

3. 新たなシステムの構築

福岡での新たなシステムの基本は平成22年度総括・分担研究報告書に記載した熊本県の方式と同様である。

個人負担での研究継続になることから、福大小児科にて福岡県産婦人科医会福岡ブロック会への説明と研究再開の協力依頼を行い、了承を得ることができた。また同時に、血液濾紙検体の研究利用について福岡市の担当課に状況説明を実施し、了承が得られた。

また、福岡ブロック会には福岡県に住所がある産科医療機関が含まれているため、福岡県に対しても血液濾紙使用に関する申請を行い、承認を得た。今回の福岡市内域（一部県域）の産科医療機関は国公立を含めて58施設であり、全ての施設を対象に契約書を取り交わす準備を進めている。契約内容と個人情報保護に関する覚書の内容等は熊本県と同様とした。

4. 検査結果、事務的処理等

検査結果の報告、事務的処理、その他については平成22年度総括・分担研究報告書と変わらないので割愛する。

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23年1月から12月末までの年間検査数は27,362件であり、昨年と比べ6,472件減少していたが、この差は平成21年度で終了した福岡市、佐賀県、宮崎県の1月から3月までの3ヶ月分が計算に入っているためであり、実質は昨年とほぼ同数であった。再採血数227件（0.91%）、陽性報告数は13名、その内3名が患者と診断された。再採血項目はC0が基準未滿となった例が全体の30%（76件）、C8、C10、C10/C2が基準を超えた例20%（51件）、C5高値が17%（43件）、Tyrosine高値例7%（18件）となり、この4項目で全体の83%を占めた。スクリーニング開始からの累計では検査数192,798件、再採血数1,621件（再採血率0.84%）、陽性報告数86名、患者確定数は17名となり、発見頻度は1/11,341であった。

平成23年の一年間で新しく発見された患者の内訳は①シトリン欠損症1例（熊本県）、②メチルマロン酸血症1例（熊本県）、③MCAD欠損症1例（香川県）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1/10,842、香川県1/9,063となり、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年に発見されたシトリン欠損症1例とメチルマロン酸血症1例は、熊大小児科にて治療管理され、香川県でのMCAD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。

3) 熊本県での検査同意率について

平成22年度から新しい体制（検査費用等の個人負担方式）で実施中の熊本県での検査受検率は平成22年度（開始直ぐの4月を除く）で97.9%、平成23年度（4月～12月）も97.8%と殆ど変化がなく、高い受検率を維持している。

D. 考察

平成22年度から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無料実施期間と比べ、検査同意率の低下もわずかであり、ほぼ順調に進捗している。また、協力頂いている産科医療機関からのクレーム等も起こっていない。

今年度は福岡市が公費負担までの間、熊本方式のスクリーニングを承認し、福岡市と周辺地域の産科医療機関を対象としたスクリーニングが開始できる目処がたち、2月1日には一部の施設ではあるものの再開することができた。

九州の自治体では公費負担によるスクリーニング開始までもうしばらく時間がかかるかと思われる。保護者には多少の費用負担がかかるものの、自治体が実施主体となるまでの間、本方式での研究を継続したいと考えている。

ところで、今回の準備を進める過程で一部の産科医療機関からの要望に医師やスタッフ用の分かりやすい資料・テキストが必要との指摘があった。また、保護者への説明用にも同意書記載の説明内容では不足しているとの意見も少ないものの見受けられた。これらの要望は研究支援機関となっている小児科医に相談し対応したい。また、保護者向けの資料については今年度、研究班にて作成された一般向けガイドブックを各検査機関で購入できるような仕組みを作って頂ければ幸いである。

《謝辞》

福岡地域の取り組みについてご協力頂いた福岡県産婦人科医会福岡ブロック会の長野英嗣会長、並びに会員である各産科医療機関の先生方、また、行政への働きかけと関係機関へのとりまとめを行われた福岡大学医学部小児科 廣瀬教授、同スタッフに本紙面を借りて深謝致します。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

なし

《資料》

項目	内容
検査数 累計	192,798件 (開始から2011/12まで)
発見数	17例 (1/11,341)
疾患名	①②3MCC欠損症：熊本県、宮崎県 ③CPT1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 ⑪⑫MCAD欠損症：福岡市、香川県 ⑬VLCAD欠損症：熊本県 ⑭PKU：熊本県 ⑮PTPS欠損症：香川県 ⑯シトリン欠損症：熊本県 ⑰メチルマロン酸血症：熊本県

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タンデムマス・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実施した。その結果、検査の提供を公表してよいと回答した施設数は13施設であり、のべ52項目の検査が提供されていた。しかしながら、その継続性には問題があり、安定的な継続性を担保できる人的・財政的基盤の整備と全国的なシステム構築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・医員）

体制の構築をすることを目標とする。今年度は、新生児タンデムマス・スクリーニング対象疾患に対する確定診断検査を行っている施設の実態調査を行い、学会誌およびウェブサイトでの公開が可能と回答した施設について一覧表を作成した。

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

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。また、これ以外に確定診断検査を行っていると考えられる施設に直接連絡をとり、提供している検査項目について調査した。

（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

13施設により、のべ52種類の検査項目について提供がなされていることが判明した。各検査項目について、使用する検体、結果報告までの期間、検査費用について情報を得た。これらを表1にまとめるとともに、日本地図上にプロットした（図1）。

