

201219005A

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24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山口清次

平成25(2013)年3月

(3年目)

目 次

I. 総括研究報告

- 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
(研究代表者：山口清次) 3

II. 分担研究報告

1. 効率的な体制、臨床的効果に関する研究 (分担：山口清次) 13
 - 1) 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
長谷川 (小村) 有紀、小林弘典、山田健治、高橋知男、
プレブスレンジャミヤン、山口清次 25
 - 2) 乳幼児突然死症候群 (SIDS) および乳幼児突発性危急事態 (ALTE) 様症状で発
症した先天代謝異常症の検討
高橋知男、山田健治、小林弘典、長谷川有紀、山口清次 29
 - 3) アシルカルニチン測定値に影響を与える外的因子
山田健治、小林弘典、長谷川有紀、山口清次 33
 - 4) 確定診断技術の向上 (GC/MS、酵素診断、遺伝子診断)
CPT2, CACT 欠損症のための MLPA 法の確立に関する研究
深尾敏幸、青山友佳 36
 - 5) 酵素診断実績の年次推移：MCAD 欠損症・VLCAD 欠損症
但馬 剛、津村弥来、香川礼子、宇都宮朱里、原 圭一、岡田 賢、
佐倉伸夫、阪本直美、森岡千代美、吉井千代子、濱川以行 38
 - 6) 宮城県・仙台市におけるタンデムマスによる新生児マススクリーニング導入後
の精査症例の検討
坂本 修 41
 - 7) 千葉県におけるタンデムマス・スクリーニングパイロットスタディ
(H22.10-H24.3) の結果について
高柳正樹 43
 - 8) フェニルケトン尿症患者のためのレシピ開発
小松祥子、新宅治夫 45
 - 9) タンデムマス・スクリーニングのガイドライン (案) について
福士 勝、重松陽介、山口清次 50
2. 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：重松陽介) ... 55
 - 1) タンデムマス・スクリーニングのカットオフ値－患者データ、再採血率、精査
率から考える－
花井潤師、吉永美和、高橋広夫、佐々木泰子、野町祥介、佐々木純子、
磯部充久、石毛信之、穴澤 昭、安方恭子、木下洋子、山上祐次、
酒本和也、田崎隆二、小林弘典、山口清次、重松陽介 64
 - 2) 札幌市におけるタンデムマスによる新生児マス・スクリーニング
2012年の検査結果と2010～2012年のまとめ
吉永美和、太田 優、花井潤師、高橋広夫、佐々木泰子、野町祥介、
長尾雅悦、田中藤樹、小杉山清隆、窪田 満 69

3) 東京都におけるタンデムマス・スクリーニングの実施－検査体制の運用と成績－ 北川照男、石毛信之、穴澤 昭、鈴木 健、大和田操、石毛美夏	72
4) 島根大学におけるタンデムマス・スクリーニングの報告 小林弘典、長谷川有紀、坂本 修、大浦敏博、山口清次	76
5) タンデムマス・スクリーニング検査実施状況に関するアンケート調査結果 田崎隆二、重松陽介	80
3. 効果的な診療ネットワークの整備に関する研究（分担：松原洋一）	85
4. 患者の QOL 向上に関する研究（分担：大浦敏博）	89
5. 新技術を応用した有機酸血症治療法の開発（分担：宮崎 徹）	93
6. 検査体制、精度管理体制の質的向上に関する研究（分担：原田正平）	
1) 新生児スクリーニング専用ネットワークを用いた精度管理 稲岡一考、渡辺倫子、中山雅弘、和田芳直、重松陽介、原田正平	97
2) バーコード付き採血用ろ紙の検討（第2報） 河地 豊、渡辺倫子、鈴木恵美子、安片恭子、山上祐次、穴澤 昭、 九曜雅子、稲岡一考、田崎隆二、花井潤師、原田正平	101
3) タンデムマス・スクリーニングにおける外部精度管理（第2報） 渡辺倫子、品田京子、鈴木恵美子、稲岡一考、 重松陽介、石毛信之、小林弘典、原田正平	104
4) 外部精度管理システムへのブラインドサンプル導入の現状（平成24年度） 鈴木恵美子、渡辺倫子、成瀬浩、望月孝一、山上祐次、安片恭子、 田崎隆二、九曜雅子、須山範子、吉井千代子、安部真理子、中村多加良、 栗原秀子、佐々木純子、木谷美枝、松本智津子、河地 豊、松崎宏子、 平原史樹、森臨太郎、松井 陽、原田正平	108
7. 新生児マススクリーニング事業の費用対効果の研究（分担：大日康史）	
1) MS/MS マススクリーニングの費用対効果分析の国際比較 大日康史、菅原民枝	113
8. 産科医療機関との連携向上に関する研究（分担：平原史樹）	117
III. 研究成果の刊行に関する一覧	121

I. 総括研究報告書

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

研究代表者 山口清次（島根大学医学部教授）

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

研究代表者 山口清次（島根大学医学部教授）

研究要旨

平成24年～平成25年度にかけて、新生児マススクリーニング（新生児MS）へのタンデムマス導入が全国的に広がりつつある。本研究班では、以下の分担に分かれて検討した：すなわち1) 効率的な体制、臨床的效果に関する研究、および研究総括、2) 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、3) 効果的な診療ネットワークの整備に関する研究、4) 患者のQOL向上に関する研究、5) 新技術を応用した有機酸血症治療法の開発、6) 検査体制、精度管理体制の質的向上に関する研究、7) 新生児MS事業の費用対効果の研究、8) 産科医療機関との連携向上に関する研究である。平成24年度に以下の成果が得られた。

①**有機酸代謝異常症と脂肪酸代謝異常症の発症時期**：有機酸代謝異常症では新生児期（1か月未満）が45%、乳児期（1歳未満）が22%で、発症例の半数近くが新生児期であった。脂肪酸代謝異常症では、新生児期発症が18%、乳児期30%、幼児期30%であった。脂肪酸代謝異常症の方が、発症時期が遅く、新生児MSの効果はより期待できると思われる。

②**発症前診断（新生児MS）症例と発症後診断症例の転帰の比較**：有機酸代謝異常症も脂肪酸代謝異常症も発症前診断例の方が明らかに予後は良いことがわかった。

③**中鎖アシル-CoA脱水素酵素（MCAD）欠損症の日本人患者の特徴**：欧米では最も有名なタンデムマス対象疾患である。発症時期は3歳以前（最高2歳2か月）であること、発症後に診断された症例では大部分が突然死するか神経後遺症を残した。一方発症前に診断された症例では全例正常に発育していることがわかった。「早期発見」ではなく「発症前診断」が重要である。また日本人MCAD欠損症の対立遺伝子の約45%を占めるコモン変異（c.449-452del）のあることもわかった。今後アジアを中心に民族差を比較する基礎資料となる。

④**タンデムマス対象疾患の小児慢性特定疾患事業（小慢）登録患者数**：登録患者数自体はタンデムマスの普及拡大状況と相関しなかった。乳児医療費など他の制度があるため、乳幼児期には小慢を申請しない傾向があるのかもしれない。

⑤**SIDS、ALTE様の症状で発症した患者の代謝検索**：後方視的に調べたところ、3.3%にタンデムマスで見つかる代謝異常症が発見された。

⑥**血清などの液体試料中のアシルカルニチンの安定性**：常温におかれると7日後にはすでにかなりのアシルカルニチンが分解するため、代謝プロファイルの判読の際、検体保存状態に注意を払う必要がある。

⑦**遺伝子解析システムの充実**：通常の方法では遺伝子変異のみつからないような症例の解析法として、MLPA（Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification）法のを応用して、CPT2欠損症とCACT欠損症の遺伝子診断系を確立した。

