

分担研究課題：効率的な体制、臨床的效果に関する研究

## 酵素診断実績の年次推移：MCAD 欠損症・VLCAD 欠損症

### 研究要旨

2001年から実施している中鎖アシル CoA 脱水素酵素（MCAD）欠損症・極長鎖アシル CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症の酵素診断実績の年次推移をまとめた。タンデムマス新生児スクリーニング発見例／発症後診断例の内訳は、MCAD 欠損症（16例／6例）、VLCAD 欠損症（6例／13例）で、いずれも近年はNBS発見例の比率が上昇傾向を示しており、自治体事業化によって低血糖発作・Reye 様脳症・SID 様発症などによる乳幼児の死亡・後遺障害の発生は大きく減少することが期待できる。但し、NBS 陽性で除外診断された例数については、MCAD 8例に対して VLCAD ではゼロとなっており、後者では見逃し例を生じている可能性が推測される。

### 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研究員）  
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（国立病院機構呉医療センター小児科医師）  
岡田 賢（Laboratory of Human Genetics of Infectious Diseases, The Rockefeller University）  
佐倉伸夫（重症児・者福祉医療施設鈴が峰病院院長）  
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）

### A. 研究目的

タンデムマス法による新生児スクリーニング（タンデムマスNBS）の主要対象疾患であるMCAD欠損症とVLCAD欠損症について、我々が酵素活性測定を開始してから10年以上が経過した。この間、タンデムマスNBS試験研究参加地域は徐々に拡大し、自治体事業としての全国的施行が目前となっている。このような流れを踏まえ、我々の診断実績の推移をまとめた。

### B. 研究方法

国内各地のタンデムマスNBSでC8またはC14:1が陽性となった症例、あるいは各種の症状の精査としてタンデムマス分析が行われ、C8またはC14:1が陽性となった症例について、リンパ球中の酵素活性を測定した。

（倫理面への配慮）

タンデムマスNBS試験研究および対象疾患（MCAD, VLCAD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を受けている。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。

### C. 研究結果（表1）

#### (1) MCAD 欠損症

タンデムマスNBS陽性群24例中16例、発症後精査群12例中6例を罹患と診断した。残りの14例では保因者レベルないし正常者レベルの活性が認められた。

#### (2) VLCAD 欠損症

タンデムマスNBS陽性群6例全例、発症後精査群38例中13例を罹患と診断した。後者のうち25例では因者レベルないし正常者レベルの活性が認められた。

表1. 酵素診断実績の年次推移

罹患者 診断年	MCAD 欠損症		VLCAD 欠損症		タンデムマス NBS 実施拠点
	NBS 発見例	発症後診断例	NBS 発見例	発症後診断例	
2001	1	2			福井大学
2002				4	↓
2003	3*		1	1	↓
2004		1		1	国内5拠点
2005			1	1	↓
2006		1			↓
2007		1			↓
2008	2			1	+大阪
2009	2			1	↓
2010	3	1	2	1	+千葉・神奈川
2011	1		1	2	↓
2012	4		1	1	全国へ拡大中
<b>罹患者合計</b>	16	6	6	13	
<b>保因者レベル</b>	3	1			
<b>正常者レベル</b>	5**	5***	0	25	

\*未発症同胞の診断例を含む。

\*\*2例で MCT オイル使用歴あり。

\*\*\*1例で MCT オイル使用歴あり。

#### D. 考察

MCAD 欠損症については、タンデムマス NBS 陽性群・発症後精査群のいずれも、酵素活性測定を確定・除外診断上必須の検査法として位置づける必要性が示された。

VLCAD 欠損症の場合、発症後精査群では約 2/3 の症例が除外診断されている。これらの多くはケトーシスを伴う低血糖症例であり、異化亢進状態で C14:1 の軽度上昇が生じやすいためと考えられた。一方、タンデムマス NBS 陽性群は全例が罹患と診断され、偽陽性例は認められていない。日齢3でのスクリーニングが行われている欧米では、VLCAD 欠損症でも多数の偽陽性を生じることが報告されており、哺乳が進む日齢5の採血で C14:1 = 0.2 ~ 0.3  $\mu$ M 程度を指標とするわが国の方法では、見逃し例を生じている可能性が推測される。

