過性 高チロジン血症	Tyr=333, AST=43, ALT=30。 チロジンが次第に低下。 サクシニルアセトン = 正常範囲。
4	男	C5DC=0.22, C8=0.31, C10=0.10, C8/C10=3.10。	グルタル酸血症 I 型 MCAD 欠損症	経過観察中	新生児仮死、急性腎不全。 出血性脳梗塞、心筋肥大。 GA I = 尿中有機酸分析異常なし。 MCAD=C8 経度上昇経過観察中。
		C5DC=0.27, C8=0.46, C10=0.25, C8/C10=1.84。			
5	女	C0=2.35, C2=3.97, C3=0.44, C4=0.06, C5=0.03, C6=0.02, C8=0.03, C10=0.04, C12=0.04, C14=0.06, C16=0.70, C18=0.19, C18:1=10.35。	全身性カルチニン欠 乏症	正 常 * 1	母親の全身性カルチニン欠乏症の影響
6	男	C8=0.06, C8/C10=2.22。	MCAD 欠損症	慢性肺疾患	低出生体重児(526g)。 新生児突発性呼吸窮迫症候群。 慢性肺疾患(気管支肺異型性)。 島根大有機酸分析で異常なし。
		C8=0.08, C8/C10=2.72。			
		C8=0.30, C8/C10=1.89。			
		C5OH=1.32。			
7	女	Leu=348.0, Val=208.7。 Leu=399.3, Val=238.6。	メーブルシロップ尿症	軽症 MSUD	Leu=314, Ileu=148, Val=334 AST=30, ALT=29
8	男	C5OH=1.02。	3-メチルクロニルグリ ン尿症 ヒドロキシメチルグル タル酸血症 マルチプルカルボキシ ラーゼ欠損症	経過観察中 マルチプルカルボキシ ラーゼ欠損症	脳室拡大、無呼吸発作、NH3=130 血中アシルカルニチン、尿有機酸分析 にてスクリーニングと同様の所見確認。 ホロカルボキシラーゼ遺伝子異常なし。
		C5OH=1.87。			
9	男	Met=53.0, Phe=128.5, C4OH=0.29, C6=0.17, C8=0.50, C10=1.13, C10/C2=0.020, C12=1.12, C14:1=1.10, C16OH=0.044, C18=1.39。	グルタル酸血症 2 型	心 奇 形 死 亡	採血時には異常なし。 様態急変し、救急搬送中に死亡。 死因 = 心奇形。 同胞、従兄弟に同様の死亡例。
10	女	Tyr=337.2, Phe=327.6, Met=152.0, Gal=8.5, TGal=10.1。	高チロジン血症	新生児 ヘモクロマトーシス疑い	全身浮腫、出血傾向、肝脾腫無。 フェリチン、Fe 高値、肝障害肝不全。 アミノ酸尿有機酸分析結果で診断。 国立成育医療センター転院。
11	男	Cit=60.9, Met=28.0, Phe=56.8, Tyr=102.7。	ホモシスチン尿症 高シトルリン血症 (シトルリン欠損症)	シトルリン欠損症	遺伝子診断 IV / IV
		Cit=291.8, Met=95.9, Phe=54.0, Tyr=112.4。			
12	男	Tyr=533.7。 Tyr=486.4。	高チロジン血症	一過性 高チロジン血症	
13	男	C4=0.19, C8=0.34, C10=0.50, C10/C2=0.018, C8/C10=0.67。	MCAD 欠損症 グルタル酸血症 2 型	MCAD 欠損症疑い	酵素診断予定中。
		C4=0.20, C8=0.69, C10=0.75, C10/C2=0.041, C8/C10=0.91。			
14	女	Met=66.9。	ホモシスチン尿症	精査中	両親精査希望。 父親の仕事の都合で未受診。
		Met=68.3。			
		Met=81.0。(精査依頼後採血)			
15	女	C2=28, C3=8.65, C3/C2=0.301。	メチルマロン酸血症 / プロピオン酸血症	精査中	
16	女	C6=0.71, C8=4.20, C10=0.39, C8/C10=10.9, C10/C2=0.02。	MCAD 欠損症	MCAD 欠損症	