⑧**末梢リンパ球と高速液体クロマトグラフィーを用いる酵素活性測定**：MCAD欠損症の新生児MS群から16例、発症後精査群6例を確定診断した。VLCAD欠損症では、新生児MS陽性群の6例全例、発症後精査群13例を確定診断した。確定診断への応用が期待される。

⑨**タンデムマス・スクリーニング精密検査の実態調査**：宮城県と千葉県で調査した。両県での再採血率はそれぞれ、0.42%と0.53%であった。最終診断は、軽症プロピオン酸血症、メチルクロトニルグリシン尿症、MCAD欠損症、栄養性ビタミンB12欠乏症、栄養性カルニチン欠乏、および偽陽性例があった。発見される軽症例については、治療の要否、フォロー

アップの要否についてエビデンスを出す必要がある。

⑩フェニルケトン尿症（PKU）患者の食事療法の改善：古典的 PKU の栄養所要量を検討したところ、成長期以降に水溶性ビタミンが欠乏する可能性があり、ビタミン・ミネラル等の補給を念頭におく必要があることがわかった。また食事に対する意欲が湧くレシピを作成した。

⑪タンデムマス検査施設基準、検査実施基準：適正な偽陽性率、陽性的中率の確保、精度保証の責任体制の明確化、適正な検査規模、検査技術者の適正配置と研修、コンサルタント医師の配置、各部署の連携体制を質を維持するための検査施設基準として提言した。検査実施基準では、高品質・均質な検査の実施を目標として精度保証・精度管理基準、基準への適合度の評価方法を提言した。

⑫タンデムマス・スクリーニングの結果：平成24年は年間50万以上が検査を受けたと考えられる。把握できた累積受検者数は約195万新生児、累積発見患者数は215例（対象疾患患児頻度：1/9,100）であった。1次対象疾患16疾患に限ると日本人では1/1.1万人の頻度と推定される。

⑬日本人のタンデムマス対象疾患の疾患別頻度：プロピオン酸血症が1/4.5万人と最も多く、次いでフェニルケトン尿症が1/5.3万人、シトリン欠損症1/8.8万人、MCAD欠損症が1/10.8万人であった。

⑭新生児MSで発見された患者の予後調査：新生児MSで発見されたMCAD欠損症では死亡例や神経学的異常を呈した症例はなかった。CPT-2欠損症の見逃し例が生後7ヶ月の突発性発疹症罹患時に脳症を発症し、重篤な神経学的後遺症を残した症例があった。メチルマロン酸血症3例中2例が新生児期に発症し、2例中1例が死亡、もう1例は発達遅延を認めている。アルギニノコハク酸尿症の1例で軽度発達遅延が見られている。それ以外の患児は遅れなく育っていた。

⑮タンデムマス導入状況：2012年12月末時点で40%の自治体で事業として行われていた。対象疾患については、研究班の提唱した一次対象疾患のみとした検査機関が約70%であった。

⑯検出精度を上げるための診断指標を検討し、以下のような点を改善した。CPT-2欠損症の診断指標のC16およびC18:1では、偽陰性、偽陽性が多くなることが予想された。[C16+C18:1]/C2比を設定すると、患者群と正常群は良好に分離されることがわかった。将来1次対象疾患に入れることは可能である。

⑰二次検査技術としてGC/MSによる濾紙血中有機酸分析：メチルマロン酸濃度（メチルマロン酸血症）、3-ヒドロキシプロピオン酸濃度（軽症型を含むプロピオン酸血症）が血液ろ紙をそのまま使える有効な検査技術となることを確認した。

⑱特殊検査実施施設の実施状況：対象疾患群の確定診断のための特殊検査を提供している施設は、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）、遺伝子診断が9か所（31項目）であった。診断支援ネットワークを構築する必要がある。

⑲保険適用となったタンデムマス対象疾患群の遺伝子検査（DNA診断）の提供状況：保険適用として遺伝子検査を提供している民間検査機関は国内にはなかった。また、医療機関、研究施設でもこれらの検査を保険適用で実施しているところはなかった。

⑳成人後の医療費等の調査：患者会を対象にアンケート等で調査した。フェニルアラニン除去ミルク配合散（特殊ミルク）は一生涯使用する必要があるが、例えば前者を1日200g使用した場合、1か月で64,200円かかる。20歳以降は小児慢性特定疾患が適応にならないため自己負担が発生する。このため成人後に経済的理由で治療を中断する症例が報告されている。重要な検討課題である。

⑳特殊ミルクの供給体制：PKUとMSUDでは保険適応である。20歳までは小児慢性特定疾患事業で医療費が補助されるが、20歳をすぎると医療費は原則として3割の自己負担となる。PKU患者会に自己負担についてアンケート調査をしたところ、検査費用、特殊ミルク費用、およびその他がかかるようになり、1か月平均3～5万円の自己負担が発生することがわかった。またPKUとMSUD以外の特殊ミルクは、現状では成人以後は供給されない。20歳以後の医療費の支援、特殊ミルクの安定供給の体制確立が望まれる。

㉑ナノテクノロジーを用いる新規治療法の開発：プロピオン酸血症のPCCA遺伝子を入れたナノ・ミセルベクターを作成した。PCCAベクターを注入したノックアウトマウスでは生存期間が明らかに延長した。実用化すればQOLの高い治療法開発が可能になる。

㉒タンデムマスデータの精度管理を目的とした電子版報告シートの作成：検査項目22種を想定してシートを作成した。方針として、Microsoft EXCEL 2003形式を採用し比較的に広告が少なく会員限定の運用が可能な無料サービスFreeMLを選定し整備した。

㉓バーコード付き血液ろ紙導入の検討：ろ紙の大きさは、横185mm以内、幅90mm以内で、記載内容は、現在使用している統一ろ紙に、新たにタンデムマス・スクリーニングで見つかる二次対象疾患を追加項目希望できるように欄を設けた。新生児スクリーニングデータ処理システムソフトを改良する必要がある。

㉔新生児マススクリーニング事業の費用対効果：文献検索によって8つの費用対効果分析を、日本での研究とを社会的視点から比較した。費用対効果分析の結果としてアメリカでのガラクトース血症が\$99,562と非常に費用対効果が悪いのを唯一の例外として、他のすべてで費用対効果は優れていた。

㉕産科医療機関との連携の向上：全国の産婦人科医会を対象に、各自治体のタンデムマス実施状況を調査した。平成24年時点で、すでに開始20自治体、開始予定9自治体、まだ開始されていない自治体が15であった。課題点として以下のような点があげられた。[抜粋]：対象疾患26疾患のスクリーニングを行っているところもあり、自治体によって異なる点、実際には自治体独自での検査にこだわる点、家族への伝達方法の自治体による温度差、検査施設集約化によって検査結果が遅れることがある点、陽性者のフォローアップの不備などがあげられた。

結論：タンデムマス導入によって新生児MS体制は大きく変わる。これまでの事業で提起された課題を解決し、効率的な体制を作る絶好期である。

研究分担者

重松陽介（福井大学医学部看護学科・教授）
松原洋一（東北大学大学院医学系研究科遺伝病学分野・教授）
大浦敏博（仙台市立病院小児科・医長）
宮崎 徹（東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター分子病態医科学・教授）
原田正平（国立成育医療センター研究所成育医療政策科学・室長）
大日康史（国立感染症研究所感染症情報センター・主任研究官）
平原史樹（横浜市立大学産婦人科・教授）

A. 研究目的

わが国では1977年に新生児マススクリーニング（以下新生児MS）事業が始まり、35年が経過した。障害予防の効果は社会に認知されているものの、マススクリーニング事業を取り巻く環境は大きく変化している。少子化が著しく進行し、経済状況も変化した。また患者家族のQOLの向上も重要な問題である。