診断例数の年次推移を見ると、両疾患とも近年は発症後診断例数に対する NBS 発見例数の割合が上昇してきており、タンデムマス NBS 実施

地域の拡大を反映した傾向と考えられる。発症後診断例はタンデムマス NBS 未実施地域で発生しており、急死した乳幼児例が両疾患で1例ずつ含まれるなど、国内地域間格差を一刻も早く解消することが望まれる。

#### E. 健康危険情報

なし。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし。

##### 2. 学会発表

- 1) 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, 畑 郁江, 重松陽介: VLCAD 欠損症の新生児スクリーニング: 確定検査実施例からの考察第39回日本マス・スクリーニング学会, 東京都, 2012年8月24-25日

- 2) Hara K, Tajima G, Okada S, Sakura N, Takihara Y, Kobayashi M: Functional analysis of mutant MCAD proteins found in Japan. Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SSIEM) Annual Symposium 2012. Birmingham, Sep, 2012
- 3) 原 圭一, 但馬 剛, 津村弥来, 香川礼子, 岡田 賢, 佐倉伸夫, 畑 郁江, 重松陽介, 村山 圭, 高柳正樹: 機能解析の結果, 正常以上の活性をもつと考えられる ACADM

変異. 第54回日本先天代謝異常学会. 岐阜市, 2012年11月

- 4) 津村弥来, 香川礼子, 原 圭一, 岡田 賢, 但馬 剛, 佐倉伸夫, 畑 郁江, 重松陽介: VLCAD 欠損症患者で認めた同義置換の病的意義の検討. 第54回日本先天代謝異常学会. 岐阜市, 2012年11月

#### G. 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

## 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

### 研究要旨

宮城県・仙台市では平成24年4月より新生児マススクリーニングにタンデムマスを導入した。4月から11月までに実施した検体数は13176件であり、精査症例は6件であった。3例はC3, C3/C2高値で精査となり、結果として軽症プロピオン酸血症、ビタミンB12欠乏症、偽陽性が一例ずつであった。C5OH + C4DC高値の症例は尿中有機酸分析でC5OHに関連する代謝産物は認められなかったものの、メチルマロン酸の極軽度増加および血中ビタミンB12の低下もあり、ビタミンB12欠乏症と診断した。C0低値の例は栄養性カルニチン欠乏と診断した。

### 研究協力者

坂本 修（東北大学医学系研究科・准教授）

#### A. 研究目的

宮城県・仙台市は平成17年よりタンデムマスによる新生児マス・スクリーニング試験研究に参加してきた。従来の6疾患の検査を行ったのちに、親権者より同意を得た検体に関して、島根大学小児科に送付してタンデムマス検査を実施する体制であった。

平成21年に宮城県公衆衛生協会にタンデムマスが導入され、前記承諾を得た検体の一部で試験運転を行い、平成23年3月の厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長の通達をふまえ、平成24年4月から前例タンデムマスによるスクリーニングに切り替えた。

#### B. 研究方法

宮城県・仙台市において平成24年4月から11月までに新生児マス・スクリーニングを実施した症例のうち、精査依頼となったものについて検討した。

（倫理面への配慮）

親権者より新生児マス・スクリーニング実施の同意を得て、検査を実施している。

#### C. 研究結果

タンデムマスを実施した初回件数は13176件であり56件に再検査依頼となった（0.42%）。精査となった症例は6例であった。

症例1. C5OH + C4DC 1.22 (>1)：メチルクロトニルグリシン血症ほか（疑い）→精査にてタンデムにてC5OH + C4DC 1.47 (>1)。尿中有機酸分析 メチルマロン酸の極軽度増加。追加検査で血中ビタミンB12 118pg/mL、ホモシステイン 10.7 nmol/LのためビタミンB12欠乏症として治療