GC/MS解析の提供施設は5か所、タンデムマスの詳細解析は3か所、その他の化学診断（プテリジン分析）が1か所、酵素診断が5か所（12項目）、

確定診断のための特殊検査提供施設

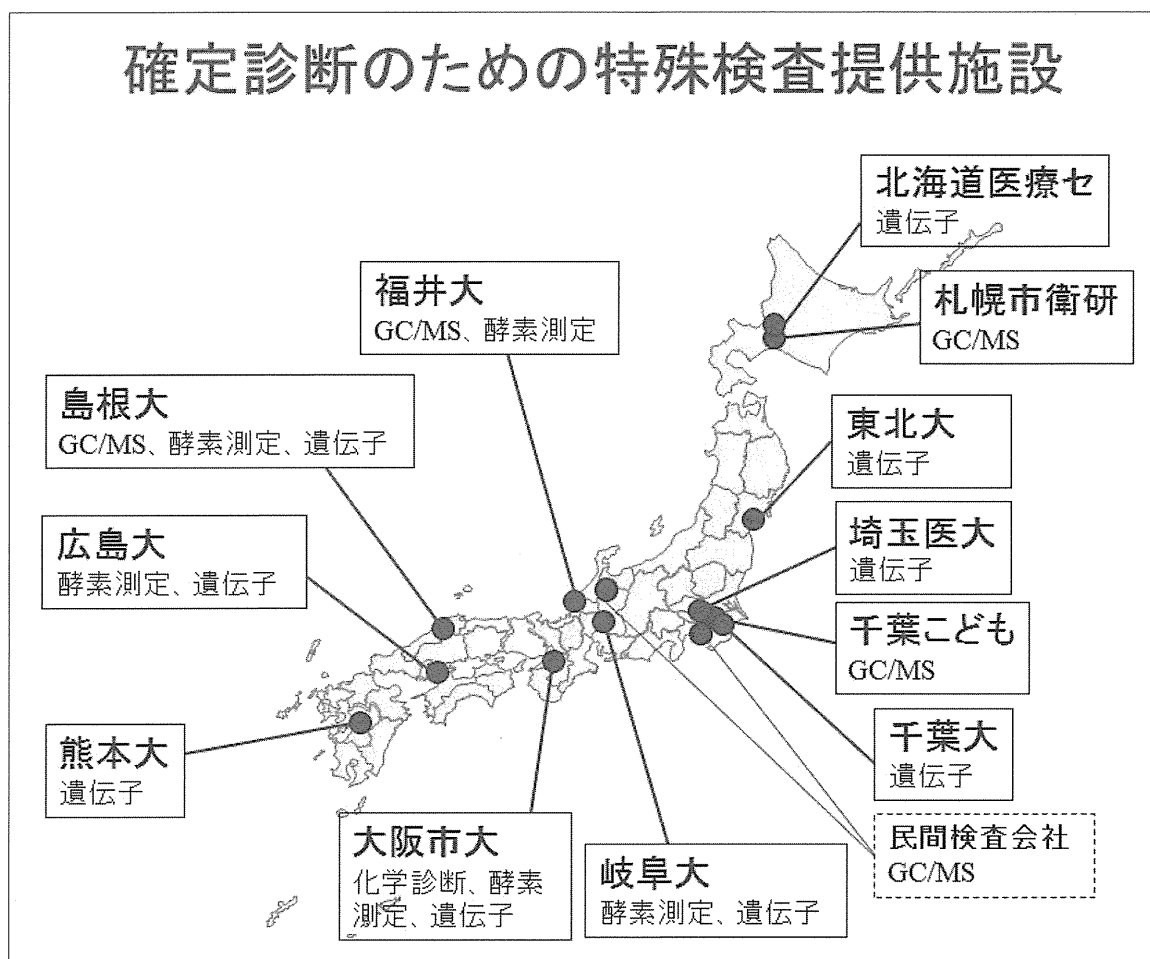


図1

遺伝子診断が9か所（31項目）であった。

料金は12項目が有料で、残りは無料もしくは未定（3項目）となっていた。

なお、調査実施後、1施設から研究者の退職によって検査提供が不可能となったとの連絡を受け、表から削除した。

D. 考察

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は、生涯にわたる治療を開始するための確証として極めて重要である。また、病型の確定をおこなって治療方針を決定する際にも有用である。たとえば、メチルマロン酸血症においてビタミン反応性かどうかを臨床的な負荷試験だけで確定することはしばしば困難である。遺伝学的にビタミン不応性である症例に対して漫然とB12投与を行うべきではなく、より適切な食事療法を早期に開始する必要がある。また、遺伝カウンセリングへの情報提供を行い、次子の罹患リスクの推定を行うとともに、出生前診断などの選択肢を両親に提示することも必要である。

これらの検査には、一般臨床検査と異なる特殊な技術が必要とされ、院内で検査を実施することは実際上不可能である。一方、保険診療が可能な確定診断検査はほとんどないため、商業的な検査センターによる検査を行われていない。現在わが国では、ごく少数の大学研究室や病院が、研究の一環としてこれらの臨床サービスを提供しているのが実情である。

実際に検査を提供している施設を探し当てるためには、学术论文の検索やクチコミによる以外になく、極めて困難である。本研究では、これらの施設のうち、学会誌や学会ウェブサイトなどで公表をしてもよいと回答した施設を一覧表としてまとめた。

しかしながら、これらの施設による検査提供は基本的には研究費で賄われており、研究費の逼迫、研究テーマの変更、研究者の引退などが引き金となって提供体制が崩れる可能性があると考えられる。実際、昨年度の調査でも、現状のような個別の研究者の奉仕に依存する体制には疑問が呈されている、さらにまた、今後のタンデムマス普及

にともなう検体数増加への対処も課題である。

現在のところ、基本的には研究費で無償提供されているものが多いが、一部の施設では有料化を検討しており、今後、その費用負担が問題となってくるであろう。

E. 結論

新生児タンデムマス・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実施し、公開可能な一覧表を作成した。今後、全国で発見されるスクリーニング陽性者の検査を依頼するにあたって重要な情報と考えられる

F. 健康危険情報

緊急を要するものはない

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Sakamoto O, Matsubara Y, Saheki T, Kobayashi K, Ohura T, Kure S. Simple and rapid genetic testing for citrin deficiency by screening 11 prevalent mutations in SLC25A13. *Mol Genet Metab.* 2012 Jan 8. [Epub ahead of print]
- 2) Narisawa A, Komatsuzaki S, Kikuchi A, Niihori T, Aoki Y, Fujiwara K, Tanemura M, Hata A, Suzuki Y, Relton CL, Grinham J, Leung KY, Partridge D, Robinson A, Stone V, Gustavsson P, Stanier P, Copp AJ, Greene ND, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S. Mutations in genes encoding the glycine cleavage system predispose to neural tube defects in mice and humans. *Hum Mol Genet.* 2011 Dec 30. [Epub ahead of print]
- 3) Auerbach AD, Burn J, Cassiman JJ, Claustres M, Cotton RG, Cutting G, den Dunnen JT, El-Ruby M, Vargas AF, Greenblatt MS, Macrae F, Matsubara Y, Rimoin DL, Vihinen M, Van Broeckhoven C. Mutation (variation) databases and registries: a rationale for coordination of efforts. *Nature Rev Genet.* 12(12): 881, 2011.
- 4) Wakabayashi Y, Yamazaki K, Narumi Y, Fuseya S, Horigome M, Wakui K, Fukushima Y, Matsubara Y, Aoki Y, Kosho T. Implantable cardioverter defibrillator for progressive hypertrophic cardiomyopathy in a patient with LEOPARD syndrome and a novel PTPN11 mutation Gln510His. *Am J Med Genet A.* 155A(10): 2529-33, 2011
- 5) Adachi M, Abe Y, Aoki Y, Matsubara Y. Epilepsy in RAS/MAPK syndrome: Two cases of cardio-facio-cutaneous syndrome with epileptic encephalopathy and a literature review. *Seizure.* 2011 [Epub ahead of print]
- 6) Niihori T, Aoki Y, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Kawame H, Inazawa J, Ohura T, Arai H, Nabatame S, Kikuchi K, Kuroki Y, Miura M, Tanaka T, Ohtake A, Omori I, Ihara K, Mabe H, Watanabe K, Niihori S, Okano E, Numabe H, Matsubara Y. HRAS mutants identified in Costello syndrome patients can induce cellular senescence: possible implications for the pathogenesis of Costello syndrome. *J Hum Genet.* 56(10): 707-15, 2011
- 7) Ohashi H, Suzumori K, Chisaka Y, Sonta S, Kobayashi T, Aoki Y, Matsubara Y, Sone M, Shaffer LG. Implications of prenatal diagnosis of the fetus with both interstitial deletion and a small marker ring originating from chromosome 5. *Am J Med Genet A.* 155A(1): 192-6, 2011
- 8) Watanabe Y, Yano S, Niihori T, Aoki Y, Matsubara Y, Yoshino M, Matsuiishi T. A familial case of LEOPARD syndrome associated with a high-functioning autism spectrum disorder. *Brain Dev.* 33(7): 576-9, 2011
- 9) Kamada F, Aoki Y, Narisawa A, Abe Y, Komatsuzaki S, Kikuchi A, Kanno J, Niihori T, Ono M, Ishii N, Owada Y, Fujimura M, Mashimo Y, Suzuki Y, Hata A, Tsuchiya S, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S. A genome-wide association study identifies RNF213 as the first Moyamoya disease gene. *J Hum Genet.* 56(1): 34-40, 2011

