

の50%、非NMS例（5例）の0%と数字では、非NMS例の予後が良い結果となっているが、症例数が少ないことと、登録した患者の背景について再検討が必要である。

### 3) シトルリン血症1型軽症例の臨床経過の検討

タンデムマス法で、シトルリン73.7、および104 $\mu\text{g/mL}$ （カットオフ100以下）が検出され、シトルリン血症の原因遺伝子の解析で複合ヘテロ接合体が検出された症例を経験した。2年以上無治療で追跡したが、高アンモニア血症のエピソードはなく正常に発達している。このような症例は生化学診断が困難なことが多く代謝産物の変動のみでは、診断、治療が困難なことがある。遺伝子診断によって確定診断、重症度判定をして治療方針を決める必要がある。

### 4) タンデムマス・スクリーニングにおける精度管理の標準化

検査前精度管理（採血日齢、採血から検査機関受付までの日数、検査不能検体の理由と割合及び採血の実施率等）、検査時精度管理（機器の性能、統計学的内部精度管理、外部精度管理、適切なカットオフ値の設定、定期的な妥当性の検証等）、および検査後精度管理（スクリーニング陽性例への迅速な対応、再採血日齢、精査受診日齢、確定診断日齢、治療開始日齢、診断疾患名等）が指標となる。全国同一レベルのマススクリーニングの質を維持するためには、これらの精度管理指標と判断基準を標準化し、統一された評価方法により改善を継続するシステムの構築が必要である。

### 5) ヒドロキシメチルグルタル酸血症（HMG血症）の遺伝子解析法の検討

HMG-CoAリアーゼ欠損症の遺伝子診断体制を検討した。エクソンをはさむ従来のゲノム遺伝子

解析の手法では、エクソンから20塩基程度離れているプライマーでは変異が同定できない症例のあることを示した。本遺伝子では大きな欠失の報告もありMLPA法の確立も考慮が必要であると考えられる。

### 6) MCAD、VLCAD、CPT-2欠損症の酵素診断と遺伝子診断に関する検討

タンデムマス・スクリーニングでC8の異常のみられた患者で解析した9例中6例は酵素遺伝子解析でMCAD欠損症と診断された。他の3例はヘテロ接合体の可能性が高い。

C14:1上昇例で解析した8例中6例が酵素遺伝子解析でVLCAD欠損症と診断され、2例がヘテロ接合体と推定された。

今年度のパイロット研究でCPT-2欠損症の見逃し例を経験した。新生児期の診断指標で陰性と判定されたが、生後7か月に急性脳症に発展した後障害を残している。診断指標のカットオフを下げ、新たにアシルカルニチンの比を設定したところ見逃さないことが確認されたが、その後3例に偽陽性が出た。CPT-2欠損症については、現時点では確実に発見できないため引き続き検討が必要である。

### 7) 液体試料中のアシルカルニチンの安定性の検討

液体中のアシルカルニチンの測定値は、室温に放置すると、図1に示すように1週間後にはすでに長鎖～中鎖脂肪酸の加水分解が起こっていること、加水分解にともなって遊離カルニチンが上昇してゆくことが確認された。液体試料は-30 $^{\circ}\text{C}$ に冷凍されるべきである。

### 8) 千葉県におけるタンデムマス法によるマススクリーニング試験研究実施上の問題点の検討

平成22年10月～平成23年3月の期間に、千葉県

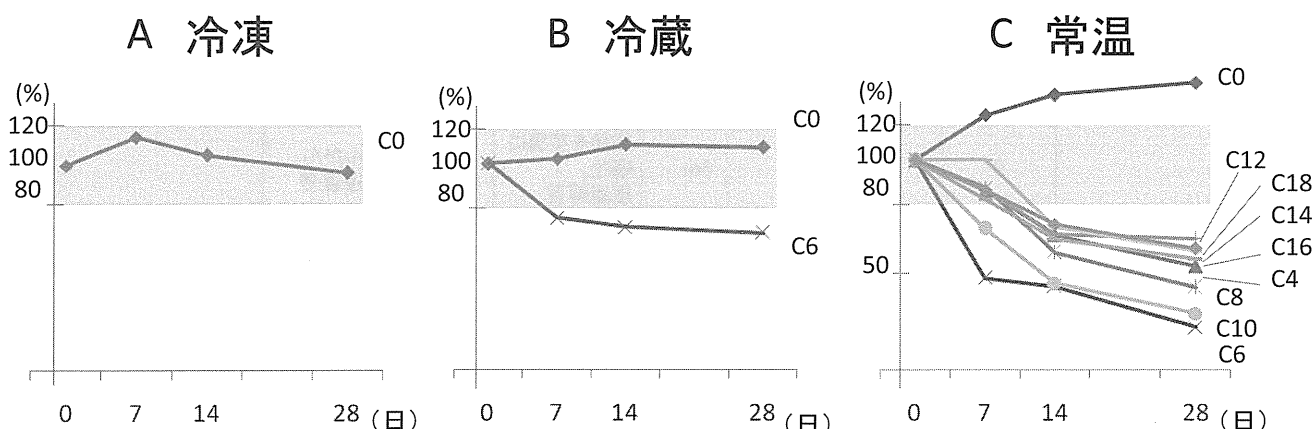


図1. 血清中の遊離カルニチン値およびアシルカルニチン値の推移

で行ったパイロットスタディの実績は以下のとおりである。実施施設数105/143(千葉県下の全スクリーニング採血施設数の73.4%)、実施人数17,143/24,500(従来のスクリーニングを受けた人数の70.0%)、再採血数95例(0.55%)、精密検査数7例(0.041%)、発見患者2例(プロピオン酸血症1例、中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症1例)であった。

#### 9) フェニルケトン尿症(PKU)患者の栄養摂取状況の調査

Phe除去ミルクは、タンパク質に加えて、ビタミン、ミネラルを配合する。低Pheペプチド粉末は、タンパク質をPhe除去ミルクの約5倍含み、ミネラルも配合する。Phe無添加総合アミノ酸粉末は、Phe除去ミルクの約6倍のタンパク質を含むが、ビタミン、主要ミネラルは配合しない。本研究ではタンパク代替物の不足分を自然食品から適正に補えていないことがわかった。成長期古典的PKU患者では、治療用自然タンパク代替物の特性に加えて、自然食品から摂取するタンパク質、ビタミン、ミネラル量が少ないため、各栄養素の1日摂取量が推奨量に満たないことが多いと思われる。本来、ビタミンやミネラルは自然食品から摂取する必要があるが、今回対象に含まれていた幼児などでは、必要な栄養素を全て自然食品から摂取するのは難しいと考えられた。

#### D. 結論

タンデムマス対象疾患の自然歴が明らかになってきた。スクリーニングを受けない場合でも新生児期発症では、有機酸代謝異常症の40%以上、一方脂肪酸代謝異常症では約20%であった。小児慢性特定疾患の登録患者から調査すると、スクリーニングを受けた小児の転帰が良かったのはプロピオン酸血症とグルタル酸血症1型であった。メチルマロン酸血症とイソ吉草酸血症ではマススクリーニング発見例の転帰に明らかな差がみられなかった。小児慢性疾患に登録された患者数の問題、登録された患者のバイアス、死亡例が把握できない点などの問題があり、小児慢性疾患事業の調査については再検討してみる必要がある。

マススクリーニングの代謝産物の量をみる生化学診断には、特に軽症例において限界があり、酵素・遺伝子解析などの診断サポートが不可欠である。ヘテロ接合体も発見されることがわかった。

遺伝子診断等によって確定診断されていれば、軽症患者のフォローアップの必要の有無を科学的に評価するのに役立つ。また精密検査で血清や尿のような液体試料も必要になるが、液体試料中のアシルカルニチンは室温に1週間以上放置されると測定データの信ぴょう性は著しく低下することが明らかになった。アシルカルニチン分析を目的とした試料は冷凍保存されるべきである。

さらに測定値以外の精度管理指標として、採血日齢、採血から検査機関受付までの日数、検査不能検体の割合、機器の性能、統計学的内部精度管理、外部精度管理、適切なカットオフ値の設定、定期的な妥当性の検証等、スクリーニング陽性例への迅速な対応、再採血日齢、精査受診日齢、確定診断日齢、治療開始日齢、診断疾患名等が重要である。マススクリーニングの質を維持するために、統一された評価方法により改善を継続するシステムの構築が必要である。

