

201128050B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の
診断方法の確立、及び治療方法の開発に関する研究

平成22年度～23年度 総合研究報告書

研究代表者 大竹 明

平成24（2012）年 3月

目 次

I. 総合研究報告

日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の診断方法の確立、
及び治療方法の開発に関する研究

大竹 明（埼玉医科大学医学部小児科）

----- 1
(資料1) タンデムマス・スクリーニング導入に向けての提言
(埼玉県、さいたま市マス・スクリーニング合同連絡会議)
(資料2) 長鎖脂肪酸代謝障害のハンドブック

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 33

III. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 35

〔I〕 総合研究報告

日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の診断方法の確立、
及び治療方法の開発に関する研究

研究代表者 大竹 明 埼玉医科大学医学部小児科 教授

研究要旨

遠藤は、日齢 2 に心室細動で発症した極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症最重症型新生児例を一旦は救命し得たが、その後 RS ウイルス感染時に突然死で失った。これは長鎖脂肪酸代謝異常症スクリーニングにおけるタンデムマスの限界を示し、感染対策が重要であることを示した。奥山は、本症の長期追跡調査を可能にする体制を検討し、適切な登録・追跡事業としては既存の体制はいずれも多くの課題があることを指摘し、新生児マス・スクリーニング事業と先天代謝異常学会のような関連学会が協力した新たな体制の確立が必要とした。高柳は、日本人カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-2 (CPT2) 欠損症の実態を調査すると共に、マス・スクリーニングで発見された患者をきちんと治療管理するための要件を検討し、かかりつけ医、近隣の救急病院、代謝異常専門医のいる施設の 3 者の連携体制構築が急務とした。長谷川は、日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の臨床型を検討し、新生児型は重症で生命予後不良であるが他の病型（中間型、骨格筋型）は生命予後良好であることより、タンデムマススクリーニングにより発症前に本症を早期診断することの有用性を強く示唆した。次いで VLCAD 欠損症遺伝子解析では、K264E と K382Q が日本人症例の hot spot である可能性を示唆した。但馬は、VLCAD 欠損症、CPT2 欠損症を中心とする長鎖脂肪酸代謝異常症を見逃しなくスクリーニングするためには、低めの陽性基準に速やかな確定・除外診断のための酵素診断法を組み合わせるシステムの構築が必須であると結論し、両欠損症例の遺伝子解析も継続した。大竹は、アンケート調査により日本における長鎖脂肪酸代謝異常症患者数と頻度を確定した。最多の VLCAD 欠損症の頻度が 1/12.8 万、全体の頻度が 1/5.6 万であり、マス・スクリーニングで発見された全例が後遺症無く生存していることを示し、タンデムマススクリーニングの重要性を示した。以上より長鎖脂肪酸代謝異常症は、タンデムマスを用いた新生児マス・スクリーニングとその後の確定診断・フォローアップ体制、および長期追跡調査体制構築の重要性が明らかとなった。

研究分担者

遠藤 文夫

(熊本大学大学院生命科学研究部 教授)

奥山 虎之

(国立成育医療研究センター 臨床検査部長)

高柳 正樹

(千葉県こども病院 副院長)

長谷川 有紀

(島根大学医学部小児科 助教)

但馬 剛

(広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児

科学 助教

A. 研究目的

長鎖脂肪酸代謝異常症は、従来から乳児突然死症候群、ライ症候群、インフルエンザ脳症などに紛れて診断のできないまま亡くなる例も多かった。タンデムマス法を中心とする診断法の進歩と相俟って最近診断症例数が急増しているが、全体像の把握は未だ完全と言うにはほど遠い。そこで本研究においては長鎖脂肪酸代謝異常症の（１）患者数と病状の現状把握、（２）新規の診断基準の作成、（３）病態に合わせた治療指針の作成、（４）医療現場へのフィードバックに基づく今後の長期フォローアップ・支援体制の確立を目的とする。本疾患の管理は、例外はあるものの、基本的には難しくない。今後、タンデムマス法を利用した新生児マス・スクリーニング（NBS）の進展に伴い新規患者の大幅な増加が見込まれる今こそ、大規模なコホートスタディに基づく正確な病像の把握と、それに準拠した新規の診断・フォローアップ指針の作成、およびその結果を医療機関にフィードバックすることにより長期フォローアップ・支援体制の確立を行うことが急務と考える。

B. 研究方法

以下の３つの集団を対象として、インフォームド・コンセントを得た後に検体を採取し、タンデムマス法を用いて候補症例をピックアップする。３つの集団とは、１）タンデムマス法を用いた NBS で疑われた症例、２）乳児突然死症候群やライ症候群、インフルエンザ脳症などとして急性発症した症例、

３）幼児期以降に筋肉痛、脱力、肝機能障害のエピソードなど骨格筋症状で発症した症例である。

研究の進め方としては以下の手順で行う。上記の研究を進めるとともに文献調査、アンケート調査を実施し、我が国における長鎖脂肪酸代謝異常症の発生状況を調査する。これらの研究から患者数と病状の現状把握を行う。長鎖脂肪酸代謝異常症の上記疫学調査をもとに本疾患のスクリーニングから確定診断に至る診断支援体制を構築する。それを基に長鎖脂肪酸代謝異常症の各病状に応じた治療指針の作成を試みる。これらを基に、スクリーニング→確定診断→病状・病型に応じたきめ細かな治療とフォローアップに至る、全国的なシステム作りを試みる。

長期フォローアップ体制を整えるとともに年長児～成人における症例の観察を進め、長期の治療あるいは支援体制の試案を作成する。

（倫理面への配慮）

アンケート調査等による臨床情報の収集は、埼玉医科大学倫理審査委員会の承認を得て行った。遺伝子解析研究についてはヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）および、医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン（日本医学会 2011 年 2 月）に基づいて、これとは別に各研究機関の倫理審査委員会において承認を得て行った。