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

表1. タンデムマス対象疾患に対する特殊検査が可能な施設一覧 (2012. 1. 30)

	施設	対象疾患	使用する検体	結果報告 までの期間	検査 費用	備考 (方法など)	
GC/MS	札幌市衛研	有機酸代謝異常一般	尿		無料	札幌市内の検体のみ	
	福井大学	有機酸代謝異常一般	尿	1週間	未定		
	千葉こども病院	有機酸代謝異常一般	尿	1週間	無料		
	島根大学	有機酸代謝異常一般	尿2～3ml	2週間 (至急あり)	有料	12,000円、研究目的は無料 (NPOタンデムマス普及協会)	
	民間検査機関	有機酸代謝異常一般	尿		有料		
	福井大学	脂肪酸代謝異常一般	血清	1週間	未定		
タンデム マス詳細 分析	島根大学	脂肪酸代謝異常一般	血清 0.5ml 血液ろ紙1スポット	1週間	有料	5,000円、研究目的は無料 誘導体化法で分析	
	島根大学	カルニチン欠乏症	尿2-3mL+血清0.5 mL (同時採取)	1週間	有料	5,000円、研究目的は無料 血中クレアチニン濃度必要 尿クリアランスでパターン診断	
	大阪市立大学	高フェニルアラニン血症	尿	1週間	未定	プテリジン分析	
その他の 化学診断	福井大学	VLCAD欠損症	ヘパリン加血	1ヶ月	無料	安定同位体標識脂肪酸負荷による 脂肪酸酸化能・代謝ブロック測定	
酵素診断	福井大学	CPT-2欠損症	ヘパリン加血	1ヶ月	無料	安定同位体標識脂肪酸負荷による 脂肪酸酸化能・代謝ブロック測定	
	福井大学	三頭酵素欠損症	ヘパリン加血	1ヶ月	無料	安定同位体標識脂肪酸負荷による 脂肪酸酸化能・代謝ブロック測定	
	福井大学	CPT-1欠損症	ヘパリン加血	1ヶ月	無料	安定同位体標識脂肪酸負荷による 脂肪酸酸化能・代謝ブロック測定	
	岐阜大学	β -ケトチオラーゼ 欠損症	皮膚線維芽細胞	2ヶ月	無料	ケトン体代謝異常 (SCOT欠損 症など) の鑑別	
	大阪市立大学	BH4欠損症 (DHPR 欠損症)	血液ろ紙	1週間	無料		
	島根大学	三頭酵素欠損症	皮膚線維芽細胞	2か月	無料	イムノプロット法、 in vitro probe assay	
	島根大学	グルタル酸血症2型	皮膚線維芽細胞	2か月	無料	イムノプロット法、 in vitro probe assay	
	島根大学	CPT2欠損症	皮膚線維芽細胞	2か月	無料	in vitro probe assay	
	島根大学	全身性カルニチン 欠乏症	皮膚線維芽細胞	2か月	無料	in vitro probe assay 【modified】 (開発、確認中)	
	広島大学	MCAD 欠損症	血液 (白血球)	2か月	無料		
	広島大学	VLCAD 欠損症	血液 (白血球)	2か月	無料		
	北海道医療 センター	シトリン欠損症	血液	1～3か月	無料		
	遺伝子 診断	北海道医療 センター	プロピオン酸血症 (軽症型)	血液	1～3か月	無料	
		北海道医療 センター	MCAD 欠損症	血液	1～3か月	無料	
北海道医療 センター		フェニルケトン尿症	血液	1～3か月	無料		
東北大学		イソ吉草酸血症	血液	2～8週間	無料		
東北大学		カルニチン-アシルカル ニチン トランスロ カーゼ欠損症 (TRANS 欠損症、CACT欠損症)	血液	2～8週間	無料		
東北大学		CPT1欠損症	血液	2～8週間	無料		
東北大学		メチルマロン酸血症 (mut型)	血液	7週間	有料	オーファンネットジャパン (ONJ) 経由	
東北大学		メチルマロン酸血症 (cblA型)	血液	7週間	有料	ONJ経由	