先進国を中心に、数年前からタンデムマス法が新生児MSに導入されるようになり、わが国でも研究班でその効果、整備すべき体制の問題について検討してきた。タンデムマス導入を機に、わが国の新生児マススクリーニング体制の効率化も進めるべきである。そこで以下のように

な8つの分担研究に分かれて研究を進めてきた。すなわち、1) タンデムマス導入による臨床的効果の検証、効率化、2) 診断精度向上、対象疾患の設定、3) 診断、治療ネットワーク体制の構築、4) 患者家族のQOL向上、5) 患者QOLに配慮した新規治療法の開発、6) 検査体制、精度管理の質的向上、7) 費用対効果の検証、および8) 産科医療機関との連携、社会啓発である。平成24年度の研究成果について報告する。

B. 研究方法

1) 効率的な体制、臨床的効果に関する研究

- (1)有機酸代謝異常症と脂肪酸代謝異常症の自然歴の調査
- (2)小児慢性特定疾患登録患者データベースからみたタンデムマス法対象疾患患者の検討
- (3)SIDS、ALTE様の症状で発症した代謝異常患者の検討
- (4)タンデムマス検査における測定値の安定性に関する検討
- (5)精密検査法の開発向上
 - a. 遺伝子検査へのMLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) 法の応用
 - b. 末梢リンパ球の高速液体クロマトグラフィーを用いた酵素活性測定とタンデムマス所見の比較
 - c. 宮城県のタンデムマス・スクリーニング精密検査の実態調査
 - d. 千葉県タンデムマス・スクリーニングの再検査と精密検査の実態調査
- (6)フェニルケトン尿症 (PKU) 患者の食事療法の改善に関する検討
- (7)検査施設基準、検査実施基準の検討

2) 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

- (1)タンデムマスパイロットスタディー参加施設のデータ集計
- (2)新生児MSで発見された患者の転帰の調査
- (3)タンデムマス導入自治体の調査
- (4)診断指標の検討：カットオフ値、2次検査の精度向上に関する研究

3) 効果的な診療ネットワークの整備に関する研究

特殊検査実施施設の全国マップの作成し、

検査実施状況を調査した。

4) 患者のQOL向上に関する研究

食事療法に使用される治療用特殊ミルクの提供体制と、患者の医療負担について調査した。

5) 新技術を応用した有機酸血症治療法の開発

(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ナノ・ミセルベクターの条件の最適化を行う。

(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

胎児マウスの羊膜上血管 (Yolk-sac vessel) に、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し、肝細胞での発現条件を決め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。

6) 検査体制、精度管理体制の質的向上に関する研究

(1)タンデムマスデータの精度管理のあり方の検討

a. タンデムマス精度管理項目タンデムマス検査における精度管理項目を以下の条件の化合物とした。すなわち、①対象疾患の判定に用いられる。②対応する内部標準が準備されている。③自然体が安定的に入手できる物質。以上の条件を満たす22種の化合物 (Phe, Leu+Ile, Met, Tyr, Cit, Ser, C0, C2, C3, C4, C5, C5-OH, C5-DC, C8, C10, C14, C16, C16-OH, C18, Gal, 17-OHP, TSH) と想定した。電子版報告シートの作製には、すでに日本マス・スクリーニング学会技術部会において施設間の情報交換に多用されているMicrosoft EXCEL 2003形式を採用した。新生児スクリーニング専用サーバーの代用として、比較的に広告が少なく会員限定の運用が可能な無料サービスFreeMLを選定し整備した。

b. ブラインドサンプル (Blind Sample、BLS) を用いた精度管理：平成24年度は全国44施設中15、自治体3、連絡協議会1、地域医療機関と協力してパイロットスタディーを実施した。

c. タンデムマス・スクリーニング (TMS) 用外部精度管理検体作製：血液のマトリックスの影響を受けない標準溶液の外部精度管理への応用について検討した。次に測定データの収集を想定して、紙媒体にかわる電子化を検討した。

(2)バーコード付き血液ろ紙導入の検討

ろ紙の大きさは、横185mm以内、幅90mm以内。記載内容は、現在使用している統一ろ紙に、新たにタンデムマス・スクリーニングで見つかる二次対象疾患を追加項目希望できるように欄を設けた。この採血用ろ紙を試作し、各検査施設から意見を求めた。

7) 新生児マススクリーニング事業の費用対効果の研究

MS/MS マスクリーニングの費用対効果分析の国際比較を行った。

8) 産科医療機関との連携向上に関する研究

全国の産婦人科医会を対象に、各自治体のタンデムマス実施状況を調査した。

C. 研究結果

1) 効率的な体制、臨床的效果に関する研究

(1)有機酸代謝異常症と脂肪酸代謝異常症の自然歴の調査

a. 発症時期：2010年1月から2012年12月の間に島根大学において、発症後に診断した症例（有機酸代謝異常症171例；脂肪酸代謝異常症108例）の発症時期は、有機酸代謝異常症では新生児期（1か月未満）が45%、乳児期（1歳未満）が22%、幼児（1～6歳の就学前）が23%で、半数近くが新生児期であった。脂肪酸代謝異常症では、新生児期発症が18%、乳児期30%、幼児期30%であった。新生児期に発症する病型の患者は重症例が多く新生児MSの効果が十分に期待できないことが多い。この面では、脂肪酸代謝異常症の方が発症時期が遅い傾向があり期待できる患者数は多いと思われる。

b. 発症前診断例と発症後診断例の予後比較：新生児MSと発症後診断の症例の転帰について検討したところ、診断以後に正常発達していたのは新生児MSで発見された有機酸代謝異常症70例中58例（83%）であった。一方発症してから後診断された症例144例中28例（19%）で

あった。一方脂肪酸代謝異常症で正常発達していたのは、新生児MS発見例45例のうち40例（89%）、発症後に診断された症例は52例中25例（48%）であった。以上は新生児期MSで発見された症例の予後が良いことを示している。

c. 中鎖アシル-CoA脱水素酵素 (MCAD) 欠損症の日本人患者の特徴：乳幼児突然死との関連で有名なMCAD欠損症の予後調査では、発症後診断で9例中8例が死亡するか後遺症を残した。発症前診断例9例（うち新生児MSが8例）は全例が発症せず、後遺症なく生活していた。また発症した患者8例のうち最高発症年齢は2歳2か月であり3歳以前に初回発作が起こるといわれていることと合致する。その他日本人には患者の対立遺伝子の約45%を占めるコモン変異 (c.449-452del) のあることも明らかになった。

(2)小児慢性特定疾患登録患者データベースからみたタンデムマス法対象疾患患者の検討

平成17～22年の期間の、タンデムマス法対象疾患の小児慢性特定疾患（小慢）事業の登録患者数を調べた。平成20年頃から年間20万人以上の新生児がパイロット研究に参加したが、登録患者数については有意な増加はみられなかった。乳児医療等のため乳幼児期は小慢に登録されないことを反映していると思われる。

(3)SIDS、ALTE様の症状で発症した代謝異常患者の検討

最近9年間に島根大学に代謝検査を依頼された症例で先天代謝異常症が同定されたのは、SIDS 155例中2例（1.3%）、ALTE 152例中8例（5.3%）、全体では3.3%であった。タンデムマスによる発症予防が期待される。

(4)タンデムマス検査における測定値の安定性に関する検討

血清などの液体試料中のアシルカルニチンの安定性を調べたところ、常温におかれると7日後にはすでに長鎖アシルカルニチン値が低下し始め、反対に遊離カルニチン値は上昇する傾向がみられることがわかった。検体保存、代謝プロフィールの判読の際、注意を払う必要がある。