症例2. C3 9.93 (>8), C3/C2 0.381 (>0.25)：メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症（疑い）→精査にて血中ビタミンB12 84 pg/mL (180-914)、ホモシステイン 13.1 nmol/L。尿中有機酸分析 メチルマロン酸、メチルクエン酸の軽度排泄増加→ビタミンB12欠乏症として治療

症例3. C3 8.25 (>8), C3/C2 0.266 (>0.25)：メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症（疑い）→精査にて血中ビタミンB12 288pg/mL (180-914)、ホモシステイン 6.6 nmol/L。尿中有機酸分析 異常代謝産物を認めず  
→偽陽性

症例4.C0 7.15 (>8.6)：全身性カルニチン欠乏症（疑い）→精査にてタンデムでのC0は14.0 μmol/L。血清カルニチン 33.9 μmol/L、遊離カルニチン 27 μmol/L。尿中カルニチン 72.2 μmol/L、遊離カルニチン 11.6 μmol/L。→その後、母乳

に人工ミルクを追加されたところ体重増加よく、タンデムでのC0も22.5  $\mu\text{mol/L}$ とさらに上昇→栄養性カルニチン欠乏（もしくは母が患者？）としてフォロー。

症例5. C3 9.26 (>8), C3/C2 0.61 (>0.25) : メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症（疑い）→精査にて血中ビタミンB12 161  $\text{pg/mL}$ 、ホモシステイン 7.6  $\text{nmol/L}$ 、尿中有機酸分析 メチルクエン酸の排泄増加→軽症プロピオン酸血症（疑い）として遺伝子解析→PCCBにp.T428I/p.Y435Cを認め軽症プロピオン酸血症としてカルニチン投与を開始。

症例6. C0 6.21 (>8.6) : 全身性カルニチン欠乏症（疑い）→精査にてタンデムでのC0は20  $\mu\text{mol/L}$ 。血清カルニチン 37.2  $\mu\text{mol/L}$ 、遊離カルニチン 30.5  $\mu\text{mol/L}$ 。尿中カルニチン 26.0  $\mu\text{mol/L}$ 、遊離カルニチン 6.0  $\mu\text{mol/L}$ 。→その後、哺乳量（母乳）とともに体重増加もよく、タンデムでのC0も42  $\mu\text{mol/L}$ とさらに上昇→栄養性カルニチン欠乏としてフォローオフ。

#### D. 考察

実施件数13176件に対し、発見した患者は軽症プロピオン酸血症1例である。

CO低下で全身性カルニチン欠損症（疑い）として精査になった例については全例がスクリーニング時には母乳栄養であった。

C3高値の例においては、尿中に少量のメチルマロン酸が認められるものがある。真のメチルマロン酸血症との鑑別のために、精査時に血中ビタミンB12値を検討する必要があると思われる。

#### E. 結論

宮城・仙台にて実施されたタンデムマスによる拡大マス・スクリーニングにおいても、従来と同等の患者発見率であり、順当に運営されている。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Komatsuzaki S, Sakamoto O, et al. Clinical Reasoning: A young man with progressive subcortical lesions and optic nerve atrophy.