遺伝子 診断	東北大学	メチルマロン酸血症 (cblC型)	血液	7週間	有料	ONJ経由
	東北大学	プロピオン酸血症	血液	7週間	有料	ONJ経由
	東北大学	CPT2欠損症	血液	7週間	有料	ONJ経由
	東北大学	ホモシスチン尿症	血液	7週間	有料	ONJ経由
	東北大学	シトリン欠損症	血液DNA	4週間	無料	日本人高頻度遺伝子変異11種類の有無を検索。血液検体は検査会社などでDNAへ精製した後、送付の事。
	埼玉医科大学	MCAD欠損症	血液DNA	4週間	無料	
	千葉大学 (公衆衛生)	マルチプルカルボ キシラーゼ欠損症	血液	8週間	有料	(ONJ経由)
	岐阜大学	HMG血症	血液DNA	2ヶ月	無料	
	岐阜大学	β ケトチオラーゼ 欠損症	皮膚線維芽細胞 血液DNA	2ヶ月 1ヶ月	無料 有料	DNA診断のみは、原則としてONJ経由
	大阪市立大学	PKU (PAH欠損症)	血液DNA	1ヶ月	無料	
	大阪市立大学	GTPCH欠損症	血液DNA	1ヶ月	無料	
	島根大学	VLCAD欠損症	血液	1ヶ月	無料	アシルカルニチン分析、酵素活性等で、欠損が証明または濃厚な例の確定診断(それ以外は皮膚線維芽細胞)
	島根大学	MCAD欠損症	血液	1ヶ月	無料	アシルカルニチン分析、酵素活性等で、欠損が証明または濃厚な例の確定診断(それ以外は皮膚線維芽細胞)
	島根大学	三頭酵素欠損症	血液	1ヶ月	無料	アシルカルニチン分析、酵素活性等で、欠損が証明または濃厚な例の確定診断(それ以外は皮膚線維芽細胞)
	島根大学	グルタル酸血症1型	血液	1ヶ月	無料	アシルカルニチン分析、酵素活性等で、欠損が証明または濃厚な例の確定診断(それ以外は皮膚線維芽細胞)
	島根大学	グルタル酸血症2型	血液	1ヶ月	無料	アシルカルニチン分析、酵素活性等で、欠損が証明または濃厚な例の確定診断(それ以外は皮膚線維芽細胞)
	島根大学	CPT2欠損症	血液	1ヶ月	無料	アシルカルニチン分析、酵素活性等で、欠損が証明または濃厚な例の確定診断(それ以外は皮膚線維芽細胞)
	島根大学	カルニチン欠乏症	血液	1ヶ月	無料	アシルカルニチン分析、酵素活性等で、欠損が証明または濃厚な例の確定診断(それ以外は皮膚線維芽細胞)
	広島大学	MCAD欠損症	血液	2か月	無料	
	広島大学	VLCAD欠損症	血液	2か月	無料	
広島大学	CPT2欠損症	血液	2か月	無料		
熊本大学	シトリン欠損症	血液	2か月	無料		

注意：

- 1) 検査依頼する場合は、検体を採取する前に検査施設に連絡してあらかじめ承諾を得るとともに、検体採取・送付の方法について確認すること
- 2) 遺伝子検査については、日本医学会「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」(2011年2月)を遵守すること
(<http://jams.med.or.jp/guideline/genetics-diagnosis.html>)

II. 分担研究報告書

4. 患者のQOL向上に関する研究

研究分担者 大浦敏博（東北大学大学院医学系研究科非常勤講師）

分担研究課題

患者のQOL向上に関する研究

研究分担者 大浦敏博（東北大学大学院医学系研究科非常勤講師）

研究要旨

保護者の不安の原因として陽性告知から診断確定に至る過程で、説明が十分されていないことが挙げられた。新生児マス・スクリーニング陽性時や精検時の説明にあたっては専門的知識が要求される。分娩施設、精検医療機関の担当者に対する啓発、情報サイトの公開、運用が必要である。地域ごとにコンサルタント医師を選任し、担当医が連携しながら診療できる体制を整備すべきである。また患者家族が利用できる情報サイトだけでなく、担当医が診断・治療について相談できるネットワーク作りも重要である。診断後のフォローに関しては、様々な職種の専門家が参加したフォローアップ体制作りが望まれる。成人以降の経済的問題も重要であり、医療費や治療食に掛かる費用に対する公的補助制度の確立が必要である。

A. 研究目的

新生児マス・スクリーニングで陽性となった患者・家族の要望、意見を収集し、タンデムマスの導入に当たり今後どのような施策が必要か明らかにする。

B. 研究方法

患者家族の会と連携協力し、患者会で得られた意見の収集を行う。さらに医療関係者と家族のシンポジウムを共催し、患者家族のQOLに向上に寄与する。

C. 研究結果

1. 新生児スクリーニングに対する意見、要望の収集

有機酸・脂肪酸代謝異常症の患者会であるプロピオン酸血症とメチルマロン酸血症患者の会を通して、スクリーニングで陽性を告げられた時に経験した不安や問題点を収集した。表1に家族が必要としているサポート体制を三つの段階ごとに示した。

第一段階では「スクリーニング陽性の告知を受けた際に産科医からの説明が少なく、病名もわからないので、精査を受け診断が確定するまでの間、不安に押しつぶされそうでした」という声が代表的なものであった。産科、小児科にかかわらず希

少疾患である先天代謝異常症を専門とする医師は少なく、対象疾患に対する情報の普及が今後急がれる。特に分娩施設への情報提供、すなわち産婦人科医会、助産師会、看護協会等との連携、協力体制を再構築することが不可欠である。また、精検医療機関は地域の病院小児科と考えられるが、中核病院の指定や専門医のいない地域においては地域ブロックごとに学会推薦のコンサルタント医師を選任し、その指導の下に精密検査・治療を行うのが望ましいと考える。また、家族向けの新生児スクリーニングに関する情報サイトの提供も重要である。

第二段階では「何年たっても病気の事がよく理解できない」、「日々の注意事項をどの程度厳格に

表1. スクリーニングで発見された患者・家族が必要としているサポート

【第一段階】 陽性の告知～精査～確定診断までの期間に必要なサポート
【第二段階】 確定診断に至った家族が病気や治療法について正しく理解すること、この先の不安に対するサポート
【第三段階】 成長に伴って変化する不安や疑問へのサポート

すればよいのかわからない」という意見が多い。発見される病気はすべて希少疾患で、さらに同じ疾患でも重症度は症例ごとに異なる。専門医であっても経験症例数が少ないため不明な点が多い。担当医も悩みながら治療をしている場合が多く、コンサルタント医師と連携する体制が望ましい。また、医師間で情報交換できるネットワーク、メーリングリストなどが必要であると思われる。また患者家族の悩みに関して相談窓口となる情報サイトも有用である。

第三段階では「食欲が細く、カロリー不足が心配です」「離乳食の進め方が分からない」など食事療法についての悩みが多く寄せられている。栄養士の協力による患者用献立作りや患者会での料理実習などが有用である。また経管栄養や胃瘻を用いている患者も多く、地域での訪問看護の必要性も高い。しかし、相談に乗ってくれる窓口はほとんどないのが現状である。医師を中心として、栄養士、看護師、保健師、遺伝カウンセラー、ソーシャルワーカーなどを含めたフォロー体制が必要と考える。

欧米では先天代謝異常症の患者家族および医療関係者向けに New England Consortium of Metabo-

lic Programs が、英国では National Information Centre for Metabolic Diseases が運営されている。このサイトには患者家族のみならず医師向けの情報も掲載されており、非常に有用である。費用などの縛りはあるが、国内でもこの様な情報サイトを提供することは今後不可欠であると考えられる。