* 1 母親の全身性カルチニン欠乏症発見

分担研究課題：タンデムマス診断精度向上・維持、対象疾患設定に関する研究

大阪市におけるタンデムマス・スクリーニングの実績

研究要旨

大阪市では 2009 年 4 月より従来の先天性代謝異常等検査項目に有機酸代謝異常症および脂肪酸酸化異常症等の疾患を追加してタンデムマスによる新生児マス・スクリーニング検査を開始している。2009 年 4 月から 2010 年 12 月までに 40,655 検体を分析した。要精密検査は 31 例のうち 4 例が先天性代謝異常症と診断された。その内訳は、全身性カルニチン欠乏症 1 例、軽症型プロピオン酸血症 1 例、VLCAD 欠損症 2 例であった。

研究協力者

酒本和也 ((財) 大阪市環境保健協会)
井上勝昭 ((財) 大阪市環境保健協会)
岡野善行 (大阪市立大学医学部小児科)
重松陽介 (福井大学医学部看護学科)

A. 研究目的

大阪市におけるタンデムマス・スクリーニングについて全新生児を対象とした検査体制を確立することにより有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症等の早期発見、早期治療の有用性について検討した。

B. 研究方法

大阪市内の医療機関で出生した新生児の内、保護者より検査申込みが有った新生児について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。検査法は非誘導体化法で内部標準物質は NSK-A-OP と NSK-B-OP を使用した。タンデムマスによる分析はアミノ酸およびアシルカルニチンとも MRM モードにて行った。

(倫理面への配慮)

タンデムマスを用いた新生児マススクリーニングについては大阪市の指導を得て、倫理面について十分に配慮して実施し、検体や結果報告書等の保存については個人情報の保護に十分配慮している。

C. 研究結果と考察

1) 検査成績について

2009 年 4 から 2010 年 12 月までのタンデムマス法により測定した新生児ろ紙血液の検体数は 40,655 件で 442 件 (1,09%) の再採血依頼であった。再採血依頼の頻度で多かったのは、チロシン高値 (0,18%)、C0 低値 (0,25%)、C5 高値 (0,13%)、C5DC (0,20%) であった。当施設での C0 測定値は他施設に比べ低値を示す傾向があり、基準値についてもやや低めに設定している。全身カルニチン欠乏症の指標物質を C0 だけではなく他の物質を組み合わせることにより効率的なスクリーニングが行えるよう検討する必要があると考えられた。

2) 要精密検査について

要精密検査数は 31 例 (0.076%) で、最終診断及び発生頻度では全身性カルニチン欠乏症 1 例で 1/40,600、軽症型プロピオン酸血症 1 例で 1/40,600、VLCAD 欠損症 2 例で 1/20,300 であった。

全身性カルニチン欠乏症の症例で家族検索の結果、姉が同疾患と診断された。

2001 年 11 月から 2009 年 3 月までの約 8 年間のタンデムマスによる新生児マス・スクリーニング検査のパイロットスタディでは、測定した新生児ろ紙血液の検体数は 5.4 万件、MS/MS 検査実施率は約 28% で、1 例の対象疾患を発見できなかった。完全実施したこの約 2 年間 (4 万件)

との発見・診断率の違いの理由は明確ではないが、100%の実施率になり大阪市における検査体制の充実が寄与したと考えられる。(表1)

表1 タンデムマス検査実施率

年 度	受付数	MS/MS 実施率	患者数
2001/10月～ 2008年	192,205	28%	1
2009年	23,011	100%	1
2010年 4～12月	17,644	100%	3
合 計	232,860	41%	5

D. 結論

大阪市での検査数は全新生児を対象とした2009年4月から2010年12月までに40,655件、協力医療機関の新生児を対象であったパイロットスタディ期間の54,039件を合すると94,694を分析した。患者発見数について全新生児対象期間で4例とパイロットスタディ期間で1例であり両期間の発見数に差がみられる。実際にパイロットスタディ期間に協力医療機関以外で出生した新生児で生後7ヵ月で発症したグルタル酸尿症I型の症例もあり全新生児を対象としたタンデムマスによる新生児マス・スクリーニング検査が重要と考えられた。