(5)精密検査法の開発向上

a. 遺伝子検査へのMLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) 法の応用：CPT2欠損症とCACT欠損症の遺伝子診断のためのMPLA法の診断系を確立した。

b. 末梢リンパ球を高速液体クロマトグラフィーを用いる酵素活性測定とタンデムマス所見の比較：2001～2012年の間に、MCAD欠損症は新生児MS陽性者24例中16例、発症後精査群12例中6例を確定診断した。VLCAD欠損症では、NBS陽性群の6例全例、発症後精査群38例中13例を確定診断した

c. 宮城県のタンデムマス・スクリーニング精密検査の実態調査：平成24年の検査13,176件で再検査率は0.42%、精査となった症例は6例であった。最終診断は、栄養性ビタミンB12欠乏症2例、栄養性カルニチン欠乏2例、軽症プロピオン酸血症1例、および偽陽性1例であった。

d. 千葉県タンデムマス・スクリーニングの再検さと精密検査の実態調査：平成22～24年の検査数は54,035件で、再採血率は0.53%、精密検査受診例は12例(0.02%)であった。最終診断は「プロピオン酸血症」3例、「MCAD欠損症」1例、メチルクロトニルグリシン尿症1例の計5例であった(発見頻度1:10,807)。

(6)フェニルケトン尿症(PKU)患者の食事療法の改善に関する検討

古典的PKUの食事では成長期以降に水溶性ビタミンが欠乏する可能性がある。これを予防するために、①ビタミン・ミネラルの総合サプリメントの利用、②低たんぱく、高ビタミン・ミネラルの食材の利用、③フェニルアラニン除去ミルクの摂取などの工夫が必要である。食事に対する意欲が湧くことを目的にレシピを作成した。

(7)検査施設基準、検査実施基準の検討

施設基準では、適正な偽陽性率、陽性的中率の確保、精度保証の責任体制の明確化、適正な検査規模、検査技術者の適正配置と研修、コンサルタント医師の配置、各部署の連携体制を提言した。実施基準では、高品質・均質な検査の実施を目標として精度保証・精度管理基準、基準への適合度の評価方法を提言した。対象疾患の適切な診断手法の確立、適切な診療支援体制、継続的な精度管理と研修体制、および検査の質の地域格差の解消が、新しい新生児MSの質の維持向上を図るために重要である。

2) 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

(1)タンデムマスパイロットスタディー参加施設のデータ集計

2012年1月～11月の11か月間に約41万新生児が検査された。但し、これには2012年4月スクリーニング開始以後の宮城県、岐阜県、京都府、和歌山県、香川県、及び2012年7月以降開始の自治体が含まれていないため、規模としては年間50万以上と考えられる。

累積受検者数は約195万新生児、累積発見患者数は215例(対象疾患発見頻度:1/9,100)となり、ヒドロキシメチルグルタル酸血症(HMG血症)以外の一次対象疾患は全種類発見された。HMG血症についても、スクリーニング非実施地域で乳児期発症患児が診断され、新生児濾紙血の後方視的分析により陽性結果であることが確認されている。

疾患別頻度は、プロピオン酸血症が1/45,000と最も多く、次いでフェニルケトン尿症が1/53,000、シトリン欠損症1/85,000となった。脂肪酸酸化異常症全体の頻度は1/34,000であり、MCAD欠損症が1/108,000と最も高頻度であった。

(2)新生児MSで発見された患者の予後調査

脂肪酸酸化異常症の中では、MCAD欠損症が最も多かったが、新生児MSで発見された患者では死亡例や神経学的異常を呈した症例はなかった。CPT-2欠損症の見逃し例が生後7ヶ月の突発性発疹症罹患時に脳症を発症し、重篤な神経後遺症を残した症例があった。CPT2欠損症は2次対象疾患となっている。メチルマロン酸血症3例のうち2例が新生児期に発症し、1例が死亡、もう1例は発達遅延を認めている。アルギニノコハク酸尿症の1例で軽度発達遅延が見られている。それ以外の患児は、遅れなく育っていた。

(3)タンデムマス導入自治体の調査

2012年12月末時点で、40%の自治体でタンデムマス・スクリーニングが事業として行われていた。対象疾患については、研究班が提唱した一次対象疾患のみとした検査機関が約70%であった。

(4)診断指標の検討：カットオフ値、2次検査の精度向上に関する研究

a. プロピオン酸血症・メチルマロン酸血症：診断指標のC3(カットオフ、誘導体化施設5.0nmol/ml、非誘導体化施設3.6nmol/ml)、およびC3/C2(カットオフ、0.25)はいずれも少数なが

ら患者でもオーバーラップがみられた。一部の施設で C2/C2 比のカットオフを 0.22 にしているところもあった。

b. CPT2 欠損症：診断指標の C16 値（カットオフ、6.2 または 3.0）および C18:1（カットオフ、3.0）では、多くの症例でオーバーラップがみられ、偽陰性、偽陽性が多くなることが予想された。一方、(C16+C18:1) / C2 比（カットオフ、0.62）に設定すると、患者群と正常群は良好に分離された。(C16+C18:1) / C2 比 0.62 以上で、かつ C16 と 3.0 以上のカットオフに設定するとほとんど見逃しなく発見できると思われる。CPT2 欠損症は最も多い脂肪酸代謝異常と考えられており、将来現在の 2 次対象疾患から 1 次対象疾患に設定することは可能であると思われる。福井大学で CPT2 欠損症に対する指標とカットオフ値を改良したところ、精密検査率は 0.016%（2011-2012）であった。

c. VLCAD 欠損症：診断指標 C14:1（カットオフ、

0.4 nmol/ml）が有用であるが、ボーダーライン上の例もある。補助指標として C14:1/C2 比（カットオフ値、0.013）をとれば有用であると思われる。

d. その他：C5-OH を指標とする疾患のメチルクロトニルグリシン尿症及び複合カルボキシラーゼ欠損症患者、C8 を指標とする MCAD 欠損症患者、C0/ (C16+C18) 比を指標とする CPT-1 欠損症患者の測定値は正常群と良好に分離されていた。

e. 二次検査技術：C/MS による濾紙血中有機酸分析を検討した。メチルマロン酸血症ではメチルマロン酸濃度がよい診断指標であり、プロピオン酸血症では 3-ヒドロキシプロピオン酸濃度がよい診断指標であることを確認した。特に後者は軽症型プロピオン酸血症の診断に利用できる可能性が高い。グルタル酸血症 1 型・2 型の診断のための濾紙血中グルタル酸濃度も感度良く測定できる。

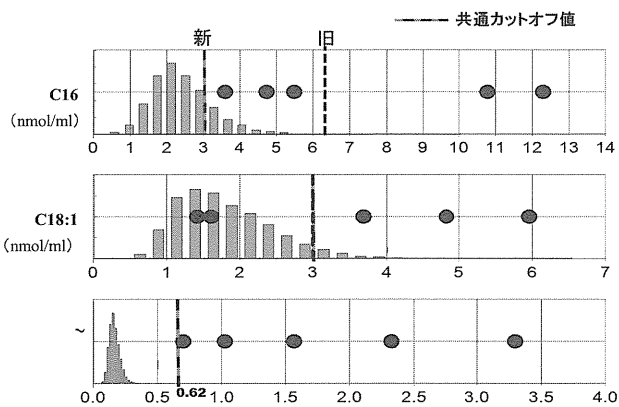


図2. CPT2 欠損症の診断指標

3) 効果的な診療ネットワークの整備に関する研究

(1) 特殊検査実施施設の実施状況

新生児タンデムマス・スクリーニング対象疾患群の確定診断のための検査を提供している施設は、図3に示すように13施設であった。手法は、GC/MS による代謝産物の一斉分析、酵素診断、遺伝学的検査である。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