Neurology. 79:e63-68, 2012

- 2) 小松崎匠子, 大浦敏博, 坂本 修, 他 オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症6例に対するフェニル酪酸ナトリウムの使用経験 日本小児科学会雑誌 116: 842-848, 2012
- 3) 坂本 修 マターナルPKU (母性フェニルケトン尿症) 先天代謝異常症候群 (第2版) 上 日本臨牀別冊 (新領域別症候群): 151-153, 2012
- 4) 坂本 修 メチルマロニル CoA ムターゼ欠損症 先天代謝異常症候群 (第2版) 上 日本臨牀別冊 (新領域別症候群): 352-355, 2012
- 5) 坂本 修 アデノシルコバラミン合成障害 先天代謝異常症候群 (第2版) 上 日本臨牀別冊 (新領域別症候群): 356-359, 2012
- 6) 坂本 修 メチルクロトニルグリシン尿症 (3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症) 先天代謝異常症候群 (第2版) 上 日本臨牀別冊 (新領域別症候群): 369-371, 2012
- 7) 坂本 修 3-メチルグルタコン酸尿症 I 型 (3-メチルグルタコニル CoA ヒドラターゼ欠損症) 先天代謝異常症候群 (第2版) 上 日本臨牀別冊 (新領域別症候群): 372-374, 2012
- 8) 坂本 修 3-メチルグルタコン酸尿症 II 型 (Barth 症候群) 先天代謝異常症候群 (第2版) 上 日本臨牀別冊 (新領域別症候群): 375-377, 2012
- 9) 坂本 修 サクシニル CoA リガーゼ欠損症 先天代謝異常症候群 (第2版) 下 日本臨牀別冊 (新領域別症候群): 677-682, 2012

#### 2. 学会発表

- 1) 坂本 修, ほか 新生児マス・スクリーニングの震災対応はどうあるべきか 第39回日本マス・スクリーニング学会 (東京, 2012年8月24-25日)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

特記すべきことなし。

##### 2. 実用新案登録

特記すべきことなし。

##### 3. その他

特記すべきことなし。

分担研究課題：効率的な体制、臨床的効果に関する研究

## 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

### 研究要旨

千葉県においては H22.10-H24.3 の期間にタンデムマススクリーニングのパイロットスタディを行った。この間で合計 54,035 名に検査を行った。受診率は 72.0% であった。再採血率は 0.53% であり、精密検査受診例は 12 例であった。

発見患者はプロピオン酸血症 3 例、中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症 1 例、メチルクロトニルグリシン尿症 1 例であった。

この間母性メチルクロトニルグリシン尿症 1 例を経験した。

この試験期間中に従来の代謝異常スクリーニング検査のみ受けた 1 例が、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症の疑いで突然死している。

### 研究協力者

高柳正樹（千葉県こども病院 副院長）

#### A. 研究目的

タンデム質量分析法による新生児マススクリーニング（以下タンデムマス・スクリーニング）は、先天代謝異常症を主な対象として世界的に実施されている。本研究では、各段階でのシステムの確立をはかり、千葉県において出生した全新生児を対象としたタンデムマス・スクリーニング施行実現に向けての基盤としていく。

#### B. 研究方法

千葉県下の参加希望のあった産科施設から、血液濾紙検体を収集し、タンデムマス質量分析計でアミノ酸、アシルカルニチンを測定することによって、新生児スクリーニングを行う。検査対象疾患は有機酸代謝異常症 8 疾患、脂肪酸代謝異常症 8 疾患、アミノ酸代謝異常症 5 疾患である。

（倫理面への配慮）

この研究は千葉県こども病院の倫理委員会の承認を得ている。

#### C. 研究結果

本パイロットスタディに参加された参加施設

は、従来の代謝異常スクリーニングに参加されていた施設の約 76% であった。この期間中の実施検査数は 54,035 検体で、従来のスクリーニング検査検体の 72.0% であった。

再採血率は 0.53% であり、精密検査受診例は 12 例であった。

発見患者はプロピオン酸血症 3 例、中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症 1 例、メチルクロトニルグリシン尿症 1 例であった。その発見頻度は約 9,000 人に 1 人であった。

精密検査にて正常とされた中に、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があった。

この試験期間中に従来の代謝異常スクリーニング検査のみ受けた 1 例が、その後極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症の疑いで突然死している。保存されていた新生児期の血液濾紙を検査したところ、C14:1 の異常高値が確認された。