分担研究課題：タンデムマス診断精度向上・維持、対象疾患設定に関する研究

島根大学における非誘導体化法 Kit の検討と今後の問題点
～継続的な分析指標見直しと標準的な分析手法の必要性～

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（タンデムマス法）のパイロットスタディーを行っている。2010 年は 26,691 名を検査し、シトリン欠損症 1 例、3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症 1 例、VLCAD 欠損症疑い 2 例、CPT-1 欠損症疑い、SCAD 欠損症疑いを各 1 例発見した。島根大学では 2010 年 4 月よりこれまでの CLI 社の NSK-SetA,B (OP) を内部標準として使用した誘導体化法から、PE 社の NeoBase キットを用いた非誘導体化法へと分析方法を変更した。分析精度や再検率には従来法と比べても差はなく、精度管理が容易であること、施設間での比較が容易になる事などから、全国的な普及期においては有用な選択肢の一つと思われた。タンデムマス法のさらなる普及を見据えて、対象疾患の選択、診断指標の選択・変更、再検率の低減化などを目的とする、nation wide なシステムの構築が今後は不可欠である。

研究協力者

小林弘典（島根大学小児科・助教）
虫本雄一（島根大学小児科・助教）
山口清次（島根大学小児科・教授）
坂本 修（東北大学医学部小児科・講師）
大浦敏博（仙台市立病院小児科・部長）

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てきた。この中で島根県では 2010 年 4 月から、全国に先駆けて自治体事業としてタンデムマスによるスクリーニングを導入した。タンデムマス検査を島根大学小児科が受託し、県内で生まれる新生児全員をスクリーニングしている。

A. 研究目的

島根大学でタンデムマスによる新生児マススクリーニングを行い、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等について調査する。また、タンデムマス法を行う際の技術的、実務的な諸問題を抽出し、今後の普及に向けて解決策を検討する。パイロット研究の中で明らかになった問題点を踏まえた対象疾患の選定、それらを効率的に発見するための診断指標および分析方法を検討すること。

2. 非誘導体化法 Kit の導入

これまでの CLI 社の NSK-SetA,B (OP) を内部標準として使用した誘導体化法から、Perkin Elmar 社の NeoBase キットを用いた非誘導体化法へと変更を行った。導入に際して、測定の実定性についての検討および診断指標の再検討を行った。また対象疾患のうち、マススクリーニングの効果に優れ、かつ患者の見逃しが少ない疾患を一次対象群とし、どちらかが十分であるとはいえない疾患を二次対象群とした。一次対象群についてはカットオフ値を厳しめに設定し、二次疾患については再検率が大幅に上昇しないようにバランスをとりながらカットオフ値を変更した。

B. 研究方法

1. タンデムマス法のパイロット研究

2005 年 4 月から開始したパイロット研究では、これまで愛媛県、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

（倫理面への配慮）本研究内容については島根大学医学部医の倫理委員会での承認を受けた。

C. 研究結果

1. タンデムマス法のパイロット研究

2010年は26,691名を検査し、シトリン欠損症1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、VLCAD欠損症疑い2例、CPT-1欠損症疑い、SCAD欠損症疑いを各1例発見した。MCC欠損症例については同胞がスクリーニング陽性例で現在治療中であることから速やかに診断、治療が行えた。一方、疑い例の4例は再検を繰り返して軽度の生化学所見における異常を認めており、遺伝子解析等の確定診断を行う予定である。

2. 非誘導体化法 Kit の導入

測定値の変動はほとんどの指標で日内変動、日差変動ともに概ね5%前後であり、10%を超えるものはなかった。従来誘導体化法と明らかな差は認めなかった。

診断指標は可能な限り一疾患に対し複数の指標を置き、見逃しの低減を図った。また、実際の陽性検体を用いた分析も行い、カットオフ値の妥当性を検討した。カットオフ値については当初は2,000分析毎に見直しを行い、一次疾患、二次疾患の重み付けを行いながら、再検率の低減を図った。再検率はこれまでの0.6%前後から0.94%と上昇したが、分析方法を変更した直後の見逃し例の発生リスクを考慮しての再検率上昇を反映しており、直近2ヶ月間の再検率は変更前と同様の0.5%前後になった。