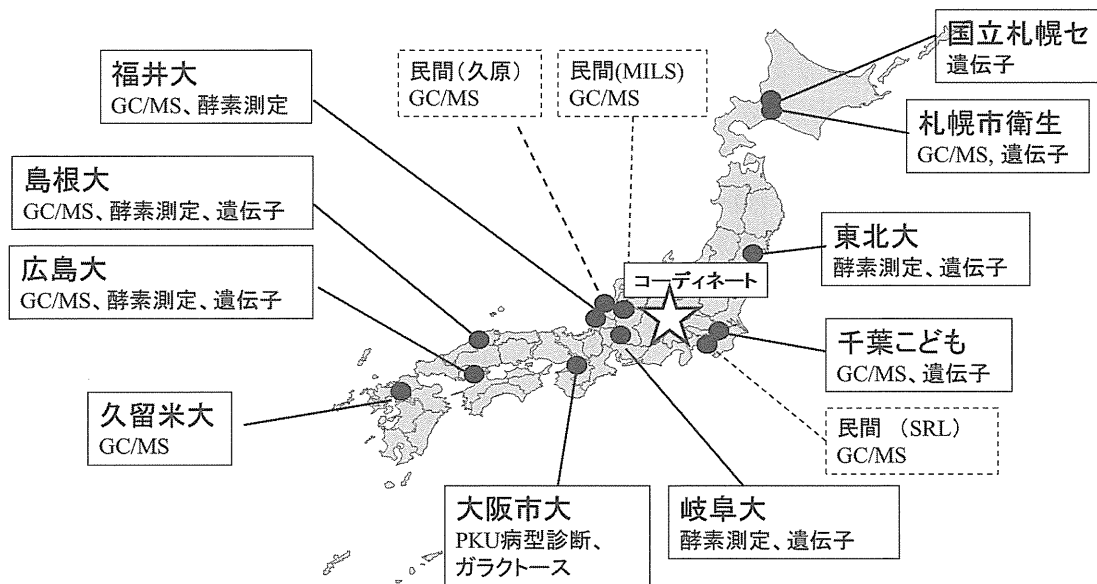


図3. 全国の特検査提供施設(2012年現在)

診断が5か所（12項目）、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。

(2)保険適用となった遺伝子診断の検査会社による提供状況

タンデムマス対象疾患群の遺伝子検査（DNA診断）を提供している検査会社は国内にはなかった。また、医療機関、研究施設においてもこれらの検査を保険適用で実施しているところはなかった。その理由として、以下のような理由が挙げられた：

- 遺伝子検査自体の実施コストが保険点数（4000点）を上回っており赤字検査である。
- 予想される年間検体数は投資に見合わない。
- 検査結果の解釈について十分な情報提供ができない。
- 検査結果に対して主治医から問い合わせがあってもそれに回答できるだけの十分な情報提供できるか不明である。専門機関とリンクすることによって問題解決を図る必要がある。

(3)その他：単なる検査提供だけではなく、主治医が診断、治療を勧めるための医学的な助言の提供、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。

4) 患者のQOL向上に関する研究

治療用特殊ミルクと患者の医療負担について調査した。

(1)薬価収載品目

フェニルアラニン除去ミルク配合散（特殊ミルク）は一生涯使用する必要があるが、例えば前者を1日200g使用した場合、1か月で64,200円かかる。20歳以降は小児慢性特定疾患が適応にならないため、その3割が自己負担分となる。さらに治療用食品、検査などの医療費も含めると毎月の自己負担額は高額となる。成人後に経済的理由で治療を中断する例もあり、何らかの公的援助が必要である。

(2)登録特殊ミルク

先天性代謝異常症の治療に必要な特殊ミルクであり、患者数が多く治療効果が十分に期待できる。登録特殊ミルクに掛かる経費は国（公費）と乳業メーカーが50%ずつ負担し、年間約15,000kg供給されている。登録品は国からの補

助金で運営されているが、財政的に新規に登録品を増やす余裕がない。今後さらに対象疾患の増加が予想され、予算の増額が喫緊の課題である。また、成人期に達した患者は既に1割程度存在しており、年齢制限を撤廃する必要がある。

(3)成人後の医療費自己負担

特殊ミルクは、PKUとMSUDでは保険適応である。20歳までは小児慢性特定疾患事業で医療費が補助されるが、20歳をすぎると医療費は原則として3割の自己負担となる。PKU患者会に自己負担についてアンケート調査をしたところ、表1に示すように成人後、検査費用、特殊ミルク費用、およびその他がかかるようになり、1か月平均3～5万円の自己負担が発生することがわかった。またPKUとMSUD以外の特殊ミルクは、現状では成人以後は供給されない。20歳以後も医療費の補助、20歳以後も特殊ミルクを安定供給される体制が望まれる。現在特殊ミルクの供給はメーカーのボランティアによるところが大きい。現在の体制は不安定である。

表1. 成人後の医療費自己負担分の調査結果

	自己負担(月額)	人数(%)
検査費用	3,000円以下	14 (33%)
	3,000～9,000円	28 (67%)
特殊ミルク	2万円以下	15 (45%)
	2～4万円	14 (42%)
	4万円以上	4 (12%)
治療用食品	2万円以下	33 (80%)
	2～6万円	8 (20%)

5) 新技術を応用した有機酸血症治療法の開発

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量は100～150 μ l、注入速度は150～200 μ l/分が、最適であることが確認された。ナノ・ミセルベクターを移入されたPCC-/-新生仔は72時間程度生存したものが5匹、96時間程度生存したものが6匹、120時間程度生存したものが3匹であった。

それぞれのマウスの肝臓におけるPCC（PCC・鎖：PCCA）遺伝子のmRNA発現レベルを定量的RT-PCRで解析した。生後5日目の野生型マウス（WT）の肝臓における発現を100%として換算す

ると、PCCA 遺伝子を野生型の20%程度発現させると完全にレスキューするが、今回ナノ・ミセルを移入した PCC-/- マウスではこのラインに達しなかった。しかし、10～20%の発現によって明らかに生存時間は延長することが確認された。

6) 検査体制、精度管理体制の質的向上に関する研究

(1) タンデムマスデータの精度管理のあり方の検討

a. タンデムマス精度管理項目タンデムマス検査における精度管理項目：以下の条件の化合物を設定した。すなわち、①対象疾患の判定に用いられる。②対応する内部標準が準備されている。③自然体が安定的に入手できる物質。以上の条件を満たす22種の化合物 (Phe, Leu+Ile, Met, Tyr, Cit, Ser, C0, C2, C3, C4, C5, C5-OH, C5-DC, C8, C10, C14, C16, C16-OH, C18, Gal, 17-OHP, TSH) と想定した。

電子版報告シートの作製には、すでに日本マス・スクリーニング学会技術部会において施設間の情報交換に多用されている Microsoft EXCEL 2003 形式を採用した。新生児スクリーニング専用サーバーの代用として、比較的広告が少なく会員限定の運用が可能な無料サービス FreeML を選定し整備した。

b. ブラインドサンプル (Blind Sample、BLS) を用いた精度管理：平成24年度は全国44施設中15、自治体3、連絡協議会1、地域医療機関と協力してパイロットスタディを実施したが、平成17年度から BLS を137検体送付し (異常69、正常68) 平成24年度の見逃しはない。

c. タンデムマス用外部精度管理検体作製：血液のマトリックスの影響を受けない標準溶液を作り、3施設のタンデムマスで6回繰り返し測定を行った。その結果、6回の変動率 (CV%) は5%以内であった。測定値の濃度直線性を見るために標準溶液を1/10倍希釈～1/100倍希釈し測定したところ良好な直線性が得られた。

(2) バーコード付き血液ろ紙導入の検討

ろ紙の大きさは、横185mm以内、幅90mm以内。記載内容は、現在使用している統一ろ紙に、新たにタンデムマス・スクリーニングで見つかる二次対象疾患を追加項目希望できるように欄を設けた。平成22年度に報告した様式のろ紙にバーコードを付加することにより、各検査のワーク