2. 治療を継続するにあたっての経済的問題

先天代謝異常症は小児慢性特定疾患事業の対象であり、20歳になるまでは医療費の補助がある。しかし、20歳以降は補助が打ち切れ、医療費や特殊栄養食品に掛かる費用が負担になる場合が多い。表2にPKU親の会連絡協議会で調査した結果を示す。20歳以降特殊ミルクに掛かる費用は1回に最大6万円掛かっており、これに治療食品代を加えると出費はさらに上昇する。アンケートでは医療費や治療食が高額であるため治療を断念したという回答があり、治療継続中の患者においても経済的不安が最も多く挙げられるなど今後の大きな課題ある。20歳以降も医療費や治療食購入に掛かる費用に対する公的補助が必要である。

表2. PKU親の会での医療費等アンケート結果

1. 検査費用:(円/回)

- 18～19歳:3,000以下(1名)、3,001～6,000(4名)
- 20～29歳:3,000以下(9名)、3,001～6,000(14名)、6,001～9,000(6名)
無回答(2名)
- 30歳～ :3,000以下(5名)、3,001～6,000(6名)、6,001～9,000(2名)、無回答(3名)

2. 特殊ミルク処方に掛かる費用(円/回)

- 20～29歳:20,000以下(7名)、20,001～40,000(9名)、40,001～60,000(3名)
60,001～(6名)、無回答(5名)
- 30歳～ :20,000以下(8名)、20,001～40,000(5名)、40,001～60,000(1名)
無回答(2名)

3. 治療食品代:(円/月)

- 18～19歳:10,001～20,000(2名)、20,001～40,000(1名)、40,001～60,000(1名)
- 20～29歳:10,000以下(10名)、10,001～20,000(10名)、20,001～40,000(4名)
無回答(6名)
- 30歳～ :10,000以下(5名)、10,001～20,000(6名)、20,001～40,000(2名)
無回答(2名)

3. 医師と家族のシンポジウム開催

第3回有機酸・脂肪酸代謝異常症～医師と家族のシンポジウムを本研究班との共催でH23年5月21日に開催した。参加患者家族はメチルマロン酸血症2家族、プロピオン酸血症3家族、イソ吉草酸血症1家族、脂肪酸代謝異常症1家族、PKU親の会役員1名であった。テーマ1は食事療法のアイデアと具体例、テーマ2は災害時への備えであった。メデイカルアドバイザーとして本研究班から分担研究者、研究協力者が多く参加した。患者会と共同で開催するシンポジウムや勉強会は非常に有用で、QOLの向上に資すると考える。

D. まとめ

新生児マス・スクリーニングに関して、実際に陽性となった患者家族の意見をもとにその問題点を抽出した。対象疾患が希少疾患であるため、患者家族だけでなく医療関係者にも情報が不足しており、情報サイトの確立、情報交換のためのネットワーク作りが急務である。また、患者家族のQOL向上には様々な職種の専門家により構成される支援体制の構築が必要である。

20歳以降の経済的問題も深刻であり、早期発見された患者が経済的問題で治療が中断されないよう、何らかの公的援助が必要であると思われた。

E. 結論

新生児スクリーニング対象疾患に関する情報が

不足しており、陽性の告知、確定診断時、その後のフォローアップなどすべての段階で支援する体制が必要である。また、20歳以降の経済的負担についても公的補助の仕組みが必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 大浦敏博, 呉 繁夫, 菊地敦生, 坂本 修, 重松陽介, 岡野善行, 小林圭子, 佐伯武頼. シトリン欠損症マス・スクリーニングの可能性. 日本先天代謝異常学会雑誌 2011年; 27巻1号: 42-45.
- 2) Sakamoto O, Ohura T, Murayama K, Ohtake A, Harashima H, Abukawa D, Takeyama J, Haginoya K, Miyabayashi S, Kure S. Neonatal lactic acidosis with methylmalonic aciduria by novel mutations in the SUCLG1 gene. *Pediatr Int.* (2011) **53**, 921-925

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

謝辞：資料を提供頂いたプロピオン酸血症、メチルマロン酸血症患者の会 柏木明子様、PKU親の会連絡協議会 斎藤ゆみこ様に深謝します。

II. 分担研究報告書

5. 新技術を応用した有機酸血症治療法の開発

研究分担者 宮崎 徹（東京大学大学院医学系研究科教授）

分担研究課題

新技術を応用した有機酸血症治療法の開発

研究分担者 宮崎 徹（東京大学大学院医学系研究科教授）

研究要旨

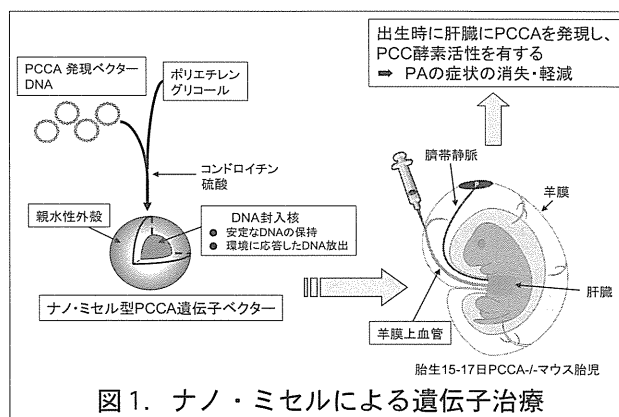
小児の先天性代謝疾患であるプロピオン酸血症（PA）は、Propionyl-CoA carboxylase（PCC）が欠損もしくは機能が低下する劣性遺伝病である。特定のアミノ酸・脂肪酸の代謝不全により中間代謝産物が蓄積するため、出生後ミルク摂取によりケトアシドーシスを呈し最悪の場合死に至る。PAの治療法はカルニチンを併用した栄養制限療法が主であるが、低栄養による様々な副作用の併発などにより予後は必ずしも良くない。最近肝移植が一定の効果をあげているが、長期的予後の判定は今後の課題であり、患者にとり侵襲は小さくない。従って、新たな根治的治療法の開発が望まれる。私たちはPCC α 鎖（PCCA）遺伝子をノックアウトすることにより、PAモデルマウスを確立した。さらに、このマウスの肝臓に正常の10-15%のPCC酵素活性を戻すことにより症状が著しく改善することを証明した。この成果をもとに本申請研究では、非ウイルス性のナノ・ミセルを用い、患者胎児の肝臓にPCC遺伝子をデリバリーする胎児治療法を提案し、その効果と安全性についてモデルマウスを用い実証する。そのために、2年間で以下の研究項目を学内生命倫理委員会における承認等、生命倫理・安全対策に対する十全な取り組みを行った上で研究する：(1)胎児治療による酵素補填の効率、(2)ナノ・ミセルにより補填した酵素遺伝子の発現持続性の検討、(3)生存率、PA症状、臨床データの改善効果の検討・判定、(4)毒性等考えられる副作用の解析と安全性の検討、(5)出生後の遺伝子デリバリー（経門脈など）の可能性の検討 (6)食餌療法との併用効果の検討。