D. 考察

1. パイロット研究について

タンデムマス法が普及するに従い、島根県の様に自治体単位でスクリーニング事業として導入する自治体は今後増えてくると予想される。この様に行政が主導する形態とすれば、その後のフォローアップや有効性等に対する検討を継続的にやり易くなる。一方で現状では、愛媛県、岡山県、山口県、神戸市などについては受け入れのキャパシティの問題から限られた施設で出生した児のみがパイロット研究に参加している。パイロット研究参加施設以外で出生した児の保護者からの検査希望の問い合わせも多い。今後はこれらの現状を各自治体へフィードバックしていくと共に、全新生児をスクリーニングできる体制づくりへの協

力を促す必要がある。

2. 分析方法・診断指標を標準化する必要性

非誘導体化法 Kit を用いた分析では、これまでの分析と比べて分析精度に有意な差は認めなかった。一方、分析に際しての前処理時間は大幅に低減する事ができるので、一施設での大量分析を念頭に置く場合はより有用であると考えられる。また、今回使用した PE 社の NeoBase Kit では精度管理用の検体が同梱されており、精度管理についてもより簡易であった。

タンデムマスでは分析指標やカットオフ値の置き方で、その対象となる疾患をどこまでを目標として検出したいかを「重み付け」する事が出来るが、ここに軽症例や見逃し例の情報を疾患毎に随時反映させることで、検出率を下げずに、再検率をコントロールする事ができると考えられた。このような手法でスクリーニング精度を洗練するためには、分析数および陽性患者数を多くする事が重要である。しかし、現状のわが国におけるパイロット研究では各施設で分析方法や内部標準濃度、抽出法、移動相の組成などが異なる。また、各施設間の診断指標の項目やそれらのカットオフ値はバラバラである。今後はより効果的なスクリーニング体制の構築に向けて、全国的な普及を念頭においた分析手法の標準化と、それを土台とする継続的な分析指標の更新が必要と考えた。

E. 結論

1. 島根大学小児科では2010年は26,691名を検査し、シトリン欠損症1例、3-メチルクロトニルCoAカルボキシラーゼ欠損症1例、VLCAD欠損症疑い2例、CPT-1欠損症疑い、SCAD欠損症疑いを各1例発見した。

2. 島根大学小児科では2010年4月から非誘導体化法 Kit を用いた分析に変更した。誘導体化法と比べて分析精度の変化もなく、前処理が簡易になることから、今後は標準となりえる分析法と考えた。