C. 研究結果

遠藤は、VLCAD(略語については表 1 を参照)欠損症の新生児に対し、迅速な救急対応

総合研究報告書

にて救命し、以後正常発達を示していたが、2歳になりRSウイルス感染時に突然死した症例を経験した。新生児期に救命しえたものの非常に危険な疾患であることがあらためて認識された。タンデムマススクリーニングでの発症予防は不可能であったが、診断においては効果的であり、また他大学との連携により迅速な確定診断が可能であった。診断が確定すれば、日常生活の管理、薬物療法により正常発達が期待される。しかし、感染を契機に悪化することが予想され今後の重要な課題であると考えられた。

奥山は、既存の登録・フォローアップシステムとして小児慢性特定疾患、新薬の市販後調査、製薬企業の支援による登録事業、公的研究事業による研究・追跡事業が、長鎖脂肪酸代謝異常症における長期追跡調査を可能にする体制かどうかを検討し、いずれも問題を抱えていることを指摘した。NBS事業と先天代謝異常学会のような関連学会とが協力した新たな体制の確立が必要である。

高柳は、今後タンデムマスによるNBSで発見された患者をきちんと治療管理するための要件を検討し、①かかりつけ医、②近隣の救急病院、③代謝異常症専門医のいる施設の3者の連携体制構築が急務とした。このような協力体制がない限り、発見された患者をうまく治療管理していくことは困難と考えられるので、全国の先天代謝異常症の専門家が協力して希少疾患の情報を整理して、インターネットなどで一般小児科医が容易に情報にアクセスできる環境を構築すべきであるとした。

長谷川は、島根大学においてタンデムマス法で発見された長鎖脂肪酸代謝異常症例

の自然歴を検討すると共に、昨年までに島根大学で発見された VLCAD 欠損症例の遺伝子解析を行った。自然歴については、新生児発症型は重症で生命予後不良であるが、他の病型は生命予後良好であること、またスクリーニング発見例は2例ではあったが、生活指導やカルニチン投与などで現在まで健常発達が可能であることから、発症前に本疾患を早期診断することは発症・障害予防につながることを強く提言した。VLCAD 欠損症の遺伝子解析では、K264E と K382Q が既報告例でも認められており、日本人症例の hot spot である可能性を示唆した。

但馬は、タンデム質量分析法による NBS 陽性例および有症状精査陽性例の確定検査として、HPLC を用いた酵素活性測定及び確定診断例における遺伝子解析を継続して検討した。その結果、VLCAD 欠損症については1例を新規に確定診断すると共に、過去に見逃されていた遺伝子異常がスプライシング異常をもたらす変異であることを確認した。次いで CPT2 欠損症については、NBS で見逃されて重篤な転帰を辿った前年の乳児例を受けて、広島県の陽性判定基準値を切り下げた結果を報告した。その結果3例の新生児が相次いで陽性となったが、いずれも遺伝子変異は検出されず、現行の日齢5での採血で本疾患を見逃しなくスクリーニングするためには、低めの陽性基準に速やかな確定・除外診断のための酵素診断法を組み合わせることが不可欠と考えられた。

大竹は、全国の臨床医からのアンケート結果とタンデムマスパイロット研究（福井大学重松先生）を合わせた患者集計をまとめた（表1）。最も多い疾患が VLCAD 欠

総合研究報告書

損症でその頻度は 1/12.8 万、長鎖脂肪酸代謝異常症全体での頻度は 1/5.6 万と計算される。

疾患	症例	調査症例数 (アンケートによる)	調査症例数 (アンケートによる)に対する割合
長鎖脂肪酸代謝異常症	CPT1	4	5% (1/20)
脂肪酸代謝異常症	CPT2	4	5%
長鎖脂肪酸代謝異常症 短鎖脂肪酸代謝異常症	CPT1	5	6% (1/17)
長鎖脂肪酸代謝異常症 短鎖脂肪酸代謝異常症	CPT2	7	9% (1/11)
長鎖脂肪酸代謝異常症 短鎖脂肪酸代謝異常症	TFP	1	1%
脂肪酸代謝異常症 脂肪酸代謝異常症	VLCAD	17	21% (1/5)
脂肪酸代謝異常症 脂肪酸代謝異常症	LCAD	4	5%
脂肪酸代謝異常症	TFP	2	2%

表 1. 患者数集計（アンケートとタンデムマスパイロット研究*）

*重松陽介：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（分担研究報告書）．厚生労働科学研究費補助金・成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業「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に関する研究」／平成 22 年度総括・分担研究報告書. 49-57, 2011. 3.

さらにアンケートの集計結果を表 2 にまとめる。性別は CPT1 欠損症が女性ばかりであることを反映しやや女性が多い。スクリーニング診断例が 10 例、発症後診断例が 27 例で、発症例の多くは急性発症例であるが、VLCAD 欠損症と TFP 欠損症の一部に慢性発症例（全て横紋筋融解・筋肉痛症状）が見られる。後遺症無く生存が 29 例（78%）であるが、死亡例も 4 例（11%）認められ、CPT2 欠損症と VLCAD 欠損症に SIDS 様突然死症例が認められた。強調すべきは、タンデムマスによる NBS で診断された 10 例全てが正常発育を示している点である。

疾患	患者数	性別		発症		家族歴		予後	
		男	女	急性	慢性	発症なし	発症あり	生存	死亡
CPT1	4	2	2	4	0	2	2	1	0
CPT2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TFP	1	0	1	1	0	0	1	1	0
VLCAD	17	4	13	10	7	2	15	13	4
LCAD	4	0	4	4	0	0	4	4	0
TFP	2	2	0	2	0	0	2	2	0
合計	32	18	14	29	7	2	34	29	4