A. 研究目的

PA治療法は栄養制限療法が主であるが低栄養による副作用により予後は良くない。また肝移植については長期的予後が不明であり患者への侵襲も大きい。新たな根治的治療法の開発は、患者並びに患者家族によって切望されている。したがって本研究は、プロピオン酸血症（PA）に対し、ナノ・ミセルを用い、患者胎児の肝臓に欠損しているPCC遺伝子を補填する胎児治療法を提案し、その効果と安全性についてモデルマウスで実証することを目的とする。

B. 研究方法

(1) ナノ・ミセル型遺伝子ベクター作製・最適化
 遺伝子発現プラスミドDNAをポリエチレングリコールの外殻で被ったものがナノ・ミセルベクターの基本形である（図1参照）。DNAとポリエ



チレングリコールの量比、コンドロイチン硫酸（細胞取り込み効率を上昇すると言われている）の必要性、他の親水性外殻の使用の検討など本使用目的への最適化を行う。

(2) GFP発現ベクターを用いた胎児肝臓での発現に関する予備実験
 妊娠メスマウスを麻酔下で腹側より子宮を露出

し子宮壁を一部切開する。羊膜上血管 (Yolk-sac vessel) を確認後、GFP発現ベクターDNAを封入したナノ・ミセルベクターを注入する。注入後肝臓でのGFP発現を組織学的に解析する。結果をもとに、低毒性で、出生時に十分な発現があり、多くの肝細胞で長期間にわたり発現する条件を決定し、プロトコルを最適化する。

(3) PCC^{-/-}マウスの胎児治療法確立

上記GFPを用いた予備実験によって、最適化された条件により、PCC^{-/-}マウス胎児にPCC発現ベクターを封入したナノ・ミセルを導入し、PAの治療効果を判定する。

▶ 発現解析：出生後24時間毎に、導入したPCCの発現を肝臓の免疫染色、RT-PCRによって解析する。また、肝臓におけるPCC酵素活性を測定する。

▶ 治療効果解析：血液・尿（血中アシルカルニチン、尿中3-OH-propionate、Methylcitrate、ケトン体）、組織学的解析：肝臓（グリコーゲン、脂肪酸沈着）、腎臓（糸宮体変化、尿細管拡張、ヒアリン小体沈着）、脳（アポトーシス）；生存率、体重、体長。

以上の解析結果から、PA胎児治療の最適プロトコルを確立する。

（倫理面への配慮）組換えDNA実験に対しては、東京大学「医学部組換えDNA実験安全委員会」において、承認がおりている。動物実験に際しては、学内動物実験審査委員会において承認されている。また、実験動物に与える苦痛を最小限にするなど、動物愛護上の配慮等を十分に行う。

C. 研究結果

以下、各研究項目について平成22年度中の研究結果を記載する。

胎児肝臓へのナノ・ミセルデリバリー効率・導入した遺伝子の発現持続性上昇の検討：前年度に、DNAとポリエチレングリコールの量比、コンドロイチン硫酸の濃度等の検討により、ナノ・ミセルベクターの条件検討を行い、PCC^{-/-}マウス胎児治療のための最適化ベクターの条件を見出した。今年度はさらに、GFP発現DNAを包埋したナノ・ミセルベクターの、羊膜上血管からの注入する量を、10 μ l~300 μ l（DNA濃度に換算して1mg/mlに固定してある）で検討し、肝臓におけるGFPの発現で検討した。また、注入速度につい

ては100 μ l/分~1ml/分で検討した。その結果、量は100~150 μ l、速度は150~200 μ l/分が、デリバリー効率と導入した遺伝子の発現持続性への効果と、およびレシピエント胎児に対するダメージの少なさの面で、最適であることが確認された。

1) PCC^{-/-}胎児へのPCC遺伝子デリバリーの施行・効果の検討：上記条件によって、PCCナノ・ミセルベクター（CAGGS-PCCAベクターをナノ・ミセルに包埋したもの）を、PCC^{+/-}オスと交配したPCC^{+/-}メス子宮中のE17マウス胎児に、羊膜上血管より注入した。注入後、腹壁を縫合し、E19.5まで飼育したのち、帝王切開法にて胎児を摘出し、仮親に飼育させた。確率上、1/4の割合で新生児中にPCC^{-/-}が存在するはずである。

通常PCC^{-/-}マウスは出生後36時間以内に重度のケトアシドーシスを発症し死亡する。ナノ・ミセルベクターを移入した胎児について観察したところ、3腹から生まれた計18匹のうち、4匹がそれぞれ、27、52、64、72時間生存し死亡した。これらのマウスについて、尾DNAによるジェノタイプングと肝臓におけるPCC酵素 α 鎖の発現を肝臓での発現をRT-PCR法により確認した。その他のマウスについては、そのまま観察を続けたが、死亡しなかった。

これら生存したマウスは、生後2週間の時点で尾DNAを解析したところ、PCC^{-/-}マウスではなかった。死亡した4匹について確認したところ、4匹ともPCC^{-/-}であり、死亡の時点での肝臓でのPCCの発現は、生存期間が短かったものからそれぞれ、正常肝（新生児）の0、5.1、7.2、11.2%であり以前トランスジェニックマウスで検討したレスキューラインの20%には到達できていなかったが、発現が高いものほど生存期間は延長していた。なお、PCC^{-/-}以外のマウスに移入したPCCの発現は、内在性のPCCの存在のため確認できなかった。