3. タンデムマス法のさらなる普及を見据えて、対象疾患の選択、診断指標の選択・変更、再検率の低減化などを目的とする、nation wide なシステムの構築が今後は不可欠であると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 小林弘典: 新生児拡大マススクリーニング タンデムマス法. 小児科臨床 63 巻 10 号 2063-2069. 2010
- 2) 小林弘典、山口清次: 新生児医療の最前線 新しい新生児マススクリーニング タンデムマスの導入. Neonatal Care 23 巻 9 号 889-894. 2010
- 3) 顧艶紅, 小林弘典, 加藤忠明, 長谷川有紀, 原田正平, 山口清次. 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: 日本マス・スクリーニング学会誌 20 巻 1 号 33-37. 2010
- 4) 小林弘典, 山口清次: タンデムマスによる新生児・乳幼児突然死をきたす先天代謝異常症の早期発見. 産婦人科の実際. 59 巻 6 号 931-936. 2010
- 5) 栗野宏之, 八木麻理子, 起塚庸, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次, 坂本修, 大浦敏博, 竹島泰弘, 松尾雅文: 幼児期に繰り返す嘔吐発作で発症したメチルマロン酸血症の同胞例. 日本小児科学会雑誌 114 巻 6 号 961-965. 2010
- 6) Yamamoto T, Tanaka H, Kobayashi H, Okamura K, Tanaka T, Emoto Y, Sugimoto K, Nakatome M, Sakai N, Kuroki H, Yamaguchi S, Matoba R. Retrospective review of Japanese sudden unexpected death in infancy: The importance of metabolic autopsy and expanded newborn screening. Mol Genet Metab. 2010 Dec 14. [Epub ahead of print]
- 7) Mushimoto Y, Fukuda S, Hasegawa Y, Kobayashi H, Purevsuren J, Li H, Taketani T, Yamaguchi S. Clinical and molecular investigation of 19 Japanese cases of glutaric acidemia type 1: Mol Genet Metab. 2010 Nov 25. [Epub ahead of print]
- 8) Hori T, Fukao T, Kobayashi H, Teramoto T, Takayanagi M, Hasegawa Y, Yasuno T, Yamaguchi S, Kondo N. Carnitine palmitoyltransferase 2 deficiency: the time-course of blood and urinary acylcarnitine levels during initial L-carnitine supplementation: Tohoku J Exp Med. 2010;221 (3) :191-5
- 9) Endo M, Hasegawa Y, Fukuda S, Kobayashi H, Yotsumoto Y, Mushimoto Y, Li H, Purevsuren J, Yamaguchi S. In vitro probe acylcarnitine profiling assay using cultured fibroblasts and electrospray ionization tandem mass spectrometry predicts severity of patients with glutaric aciduria type 2: J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2010 Jun 15;878 (20) :1673-6. 2010
- 10) Li H, Fukuda S, Hasegawa Y, Purevsuren J, Kobayashi H, Mushimoto Y, Yamaguchi S. Heat stress deteriorates mitochondrial beta-oxidation of long-chain fatty acids in cultured fibroblasts with fatty acid beta-oxidation disorders: J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2010 Jun 15;878 (20) :1669-72.
- 11) Fukao T, Nguyen HT, Nguyen NT, Vu DC, Can NT, Pham AT, Nguyen KN, Kobayashi H, Hasegawa Y, Bui TP, Niezen-Koning KE, Wanders RJ, de Koning T, Nguyen LT, Yamaguchi S, Kondo N. A common mutation, R208X, identified in Vietnamese patients with mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency. Mol Genet Metab. 2010 May;100 (1) :37-41.

2. 学会発表

- 1) 小林弘典, 虫本雄一, 長谷川有紀, 伊藤由香, 江角豊美, 富田奈奈, 園山京子, 青砥仁泉, 信藤真理子, 角森正信, 石原隆範, 田中央吾, 山口清次. 自治体主導のタンデムマス・スクリーニング: 島根県での試み: 第 37 回日本マス・スクリーニング学会. 横浜. 2010 年 8 月 28 日~ 29 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究課題：タンデムマス診断精度向上・維持、対象疾患設定に関する研究

熊本県における新たな体制によるパイロットスタディ状況

研究要旨

本研究のパイロットスタディは平成18年8月から、熊本県(全域)を皮切りに開始したが、その後、協力自治体は宮崎県、福岡市、香川県、佐賀県と拡大し、検査実施数も年間49,000件まで増加した。反面、本研究に掛かる施設負担の研究費も増加し、研究予算面から研究継続が難しくなってきたため、平成22年度から保護者負担による新たな体制による研究継続が可能かどうか検討すると共に、関係機関と調整を行った。その結果、日本産婦人科医会熊本県支部から本研究継続に関する了承が得られ、また、熊本県の担当課からも新たな体制での濾紙検体継続使用が認められたため平成22年度から、研究に係る費用を保護者負担とする形に切り替えた。新たな費用負担発生により、保護者からの同意取得率の低下が予想されたがスタート直後の4月のみが77.6%と低く、その後は97%を越える高い同意率であった。無料実施期間中の同意率は99.7%であり、個人負担による同意率低下は約2%であった。

この新しい体制による研究継続は熊本県のみであり、平成21年度までの契約であった福岡市と佐賀県は平成22年3月で一旦、終了した。また、個人負担に関係したトラブル等は開始から12月現在までの9ヶ月間では経験しておらず、産科医療機関での説明等が順調に行われていることが窺えた。