#### E. 健康危険情報

特になし

#### F. 研究発表

##### 論文発表

- 1) 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. *Molecular Genetics and Metabolism* 102(3): 343-348, 2011 (March)
- 2) 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. *Molecular Genetics and Metabolism* 102(4): 399-406, 2011 (April)
- 3) Yagi M, Lee T, Awano H, Tsuji M, Tajima G, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Takeshima Y, Matsuo M: A patient with mitochondrial trifunctional protein deficiency due to the mutations in the HADHB gene showed recurrent myalgia since early childhood and was diagnosed in adolescence. *Molecular*

Genetics and Metabolism 104(4): 556-559, 2011 (December)

- 4) 虫本雄一：母体代謝疾患の新生児. 周産期医学 40(増刊号): 628-631, 2011 (1月)
- 5) 虫本雄一, 山口清次：新生児突然死とその予防. 産婦人科治療 102(4): 317-321, 2011 (4月)
- 6) 山口清次：タンデムマス導入による拡大スクリーニングの諸問題. 日本先天代謝異常学会雑誌 27(1): 36-41, 2011 (8月)
- 7) 小松祥子, 新宅治夫, 平田陽一, 松原洋一, 原田正平, 山口清次：新生児マススクリーニング対象疾患の保険契約の現状について. 日本小児科学会雑誌 115(10): 1573-1579, 2011 (10月)
- 8) 久保田一生, 深尾敏幸, 堀 友博, 小林弘典, 船戸道徳, 長谷川有紀, 山口清次, 近藤直実：カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ2欠損症のろ紙血血清のアシルカルニチンプロファイルの経時的変化. 日本小児科学会雑誌 115(5): 956-960, 2011 (5月)
- 9) 山口清次, 重松陽介, 河地 豊, 福士 勝：新生児マス・スクリーニング検査施設基準日本マス・スクリーニング学会制定 (2010年3月). 日本マス・スクリーニング学会誌 21(3): 207-209, 2011 (12月)

#### 学会発表

- 1) Yamaguchi S, Li H, Purevsuren J, Mushimoto Y, Kobayashi H, Hasegawa Y, Fukao T, Fukuda S: A hypolipidemic drug, bezafibrate, can be a new treatment option for mitochondrial fatty acid oxidation disorders. The 7th Congress of Asian Society for Pediatric Research. Denver, USA, April 2011
- 2) Fukao T, Yamaguchi S, Takayanagi M, Shigematsu Y, Ishige M, Tanaka T, Takahashi T, Ihara T, Murakami J, Ohtsu Y, Onigata K, Kosaka K, Yorifuji T, Kondo N: HMG-CoA lyase deficiency in Japan: Question-based follow-up study. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. Geneva, Switzerland, August 2011
- 3) Purevsuren J, Hasegawa Y, Kobayashi H, Mushimoto Y, Yamada K, Okamoto A, Ohta M, Yamaguchi S: Emetic toxin of bacillus cereus that associates with reye-like syndrome severely inhibits mitochondrial fatty acid oxidation. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. Geneva, Switzerland, August 2011
- 4) 小林弘典：タンデムマス分析の見方, 考え方ー有機酸・脂肪酸代謝異常へのアプローチ. 2011年西日本小児内分泌研究会. 博多, 2011年2月
- 5) 山口清次：乳幼児突然死予防におけるタンデムマス・スクリーニングの意義. 第17回日本SIDS・乳幼児突然死予防学会 会長講演. 出雲, 2011年3月
- 6) 小林弘典, 虫本雄一, 山田健治, 長谷川有紀, 山口清次, 石原隆範, 田中央吾：鳥根県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システム構築の試み. 第87回山陰小児科学会. 松江, 2011年3月
- 7) 山口清次：ベザフィブレードのミトコンドリア $\beta$ 酸化異常症に対する治療ーin vitro probe assayによる評価ー. 第53回日本小児神経学会総会. 横浜, 2011年5月
- 8) 金井雅代, 須藤陽介, 若林 崇, 佐々木綾子, 早坂 清, 山口清次：救命し得なかったグルタル酸尿症2型の早産低出生体重. 第47回日本周産期・新生児医学会. 札幌, 2011年7月
- 9) 山口清次：タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上. 平成23年度先天性代謝異常症等検査技術者研修会 研修会. 東京, 2011年7月
- 10) 山口清次, 御牧信義：新生児タンデムマス・スクリーニングで発見される母親の無症候性代謝異常. 第47回日本周産期・新生児医学会. 札幌, 2011年7月
- 11) 星野正也, 大竹 明, 山崎太郎, 徳山研一, 山内秀雄, 雨宮 伸, 増谷 聡, 重松陽介, 長谷川有紀, 山口清次：乳幼児突然死と脂肪酸代謝異常症：死後胆汁を用いたタンデムマス分析の有用性. 第114回日本小児科学会学術集会. 東京, 2011年8月
- 12) 尾崎佳代, 奥野美佐子, 丸山あずさ, 上谷良行, 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次：グルタル酸血症2型が疑われた sudden unexpected death in infancy の1例. 第114回日本小児科学会学術集会. 東京, 2011年8月

- 13) 山口清次：タンデムマス導入にともなう新しい体制作り．第114回日本小児科学会学術集会 シンポジウム．東京，2011年8月
- 14) 長谷川有紀，虫本雄一，小林弘典，プレブスレン ジャミヤン，山口清次：嘔吐を主訴として乳幼児期に発症した有機酸・脂肪酸代謝異常症患者の臨床的特徴．第114回日本小児科学会学術集会．東京，2011年8月
- 15) 山口清次，李 紅，Purevusren J，古居みどり，山田健治，虫本雄一，小林弘典，長谷川有紀，深尾敏幸，福田誠司：タンデムマスと培養細胞を用いる *in vitro* probe assay の応用：ベザフィブレードのミトコンドリア $\beta$ 酸化異常症に対する効果の評価．第36回日本医用マススペクトル学会年会．大阪，2011年9月
- 16) 川名修一，北野理基，宮川治彦，中川勝博，長谷川有紀，山口清次：高速スキャン四重極質量分析計を用いたGCxGC-QMSによる尿中有機酸分析．第36回日本医用マススペクトル学会年会．大阪，2011年9月
- 17) 虫本雄一，小林弘典，プレブスレン・ジャミヤン，山田健治，高橋知男，長谷川有紀，御牧信義，山口清次：タンデムマス法による新生児スクリーニングを契機に発見された母親のメチルクロトニルグリシン尿症．第38回日本マス・スクリーニング学会．福井，2011年10月
- 18) 長谷川有紀，高橋知男，佐野葉子，中田節子，小林弘典，虫本雄一，山田健治，プレブスレン・ジャミヤン，長沼邦明，山口清次：軽度の多呼吸を契機にGC/MSとタンデムマス・スクリーニングで診断された3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸尿症の新生児例．第38回日本マス・スクリーニング学会．福井，2011年10月
- 19) 小林弘典，虫本雄一，プレブスレン・ジャミヤン，山田健治，高橋知男，長谷川有紀，山口清次：非誘導体化キットを用いた分析法と精度管理．第38回日本マス・スクリーニング学会 シンポジウム．福井，2011年10月
- 20) 稲岡一考，渡辺倫子，原田正平，重松陽介，山口清次：非誘導体化による分析法の標準化と精度管理．第38回日本マス・スクリーニング学会 シンポジウム．福井，2011年10月
- 21) 山田健治，虫本雄一，小林弘典，長谷川有紀，山口清次：タンデムマス法によるアシルカルニチン測定値の安定性の検討．第38回日本マス・スクリーニング学会．福井，2011年10月
- 22) 渡辺倫子，鈴木恵美子，野町祥介，林 三起子，山本俊夫，一條敦子，石毛信之，木下洋子，山上祐次，小田切正昭，稲田佳美，安片恭子，白鳥薫里，稲岡一考，酒本和也，上羽美穂，重松陽介，小林弘典，伊藤由香，田崎隆二，青木久美子，猪口隆洋，田代恭子，原田正平，加藤忠明，松井 陽：タンデムマススクリーニングにおける精度管理検体の作製 -第2報-．第38回日本マス・スクリーニング学会．福井，2011年10月
- 23) 虫本雄一，プレブスレン ジャミヤン，小林弘典，長谷川有紀，山田健治，山口清次：In vitro probe assayによるカルニチントランスポーター機能評価法：原発性カルニチン欠乏症の酵素診断．第53回日本先天性代謝異常学会．東京，2011年11月
- 24) Nguyen K-N, Vu D-C, Nguyen H-T, Bui T-P, Can N-T-B, Khu D-T-K, Nguyen L-T, Yamaguchi S, Hasegawa Y, Purevsuren J, Kobayashi H: Methylmalonic acidemia in Vietnamese patients: Clinical characteristics and outcome. 第53回日本先天性代謝異常学会．東京，2011年11月
- 25) プレブスレン ジャミヤン，長谷川有紀，小林弘典，虫本雄一，山田健治，市山高志，山口清次：Effect of IAE related cytokines on mitochondrial fatty acid oxidation. 第53回日本先天性代謝異常学会．東京，2011年11月
- 26) 小林弘典，山田健治，プレブスレン ジャミヤン，虫本雄一，高橋知男，長谷川有紀，伊藤道徳，山口清次：ベザフィブレードが有効であった遅発型グルタル酸尿症2型の男児例．第53回日本先天性代謝異常学会．東京，2011年11月
- 27) 李 知子，栗野宏之，八木麻理子，高見勇一，但馬 剛，小林弘典，長谷川有紀，山口清次，松尾雅文，竹島野泰弘：発達遅滞，てんかんを認め，胃腸炎罹患時の痙攣，意識障害を機に診断に至ったプロピオン酸血症の一例．第53回日本先天性代謝異常学会．東京，2011年11月
- 28) 山田健治，小林弘典，虫本雄一，プレブスレン ジャミヤン，長谷川有紀，山口清次：グ