表 2. アンケート集計結果

（記載のない例があり一部総数が合わない）

これらと平行して、大竹は社会的活動も行っている。資料 1 として提示する提言書を作成するなどして埼玉県におけるタンデムマスによる NBS の必要性を県医師会等に訴え、その効果もあり埼玉県も来年度中には本スクリーニングシステムが稼働する見込みである。

さらに班員皆で資料 2 として提示する一般医師向けのハンドブックも作成し、広く啓蒙を図った。

最後に大竹は長鎖脂肪酸代謝異常症と鑑別が最も重要な疾患の一つであるミトコンドリア呼吸鎖異常症（MRCD）の診断と分子病理に関する研究も行ったので、その結果も以下に記す。平成 23 年 11 月末現在、合計 581 家系 594 症例から 941 検体（皮膚線維芽細胞 435 検体、肝臓 218 検体、筋肉 188 検体、心臓 68 検体、腎臓 20 検体、脳 6 検体など）の提供を頂いた。現在までのところ 541 家系 554 名において Blue Native 電気泳動(BN-PAGE)を用いた Western Blot と *in gel* enzyme stain、および *in vitro* 酵素アッセイを用いた蛋白レベルの解析が終了し 189 家系 200 名を MRCD と診断した(診断率 200/554=36.1%)。その内訳は、単独酵素異常症 123 例（特に呼吸

鎖 I 異常症が 91 例）、複合型酵素異常症 74 例等である（図 1）。

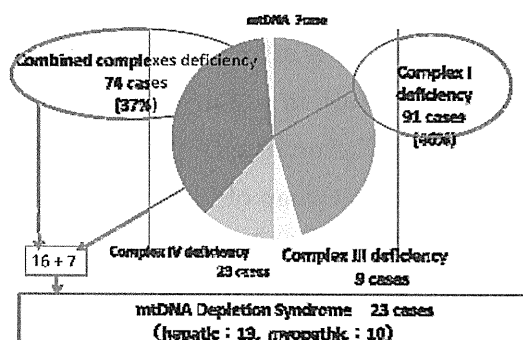


図 1. 呼吸鎖異常症の酵素診断

診断のついた MRCD 症例のうち 23 例について新世代シーケンス法を用いた病因となる核遺伝子異常の解析が終了し、うち 5 症例で既知遺伝子 (*SURF1*, *NDUFA10*, *ACAD9*, *ABCB7*, *RARS2*) 内の新規遺伝子変異を、5 症例で新規候補遺伝子 (*NDUFB11*, *PARL*, *PDPR*, *COQ4*, *CYP27A1*) 内の遺伝子異常を同定できている。発見された遺伝子異常の病原性をレスキュー実験で確認すると共に、今後例数を増やして検討する予定である。

D. 考察

長鎖脂肪酸代謝異常症は、早期に診断し簡単な生活指導を行うことにより、その多くで脳症や突然死を避けることが可能である。タンデムマスを用いた NBS とその後の確定診断・フォローアップ体制、および長期追跡調査体制構築の必要性を再確認した。

今後タンデムマスを用いた NBS が開始された場合にその鑑別疾患として最も大切なものの一つであるミトコンドリア呼吸鎖異常症についても検討し、BN-PAGE を用いた Western Blot と *in vitro* 酵素アッセイを用いた蛋白レベルの迅速酵素診断に引き

続き、新世代シーケンス法を用いた病因核遺伝子の解析方法が非常に有効であることも確認できた。

E. 結論

以上よりタンデムマスを用いた NBS の必要性は明らかである。

F. 研究発表

1. 論文発表

別掲

2. 学会発表

- 1) 大竹 明: 教育講演 何か迷うミトコンドリア病. 第 7 回日本先天代謝異常学会セミナー 7 月 23 日~24 日 (横浜市・パシフィコ横浜), 2011
- 2) 大竹 明: 救急医療の現場における先天性代謝異常症の診断と治療. 第 114 回日本小児科学会学術集会 教育講演 11 月 8 日 12-14 日 グランドプリンスホテル新高輪 国際館パミール (東京都港区), 2011
- 3) Ohtake A, Murayama K, Mori M, Okazaki Y: Diagnosis and molecular basis of mitochondrial respiratory chain disorders in Japan: the use of next generation sequencing technology. The 5th Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research-Asia (SFRR-Asia), the 8th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine (ASMRM) and the 11th Conference of Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine (J-mit). Invited lecture. August 31 - September 4, Kagoshima Citizen's Culture Hall (Kagoshima, Japan), 2011.