研究協力者

田崎隆二、武田聖子、坂本亜里紗、岩崎めぐみ、
正木孝幸(一般財団法人化学及血清療法研究所)
中村公俊、三淵 浩、遠藤文夫
(熊本大学大学院生命科学研究部小児科学分野)
梅橋豊蔵(熊本保健科学大学)

A. 研究目的

検査機関での研究予算削減に伴う新たな体制として、スクリーニングに掛かる費用を個人負担とする新しい試みを導入し、研究継続が可能か否か検討すること。また、新しい体制に関する問題点を明らかにし、更に今までの目的である患者の発見頻度並びに早期発見・早期治療に対する有効性の確認と産科医療機関、精密診査・治療機関、検査機関、さらに自治体を含めた体制の中での問題点の把握、それに対する対策について検討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年度総括・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。尚、今年度の変更はCPT-2欠損症の指標のカットオフ値が平成22年10月に以下のように更新されている。

$(C16+C18:1)/C2 > 0.62$ かつ、 $C16 > 3.0$

その他の指標・カットオフ値は割愛する。

2. 新たな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年度総括・分担研究報告書の内容と同じであるが、熊本県では検査等に掛かる費用を新たに個人負担とすることから、研究実施者を熊本大学に設置された一般社団法人日本小児先進治療協議会とした。また、研究支援機関として熊本大学大学院生命科学研究部産婦人科学分野(以下、熊大産婦人科と略)、熊本大学大学院生命科学研究部小児科学分野(以下、熊大小児科と略)、熊本大学医学部附属病院新生児学寄附講座の3機関、研究協力機関として日本産婦人科医会熊本県支部、各産科医療機関、また、研究支援自治体として熊本県に協力をお願いした。治療機関は今までどおり、熊本大学医学部附属病院

小児科を主な機関とし、その他の地域医療機関も協力する形とした。

3. 新たなシステムの構築

平成18年8月から熊本県全域を対象としてスクリーニングを開始し、その後、他地域にも拡大しながら4年以上継続してきたが、その費用負担は検査機関で賄う形としていた。しかし、検査機関内での研究予算確保が難しいことから、熊本大学小児科に事情を説明し、個人負担での研究継続に切り替えることへの了承と協力をお願いした。

この個人負担（保護者負担）による新たな体制では今まで考える必要のなかった検査費用等の額、徴収等を含めた各産科医療機関との契約、また、産婦人科医会での承認が必要となった。このため、熊大産婦人科と熊大小児科にて日本産婦人科医会熊本県支部への説明と研究継続への協力依頼を改めて行い、了承を得ることができた。また同時に、これまで検査検体（血液濾紙検体）の研究利用について許可を頂いた熊本県の担当課に対しても費用の個人負担が生じる状況を説明し、了承を得るとともに、研究支援自治体としての継続も了解頂いた。

熊本県域の産科医療機関は国公立を含めて54施設であり、全ての施設と契約書を取り交わしたが、主な契約内容は以下のとおりである。

1) 契約者は各産科医療機関、一般社団法人日本小児先進治療協議会（以下、小児先進協と略）、一般財団法人化学及血清療法研究所（以下、化血研と略）の3者。

2) 検査と報告、履行困難な場合の処理、疑義ある場合の処置、秘密情報の保持、個人情報の保護、契約期間等に関する内容。

3) 請求科目（①事務手数料等、②検査料、③啓発事業費等）、請求する単価、請求方法と支払い方法に関する内容。

また、これとは別に、個人情報保護に関する覚書も取り交わした。

4. 請求事務・その他

新たに発生した検査費用等の請求は各産科医療機関宛に化血研が行い、一旦預かった啓発事業費については化血研から小児先進協へ振り込む形にした。

これらの事務処理は現行システムに新たなプログラムを追加し、請求書、請求明細書、請求一覧表等の自動作成、その他の請求事務を行った。

5. 対象地域の変更

新たな体制（個人負担）での対象地域は熊本県のみとした。その他の地域については順次状況説明を行い、協力頂くことにした。この結果、異なる体制での実施であるが、熊本県（有料全域）、香川県（無料全域）、その他の地域（無料一部地域）となり、福岡市と佐賀県が一次中止、宮崎県も産婦人科医会の協力が得られないとのことで中止することとなり、参加地域・施設は2自治体、2医療機関（沖縄、神戸）となった。