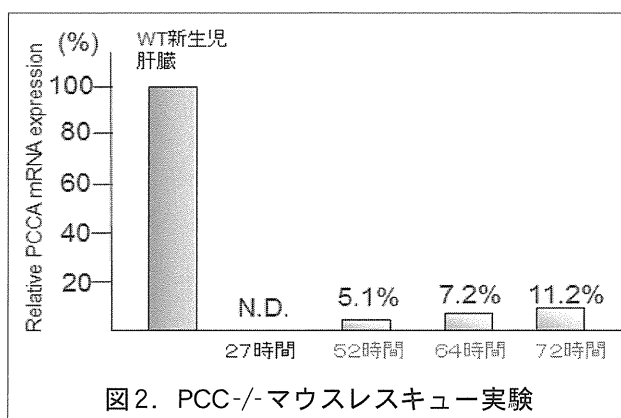


図2. PCC^{-/-}マウスレスキュー実験

D. 考察

以上のように、本年度中に得られた上記実験結果から、昨年度に検討したナノ・ミセルベクターの作製法に続き、その移入法に関して条件検討を行い、胎児肝臓へのナノ・ミセルデリバリー効率と導入した遺伝子の発現持続性、それに加え胎児へのダメージを最小限に止める最適化した条件を確立した。しかし、その条件で実際にPCC^{-/-}の胎児でPCC酵素活性の補填を試みたが、正常の内臓酵素活性の20%という目標には届かず、結果、補填できた新生児は補填率に並行して生存期間は延長したが、致死率を改善するには至らなかった。PCC酵素活性を補填することが可能であることは、今回の実験で明らかになったので、今後その補填効率を上昇させる必要がある。可能性としては、(1)現在のE17より早期、まだ肝細胞の増殖が強い時期に注入し、ナノ・ミセルの取り込み率を向上できないか、(2) α 鎖だけでなく β 鎖の発現ベクターも同時に移入して酵素活性を向上できないか、(3)発現ベクターのプロモーターを変更する必要はないか、(4)新生児期に全身性に静注し発現にブーストをかけられないか、など検討する余地が残っている。今後これらを検討し、補填する酵素活性を向上させ、PAの胎児治療の完成を目指したい。

E. 結論

本年度は、ナノ・ミセルの胎児肝臓導入法の最適化を昨年に続き行い、PAのモデルマウスに対して胎児治療を試みた。残念ながら致死率改善までは到達できなかったが、PCC酵素活性の補填にある程度成功することが出来た。今後さらに検討を重ね、補填効率を高め、PAの胎児治療法完成を目指したい。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kurokawa, J., Nagano, H., Ohara, O., Kubota, N., Kadowaki, T., Arai, S., & Miyazaki, T. AIM is required for obesity-associated recruitment of inflammatory macrophages into adipose tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108: 12072-

12077(2011).

2) Miyazaki, T., Kurokawa, J., & Arai, S. AIMing at Metabolic Syndrome: Towards the development of novel therapies for metabolic diseases via apoptosis inhibitor of macrophage (AIM). *Cir. J.* 75: 2522-2531(2011).

2. 学会発表

1) 第21回循環・代謝セミナー 特別講演 宮崎 徹「AIMが紐解くメタボリックシンドロームの病態生理と新規治療法の可能性」札幌, 2011年11月18日

2) 第18回新世紀・静岡糖尿病研究会 特別講演 宮崎 徹「AIMが繋ぐ免疫と代謝・循環器・消化器疾患—病態解明と新規治療法に向けた新しい視点—」静岡, 2011年11月16日

3) Global FU Seminar 特別講演 宮崎 徹「AIMが繋ぐ免疫と代謝・循環器・消化器疾患—病態解明と新規治療法に向けた新しい視点—」福岡, 2011年11月15日

4) 第18回動脈硬化若手研究会 特別講演 宮崎 徹「AIMが紐解くメタボリックシンドロームの病態メカニズムと新規治療法の可能性」京都, 2011年11月5日

5) Metabolic Hypertension Meeting 2011特別講演 宮崎 徹「AIMが繋ぐ免疫と代謝疾患—メタボリックシンドロームの新規治療法開発に向けた新しい視点—」名古屋, 2011年10月28日

6) The 5th International Workshop on Cell Regulations in Division & Arrest Toru Miyazaki「AIMing at Metabolic Syndrome — Towards development of novel therapies for modern metabolic diseases via AIM—」沖縄, 2011年10月25日

7) 京都循環器先進医療ネットワーク 特別講演 宮崎 徹「AIMが繋ぐ免疫と代謝・循環器・消化器疾患—メタボリックシンドロームの新規治療法開発に向けた新しい視点—」京都, 2011年9月20日

8) 日本麻酔科学会関東甲信越・東京支部第51回合同学術集会 宮崎 徹「AIMが繋ぐ免疫と循環器・代謝疾患—メタボリックシンドロームの新規治療法開発に向けた新しい視点—」千葉, 2011年9月10日

9) 第7回肝免疫・ウイルス・フロンティア

- (LIVER2011) 特別講演 宮崎 徹「AIMが繋ぐ免疫と循環器・代謝・肝臓疾患－病態メカニズムと治療法開発への新しい視点－」名古屋, 2011年7月9日
- 10) 第10回福岡糖尿病先端医療研究会 宮崎 徹「AIMが繋ぐ免疫と代謝疾患－メタボリックシンドロームの新規治療法開発に向けた新しい視点－」福岡, 2011年6月10日
- 11) 第58回日本実験動物学会総会ワークショップⅢ「疾患モデル動物表現型解析指南」宮崎 徹「脂肪代謝」東京, 2011年5月27日
- 12) 第1回肥満と消化器疾患研究会 特別講演 宮崎 徹「AIMが繋ぐ免疫と循環器・代謝・消化器疾患－病態メカニズムと治療法開発への新しい視点－」東京, 2011年5月13日
- 13) 愛媛インスリン抵抗性研究会 特別講演 宮崎 徹「AIMが繋ぐ免疫と循環器・代謝疾患－病態メカニズムと治療法開発への新しい視点－」松山, 2011年4月22日
- 14) 第6回線維化病態研究会 特別講演 宮崎 徹「AIMが繋ぐ炎症と現代疾患群－病態メカニズムと治療法開発への新しい視点－」東京, 2011年4月11日
- H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