ルタル酸尿症2型に対するベザフィブラートの効果：in vitro probe assayによる評価．第53回日本先天性代謝異常学会．東京，2011年11月

- 29) 長谷川有紀，小林弘典，虫本雄一，山田健治，プレブスレン ジャミヤン，川名修一，中川勝博，山口清次：有機酸・脂肪酸代謝異常症の出生前診断の経験．第53回日本先天性代謝異常学会．東京，2011年11月
- 30) 高橋知男，虫本雄一，小林弘典，長谷川有紀，Purevsuren Jamiyan，古居みどり，大竹 明，RJA Wanders，山口清次：高脂血症を契機に発見されたメチルマロン酸セミアルデヒド脱水素酵素欠損症の11歳男児例．第53回日本先天性代謝異常学会．東京，2011年11月
- 31) Nguyen H-T, Vu D-C, Nguyen K-N, Bui T-P,

Can N-T-B, Khu D-T-K, Nguyen L-T, Yamaguchi S, Fukao T, Purevsuren J, Kobayashi H: Service for inborn errors of metabolism at central hospital in Vietnam: Spectrum and outcome. 第53回日本先天性代謝異常学会．東京，2011年11月

- 32) 山口清次：タンデムマスを導入した新生児マススクリーニング・キックオフ．第63回中国四国小児科学会 会長講演．松江，2011年11月
- 33) 山口清次：タンデムマスを導入した新生児マススクリーニング：新生児科医の知っておくべき知識．第56回日本未熟児新生児学会 講演．東京，2011年11月

G. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

分担研究課題：効率的な体制、臨床的效果に関する研究

## タンデムマススクリーニングの対象疾患を含む有機酸・脂肪酸代謝異常症の自然歴

### 研究要旨

2010～2011年に診断された有機酸・脂肪酸代謝異常症例の疾患内訳と自然歴を検討し、今回発見された症例における特徴や、スクリーニングの有無によって何が異なるかを検討した。診断症例は計64症例で、アミノ酸・有機酸代謝異常（OAs）が56症例、脂肪酸代謝異常症（FAODs）が8症例であった。このうち新生児マススクリーニングなど未発症時での診断例が18症例（28%）を占めた。

A) 疾患内訳：OAsでは、これまでと同様にメチルマロン酸血症と尿素サイクル異常症の頻度が高く、この2疾患で60%を占めた。プロピオン酸血症では、同胞スクリーニングも含め同一家系の3人が軽症型と診断され、経過追跡が可能であった。また今回初めて、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタコン酸（HMG）尿症が新生児期に発見された。本疾患は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であるが、実際に診断可能なことが明らかとなった。FAODsではグルタル酸尿症2型が最も多かった。8例中4例は新生児マススクリーニングで発見された症例で、これらの児は現在までいずれも発達は正常であった。

B) 発症時期：2001年～2010年の発症後診断例のまとめと比較して、OAsでは新生児期発症が多い点は変わらなかった。しかし今回の検討では、尿素サイクル異常症で幼児期以降の発症・診断が10/17例（59%）と半数以上をしめ、全体として発症年齢が遅い傾向がみられた。またFAODでは、GA2以外の症例の発症後診断はほとんど認められなかった。

従来の報告どおり、新生児期に発症する代謝疾患はスクリーニングが間に合わないこともあるが、特に乳幼児期以降の発症の多いFAODのような疾患ではタンデムマスによる新生児マススクリーニングが障害予防に非常に有用な可能性が改めて示唆された。

### 研究協力者

長谷川(小村)有紀（島根大学小児科助教）  
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）  
山田健治（島根大学小児科大学院生）  
高橋知男（島根大学小児科大学院生）  
プレブスレン ジャミヤン（島根大学小児科）  
山口清次（島根大学小児科教授）

### 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が拡大する中で、スクリーニング疾患の選択は疾患の重症度と治療との費用対効果の検討に必須である。さらにスクリーニング開始後の自然歴に変化があるかを調査する事は、実際に発症予防にスクリーニングが有効かを評価する上でも重要であ

る。今回、2010年から2010年に当科で診断した有機酸代謝異常症（OAs）と脂肪酸代謝異常症（FAODs）の症例について、疾患の内訳と発症時期を明らかにし、また2001年以降の発症時期などの自然歴の変遷を検討した。

### B. 研究方法

1) 発症後に診断された有機酸代謝異常症（OAs）の疾患内訳と発症時期

2010年1月から2011年12月の間に当科で診断された症例について、疾患の内訳と、発症例における各疾患の発症時期について検討した。

2) 発症後に診断された脂肪酸代謝異常症（FAODs）の疾患内訳と発症時期

OAsと同様に、疾患の内訳と各疾患の発症時期を検討した。

(倫理面への配慮)

島根大学は分析施設であり、分析依頼はすべて家族の同意の下に行われていると判断している。当施設で疾患を集計する際には、年齢や初発症状の検討を行う際に個人が特定できないよう、個人情報保護に十分に配慮した。

### C. 研究結果

#### 1) OAsの疾患内訳と発症時期(図1)

対象は56症例であった。疾患の内訳は、1) メチルマロン酸血症(MMA)18例(32%)、2) 尿素サイクル異常症(UCD)17例(30%)、3) プロピオン酸血症(PA)8例(14%)、4) メチルクロトニルグリシン(MCG)尿症2例(4%)、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症(MCD)・HMG尿症ほかそれぞれ1例(2%)などであった。これらのうち新生児マススクリーニングなどによる未発症での診断例は14症例(25%)であった。なおGA1の1例は診断時に頭囲拡大を認めた。