- 4) 大竹 明：ミトコンドリア病の新しい展開—組織特異性と核遺伝子異常ミトコンドリア病—。日本小児科学会沖縄地方会第73回例会 特別講演 9月11日 沖縄県医師会館（沖縄県南風原町），2011
- 5) 大竹 明：小児内分泌医が知っておくべき先天代謝異常症の基礎知識。第45回日本小児内分泌学会学術集会 教育セミナー1 10月6-8日 大宮ソニックシティ（さいたま市），2011
- 6) 大竹 明：シンポジウム2：ミトコンドリア病 Up to Date—ミトコンドリア呼吸鎖複合体異常症(MRCD)としての理解—。企画意図の提示と座長 第53回日本先天代謝異常学会 11月24-26日 ホテルニューオータニ幕張（千葉市），2011
- 7) Ohtake A, Murayama K, Mori M, Ichimoto K, Takayanagi M: Tissue specificity of mitochondrial respiratory chain disorders with neurological symptoms. 第53回日本小児神経学会総会 5月26-28日 パシフィコ横浜（横浜市），2011
- 8) Kawachi E, Murayama K, Fushimi T, Ichimoto K, Tsuruoka T, Fujinami A, Ajima M, Harashima H, Okazaki Y, Takayanagi M, Mori M, Ohtake A: Tissue-specificity of respiratory chain disorders in Japanese experience. SSIEM (Society for the Study Group of Inborn Errors of Metabolism) Annual Symposium 2011 August 30 - September 2 (Geneva, Switzerland), 2011
- 9) Sanayama Y, Nagasaka H, Takayanagi M, Ohura T, Sakamoto O, Ito T, Ishige-Wada M, Usui Y, Yoshino M, Ohtake A, Yorifuji T, Tsukahara H, Hirayama S, Miida T, Fukui M, Okano Y: Experimental evidence that phenylalanine is strongly associated to oxidative stress in adolescents and adults with phenylketonuria. SSIEM (Society for the Study Group of Inborn Errors of Metabolism) Annual Symposium 2011 August 30 - September 2, (Geneva, Switzerland), 2011
- 10) Okazaki Y, Kohda M, Tokuzawa Y, Mizuno Y, Moriyama Y, Kato H, Mori M, Murayama K, Ohtake A: Systematic search for mutations in mitochondrial respiratory chain disorders and functional analysis focusing on neural cells. The 5th Biennial Meeting of the Society for Free Radical Research-Asia (SFRR-Asia), the 8th Conference of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine (ASMRM) and the 11th Conference of Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine (J-mit). August 31 - September 4, Kagoshima Citizen's Culture Hall (Kagoshima, Japan), 2011.
- 11) 2009年11月 東京 第51回日本先天代謝異常学会 「日齢2に心室細動で発症し救命できた VLCAD 欠損症の1例」 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
- 12) 2011年 千葉 第52回日本先天代謝異常学会 「日令2に心室細動で発症し救命することができたが、RSV 感染症をきっかけに突然死した VLCAD 欠損症の一例」

総合研究報告書

山本晶子、大崎琢磨、松本志郎、中村公俊、三刈 浩、重松陽介、但馬 剛、遠藤文夫
13) Motomichi Kosuga, Eri Oda, Toju Tanaka, Kazuhiro Kida, Torayuki Okuyama. The Feasibility of Newborn Screening for Pompe Disease in Japanese Population. The 7th Congress of Asian Society for Pediatric Research Hosted with the pediatric Academic Societies' Annual meeting. Denver, USA. April 30, 2011.

14) 但馬剛, 佐倉伸夫, 畑郁江, 重松陽介 : 脂肪酸酸化異常症の急性発症例から治療を考える. 第 38 回日本マス・スクリーニング学会, 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. 福井市, 2011 年 10 月

15) 原圭一, 但馬剛, 佐倉伸夫 : 本邦で発見された中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 変異酵素の機能解析. 第 53 回日本先天代謝異常学会. 千葉市, 2011 年 11 月
16) 重松陽介, 畑郁江, 但馬剛, 金澤正樹 : タンデムマス・スクリーニングでのカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 2 欠損症診断の困難性と対応. 第 53 回日本先天代謝異常学会. 千葉市, 2011 年 11 月

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

資料1 タンデムマス・スクリーニング
導入に向けての提言

1) 新生児マス・スクリーニングの実際

新生児マス・スクリーニングは、早期に発見して治療を開始する事により救命したり障害の発生を防止できる疾患に対して行われる検査であり、我が国でも1977年（昭和52年）から全国的に実施されている。現在は代謝異常と内分泌疾患の合わせて6疾患に対して行われているが、それでも日本全国で毎年400人から700人の子ども達の命を救い、障害を未然に防いでいる。

① わが国の出生数と現行スクリーニングの発見患者数

年	1992	1997	2002	2007
出生数	121万	119万	114万	109万
フェニルケトン尿症	11	16	15	19
メープルシロップ尿症	1	1	3	2
ホモシチン尿症	9	3	2	5
ガラクトース血症*	*33	*49	*27	*32
先天性甲状腺機能低下症	306	460	586	580
先天性聴覚減退形成症	54	77	53	76
合計（現行スクリーニング）	414	606	686	714
タンデムマスで発見される患者数（試算）	年間 100～120人*			

*ガラクトース血症は2次性（門脈形成異常など）が大部分を占め、真の酵素欠損症は10%以下と推測される。

2) タンデムマスとは何か？

タンデムマス対象疾患

タンデムマスの対象疾患	発症時期	主な診断状況	発見頻度*	程度
1) フェニルケトン尿症**	胎前・胎後	けいせい心、産後発症	1.6万	○
2) メープルシロップ尿症**	胎前・胎後	多岐、アシドーシス	-	○
3) ホモシチン尿症**	胎前・胎後	遅延、発症後	-	○
4) 高チロシン血症（1型）	胎前・胎後	遅延、発症後	-	▲
5) シーハンシンドローム（1型）	胎前・胎後	胎前、多岐、遅延	1.0万	○
6) アルギニンコホパテア症	胎前・胎後	胎前、多岐、遅延	1.8万	○
7) アルギニン血症	胎前・胎後	胎前、多岐、遅延	-	○
8) シーハンシンドローム	胎前・胎後	一向全射線放射線照射後	1.9万	▲
9) マチンソン様血尿	胎前・胎後	アシドーシス、遅延	1.1万	○
10) プロピオン酸血症	胎前・胎後	アシドーシス、遅延	1.4万	○
11) 3-ヒドロキシイソバチラ酸血症	胎前・胎後	アシドーシス、遅延	-	▲
12) イソ吉草酸血症	胎前・胎後	アシドーシス、遅延	1.4万	○
13) マチンソン様血尿（2型）	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.3万	○
14) 16Sβ血症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	-	○
15) 複合カルボキシラーゼ欠損症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.4万	○
16) 2型メチルコハク酸血症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.2万	○
17) MCAD欠損症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.3万	○
18) SCAD欠損症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.2万	○
19) TFD/C14:1欠損症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	-	○
20) CPT1欠損症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.2万	○
21) CPT2欠損症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.3万	○
22) TRAKS欠損症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.3万	▲
23) 全長付カルニチン欠損症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.2万	▲
24) 短付付カルニチン欠損症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.1万	▲
25) SCAD欠損症	胎前・胎後	胎前、遅延、遅延	1.8万	▲