シート作成の簡素化・省力化、検体の取り違い防止、追跡調査の簡便化など数々のメリットが生まれる。また、新生児スクリーニングデータ処理システムソフトを改良しなくてはならない。

7) 新生児マススクリーニング事業の費用対効果の研究

社会的視点からの費用対効果分析を行っている研究に限定した文献検索から6つの文献、8つの費用対効果分析が、日本での研究と比較可能であると判断された。

タンデムマス・スクリーニングとして追加された対象疾患としては、MCAD 欠損症のみ (オランダ、フィリピン)、PKUのみ (オンタリオ州)、MCAD 欠損症と PKUのみ (イギリス)、あるいは複数の疾患 (フィンランド、アメリカ) が考慮されていた。また、比較対象はスクリーニングなし (フィンランド、アメリカ、フィリピン) とガスリー法 (イギリス、オランダ、オンタリオ州) があつた。

費用対効果分析の結果としてアメリカでのガラクトース血症が\$99,562と非常に費用対効果が悪いのを唯一の例外として、他のすべてで費用対効果は優れていた。

8) 産科医療機関との連携向上に関する研究

全国の産婦人科医会を対象に、各自治体のタンデムマス実施状況を調査した。平成24年時点で、すでに開始20自治体、開始予定9自治体、まだ開始されていない自治体が15であった。課題点として以下のような点があげられた。

(抜粋)：①実施された疾患と合わせて26疾患のスクリーニングを行っているところもあり、自治体によって異なる状況になっている。②実施されれば、自治体独自で検査を行う。③結果は陽性、偽陽性の場合のみに両親に伝え、陰性の場合原則として伝えていないところもある。時々家族より「結果はどうでしたか？」と結果について質問される。④タンデムマス検査について問いかけても、全く反応のない自治体もある。⑤検査を2県に委託しているため、検査結果が遅れて揃わないことがある。精度管理体制が整い次第、1県にまとめたい。検査で陽性の場合の医療機関等のフォロー体制構築が課題である。

E. 結論

平成23年3月に、「タンデムマス法導入」に関する母子保健課長通達が出されて以来、平成24～25年度にかけて全国にタンデムマスが普及しつつある。これまでわが国でパイロット研究等で検査した新生児は1997年以来195万人以上に達し、わが国での発見頻度は1次対象疾患（16疾患）では約1/11,000、2次対象疾患も含めると9千人に1人と推定される。これは諸外国に比べると低い頻度である。タンデムマス法導入の臨床的効果、費用対効果も良好なことが確認された。今後の課題としていくつかの問題が明らかになった。稀少疾患であるがゆえに陽性者が発生した時の診療支援体制、スクリーニングで見つかる軽症病型の小児の取り扱い、検査

施設の適正配置、検査実施基準によるスクリーニング検査の質の維持と向上、患者家族のQOL向上、負担の少ない治療法の確立、成人以後の医療支援体制の充実、患者登録、長期追跡体制の構築などがあげられる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

別掲

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

II. 分担研究報告書

1. 効率的な体制、臨床的効果に関する研究

研究分担者 山口清次（島根大学医学部教授）

分担研究課題

効率的な体制、臨床的効果に関する研究

研究分担者 山口清次（島根大学医学部教授）

研究要旨

タンデムマス法が現在全国に普及しつつある。個々の対象疾患は極めてまれな疾患であるが、全国規模では患者数は増加することが予想される。タンデムマス導入を機に効率的な新生児マススクリーニング（新生児MS）体制を構築するために、対象疾患の自然歴の調査、診断法および治療法の開発、および検査施設基準、検査実施基準の提言について検討した。以下のような成果が得られた。

①発症時期：新生児期発症例は、有機酸代謝異常症では45%、脂肪酸代謝異常症では18%であった。新生児期発症例の予後は厳しいことが多い。

②転帰の比較：新生児MSで発見された有機酸代謝異常症70例のうち正常発達しているのは83%であった。一方発症後に診断された有機酸代謝異常症196例では19%のみであった。一方脂肪酸代謝異常症で正常発達しているのは、新生児MS発見例45例の89%、発症後に診断された症例は52例のうち48%であった。以上より新生児期MSで発見された症例の予後が良い。中鎖アシル-CoA脱水素酵素（MCAD）欠損症の日本人症例の遺伝子型と予後調査を行ったところ、日本人での頻度は約10万人に1人、初回の発症年齢は3歳未満、日本人に特有のコモン変異のあること、発症前に発見された症例では発症者はなく、発症後に診断された症例の9例中8例が突然死するか、神経後遺症を残した。発症前診断が重要である。

③タンデムマス法対象疾患の小児慢性特定疾患（小慢）事業の登録患者数：平成20年頃から年間20万人のパイロット研究をしているが有意な患者数の増加はみられなかった。乳児医療等のために乳幼児期は小慢に登録されないことを反映していると思われる。

④SIDS、ALTE様の症状で発症した有機酸・脂肪酸代謝異常症の後方視的検討：最近9年間に島根大学に検査依頼のあった症例で、SIDS 155例中2例（1.3%）、ALTE 152例中8例（5.3%）、全体では3.3%であった。タンデムマスの普及によって予防症例の数は増えることが期待される。

⑤アシルカルニチンの安定性：2次検査等で使用される可能性のある血清などの液体試料中の測定値の安定性を調べたところ、常温では7日後にはすでに長鎖アシルカルニチン値が低下し始め、反対に遊離カルニチン値は上昇する傾向がみられた。アシルカルニチンの加水分解の可能性を念頭において、検体保存、代謝プロフィールの評価に注意を払う必要がある。

⑥遺伝子解析技術の向上：遺伝子解析を簡略化するためにMLPA（Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification）法の応用について検討した。今年度CPT2欠損症とCACT欠損症に応用し良好なMPLA法を確立した。

⑦MCAD欠損症とVLCAD欠損症の酵素活性測定：2001～2012年の間に、MCAD欠損症は新生児MS陽性者24例中16例、発症後精査群12例中6例を確定診断した。VLCAD欠損症では、NBS陽性群の6例全例、発症後精査群38例中13例を確定診断した。

⑧タンデムマス・スクリーニング精密検査の実態調査：(a) 宮城県では、平成24年の検査13,176件で再検査率は0.42%、精査となった症例は6例であった。最終診断は、栄養性ビタミンB12欠乏症2例、栄養性カルニチン欠乏2例、軽症プロピオン酸血症1例、および偽

陽性1例であった。(b)千葉県では、平成22～24年の検査数は54,035件で、再採血率は0.53%、精密検査受診例は12例(0.02%)であった。最終診断は「プロピオン酸血症」3例、「MCAD欠損症」1例、メチルクロトニルグリシン尿症1例の計5例であった(発見頻度10,807に一人)。この他、母性メチルクロトニルグリシン尿症1例と抗生剤の投与症例によるカルニチン欠乏が検出された。

⑨PKU患者の食事内容の向上：成人後には特定のビタミンの欠乏する可能性があることがわかった。フェニルケトン尿症(PKU)のための患者QOLを高める食事のレシピを作成した。

⑩検査施設基準、検査実施基準の提言：施設基準では、適正な偽陽性率、陽性的中率の確保、精度保証の責任体制の明確化、適正な検査規模、検査技術者の適正配置と研修、コンサルタント医師の配置、各部署の連携体制を提言した。実施基準では、高品質・均質な検査の実施を目標として精度保証・精度管理基準、基準への適合度の評価方法等を入れた試案を作成した。

まとめ：対象疾患の適切な診断手法の確立、適切な診療支援体制、継続的な精度管理と研修体制、および検査の質の地域格差の解消が、新しい新生児MSの質の維持向上を図るために重要である。