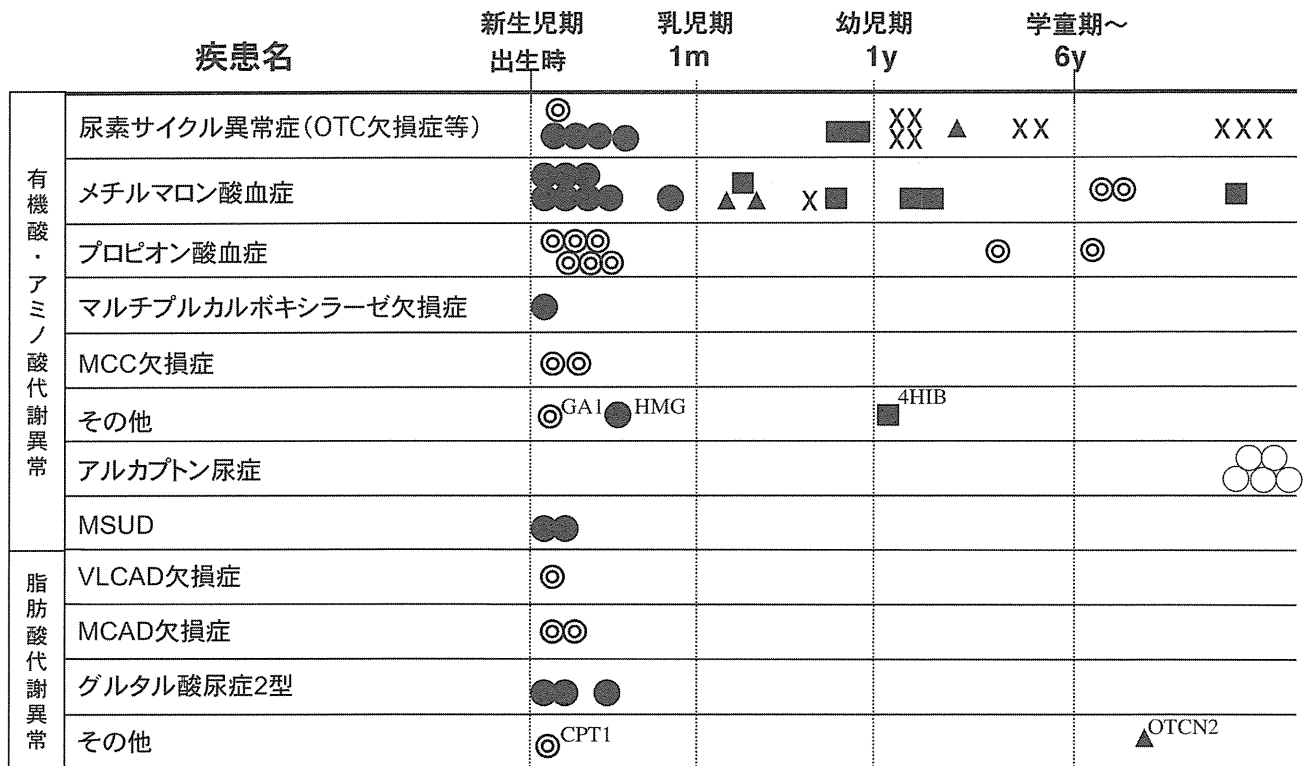
発症後診断例42症例では、発症時期はこれまで報告と変わらず、新生児期発症が16症例(38%)で、乳児期とあわせて1歳までに発症した例は23例(55%)であった。

今回の検討において、これまでと異なる特徴がいくつかみられた。以下にあげる。

- ①UCDで幼児期・学童期以降の発症が10/17例(59%)と半数以上を占め、発症年齢の遅さが際立っていた。
- ②PA、MCG尿症は全例、新生児スクリーニング発見例で、これまでに症状は出現していない。
- ③多呼吸を契機に診断されたHMG尿症例の年齢5のガスリーろ紙血で、タンデムマス・スクリーニング陽性が確認された。
- ④MMA+ホモシスチン尿症が3例発見された。いずれもメチオニン低値で、大球性貧血や精神症状・発達遅滞を呈していた。

#### 2) FAODsの疾患内訳と発症時期(図1)

対象は8症例であった。疾患の内訳は 1) グルタル酸尿症2型(GA2)が3例(38%)で最も多く、引き続き 2) 中鎖アシルCoA脱水素酵素(MCAD)欠損症2例(25%)、3) 極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症とカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ(CPT)-1欠損症、全身性カルニチン欠乏症(OCTN2)がそれぞれ1



●：新生児期急性発症 ▲：間欠型・反復発作 X：急性脳症・SIDS様  
■：発達遅滞 ○：その他 ◎：未発症

図1. 2010~2011年に診断された有機酸・脂肪酸代謝異常症例の疾患と発症年齢

例ずつ（13%）であった。OCTN2は学童期に骨格筋症状で発症したが、他の4例は全て未発症例であった。

#### D. 考察

今回の2年間の検討で、OAの発症後診断症例における発症時期は、これまでの検討と同様に新生児期の発症が最も多い（表1、2）が、学童以降の診断例が21%を占めた。これはUCD症例の数による影響が大きく、特に成人期に突然の高アンモニア血症で発症する症例が診断されるようになったことを示すのかもしれない。

またHMG尿症が新生児期のタンデムマススクリーニングで診断可能であると明らかになったことは大きな収穫であった。本疾患はケトン体が産生されない稀な疾患で、感染時などで経口摂取が減少した場合に重度の低血糖で発症し、後遺症を残したり死亡する。しかし急性期に早期に糖液輸液を行えば重症化を防げることから、早期診断は障害予防に非常に有用である。過去の診断例では

いずれもてんかんや後遺症を残していたが（表3）、今回の診断により患児は健全な発育を獲得しており、スクリーニング対象疾患として適切なことが実際に示唆された。

またFAODsは発症例の半数がスクリーニング診断例であったが、特にMCAD欠損症例は2009年以降、島根大学では発症後診断例はなかった。またVLCAD欠損症も発症後診断例が減少している。これらがスクリーニングによる効果かどうかを今後十分に検討する必要があるが、GA2を除くFAODsはタンデムマス・スクリーニングによる発症予防が非常に有用な可能性を強く示唆している。

#### E. 結論

タンデムマスによる新生児マススクリーニングは、乳児期以降発症の先天代謝異常、特にFAODsでは有用な可能性が高い。またHMG尿症はスクリーニング疾患として適切と考えられた。

表1. 2010～2011年に診断された発症例の初発時期

|            | 新生児期      | 乳児期     | 幼児期      | 学童期以降   |
|------------|-----------|---------|----------|---------|
| OAs (42例)  | 16例 (38%) | 7 (17%) | 10 (24%) | 9 (21%) |
| FAODs (4例) | 3例 (75%)  | 0       | 0        | 1 (25%) |

表2. 2001～2010年に診断された発症例全体の初発時期

|             | 新生児期      | 乳児期      | 幼児期      | 学童期以降    |
|-------------|-----------|----------|----------|----------|
| OAs (160例)  | 66例 (42%) | 40 (25%) | 28 (18%) | 26 (16%) |
| FAODs (51例) | 12 (24%)  | 17 (33%) | 18 (35%) | 8 (16%)  |

表3. 島根大学で診断されたHMG尿症（1996～2011年）

| 症例         | 性別 | 発症年齢                     | 診断年齢 | 症状               | 新生児マス | 転帰        |
|------------|----|--------------------------|------|------------------|-------|-----------|
| 1          | F  | 乳児期<br>(新生児期に低体温、哺乳不良あり) | 1y1m | 頻回の低血糖発作、呼吸停止    | -     | てんかん、発達遅滞 |
| 2          | M  | 3m                       | 3m   | 発熱を契機に嘔吐、意識障害    | -     | てんかん、発達遅滞 |
| 3          | F  | 11m                      | 1y0m | 低血糖、意識障害、Reye症候群 | -     | 発達遅滞      |
| 4          | F  | 詳細不明                     | 2y2m | 肝機能障害<br>低血糖発作   | -     | 不明        |
| 5<br>(本症例) | M  | day2                     | day7 | 多呼吸              | ○     | 発育正常      |



## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yagi M, Lee T, Awano H, Tsuji M, Tajima G, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Takeshima Y, Matsuo M.: A patient with mitochondrial trifunctional protein deficiency due to the mutations in the HADHB gene showed recurrent myalgia since early childhood and was diagnosed in adolescence. *Mol Genet Metab.* 104: 556-9, 2011
- 2) 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.* 102: 343-8, 2011
- 3) 久保田一生, 深尾敏幸, 堀 友博, 小林弘典, 船戸道徳, 長谷川有紀, 山口清次, 近藤直実: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ2欠損症のろ紙血血清のアシルカルニチンプロファイルの経時的変化 日本小児科学会雑誌 115: 956-60, 2011

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

分担研究課題：効率的な体制、臨床的效果に関する研究

## 小児慢性特定疾患登録患者データベースにおける タンデムマスによる新生児マス・スクリーニング対象疾患患者の検討

### 研究要旨

小児慢性特定疾患治療研究事業における登録患者データベースに平成17～21年度において登録されているメチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、グルタル酸尿症Ⅰ型およびイソ吉草酸血症の患者の生命的予後の解析を行った。登録データから明らかに転居によると考えられる症例を除外して、非継続例を生命的予後不良例として解析したところ、プロピオン酸血症のみで生命的予後の改善が認められた。これは、わが国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において、軽症型のプロピオン酸血症が多く発見されていることによる可能性が高いと考えられる。