○一次（16種）、▲二次（9種）対象疾患

タンデムとは直列に2つ並んでいるとの意味で、マスとは物質の質量のことである。タンデムマスとは、液体クロマトグラフィーに質量分析計が2つ直列に配置された分析計のことで、濾紙血中の多数のアミノ酸とアシルカルニチンを一斉に分析することができる。一検体の処理時間がわずか1～2分で24時間稼働が可能であるため、一台の機械で年間約5～6万人分の検査ができる。

3) タンデムマスで早期発見・早期治療が可能となった疾患

有機酸代謝異常症とは、アミノ酸代謝の第2、第3段以降の代謝障害によって中間体である有機酸が体内に蓄積し、その蓄積物質の毒性で臓器・組織障害を起こす疾患群である。脂肪酸代謝反応は空腹・餓餓時に必要となるため、その異常症では感染時などに急性エネルギー産生障害を呈し、特にエネルギー消費の高い臓器（筋肉、心臓）に異常が現れやすく、突然死の危険もある。

タンデムマスで発見される疾患の頻度

発見した疾患	患者数	発見頻度
アミノ酸代謝異常症		
フェニルケトン尿症	14	1:1.6万
シトルリン血症1型	2	1:4.0万
シトルリン血症2型	9	1:1.9万
アルギニンコホパテア症	1	1:2.0万
有機酸代謝異常症		
マチンソン様血尿	7	1:1.1万
プロピオン酸血症	25	1:4.0万
イソ吉草酸血症	2	1:4.0万
複合カルボキシラーゼ欠損症	2	1:4.0万
メチルコハク酸血症	6	1:1.3万
2型メチルコハク酸血症	4	1:2.0万
脂肪酸代謝異常症		
CPT1欠損症	3	1:2.7万
CPT2欠損症	2	1:4.0万
MCAD欠損症	4	1:2.0万
SCAD欠損症	5	1:1.2万
SCAD欠損症'	1	1:2.0万
短付付カルニチン欠損症2型	1	1:1.5万
全長付付カルニチン欠損症	4	1:2.0万
患者数合計	92	1:2.0万

いずれの疾患も発症してから治療を開始したのでは、たとえ救命できても後遺症を残す者も多い。個々のタンデムマス対象疾

患の頻度は低いですが、総計すれば出生児 8,800 人に 1 人の計算となり、日本全国で毎年 100 ~ 120 人が、埼玉県でも毎年 6 ~ 8 人が恩恵を受ける計算になる。スクリーニングによる発症前診断と発症後診断の予後を比較したデータによると、スクリーニング診断の場合、有機酸代謝異常症の 85% が、脂肪酸代謝異常症の 100% が正常発育をしているのに対し、発症後診断におけるその割合はそれぞれ 33%、53% に低下し、タンデムマス・スクリーニングの効果は歴然としている。

タンデムマス・スクリーニングの効果

※有機酸・脂質代謝異常の「発症前診断」と「発症後診断」の予後比較

病気の種類 範囲	所生児スクリーニング (タンデムマス) *	発症してから (発症後診断) **
全患者数	75	175
有機酸血症	52	141
正常	44 (85%)	47 (33%)
障害	5 (10%)	61 (43%)
死亡	3 (6%)	34 (24%)
脂肪酸代謝異常	24	34
正常	24 (100%)	18 (53%)
障害	-	6 (18%)
死亡	-	10 (29%)

* 新潟大学と厚生労働省研究費のパイロットスタディの結果 (1997 ~ 2007)

** 京都大学小児科で、発症後に診断した患者の調査結果 (2001 ~ 2007)

私自身が診断した日本人初例の中鎖アシル-CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症 (脂肪酸代謝異常症の 1 種) (患者 1) は、1 歳過ぎの診断まで何度も無呼吸発作を繰り返し危険な目にあった。しかし、昨年さらにショッキングな MCAD 突然死例 (患者 2) を経験した。2 例共に保存してあった新生児濾紙血を用いて後方視的に検査を行ったところしっかりと診断できることを確認し、歯ぎしりしたのは言うまでもない。

タンデムマスさえ行っておれば未然に防げた可能性の高いこの様な突然死症例は、日本全国で 8 例に達するとの報告もある。

患者1 1歳3ヶ月女児 (当時鶴ヶ島市在住)

→ 日本人初例

中鎖アシル-CoA脱水素酵素

C8(オクタノイル)

カルニチン



1歳で無呼吸発作を繰り返した時
(この患者さんは何度も死にかけた)

新生児期

患者2

1才2ヶ月 女児 (小川町在住)

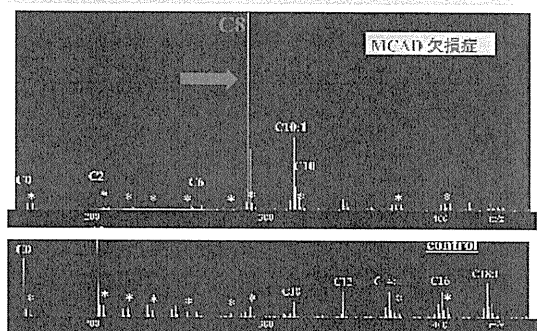
現病歴

来院2日前より嘔吐出現し、食欲が通常より低下していた。近医で中耳炎、感冒の診断にて抗生剤・化痰剤・整腸剤等で加療。来院当日 (第3病日) の7:30am頃より顔色不良でぐったりしており8:30amに来院。8:50amに顔色不良を発見され直ちに外来に搬送。CPA状態で、各種蘇生に反応せず永眠。まさにSIDS。

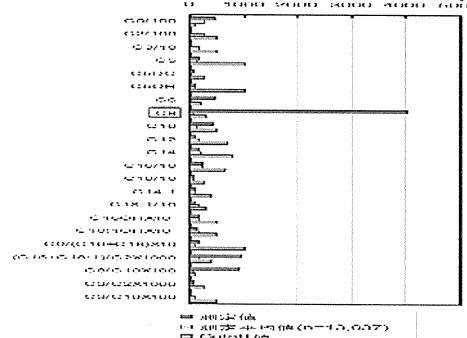
家族歴

突然死や発達遅滞の症例なし。

剖検時に得られた胆汁のアシルカルニチン分析



新生児期濾紙血のタンデムマス分析



・ タンデムマスをしていれば、この患者さんは死なずにすんだ!!!