研究協力者

但馬 剛 (広島大学大学小児科・助教)
原 圭一 (呉医療センター小児科・医師)
深尾敏幸 (岐阜大学大学院・教授)
高柳正樹 (千葉県こども病院・医療局長)
坂本 修 (東北大学病院小児科・准教授)
伊藤道徳 (香川小児病院・副院長)
福士 勝 (札幌医科大学・ダイアグノスティック・ラボラトリー所長)
新宅治夫 (大阪市立大学医学部教授)
長谷川有紀 (島根大学小児科・助教)
山田健治 (島根大学小児科・助教)
高橋知男 (島根大学小児科・大学院生)
鈴木康之 (岐阜大学医学部・教授)
呉 繁夫 (東北大学大学院小児科・教授)
野々山恵章 (防衛医科大学・教授)
今井耕輔 (東京医科歯科大学小児科・准教授)
川目 裕 (御茶ノ水女子大学大学院・教授)
松田一郎 (熊本大学名誉教授)
折居忠夫 (岐阜大学名誉教授)
戸松俊治 (デュボン小児病院・教授)

A. 研究目的

わが国の新生児マススクリーニングにタンデムマス法を導入することに関して、平成23年3月に全国自治体に向けて厚労省母子保健課長通達が出され、今年度～来年度(平成24～25年度)にかけて全国に普及している。タンデムマスの対象疾患は極めてまれな疾患が多いが、発見さ

れる患者数が全体としては増加することが予想される。稀少疾患のために、陽性が出た時、現場では戸惑うことも予想される。タンデムマス法に関する知識の普及、検査の質の維持、および診療支援体制の充実を図る目的で、タンデムマス法の対象疾患の自然歴の調査、診断法および治療法の開発に関する研究を行った。また検査の質の維持を目的として検査施設基準、検査実施基準について内外の文献をもとに検討した。

B. 研究方法

1) 有機酸代謝異常症(OAs)と脂肪酸代謝異常症(FAODs)自然歴の検討

2010年1月から2011年12月の間に島根大学で診断した症例について、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) 小児慢性特定疾患登録患者データベースからみたタンデムマス法対象疾患患者の検討

平成17～22年度に小児慢性特定疾患事業に登録された患者(尿素回路異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、計17疾患)について登録状況を、マススクリーニングで診断、発症後診断、および不明)に分けて調査した。

3) SIDS、ALTE様の症状で発症した代謝異常患者の検討

2004年～2012年の9年間に、島根大学に代謝異常症の検索を依頼された症例の中から、生後7日～3歳未満の小児を対象に、乳児突然死症候群

疑い（SIDS）または急性危急事態疑い（ALTE）の患者計307例（SIDS 155例、ALTE 152例）の先天代謝異常検索、および臨床的特徴について検討した。

4) タンデムマス検査における測定値の安定性に関する検討

マススクリーニングで陽性、あるいはハイリクススクリーニング検査で、血清、尿などの液体試料を分析する機会がある。保存状況を考慮した測定値の読み方の必要な場合がある。そこで液性検体の保存状態、あるいは溶血による測定値の変動について検討した。

5) 精密検査法の開発向上

(1) 遺伝子検査へのMLPA（Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification）法の応用：カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼⅡ（CPT2）欠損症とカルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ（CACT）欠損症の遺伝子解析の精度を高める目的でMLPA法の導入を検討した。

(2) 中鎖アシル-CoA脱水素酵素（MCAD）欠損症と、極長鎖アシル-CoA脱水素酵素（VLCAD）欠損症の酵素活性測定を行った。液体クロマトグラフィーで反応産物を測定する方法で、リンパ球中の酵素活性を測定した。タンデムマス所見と酵素活性欠損の頻度を比較した。

(3) 宮城県のタンデムマス・スクリーニング精密検査の実態調査：平成24年にタンデムマスで容易性を示した8例について精密検査の方法と結果について検討した。

(4) 千葉県タンデムマス・スクリーニングの再検と精密検査の実態調査：平成22～24年に千葉県で行ったタンデムマス・スクリーニングで再検となった症例、精密検査した症例と確定診断に至った症例について調査した。

6) 食事療法の改善に関する検討

フェニルケトン尿症（PKU）における栄養摂取量確保の問題、食事の偏りの問題に対して、食事を楽しむレシピについて検討した。

7) 検査施設基準、検査実施基準の検討

これまでにわが国で報告された新生児スクリーニング関連の施設基準、検査基準に加えて、海外の関連するガイドライン、文献等を調査し、タンデムマス・スクリーニングの「検査施設基準」と「検査実施基準」（案）をまとめた。

（倫理的配慮）

患者の検査、実態調査で家族の承諾の必要な研究はすべて家族の同意の下に行われた。疾患を集計する際には、年齢や初発症状などから個人が特定できないよう、個人情報保護に配慮した。

C. 研究結果と考察

1) 有機酸代謝異常症（OAs）と脂肪酸代謝異常症（FAODs）自然歴の検討

(1) 発症時期：2010年1月から2012年12月の間に島根大学で発症後に診断した症例（有機酸代謝異常症171例；脂肪酸代謝異常症108例）の発症時期は、有機酸代謝異常症では新生児期（1か月未満）が45%、乳児期（1歳未満）が22%、幼児（1～6歳の就学前）が23%で、半数近くが新生児期であった。脂肪酸代謝異常症では、新生児期発症が18%、乳児期30%、幼児期30%であった。

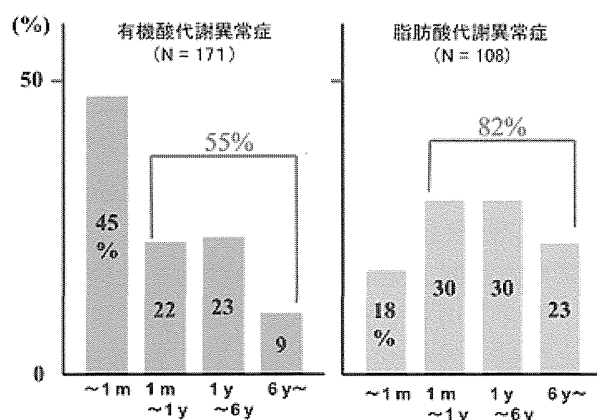


図1. 発症後に診断された症例の初発時期

(2) 新生児マススクリーニングと発症後診断の症例の転帰の検討

新生児マススクリーニングで発見された有機酸代謝異常症70例のうち、その後正常発達しているのは58例（83%）であった。一方発症してから診断された有機酸代謝異常症196例では、診断後に正常発達しているのは28例（19%）であった。

一方脂肪酸代謝異常症では、正常発達しているのは、新生児マススクリーニング発見例45例中40例（89%）、発症後に診断された症例は52例中25例（48%）であった。以上より新生児期マススクリーニングで発見された症例の予後が良いことを示している。

表1. 新生児スクリーニングと発症後診断による患者予後の比較

疾患	スクリーニング診断 (山口県：重松先生)	発症後診断 (島根大学)
患者数	115	196
有機酸代謝異常症	70	144
正常発達	58 (83%)	28 (19%)
後遺症	12 (17)	76 (53)
死亡		40 (28)
脂肪酸代謝異常症	45	52
正常発達	40 (89%)	25 (48%)
後遺症	5 (11)	13 (25)
死亡		14 (27)

(3)中鎖アシル-CoA脱水素酵素 (MCAD) 欠損症の日本人症例の予後調査

MCAD 欠損症は、乳幼児突然死症候群と類似した発症形態をとる疾患とし有名な脂肪酸代謝異常症である。白人では、頻度が約1万人に1人で、対立遺伝子の約90%を占めるコモン変異が有名である。わが国では、2000年以前は正しく診断された症例がなかったが、2000年以後にタンデムマスの普及とともに診断されるようになった。わが国では約10万人に1人の頻度で、脂肪酸代謝異常症では最も頻度が高い疾患である。