### 研究協力者

伊藤道徳（(独)国立病院機構香川小児病院 副院長）

#### A. 研究目的

昨年度は、タンデムマスによる新生児マス・スクリーニング（NMS）の有効性を明らかにするために、小児慢性特定疾患治療研究事業において患者データベースに登録されている登録データのタンデムマスNMS対象疾患の知的予後について検討し、プロピオン酸血症およびグルタル酸尿症Ⅰ型においてNMSによる知的予後の改善が認められることを明らかにした。しかしながら、タンデムマスによるNMSの対象疾患、特に有機酸代謝異常症では生命的予後不良疾患も多いため、本年度は生命的予後についての解析を行った。

#### B. 研究対象および方法

平成17～22年度に小児慢性特定疾患治療研究事業の患者データベースに登録され、実施主体から提供を受けることのできたメチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、グルタル酸尿症Ⅰ型およびイソ吉草酸血症の患者を対象とした。登録データから経年的に登録されていると考えられる症例については最終登録年度を解析対象とし、実施主体から提供された最終年度に登録されている場合を継続例、最終年度以前に登録されなくなっている症例を非継続例として、登録最終年度での年齢に基

づいて集計を行った。

#### C. 研究結果

解析対象となった症例数は、メチルマロン酸血症延べ登録患者337例中101例（NMS発見症例8例、NMS以外での発見76例、不明16例、データ無し1例）、プロピオン酸血症延べ登録患者170例中54例（NMS発見例15例、NMS以外での発見例28例、不明10例、データ無し1例）、グルタル酸尿症Ⅰ型延べ登録患者69例中24例（NMSでの発見5例、NMS以外での発見17例、不明2例）、イソ吉草酸血症延べ登録患者23例中8例（NMSでの発見2例、MS以外での発見5例、不明1例）である。

各疾患の最終登録年齢および継続、非継続の集計結果を表1～4に示す。

年度および実施主体によっては小児慢性疾患治療研究事業の対象年齢を18歳までとしている場合があり、今回の解析対象から翌年には18歳となる17歳以上の症例は除外して解析を行った。また今回、登録データから明らかに転居による非継続例については、以後転居先で継続して登録されている場合には、継続して登録されているものとして集計しているため、非継続例を生命的予後不良例として解析した。メチルマロン酸血症では、全体として予後不良例は27.1%、NMS発見例で28.6%、NMS以外での発見例で25.0%であった。プロピオン酸血症では、全体として予後不良例は

表1. メチルマロン酸血症

| 年齢           |     | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 合計 |
|--------------|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| NMSで<br>発見   | 継続  | 1 | 1 | 1 |   |   | 1 | 1 |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 5  |
|              | 非継続 |   | 1 |   |   |   |   |   |   | 1 |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 1  | 3  |
| NMS以<br>外で発見 | 継続  | 1 | 3 | 6 | 4 | 1 | 3 | 1 | 2 | 4 | 4 | 3  | 7  | 3  |    | 2  | 3  | 1  | 1  | 1  | 3  | 53 |
|              | 非継続 | 3 |   |   | 2 | 3 |   | 3 |   | 1 | 2 | 1  |    | 1  |    |    |    |    | 2  | 1  | 4  | 23 |
| 不明           | 継続  |   | 1 | 2 | 1 | 1 |   |   | 1 | 1 |   |    | 1  | 1  |    |    |    |    |    |    |    | 9  |
|              | 非継続 | 1 |   |   |   | 1 |   |   | 1 |   |   |    |    |    |    |    |    | 1  |    | 1  | 2  | 7  |
| データ無         | 継続  |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 0  |
|              | 非継続 |   |   |   |   | 1 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 1  |

表2. プロピオン酸血症

| 年齢           |     | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 合計 |
|--------------|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| NMSで<br>発見   | 継続  | 2 |   |   | 2 | 1 |   | 1 |   | 1 | 2 | 1  | 1  |    |    |    |    |    |    |    |    | 11 |
|              | 非継続 | 2 | 1 |   |   |   |   | 1 |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 4  |
| NMS以<br>外で発見 | 継続  | 1 | 1 |   | 1 | 2 |   |   |   | 1 | 3 | 2  |    |    | 2  |    | 1  | 2  |    | 1  |    | 17 |
|              | 非継続 | 1 |   |   | 2 | 1 |   | 2 | 3 |   |   |    |    |    |    |    | 1  |    |    |    | 1  | 11 |
| 不明           | 継続  | 2 |   |   | 1 |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    | 1  |    | 1  |    |    | 5  |
|              | 非継続 |   |   |   | 1 |   |   |   |   |   |   | 1  |    | 2  |    |    |    |    |    | 1  |    | 5  |
| データ無         | 継続  |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 0  |
|              | 非継続 |   |   |   |   | 1 |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 1  |

表3. グルタル酸尿症型

| 年齢           |     | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 合計 |
|--------------|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| NMSで<br>発見   | 継続  |   | 1 |   | 1 |   |   | 1 | 2 |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 5  |
|              | 非継続 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 0  |
| NMS以<br>外で発見 | 継続  | 1 |   | 2 | 1 | 1 |   | 1 |   | 1 | 2 | 1  | 1  |    |    | 2  |    |    |    | 1  |    | 14 |
|              | 非継続 |   |   |   | 1 |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2  |
| 不明           | 継続  | 1 | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 2  |
|              | 非継続 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 0  |

表4. イソ吉草酸血症

| 年齢           |     | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 合計 |
|--------------|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| NMSで<br>発見   | 継続  |   | 1 |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 1  |
|              | 非継続 |   |   | 1 |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 1  |
| NMS以<br>外で発見 | 継続  |   |   |   |   |   |   |   | 1 |   | 1 |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 3  | 5  |
|              | 非継続 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 0  |
| 不明           | 継続  |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | 0  |
|              | 非継続 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    | 1  |    | 1  |

表5. 各疾患における予後不良例の割合

|             |           | 症例数     | 予後不良例数 | %     |
|-------------|-----------|---------|--------|-------|
| メチルマロン酸血症   | NMS で発見   | 7       | 2      | 28.6% |
|             | NMS 以外で発見 | 64      | 16     | 25.0% |
|             | 不明        | 13      | 4      | 30.8% |
|             | データ無し     | 1       | 1      | 100%  |
|             | 合計        | 85      | 23     | 27.1% |
| プロピオン酸血症    | NMS で発見   | 15      | 4      | 26.7% |
|             | NMS 以外で発見 | 26      | 10     | 38.5% |
|             | 不明        | 8       | 4      | 50.0% |
|             | データ無し     | 1       | 1      | 100%  |
|             | 合計        | 50      | 19     | 38%   |
| グルタル酸尿症 I 型 | NMS で発見   | 5       | 0      | 0%    |
|             | NMS 以外で発見 | 13      | 1      | 7.1%  |
|             | 不明        | 2       | 0      | 0%    |
|             | 合計        | 21      | 1      | 4.7%  |
|             | イソ吉草酸血症   | NMS で発見 | 2      | 1     |
| NMS 以外で発見   |           | 2       | 0      | 0%    |
| 不明          |           | 0       | 0      | -     |
| 合計          |           | 4       | 1      | 25.0% |

38.0%、NMS発見例で26.7%、NMS以外での発見例で38.5%であった。グルタル酸尿症I型では、NMS以外での発見例の1例のみが予後不良例であり全体として予後不良例は4.7%、NMSでの発見例で0%、NMS以外での発見例では7.1%であった。イソ吉草酸血症では、予後不良例はNMSでの発見例での1例のみであり、全体として25.0%、NMSでの発見例で50%、NMS以外での発見例で0%であった。

#### D. 考察

登録データからは、非継続の理由は不明ではあるが、明らかに転居によると考えられる症例を除外して、非継続例を生命的予後不良例として解析したところ、プロピオン酸血症のみで改善が認められた。昨年度の知的予後の検討では、プロピオン酸血症とグルタル酸尿症I型で改善が認められており、プロピオン酸血症においてのみ、NMS

による知的および生命的予後の改善が認められていた。しかしながら、これはわが国におけるNMSにおいて、軽症型のプロピオン酸血症が多く発見されていることによる可能性が高いと考えられる。