4) 費用対効果は?

総合研究報告書

上述したように、タンデムマスは微量血液での一斉分析により多数の検体を処理できるため、現行6疾患の検査と比較し、当初の機械購入にかかる設備投資費用を除けば、ほとんど検査メンテナンスにかかる費用の増大はない。

費用対効果分析

		(単位：円)		
		1万検体	3万検体	5万検体
同一施設	現行スクリーニング(6疾患)の設備	4,806	2,621	2,347
	先天性甲状腺機能低下症 先天性副腎皮質形成不全 ガラクトース血症	3,083	1,996	1,795
別の施設	タンデムマスの追加分析	1,799	719	699
	タンデムマス追加検査費用合計	4,682	2,715	2,494
	先天性甲状腺機能低下症 先天性副腎皮質形成不全 ガラクトース血症	3,083	1,996	1,795
	タンデムマス検査費	2,479	1,352	1,261
タンデムマス追加検査費用合計		5,562	3,388	3,079

※富士市（山形県衛生研究所）の設備による。「同一施設」とは、先天性甲状腺機能低下症、先天性副腎皮質形成不全、ガラクトース血症とタンデムマス検査を同一施設で検査するケース。「別の施設」とは、タンデムマスは別の検査施設に依頼するケース。

スクリーニングをせずに発症した場合の患児ケアにかかる経費を中心とする直接便益と、患児・家族の生産損失に関わる間接便益を合わせれば、スクリーニング費用の1.91倍の効果が得られるとの計算もある。

③ わが国でのタンデムマス検査の費用対効果分析

年間120万出生で19疾患をスクリーニングすると仮定し、全体の発見頻度18,000、予想患者数150人と仮定し、検査費用等の経費を最大限8,000円として計算した場合でも、増分費用便益比は、少なくとも見積もって1.91倍の効果が得られると計算されています（2007年、大日）。タンデムマス検査諸費用がもっと安くすめば、さらに良くなります。

採血・検査諸費用(仮定)	増分便益比	増分純便益
8,000円	1.91	89億円

以上をまとめるとタンデムマス導入の意義は以下の通りになる。

タンデムマス導入の意義

- 1) 新生児マススクリーニングの拡大
同様の新生児マススクリーニングで年間約500～600人の子どもたちが病気を早期発見されていますが、タンデムマス導入によってさらに年間約100人以上の検査を受けることができるようになる可能性があります。
- 2) マルチプルスクリーニングによる検査費用削減
これまでのマススクリーニングでは、対象疾患の検出後検査する「1テスト/1疾患」でしたが、タンデムマスを導入すると「1テスト/多疾患」となるので、検査費用削減や、検査費用負担の軽減が期待されます。また、テスト回数が増えることで、検査の精度が向上し、再検査の必要性が減少します。
- 3) 小児糖尿病・急性脳症などの早期発見 → 確認されているだけで8例の突然死例あり
新たに気づく病気が、ふたたび早期発見でそのストレスを軽減し、突然死したり、重症化するような状態を防ぐことが期待されます。これは大変重要な可能性があります。
- 4) 新生児マススクリーニング体制の立て直しと期待
30年以上続いた新生児マススクリーニング体制の立て直しを図る好事業でもあります。希少疾患、遠隔地のフォローアップ、患者OOL向上、病少疾患の診断支援体制などを充実させれば、体系的なマススクリーニング体制を再構築できます。

5) 今後へ向けての具体的提言

タンデムマスをスクリーニングに導入した場合の利点と欠点をまとめる。

タンデムによるMSが導入されると..

- ・ 良い点
 - 一気に多くの疾患をスクリーニングできる
 - 一施設で多くの分析が可能
年間100人以上の新生児の予後を改善できる
- ・ 問題点
 - 疾患によっては見逃すこともある
・ G6PD, PKU, OPT, CAOT, VI-CAR, OUD, GAL, etc.)
 - 検査結果はやはり1件の検査が難しい
 - 疾患の必要のない患者を見つけてしまう可能性
 - 現在の種類まで検査をすれば経費が多くなる(スケールメリット)
 - 今まで経費がかかっていた検査を実施してしまう可能性
 - 専門技術と定期的メンテナンスが必要

最も大切な点は、機械を動かしてデータを解釈できる検査の専門家、さらには的確な患者ケアのできる医療サイドの専門家が少ない点である。一斉分析できるタンデムマス器機のランニングコストの面でも、この数少ない専門家を集約した制度の構築が必要となる。幸い、埼玉県ではさいたま市がタンデムマスのパイロット研究を平成22年6月より先行開始している。少なくとも県と市の協力体制構築は必須であり、さらに可能であれば北関東地方（特に積極的なのは栃木県）も含めた連携体制の構築が望ましい。

提言

- ・ 現在日本で生まれる新生児の約1/6がすでにタンデム・マス法によるスクリーニングを受けている。（東京都：契約施設のみではあるが既にスタート、神奈川県：2011年10月より導入、千葉県：2012年4月より導入予定）
- ・ 患者の利益と経済性（費用対効果）の両面からもタンデム・マスの一刻も早い導入は必須。
- ・ すでにさいたま市には器械がある。何とか県と市で、さらに可能ならば北関東の各県との協力はできないか？