Ⅱ. 分担研究報告書

6. 検査体制、精度管理体制の質的向上に関する研究

研究分担者 原田正平（独立行政法人国立成育医療研究センター研究所室長）

分担研究課題

検査体制、精度管理体制の質的向上に関する研究 ータンデムマス・スクリーニング全国導入にあたっての 検査前・検査時・検査後の新しい精度管理体制ー

研究分担者 原田正平（独立行政法人国立成育医療研究センター研究所室長）

研究要旨

タンデムマス・スクリーニング全国導入にあたっての検査前・検査時・検査後の新しい精度管理体制の実証実験を行った。1) 検査前精度管理で最も重要な紙採血の標準化のため、手順書作成・検証、不適切採血の問題点の実証を行った。研究班で作成した標準手順書を参考の上、各スクリーニング実施主体がそれぞれの手順書を作成、採血医療機関に配布、採血担当者に対して普及啓発することが必須と考えられた。2) 説明と同意書の標準化を検証したが、保護者全員に配付する資料は簡易で理解しやすいものとし、詳細な質疑応答集（FAQ）は要再採血・要精密検査となる場合などに別途配付するのが適切と考えられた。3) 検査時の精度管理体制としては、現行の6疾患を対象とした外部精度管理用紙血検体と根本的に変更し、技能試験による外部精度管理を目的とした検体作成が適切と考えられた。平成22年度まで試行的に行ってきたアミノ酸・アシルカルニチン添加紙血検体作成手順を一部変更し、タンデム質量分析計を保有する全22施設の協力による、タンデムマス・スクリーニング用外部精度管理紙血検体を用いた技能試験を開始した。4) 現行の外部精度管理の質的向上のため、平成17年度より実証実験を行ってきたブラインドサンプル（BLS）導入のパイロットスタディを平成23年度も継続した。地域連絡協議会の新設につながるなど、副次的効果もみられた。しかし、タンデムマス・スクリーニング導入にあたっては、BLS作成の困難性や地域外のスクリーニング検査機関への分割紙血検体移送などの問題があり、より慎重な取り組みが必要と結論された。5) 検査時・検査後の精度管理をより効果的に行うための専用コンピュータ・ネットワークの必要性について検討を行った。東日本大震災を経験したことで、広域災害時の緊急情報システムとしての重要性も明らかとなり、次年度以降、実証実験を検討することとした。

研究協力者

河地 豊（愛知県健康づくり振興事業団）
稲岡一考（大阪府立母子保健総合医療センター）
渡辺倫子（日本公衆衛生協会）
鈴木恵美子（日本公衆衛生協会）

かれては、タンデムマス法を用いた新生児マス・スクリーニング検査の導入を積極的に検討する等適切に対応していただくようお願いする」「検査精度の維持向上を図る精度管理実施体制の整備が必要である」とされたことから、平成22年度までの研究成果を基に、より実務的な検査体制、精度管理体制作りを検討した。

A. 研究目的

平成23年3月31日付けの厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長通知「先天性代謝異常の新しい検査法（タンデムマス法）について」（雇児母発0331第1号）の中で、「各都道府県等にお

スクリーニング全体の精度管理と情報管理を継続的に行うためには、スクリーニング検査機関での検査精度の維持向上に限定した「検査時の精度管理」だけでなく、検査前・検査時・検査後の精

度管理体制を確立し、その維持向上を図ることが必要であり（図1）、本年度は検査前・検査時・検査後の新しい精度管理体制の確立を目的として研究を行った。

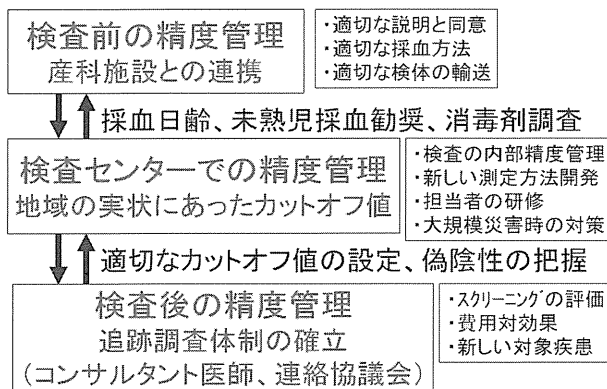


図1. スクリーニング全体の精度管理と情報管理

B. 研究方法

1. 検査前の精度管理

1) ろ紙採血の標準化

日本マス・スクリーニング学会誌に掲載されている「6. 濾紙血の採取法・採血時間・保存法」（第8巻 Supplement2: 24-27, 1998）中の標準採血手順に加え、欧米で標準的な考え方となっている採血担当者の針刺し事故防止を考慮した新標準ろ紙採血手順書（試案）を作成した（図2）。

スクリーニング検査機関45施設を対象とし、各地でのろ紙採血手順の周知状況、新標準ろ紙採血手順書と比較しての項目の有無についてアンケート調査を行った（平成23年8月）。全45施設から回答を得た。

2) 人為的に作成した不適切検体

現行の外部精度管理ろ紙血検体作成手順に準じて、ろ紙血中の甲状腺刺激ホルモン（TSH）濃度が約12~14mIU/L（全血値）となるように調整した血液を作成した（ヘマトクリット55%）。

調整した血液を以下のような手順で採血用ろ紙に滴下、数時間以上自然乾燥させ、人為的に不適切検体を作成し、それぞれの検体のTSH値をEnzyme-linked immunosorbent assay（ELISA法）で測定した。

- 全血50 μ lを1回で滴下。
- 全血50 μ lを少量ずつ全量滴下。
- 全血50 μ lを1回で滴下後、直ちに全血20 μ lを1回で追加滴下。
- 全血50 μ lを1回で滴下後、10分程度乾燥さ

せ全血50 μ lを1回で追加滴下。

e) 全血25 μ lを1回で滴下。

f) 全血50 μ lを少量ずつ、乾燥させながら時間をかけ全量滴下。

a~fでは血液を滴下後、ろ紙は水平に保持して数時間自然乾燥させた。

g) 全血50 μ lを1回で滴下後、直ちにろ紙を垂直に保持して数時間自然乾燥させた。

3) 「説明と同意書」の解析

平成21年9月末の時点でタンデムマス・スクリーニングを公式に実施、または試験運用実施中の18施設に、使用している「説明と同意書」の提供を依頼し、16施設から提供を受けた。

それぞれの施設の「説明と同意書」に含まれる以下の項目の有無を解析した。

現行6疾患、タンデムマス・スクリーニングで追加される対象疾患、新しい検査法（タンデムマス法）、個人情報保護、検査費用、新生児マススクリーニング・システム、検査済みろ紙血の保管、検査申込書・同意書、保管などの同意の撤回、検査に関する質疑応答集（よくある質問：Frequently Asked Questions、FAQ）、頁数。

2. 検査時の精度管理

1) タンデムマス・スクリーニング用外部精度管理ろ紙血検体

平成22年度までに検討した方法に従い、アミノ酸10種類、アシルカルニチン14種類を添加したタンデムマス・スクリーニング用外部精度管理ろ紙血検体を作成した。

それぞれ無添加、低・中・高濃度の4種類の検体を作成し、タンデム質量分析計（以下、タンデムマス）を有するスクリーニング検査15施設、パイロット研究実施3大学、タンデムマス関連4会社、計22施設に検体を送付、測定を依頼し、その測定値について解析した。

2) ブラインドサンプル導入

パイロット研究に協力の得られているスクリーニング検査13施設に、その地域の協力医療機関から一般新生児検体と一緒にブラインドサンプル（BLS）を年2回送付した。

BLSとしては、その地域での各測定項目のカットオフ値をわずかに上回る異常検体および正常濃度検体とした。