#### E. 結論

タンデムマスによるNMSによって、プロピオン酸血症においてのみNMSによる生命的予後の改善が認められた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究課題：効率的な体制、臨床的効果に関する研究

## 新生児タンデムマススクリーニングでの軽症例のフォローをめぐって： シトルリン血症 I 型を例に

### 研究要旨

新生児マススクリーニングの普及とともに、必然的に臨床的に軽症な群が発見されるようになる。タンデムマスによるスクリーニングにおいては、対象疾患が多種であるため、それらの疾患ごとに軽症型への対処が求められる。今回、当施設で経験したシトルリン血症 I 型に関して報告する。

### 研究協力者

坂本 修（東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野准教授）

### A. 研究目的

新生児マススクリーニングの普及とともに、必然的に臨床的に軽症な群が発見されるようになる。すでに本邦でのプロピオン酸血症においては PCCB\_Y435C 変異による軽症型が報告されて久しい。タンデムマスによるスクリーニングにおいては対象疾患が多種であるため、それらの疾患ごとに軽症型への対処が今後求められる。今回、当施設で経験したシトルリン血症 I 型に関して報告する。

### B. 研究方法

新生児タンデムマススクリーニングでシトルリン 1 回目  $73.72 \mu\text{mol/L}$  であり、再採血でも  $104 \mu\text{mol/L}$  であったため、「シトルリン血症の可能性が否定できない」として、生後 1 ヶ月時に精査目的に当科を受診した児に関し、発達発育・生化学的データをフォローした。

（倫理面への配慮）

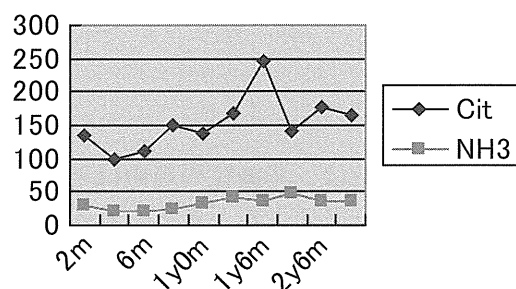
診断確定のための遺伝子検査は検査実施施設（北里大学）で倫理審査をうけているものである。インフォームドコンセントは代諾者（保護者）より得た。

### C. 研究結果

当初、シトルリン血症 I 型、II 型（NICCD）、

アルギニノコハク酸尿症を主な鑑別疾患とした。ビリルビン・総胆汁酸が月齢相当であったことから NICCD の可能性は低く、アミノ酸検査にてアルギニノコハク酸は陰性であったことからアルギニノコハク酸尿症は否定的であり、シトルリン血症 I 型が候補に残った。しかしながら典型的なシトルリン血症 I 型ではシトルリン値が  $1,000 \mu\text{mol/L}$  以上を呈するため、本症例はシトルリン血症 I 型であっても極軽症型と考え、タンパク制限食を導入することなく経過観察のみとした。

その後も高アンモニア血症を疑わせる症状はなく、発達・発育は正常範囲である。定期検査においてもシトルリン値は軽度上昇のまま推移しつつも、アンモニアの上昇は認められていない。



診断確定のため 2 歳 6 月にアルギニノコハク酸合成酵素（ASS）変異解析を実施した（北里大学 田久保先生に依頼）。その結果 c. 575C>T (p. A192V) と c. 773C>T (p. A258V) の複合ヘテロ体であり、シトルリン血症 I 型であることが確定した。現在もタンパク制限食を導入することなく経過観察のみとしている。

#### D. 考察

タンデムマスによる拡大マススクリーニングの普及とともにシトルリン血症 I 型でも軽症例が海外で報告されている (Mol Genet Metab. 80: 302-306, 2003)。本邦でも重松らにより同様の例が報告されている (日本マススクリーニング学会雑誌 20: 162, 2010)。先天代謝異常は典型例であるほど生化学的に診断が易く、軽症例 (非典型例) では生化学的な診断が困難になる傾向がある。よって軽症例 (非典型例) での診断のためには遺伝子検査をよらざるを得ないため、診断のシステム作りが必要となる。また、治療においてはどの程度の重症度であれば発症をするのかについてのデータが十分ではない。今後、患者登録フォローシステムを構築し経験を共有することが望まれる。

#### E. 結論

今後増加すると予想される軽症型においても、遺伝子検査を含めた確定診断へのシステム作りと患者登録にもとづいた治療管理指針の確立が必要と考えられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 坂本 修, 大浦敏博: MCAD欠損症・OTC欠損症「急性脳炎・急性脳症 (小児科臨床ピクシス28)」(塩見正司 専門編集) 中山書店 214-217, 2011
- 2) Sakamoto O. et al.: Neonatal lactic acidosis with methylmalonic aciduria due to novel mutations in the SUCLG1 gene. *Pediatr Int.* 53: 921-925, 2011
- 3) 菅野潤子, 坂本 修 ほか: 著明な高アンモニア血症で発症し、代謝性アシドーシスは呈さなかったプロピオン酸血症の1例 小児科臨床 64: 1857-1863, 2011

##### 2. 学会発表

- 1) 菅野潤子, 坂本 修, ほか: 著明な高アンモニア血症で発症し、代謝性アシドーシスは呈さなかったプロピオン酸血症の1例 日本小児科学会学術集会, 東京, 2011年8月12-14日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

分担研究課題：効率的な体制、臨床的效果に関する研究

検査施設間の連携に関する研究

ータンデムマススクリーニングにおける精度管理の標準化ー

研究要旨

新生児スクリーニング検査施設に要求される検査精度の維持・向上を図るためには、精度保障システムで使用する精度管理指標と判断基準を標準化し、統一された評価方法により改善を継続するシステムの構築が必要である。

研究協力者

- 福士 勝（札幌IDL・所長）
- 石毛信之（東京都予防医学協会）
- 稲岡一考（大阪府立母子保健総合医療センター）
- 酒本和也（大阪市環境保健センター）
- 佐々木純子（岩手県予防医学協会）
- 田崎隆二（化学及血清療法研究所）
- 花井潤師（札幌市衛生研究所）
- 山口清次（島根大学医学部・教授）

A. 研究目的

全国どこでも同じレベルの新生児スクリーニングを受けることができるようにするため、スクリーニング検査施設の精度保障システムで使用する精度管理指標と判断基準を標準化して検査精度の維持・向上を図る。

B. 研究方法

タンデムマススクリーニングの検査前、検査時、検査後の各段階で要求される精度管理指標と判断基準を現行6疾患スクリーニングで実施されている精度管理を参考にして検討した。

（倫理面への配慮）

該当事項なし。

C. 研究結果

1. 検査前精度管理

検査前の精度管理では適切な濾紙血液検体の確保を評価するため、採血日齢、採血から検査機関受付までの日数、検査不能検体の理由と割合及び採血の実施率、低出生体重児の割合と2回目採血

の実施率等が指標と必要である（表1）。

表1. 検査前精度管理

|  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>・採血日齢<ul style="list-style-type: none"><li>-4日から6日目採血の確保</li><li>採血日齢によるアミノ酸及びアシルカルニチンの変化</li></ul></li><li>・採血から検査機関受付までの日数<ul style="list-style-type: none"><li>-採血後の速やかな検体の送付の確保</li><li>濾紙血液アミノ酸・アシルカルニチンの低下、検査の遅れ</li></ul></li><li>・検査不能(不備)検体の原因と割合、再採血の実施率<ul style="list-style-type: none"><li>-検査不能検体の低減</li><li>2回目採血による負荷の軽減</li></ul></li><li>・低出生体重児の割合、2回目採血の実施率<ul style="list-style-type: none"><li>-出生体重2,000g未満児の2回目採血の確保</li></ul></li></ul> |
|--|

2. 検査時精度管理

検査時の精度管理では、迅速な検査実施体制の確保、スクリーニングで要求される機器（タンデム質量分析システム）の性能の確保、統計学的内部精度管理の実施、外部精度管理への参加、適切なカットオフ値の設定のための定期的な妥当性の検証等の必要な指標を表2に記載した。