参考文献

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

新しい新生児マススクリーニング タンデ
ムマス Q&A 2009 厚生労働省科学研究
（子ども家庭総合研究事業）研究班「タン
デムマス等の新しい技術を導入した新生児
マススクリーニング体制の研究」

謝辞

島根大学小児科 小林弘典 先生
山口清次 先生
福井大学小児科 重松陽介 先生
千葉県こども病院 高柳正樹 先生

大竹 明 連絡先
教授 埼玉医科大学小児科
〒350-0495
埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38
TEL:049-276-1218/1220
FAX:049-276-1790/1220
E-mail: akira_oh@saitama-med.ac.jp

平成 23 年 12 月 14 日

はじめに

長鎖脂肪酸代謝異常症には、現在までのところ図 1 に示す 6 つのタンパク質の欠損症－全身性カルニチン欠乏症（OCTN2 欠損症）、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1（CPT1）欠損症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-2（CPT2）欠損症、カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ（CACT）欠損症、極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症、ミトコンドリア三頭酵素（TFP）欠損症－が知られている。

いずれも飢餓に弱く、急性期にはブドウ糖点滴で異化を抑え、頻回食事療法や L-カルニチンの補充が有効であるものが多いなど、治療には共通点がある。さらに新しく始まるタンデムマスを用いた新生児スクリーニングの対象疾患（CPT1 欠損症、VLCAD 欠損症、TFP 欠損症が一次対象疾患、OCTN2 欠損症、CPT2 欠損症、CACT 欠損症が二次対象疾患）にも組み入れられており、臨床医はその対応を迫られている。

この診断・治療に関する小冊子が少しでも一般臨床に携わる皆様のお役に立てばそれは私達研究者の望外の喜びである。ご一読の上、温かいご助言やご叱正を賜れば幸いである。

平成 24 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）「日本人長鎖脂肪酸代謝異常症の診断方法の確立、及び治療方法の開発に関する研究」 班

責任編集 埼玉医科大学小児科 大竹 明
熊本大学小児科 遠藤文夫
国立成育医療研究センター臨床検査部 奥山虎之
千葉県こども病院 高柳正樹
島根大学小児科 長谷川有紀
広島大学小児科 但馬 剛

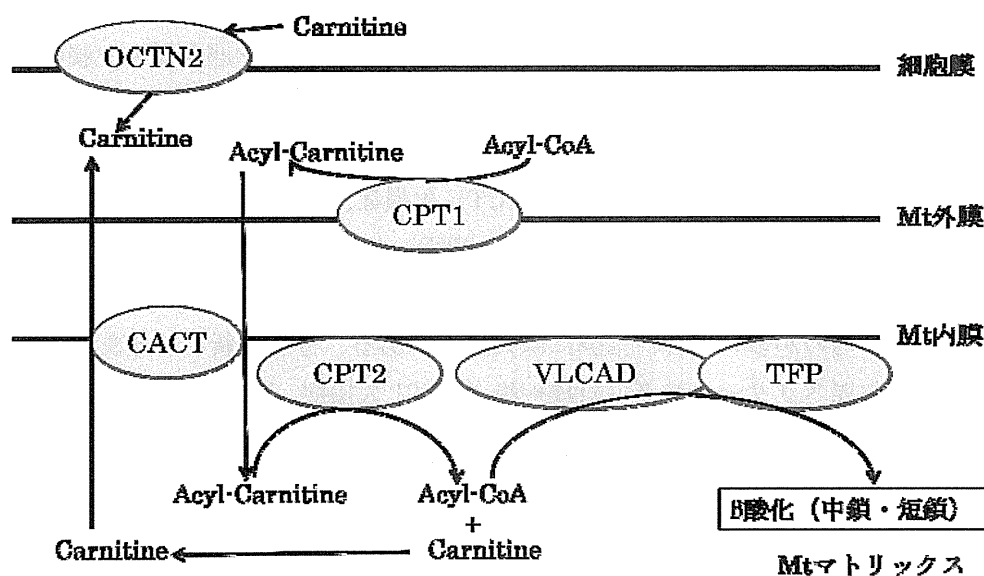


図1. 長鎖脂肪酸代謝経路

OCTN2: カルニチントランスポーター、CPT1: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1、CPT2: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-2、CACT: 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、TFP: ミトコンドリア三頭酵素

疾患	項目 (カットオフ値)	精査・確定診断
OCTN2 欠損症	C0 (<10)	CCar
CPT1 欠損症	C0/(C16+C18) (≥100)	酵素活性
CPT2 欠損症	C16 (≥3) 且つ (C16+C18:1)/C2 (≥0.62)	血清タンデムマス、酵素活性
CACT 欠損症	C16 (≥3) 且つ (C16+C18:1)/C2 (≥0.62)	血清タンデムマス、酵素活性
VLCAD 欠損症	C14:1 (≥0.4) 但し C14:1/C2 (≥0.013)	酵素活性
TFP 欠損症	OH-C18:1 (≥0.05) 且つ OH-C16 (≥0.05)	尿 GC/MS 酵素活性

表1. タンデムマススクリーニングにおけるマーカーと確定診断法
単位は nmol/ml。比は絶対値。(JSIMD の HP¹⁾より)

総合研究報告書

急性期の治療	
1) 対症療法	①充分量のブドウ糖輸液 ②高血糖→インスリン併用 ③アシドーシス補正 ④救急蘇生 ⑤心筋障害→3-ヒドロキシ酪酸
慢性期の治療	
2) 生活指導	①食事間隔を空けない ②ストレス時は早めのブドウ糖輸液 ③休息を十分に
3) 食事間隔の目安	①新生児期：3時間以内 ②<6ヶ月：4時間以内 ③<1才：6時間以内 ④<3才：8時間以内 ⑤以降：10時間まで
4) 食事療法	①MCT ミルク ②脂肪制限：<1才：<3g/日 1才以降：MCT:LCT=3:1 ③生コーンスターチ 2g/kg
5) L-カルニチン	血中濃度をモニターし、30~200mg/kg/日、分3 CPT1 欠損症には用いない
6) その他の治療	①3-ヒドロキシ酪酸 ②クレアチン ③ベザフィブラート