6. 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）も熊本県については前年使用の結果報告書を一部変更して発行（郵送）し、委託（公費負担6疾患）自治体以外の香川県、沖縄、神戸の各1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に含まれていない。

再採血については濾紙血液検体のみとし、血清試料等の要求は産科医療機関には行っていない。

7. 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については受け付けた当日に検査を開始し、それ以外の地域は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、沖縄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とした。

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22年1月から12月末までの年間検査数は33,834件であり、昨年と比べ14,251件減少した。再採血率271件（0.80%）、陽性報告数は25名、その内4名が患者と診断された。再採血項目はC5高値が全体の14%（39件）、C0が基準未満となった例21%（56件）、Tyrosine高値が15%（41件）、C3,C3/C2高値例12%（33件）、C8,C10の同時高値例が12%（33件）となり、この5項目で全体の75%を占めた。スクリーニング開始からの累計では検査数165,436件、再採血数1,394件（再採血率0.84%）、陽性報告数73名、患者確定数は14名と

なり、発見頻度は1/11,817であった。

平成22年の一年間で新しく発見された患者の内訳は①プロピオン酸血症（軽症型）2例（熊本県、香川県）、②PTPS欠損症1例（香川県）、③グルタル酸尿症1型1例（熊本県）であった。

確定診断された患者の自治体毎頻度（累計）は熊本県で1/11,465、宮崎県1/5,725、香川県1/9,142、福岡市1/20,954となり、佐賀県、その他の地域では確定例はなかった。

2) 発見例の治療経過概要

平成22年に発見されたプロピオン酸血症1例とグルタル酸尿症1型1例は、熊大小児科にて治療管理され、香川県でのプロピオン酸血症1例とPTPS欠損症1例は国立病院機構香川小児病院にて治療管理中である。また、昨年発見された福岡市のMCAD欠損症疑い例は福岡大学病院小児科での精密検査にて患者と診断され、治療管理中である。

3) 熊本県での検査同意率について

今回、検査等に係る費用等を個人負担（保護者負担）方式に変更したことにより、従来高かった検査同意率が低下することが予想された。しかし、開始直後である4月が77.6%と低かったものの、5月には97.9%に上昇し、その後も97%台～98%台と高いまま推移していた。このことは、県域産科医療機関での本スクリーニングについての説明が順調に進んでいることを窺わせた。また、医療機関毎に同意率をみたところ、同意率100%が全体の42%、91%～100%が96.5%と高い方に位置していた。同意率70%台は2施設しかなく、其の内の1施設は現在、100%に上昇しており、70%台のまま継続している医療機関は1施設のみとなっている。

D. 考察と結論

平成22年度からの試験的な取り組みとして、スクリーニングに係る検査費用等を検査機関の研究予算ではなく、個人負担（保護者負担）とする方式に変更したが、予想された検査同意率の低下は殆ど認められなかった。あくまで熊本県域での状況であるが自己負担の有無に係わらず、産科医療機関からスクリーニングの意義等についての説明があれば、殆どの保護者はこのスクリーニングの意義を十分認め、検査に同意するものと考えられた。しかし、1医療機関では方式変更後、9ヶ月間が過ぎても70%台のままであり、無料期間中の同

意率から23%も低下している。今後、この現状については産婦人科医会に報告しなければならないが、この原因が単に個人負担が生じたことによるものだけなのか、究明できれば今後の体制作りにも活かされるものと考えられる。

本研究班への研究協力施設は年々、増加傾向にあるが、まだ、国の正式な事業化とはなっていない。一方、一部自治体においては2010年度から自治体独自の事業として取り組んでいる地域も二箇所（大阪市、札幌市）見られるようになった。今後、自治体独自の判断でスクリーニングが開始される地域が徐々に増えると思われるが、全国への拡大はかなりの時間を要するものと思われる。今回我々が取り組んだ方式は今のところ順調に進んでおり、公費負担による事業化となるまでの期間、他の地域への参考になるのではないかと考えている。