表2. 検査時精度管理

|   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"><li>・迅速な検査体制<ul style="list-style-type: none"><li>-検査開始日</li><li>-検査結果判定日齢</li></ul></li><li>・機器の性能レベルの設定とモニタリング<ul style="list-style-type: none"><li>-使用する機器(タンデムマスシステム)の性能保証レベルの設定とモニター</li><li>-機器の最適化とアミノ酸・アシルカルニチン溶液による管理</li><li>-トータルイオンクロマトグラムのチェック(形状、ベースシグナル)</li></ul></li><li>・内部精度管理の基準設定とモニタリング<ul style="list-style-type: none"><li>-安定同位体含有アミノ酸・アシルカルニチン内部標準溶液のイオン強度の測定内、測定間変動の管理</li><li>-内部精度管理検体(低・中・高の3濃度)によるX-R管理図</li><li>-新生児検体の分布の変動の管理:日、月、年、試薬ロット変更時(平均値・標準偏差、中央値+パーセンタイル値:0.1, 1, 25, 75, 99, 99.9)</li></ul></li><li>・外部精度管理へ参加</li><li>・適切なカットオフ値の設定と妥当性の検証<ul style="list-style-type: none"><li>-設定カットオフ値による陽性率の確認、シミュレーションによる陽性率の検討とカットオフ値の検証を定期的の実施</li></ul></li></ul> |
|---|

### 3. 検査後精度管理

検査後の精度管理では、再採血及び精密検査対象者などのスクリーニング陽性例への迅速な対応の確保と検査結果の評価するため、再採血対象例の再採血日齢、精査対象例の精査受診日齢、確定診断日齢、治療開始日齢、診断疾患名等が指標となる(表3)。

表3. 検査後精度管理

|  |
|--|
| ・再採血対象例の再採血日齢<br>-再採血の速やかな実施   |
| ・精密検査対象例の受診日齢<br>-精密検査の速やかな実施  |
| ・確定診断日齢、診断疾患名、治療開始日齢<br>-スクリーニング結果の精度の検証(PPV:陽性的中率)<br>-スクリーニング結果の全国集計への協力 |

### D. 考察

スクリーニングシステムの改善には、精度管理により得られたデータを適切に評価し、関係者へ問題点と対策のための情報を提供することが重要である。

採血医療機関への検査前精度管理情報の提供とガイドラインに準拠した採血を徹底することにより、適切な濾紙血液検体を確保して不要な採血の繰り返しや偽陽性・偽陰性をできるだけ少なくしていくべきである。

検査時精度管理情報は、検査体制の見直し、検査精度・正確度のモニタリングによる検査の信頼性の確保に重要な指標であり、カットオフ値の定期的な検証により偽陽性・偽陰性の低減を図ることができる。

検査後精度管理で得られる情報は、検査精度の確認、精密検査手続きや精密検査機関受入れ体制の改善にも有用であり、採血医療機関や自治体へ情報提供することで連携強化にも繋がる。

### E. 結論

全国同一レベルのタンデムマススクリーニングの実施には、精度管理指標と判断基準を標準化し、統一された評価方法により改善を継続するシステムの構築が必要である。また、検査に加えて検査前と検査後の情報から得られる指標も併せて収集・解析を行って関係機関に情報提供することによりシステム全体の改善も可能となる。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) 雨瀧由佳, 野町祥介, 花井潤師, 高橋広夫, 三觜 雄, 窪田 満, 長尾雅悦, 福士 勝: 札幌市におけるタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングの5年4か月間の実施成績. 日本マス・スクリーニング学会誌 21: q49-54, 2011

#### 2. 学会発表

- 1) 福士 勝: ガラクトース血症スクリーニングの感度・特異度及び費用と効果(シンポジウム; スクリーニングの理念目的からガラクトース血症を再考察する), 第38回日本マス・スクリーニング学会, 福井市, 平成23年10月
- 2) 福士 勝: 海外のタンデムマススクリーニングの動向とわが国の検査施設のあり方(シンポジウム; タンデムマス・スクリーニングの技術と臨床), 第38回日本マス・スクリーニング学会, 福井市, 平成23年10月

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



分担研究課題：効率的な体制、臨床的効果に関する研究

## 確定診断技術の向上（GC/MS、酵素診断、遺伝子診断）

### HMG-CoAリアーゼ欠損症の遺伝子解析体制の検討

#### 研究要旨

遺伝子診断体制を構築するにあたり、正確な遺伝子診断は重要な課題である。HMG-CoAリアーゼ欠損症についてはタンデムマスによる新生児スクリーニング対象疾患であり、その確定診断としての遺伝子解析は重要である。そこで今回先天性ケトン体代謝異常症の1疾患として遺伝子診断体制を整えた。本遺伝子では大きな欠失の報告もありMLPA法の確立も考慮が必要であると考えられた。

#### 研究協力者

深尾敏幸（岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科／大学院医学系研究科小児病態学 教授）

た位置に設定し直す必要があった。

現在化学診断のついでに日本人患者1例について解析を進めており、一方のアレルにR11X変異を同定している。

#### A. 研究目的

今回HMG-CoA lyase欠損症は、タンデムマスによる新生児スクリーニングの対象疾患でもあり、遺伝子診断を整備することにした。

HMG-CoA lyase遺伝子は1q36.11に位置し、9エクソンから成る。これまでにGenomics 33: 99-104, 1996にヒト遺伝子がクローニングされ、多くの解析がこの報告されたプライマーを用いてなされている。日本の症例の遺伝子解析は2000年に室井らがHuman Genetics 107: 320-326に報告しているが、その後はまとまった報告はない。

#### B. 研究方法

Genomics 33: 99-104, 1996で報告されたプライマー配列をまず用いてゲノムPCR-direct sequencingを行った。これらの増幅産物でダイレクトシーケンスに不適切である場合はプライマーをエクソンから離すように設定し直した。

#### C. 研究結果

今回用いた両プライマーがエクソンイントロン境界部から20塩基程度しか離れておらず、ダイレクトシーケンス解析では読めない部分があることが判明し、プライマーをさらに境界部から離れ

#### D. 考察と結論

既報のプライマー配列をこれまでの報告例が用いていたため、今回解析に用いたが、当時はサブクローニング主流であったため、プライマーの位置がダイレクトシーケンスには不向きであった。

既報のGenomicsによれば、サザンブロット解析で、5例中2例に遺伝子の大きな欠失をみとめており、また日本人においても1例がエクソン7を含む欠失のホモ接合と報告され、遺伝子内欠失の頻度が高い可能性のある疾患である。そのため今後MLPA法の確立を含めた検討が必要である。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Fukao T, Sass JO, Kursula P, Thimm E, Wendel U, Ficicioglu C, Monastiri K, Guffon N, Varic I, Zabot M-T, Kondo N. Clinical and molecular characterization of five patients with Succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) deficiency Biochimica Biophysica Acta Molecular Basis of Disease 1812: 619-24, 2011
- 2) Macdonald MJ, Longacre MJ, Stoker SW,

Kendrick MA, Thonpho A, Brown LJ, Hasan NM, Jitrapakdee S, Fukao T, Hanson MS, Fernandez LA, Odorico J. Differences between human and rodent pancreatic islets: low pyruvate carboxylase, ATP citrate lyase and pyruvate carboxylation; high glucose-stimulated acetoacetate in human pancreatic islets. *J Biol Chem.* 286: 18383-18396, 2011

- 3) Fukao T, Maruyama S, Ohura T, Hasegawa Y, Toyoshima M, Haapalainen AM, Kuwada N, Imamura M, Yuasa I, Wierenga RK, Yamaguchi S, Kondo N. Three Japanese patients with beta-ketothiolase deficiency who share a mutation, c.431A>C (H144P) in ACAT1: subtle abnormality in urinary organic acid analysis and blood acylcarnitine analysis using tandem mass spectrometry. *JIMD Reports* in press
- 4) 久保田一生, 深尾敏幸, 堀 友博, 小林弘典, 船戸道徳, 長谷川有紀, 山口清次, 近藤直実: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ2欠損症のろ紙血血清のアシルカルニチンプロファイルの経時的変化. *日本小児科学会雑誌* 115(5): 956-960, 2011
- 5) 深尾敏幸: 診療の秘訣 小児の診療における尿ケトン. *Modern Physician* 31: 1126, 2011

## 2. 学会発表

- 1) Fukao T, Hori T, Boneh A, Kondo N. Establishment of MLPA method for ACAT1 gene and identification of intragene deletions and duplication caused by Alu sequence-mediated non-equal homologous recombination

in beta-ketothiolase deficiency. 2011 Annual symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. August 30-September 2, 2011 (Geneva, Switzerland)