発症前診断、発症後診断の症例を含めて、タンデムマス検査でカットオフ値を超えていた症例の遺伝子解析を行い診断された20症例を表2に示す。発症した症例では、発症時期が生後8か月から2歳2か月であった。3才以前に初回発作が起こるといふ過去の報告と合致していた。また発症後に診断された9例のうち正常発達をした例は1例のみで、2例は突然死、6例は脳症の神経学的後遺症を残した。一方、発症前に診断された9例のうち8例は新生児マススクリーニング、1例は同胞スクリーニングで発見された。これら9例すべて発症せず、後遺症もなく正常発達している。タンデムマスで異常を示した症例のうち2例は遺伝子解析の結果、保因者と診断された。保因者でもタンデムマスで診断指標が異常になることがあることを示す。さらに遺伝子変異 c.449-452del は、日本人患者の44%あり、高頻度変異といえる。今後、欧米のみならずアジア諸国等で本症が診断されるようになると、遺伝背景を知るのに興味深いであろう。

2) 小児慢性特定疾患登録患者データベースからみたタンデムマス法対象疾患の検討

平成17～22年度に小児慢性特定疾患事業に登録された患者（尿素回路異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、計17疾患）について登録状況を表3に示す。タンデムマス・スクリーニングのパイロット研究参加者が平成17年7万人、平成18年10万人、平成19年に17万人、平成20年21万人、平成21年に23万人、平成22年24万人であった。平成21年以降は全出生の1/5～1/4を占めるようになったが、小児慢性特定疾患の登録者数には変動がみられない。乳児医療等の小児医療費の無料化のためにあえて小児慢性疾患の患者数に反映されないものと思われる。

3) SIDS、ALTE 様の症状で発症した代謝異常患者の検討

有機酸・脂肪酸代謝異常症は、安定している時は正常にみえるが感染などを契機に急性発症して、突然死する症例のあることが知られている。2004年～2012年の9年間に、島根大学に代謝異常症の検索を依頼された症例の中から、乳児突然死症候群疑い (SIDS) 155例、または急性危急事態疑い (ALTE) 152例、計307例の先天代謝異常検索結果を図2に示す。感冒等を契機に突然死に至った症例は、1歳代のカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ - II (CPT2) 欠損症と、中鎖アシル-CoA脱水を酵素 (MCAD) 欠損症であった。SIDS、ALTEの全体では、4例のメチルマロン酸血症、各1例ずつのオルニチンカルバミラーゼ (OCT) 欠損症、シトルリン血症1型 (Cit)、三頭酵素欠損症 (TFP)、グ

表2. MCAD欠損症の診断時期と転帰 (島根大学、2012)

	番号	発症時期	診断時期	転帰	遺伝子変異	
					Allele 1	Allele 2
発症後診断	1	1y	1y	Sudden death	IVS4+1G>A	c.422 A>T
	2 ^a	1y 8m	1y 8m	Sudden death	c.449-452del	c.449-452del
	3	8m	8m	Develop. delay	c.449-452del	c.157C>T
	4 ^a	1y	8y 10m	Develop. delay	c.449-452del	c.449-452del
	5	1y 1m	1y 1m	Develop. delay	del. ex 11-12	del. ex 11-12
	6	1y 3m	1y 3m	Develop. delay	del. ex 11-12	del. ex 11-12
	7 ^b	1y 4m	1y 4m	Develop. delay	c.449-452del	c.449-452del
	8	1y 7m	1y 7m	Develop. delay	c.275C>T	c.157C>T
	9	2y 2m	2y 2m	normal	c.449-452del	c.449-452del
発症前診断	10 ^b	—	5y 5m	normal	c.449-452del	c.449-452del
	11	—	5d	normal	c.1085G>A	c.843A>T
	12	—	5d	normal	c.449-452del	c.154A>G
	13	—	5d	normal	IVS3+2T>C	c.843 A>T
	14	—	5d	normal	c.449-452del	c.212 G>A
	15	—	5d	normal	c.449-452del	c.134 A>G
	16	—	5d	normal	c.1085G>A	c.1184A>G
	17	—	5d	normal	c.449-452del	IVS3+5G>A
	18	—	5d	normal	c.449-452del	c.820 A>C
保因	19	—	5d	normal	c.845C>T	n.d
	20	—	4m	normal	c.843A>T	n.d

※a-a, b-b: sibling cases、保因：保因者と判明

表3. 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の小児慢性特定疾患治療研究事業登録患者数(伊藤道徳、小児慢性特定疾患研究班)

疾患名	17年度				18年度				19年度				20年度				21年度				22年度			
	総数	NBS	発症後	不明	総数	NBS	発症後	不明	総数	NBS	発症後	不明	総数	NBS	発症後	不明	総数	NBS	発症後	不明	総数	NBS	発症後	不明
メチルマロン酸血症	69	4	17	48	71	1	15	55	69	1	18	50	67	2	13	52	67	5	7	55	70	6	5	59
プロピオン酸血症	33	7	10	16	32	10	5	17	38	10	5	33	34	12	5	7	35	11	5	19	33	12	5	16
β-ケトチオラーゼ欠損症	3	0	2	1	3	0	2	1	3	0	2	1	4	0	2	2	4	0	2	2	1	0	0	1
イソ吉草酸血症	5	0	1	4	6	0	1	5	4	0	1	3	5	1	1	3	3	1	0	1	4	1	0	3
メチルクロトニルグリシン血症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
HMG血症	11	2	3	6	8	1	2	5	12	1	3	8	10	2	4	4	9	1	3	5	10	2	3	5
複合カルボキシラーゼ欠損症	7	0	0	7	7	0	0	7	7	0	1	6	6	0	1	5	11	1	2	8	8	1	1	6
グルタル酸血症1型	12	3	2	7	11	2	1	8	12	4	1	7	18	4	1	13	18	5	1	12	20	6	0	14
MGAD欠損症	6	1	3	2	5	1	4	0	6	2	3	1	8	3	1	4	7	4	0	3	8	5	0	3
VLCAD欠損症	10	2	4	4	7	2	3	2	12	2	4	6	14	2	3	9	12	2	1	9	14	3	1	10
TFP(LCHAD)欠損症	2	0	0	2	1	0	0	1	2	0	0	2	2	0	0	2	3	0	0	3	3	0	0	3
CPT欠損症	11	0	3	8	15	0	4	11	17	0	4	13	14	1	3	10	13	0	1	12	15	1	1	13
TRANS欠損症	2	0	1	1	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	4	0	0	4	7	1	0	6
グルタル酸血症2型	13	1	3	9	13	0	2	11	15	0	3	12	13	1	2	10	11	2	0	9	13	1	1	11
チロシン血症1型	12	1	1	10	12	0	4	8	12	1	2	9	13	2	0	11	12	1	0	11	11	1	1	9
シトルリン血症	75	21	14	40	84	24	17	43	100	25	23	52	100	29	22	49	92	29	7	56	101	31	6	64
アルギニコハク酸血症	9	2	3	4	8	0	2	6	9	0	2	7	4	0	1	3	7	0	0	7	6	0	0	6

従来のアミノ酸代謝異常3疾患 (PKU、MSUD、HCYは除いている。略字、NBS：新生児マススクリーニングで発見された症例、HMG：3-OH-3-メチルグルタル酸、VLCAD：極長鎖アシル CoA 脱水素酵素、MCAD：中鎖アシル CoA 脱水素酵素、LCHAD：長鎖3-OH-アシル CoA 脱水素酵素、CPT：カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ、TRANS：トランスロカーゼ CPT欠損症には、1型と2型が合わせて登録されている。シトルリン血症には、シトルリン血症1型以外にシトルリン異常症などの高シトルリン血症を伴う疾患が含まれている可能性がある。