《謝辞》

今回の取り組みについては日本産婦人科医会熊本県支部の協力なくして実現しえなかったものであり、支部長の井上尊文先生、副支部長の竹本純一先生、並びに医会の理事の先生方、各産科医療機関の先生方に本紙面を借りて深謝致します。

項目	内容
検査数累計	165,436件 (開始から2010/12まで)
発見数	14例(1/11,817)
疾患名	①② 3MCC欠損症:熊本県、宮崎県 ③ CPT1欠損症:香川県 ④⑤⑥⑦プロピオン酸血症:熊本県(3例)、香川県 ⑧ シトルリン血症1型:宮崎県 ⑨⑩グルタル酸尿症1型:宮崎県、熊本県 ⑪ MCAD欠損症:福岡市 ⑫ VLCAD欠損症:熊本県 ⑬ PKU:熊本県 ⑭ PTPS欠損症:香川県

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

学会発表

1. 田崎隆二、武田聖子、馬場尚子、正木孝幸、中村公俊、三淵 浩、遠藤文夫、梅橋豊歳:新しい体制による熊本県での取り組み、第37回日本マス・スクリーニング学会第32回技術部会,2010.8.28-8.29(横浜市)

Ⅱ. 分担研究報告書

3. 効果的な診療ネットワークの整備に関する研究

研究分担者 松原洋一（東北大学大学院医学系研究科教授）

分担研究課題

効果的な診療ネットワークの整備に関する研究

研究分担者 松原洋一（東北大学大学院医学系研究科教授）

研究要旨

わが国における新生児マススクリーニング対象疾患に対する確定診断検査の実態調査をおこなった。その結果、現時点で提供されている検査については将来的な継続性に問題があることが明らかとなった。今後、全国的な確定診断検査提供体制を構築し、その継続性を担保できる人的・財政的基盤の整備が課題と考えられる。

研究協力者

青木洋子（東北大学・准教授）
新堀哲也（東北大学・助教）
小松崎匠子（東北大学・大学院生）

A. 研究目的

わが国においてタンデムマス導入による新生児マススクリーニングシステムを構築するにあたり、各疾患の確定診断をおこなう診断支援体制を整備することが不可欠である。具体的には、ガスクロマトグラフィー／マススペクトロメトリー（GC/MS）による代謝産物の一斉分析（化学診断）、酵素活性の測定（酵素診断）、DNA 診断などの遺伝学的検査を提供する必要がある。これらは、新生児スクリーニングのバックアップという観点から、半恒久的に安定した検査提供体制が望まれる。従来、これらの検査は各疾患の研究を行う施設（おもに大学研究室）が研究の一環として研究費で負担しながら提供してきた。しかしながら、全国的な規模でタンデムマス・スクリーニングが実施された場合には、そのような形での実施はきわめて困難だと予想される。

また、単なる診断検査提供だけではなく、主治医が診断をおこなうプロセスを支援するとともに、治療をおこなうにあたっての医学的な助言を提供すること、さらには陽性患者に対する情報提供、

心理的支援、社会的支援も重要である。

本分担研究では、確定診断施設のネットワーク化を進めるとともに、関連特殊検査の持続的提供体制の構築をすることを目標とする。初年度である今年度は、まず新生児マススクリーニング対象疾患に対する確定診断検査のわが国における実態調査を行った。

B. 研究方法

日本先天代謝異常学会の理事・評議員を調査対象として、電子メールによって調査用紙を送付し、電子メール添付文書または FAX による回収をおこなった。調査実施時期は平成 22 年 9 月～12 月であった。調査票を表 1 に示す

（倫理面への配慮）

本研究は、大学研究室および医療機関対象のアンケート調査であり、患者さんの医療情報や個人情報には含まれていない。また、遺伝子検査を実施する研究ではなく、遺伝学的検査関連のガイドラインには該当しない。

C. 研究結果

19 / 42 名中 19 名より回答があった（回答率：45%）。このうち、確定診断のための検査を提供している研究室は 11 施設であった。単一施設によって複数項目の検査が提供されていた。その内