- 2) Fukao T, Yamaguchi S, Takayanagi m, Shigematsu Y, Ishige M, Tanaka T, Takahashi T, Ihara T, Murakami J, Ohtsu Y, Onigata K, Kosaka K, Yorifuji T, Kondo N. HMG-CoA lyase deficiency in Japan: Question-based follow-up study. 2011 Annual symposium of Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. August 30-September 2, 2011 (Geneva, Switzerland)
- 3) 深尾敏幸, 堀 友博, 近藤直実:  $\beta$ -ケトチオラーゼ欠損症の遺伝子診断: MLPA法の確立とエクソン欠失, 重複の検出. 第53回日本先天代謝異常学会 平成23年11月24-26日 幕張
- 4) 深尾敏幸, 山口清次, 高柳正樹, 重松陽介, 新宅治夫, 堀川玲子. 日本人HMG-CoAリアーゼ欠損症の臨床像: 研究班におけるアンケート調査から. 第53回日本先天代謝異常学会 平成23年11月24-26日 幕張
- 5) 岡和田祥子, 加藤寛幸, 勝又 元, 古田千左子, 関根裕司, 山内豊浩, 深尾敏幸. 急性胃腸炎を契機に発見されたSCOT (サクシニル-CoA:3-ケト酸CoA トランスフェラーゼ) 欠損症の1例. 第53回日本先天代謝異常学会 平成23年11月24-26日 幕張

## F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

分担研究課題：効率的な体制、臨床的效果に関する研究

## MCAD、VLCAD、CPT-2欠損症の酵素診断と遺伝子診断

### 研究要旨

脂肪酸代謝異常症の新生児スクリーニング陽性例の確定検査として、我々はMCAD、VLCAD欠損症の酵素活性測定と遺伝子解析を実施してきたが、CPT-2欠損症の見逃し急性発症例を受けて、遺伝子診断の運用を開始した。本疾患の陽性基準の引き下げに伴って3例の陽性例が相次ぎ、いずれも遺伝子変異は同定されず偽陽性と考えられたが、完全な除外診断はできていない。CPT-2欠損症についても、酵素活性測定を組み合わせることで速やかな除外診断を可能とし、低いスクリーニング基準で積極的に発見していくことが望まれる。

### 研究協力者

但馬 剛（広島大学大学院小児科学助教）  
津村弥来（広島大学大学院小児科学大学院生）  
香川礼子（広島大学大学院小児科学大学院生）  
宇都宮朱里（広島大学大学院小児科学大学院生）  
原 圭一（広島大学大学院小児科学大学院生）  
岡田 賢（Laboratory of Human Genetics of  
Infectious Diseases, The Rockefeller  
University）  
佐倉伸夫（重症心身障害児施設鈴が峰病院長）  
阪本直美（広島市医師会臨床検査センター）  
森岡千代美（広島市医師会臨床検査センター）  
吉井千代子（広島市医師会臨床検査センター）  
濱川以行（広島市医師会臨床検査センター）

および、各種の症状の精査としてのタンデムマス分析所見に基づいて、当科で診断を試みた症例。解析方法：MCAD、VLCAD欠損症についてはリンパ球中の酵素活性を測定し、低下例については各エクソンの直接シーケンスによる遺伝子解析を実施した。CPT-2欠損症については全例で遺伝子解析を実施した。

（倫理面への配慮）

タンデムマス新生児スクリーニング試験研究および対象疾患（MCAD、VLCAD、CPT-2欠損症を含む）の遺伝子解析については広島大学倫理委員会で承認済みであり、所定の説明を行い同意書を取得している。酵素活性測定についても、遺伝子解析について承認を受けた方法に準じて、同意書取得後に実施している。

### A. 研究目的

MCAD欠損症、VLCAD欠損症、CPT-2欠損症は、タンデムマス新生児スクリーニング対象の脂肪酸代謝異常症の中でも頻度の高い主要な疾患と考えられる。確定診断法として我々は、MCAD、VLCAD欠損症について酵素活性測定＋遺伝子解析を実施してきたが、平成22年度から広島県内でCPT-2欠損症の陽性例が相次いだため、新たに遺伝子解析の運用を開始した。3疾患の確定診断に関連して経験した問題点について報告する。

### B. 研究方法

検討対象：国内各地のタンデムマス新生児スクリーニングで陽性となり当科で診断を試みた症例

### C. 研究結果

#### (1)MCAD欠損症（表1）

対象12例中9例の遺伝子解析を当科で実施しており、変異が同定されなかったのは3例3アレル（症例B、I、K）であった。症例Bは残存活性がほとんどなく、他アレルにはスプライシング変異などが存在するものと推測された。症例Kは残存活性が50%近くあり、ヘテロ保因者（449-452del/WT）と判断された。症例IはBとKの中間レベルの残存活性を示したことから、653C>Gは比較的マイルドな変異で、他アレルには活性を大きく損なうスプライシング変異などがあるものと推測された。

表1. MCAD欠損症：新生児スクリーニング陽性例の診断結果

| 症例 | 残存活性(%) | 初回C8( $\mu$ M) | ACADM遺伝子解析結果   |                 |
|----|---------|----------------|----------------|-----------------|
| A  | 感度以下    | 5.53           | 843A>T (R281S) | IVS3+2T>C       |
| B  | 感度以下    | (不詳)           | 449-452del     | 同定されず           |
| C  | 感度以下    | (不詳)           | 未解析            |                 |
| D  | 3       | 5.92           | 843A>T (R281S) | 1085G>A (G362E) |
| E  | 11      | 0.56           | 50G>A (R17H)   | 1085G>A (G362E) |
| F  | 13      | 0.43           | 50G>A (R17H)   | 449-452del      |
| G  | (14)**  | 1.79           | 449-452del*    | 811A>G* (K271E) |
| H  | 18      | (不詳)           | 同定済み (不詳)      |                 |
| I  | 23      | 0.64           | 653C>G (A218G) | 同定されず           |
| J  | 32      | 1.33           | 449-452del*    | 830A>C*         |
| K  | 46      | 0.33           | 449-452del     | 同定されず           |
| L  | 47      | 0.62           | 未解析            |                 |

\* 特殊ミルク情報, 2009に掲載されたデータを転載。

\*\* 状態不良の検体によるデータ

表2. VLCAD欠損症：新生児スクリーニング陽性例および新生児期発症例の診断結果

| 症例                    | 残存活性(%)* | ACADVL遺伝子解析結果               |                 |
|-----------------------|----------|-----------------------------|-----------------|
| M 新生児スクリーニング陽性        | 12       | 709T>C (C237R)              | 1532A>G (R511Q) |
| N 新生児スクリーニング陽性        | 11       | 779C>T (T258M)              | 997insT         |
| O 新生児スクリーニング陽性        | 5        | 708delCT                    | 1246G>A (A416T) |
| P 新生児スクリーニング陽性        | 6        | 852G>A (V284V)              | 1434G>A (M478I) |
| Q 新生児スクリーニング陽性        | 4        | 1793A>G (H598R)             | 1808G>C (C603S) |
| R 新生児発症 (低血糖症, 心停止)   | 1        | 1332G>A (K444K)             | 1332G>A (K444K) |
| S 新生児発症** (低血糖症, 心停止) | 62       | 1076C>T(A359V) heterozygote |                 |
| T 新生児発症** (低血糖症)      | 79       | 1076C>T(A359V) heterozygote |                 |

\* 残存活性は正常対照検体での平均活性値に対する百分率表示。

\*\* 双胎例

## (2)VLCAD欠損症 (表2)

新生児スクリーニング陽性の5例については、いずれも酵素活性が明らかに低下しており、複合ヘテロ変異が同定された。一方、スクリーニングが間に合わない早期新生児期の低血糖症3例 (R、S、T) についてC14:1-AC上昇が認められたが、酵素活性からは症例Rが罹患と診断され、症例S、T (一卵性双胎) は保因者ないし正常レベルと判断された。遺伝子解析では、症例Rにはアミノ酸

置換を起こさない1塩基置換 (c.1332G>A、p.K444K) がホモ接合性に見出された。症例Rは追加解析を行えないまま亡くなったが、後に同じ変異が骨格筋型の成人例で複合ヘテロ変異の一方として検出され、mRNAの発現が認められなかったことから、高率にmRNA decayを起こす病理性変異であると考えられた。症例S、Tは遺伝子解析の結果、ヘテロ保因者と判断された。