表2. 長鎖脂肪酸代謝異常症に対する治療の原則
(文献2)を一部改変して引用)

1. 全身性カルニチン欠乏症（カルニチントランスポーター異常症, **Organic cation transporter 2 (OCTN2) deficiency, Carnitine uptake defect; MIM #212140; CUD**)

【概念】

細胞膜においてカルニチンを輸送するナトリウム依存性転送蛋白（有機陽イオントランスポータ 2 ; organic cation transporter-2 ; OCTN2）の機能が遺伝的に障害されている。カルニチンは大部分が食事（動物性蛋白）に由来し、その一部（およそ 5%程度）が体内でタンパク質中のリジン残基から合成される。生理的状态では体内のカルニチンの 99%以上は細胞内にあり、組織内の濃度は高く保たれている。その濃度は筋肉では 2~3 mmol/kg、肝臓では 800~1500 mmol/kg であり、一方、血漿中レベルは低く、40~60 μmol/L である。これはカルニチンが血漿から細胞内に取り込まれるためである。

血漿中から細胞内へのカルニチンの転送に OCTN2 が作用する。OCTN2 の機能が障害されると組織中への転送がなくなり、肝臓中、骨格筋、心筋でのカルニチン濃度が顕著に低下する。また本症では同時に腎尿細管でのフリーカルニチンの再吸収が障害されている。そのため尿中へのカルニチン排泄量は多く、血漿中カルニチンが低下しても尿中への排泄がつづく。そのため体内のカルニチンが失われる。

細胞内のカルニチンが減少すると、肝臓では脂肪酸の β 酸化が障害され、飢餓時にケトン産生が低下し、低ケトン血性低血糖に陥る。骨格筋では筋力低下、易疲労、心臓では心筋症が生じる。

【病因】

染色体 5q31.1 に局在する *OCTN2 (SLC22A5)* 遺伝子の劣性遺伝性の変異のホモ接合あるいは複合ヘテロ接合によって発症する。わが国での頻度はタンデムマスによる新生児パイロットスクリーニングの結果³⁴⁾から見るとおよそ 25 万人に 1 人と推定される。遺伝子変異の頻度からはおよそ 4 万人に 1 人と推定される。アンケートの結果からは 4 例が確認されており、いずれも急性発症例である。

【臨床像】

重症例では新生児期から乳児期にかけて低ケトン血性低血糖症、心筋症、筋力低下で発症する。治療せずに放置すると、急性脳症や突然死に至る例もある。カルニチン欠乏によって脂肪酸の酸化が障害され、ケトン体産生が低下する。カルニチンの投与で肝臓でのケトン産生能、骨格筋症状は改善する。

【診断】

血漿カルニチン濃度の低下から OCTN2 の機能異常を疑う。新生児濾紙血マススクリーニングでは C0 の値がフリーカルニチンを示し、同時にみられるアシルカルニチンの低下から

低カルニチン血症を疑う。わが国ではタンデムマス新生児スクリーニングでの C0 カットオフ値は 8-10nmol/ml。疑わしい場合には、血中・尿中カルニチンを測定してクリアランスを計算すると、尿細管吸収障害によってカルニチンクリアランス（CCar）の上昇がみられることから診断できる。

カルニチンは胎盤を通過し、新生児のカルニチンレベルには母親の妊娠中のカルニチンレベルも反映されている。精密検査においては児のカルニチンの測定のほか、母のカルニチンの測定も診断の参考になる。また、児がホモ接合（複合ヘテロ）のトランスポータ異常の場合にも母に低カルニチン血症が見られることがある（ヘテロ接合）。

タンデムマス新生児スクリーニング以外では、臨床症状を示す重症ホモ接合体での診断では臨床像をもとに診断を進める。低ケトン性低血糖症のエピソードと心筋症、筋力低下から疑う。

鑑別すべき疾患はカルニチンの低下をもたらす有機酸血症、脂肪酸酸化障害を除外すること、また分岐鎖脂肪酸の一種であるピバリン酸（pivalate）を含む薬物投与などの結果生じる二次性のカルニチン欠乏を鑑別する。この場合のカルニチンクリアランスは正常である。

（ピバリン酸は尿中にピバロイルカルニチンとして排泄される。乳幼児に対してピバリン酸（ピボキシル基）を有する抗生物質を長期投与した症例で低カルニチンに起因する痙攣、意識障害、低ケトン性低血糖症が報告されている。）

遺伝子変異の解析は進んでいる。わが国に頻度の高い機能異常アレルも判明している。

【治療】

本症ではカルニチン投与によって脂肪酸代謝が回復する。治療では L-カルニチンの経口投与を行う。エルカルチン®50～200mg/kg/日を服用すると臨床症状は劇的に改善する。長期の服用がかかせず、成人期になっても継続する必要がある。

（遠藤文夫、長谷川有紀）

2. カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1欠損症 (Carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT1) deficiency; MIM#255120)

【概念】

脂肪酸アシル-CoA をミトコンドリア内に輸送する仕組みの中で、アシル-CoA をカルニチンと結合させアシルカルニチンを作る酵素カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1

（CPT1）の異常が原因である。この酵素には肝型と筋型のアイソザイムがあるが、報告されているのは肝型酵素欠損症のみである。遊離カルニチンが著増し、アシルカルニチンが減少する。長鎖脂肪酸は代謝されないが、中鎖脂肪酸は代謝される。常染色体劣性遺伝を