#### D. 考察

本パイロットスタディ期間 18 ヶ月の間には機械のトラブルをはじめとするスクリーニングシステムの問題は生じなかった。

発見患者は約 9,000 人に 1 人の割合であり、これまで他地域で行われてきたタンデムによるスクリーニングの結果と同等であった。

再採血率も問題となるような値ではなく、タンデムスクリーニングをこれまでのスクリーニングに追加採用しても、マススクリーニングが混乱するような事は見られなかった。

精密検査受診者のうち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1例があったが、このことは従来より知られていたことであり、対応が適切に行われたものとする。

#### E. 結論

18ヵ月のパイロットスタディにより、平成24年4月1日の公費負担による千葉県全県下のスクリーニングへの移行がスムーズに行えた。今後もタンデムマスを用いたスクリーニングの問題点を明らかにし、これを解決していく努力が必要と考える。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 高柳正樹. カルニチンの臨床. 生物試料分析 35巻: 281-292, 2012
- 2) 高柳正樹. カルニチン欠乏症および2次性カルニチン欠乏症. 小児科 53巻: 1271-1279, 2012 (発表雑誌名 巻号・頁・発表年等も記入)

##### 2. 学会発表

なし

#### 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、臨床的効果に関する研究

## フェニルケトン尿症患者のためのレシピ開発

### 研究要旨

平成23年度同班研究の課題であった古典的フェニルケトン尿症（PKU）患児の治療用剤であるフェニルアラニン除去ミルク配合散（雪印 薬価収載品 以下 Phe 除去ミルク）、PKU 治療食のたんぱく補助剤であるフェニルアラニン無添加総合アミノ酸粉末（A-1、雪印）および低フェニルアラニンペプチド粉末（MP-11、森永）（いずれも登録品 以下たんぱく補助剤）の摂取量別の食事・栄養摂取状況調査の結果を受け、低フェニルアラニン食であっても食事を楽しめ、また可能な限り学童期・思春期におけるビタミン・ミネラルの摂取量の増加を目指したレシピを考案した。

### 研究協力者

小松祥子（大手前栄養学院 講師）

新宅治夫（大阪市立大学大学院医学研究科  
発達小児医学 教授）

### A. 研究目的

古典的 PKU 患者は厳格な食事療法が必要であるが、成長に伴い二つの問題点が挙げられる。

一つ目は、栄養素摂取量である。これまでの研究では、Modan-Moses らが成人期に達した PKU 患者では peak bone mass が健常人に比べて低く<sup>1)</sup>、また、Allen らは成人期 PKU 患者の骨密度が低いこと<sup>2)</sup>を明らかにしている。この理由として、長期に亘るたんぱく質、カルシウム、ビタミン D、または微量元素の摂取不足、あるいは疾患に由来する骨代謝異常が考えられている<sup>2)</sup>。Hvas ら<sup>3)</sup> や Wiersinga ら<sup>4)</sup> は、PKU 患者においてビタミン B<sub>6</sub>、B<sub>12</sub>、葉酸、鉄の摂取が不足し得るとしている。Robinson ら<sup>5)</sup> はとくに青年期に食事療法が緩められ、たんぱく補助剤の摂取量が減り、体たんぱく食品の摂取量が増えると、ビタミン B<sub>12</sub> の摂取不足の頻度が高くなるとしている。日本においては、三戸らが3～27年間治療継続中の PKU 患者のたんぱく質摂取量とミネラル、ビタミンの摂取量を調査している。全16例の患者のたんぱく源は Phe 除去ミルクやたんぱく補助剤のアミノ酸であり、食事摂取基準（2005年度版）の推定平均必要量（EAR）を

満たしている<sup>6)</sup>。ミネラルのうちカルシウム、鉄の摂取量は、それぞれ食事摂取基準（2005年版）の目標量、推奨量を超えているが、ビタミンではビタミン B<sub>1</sub> の摂取量が低く、Phe 除去ミルクへの添加量が少ないことが理由と考えられるとしている<sup>6)</sup>。また、アミノ酸スコアに関して40例を対象とした調査では、9例がアミノ酸スコア90%未満であり、うち8例はたんぱく補助剤を使用していなかったと報告している<sup>7)</sup>。平成23年度の本研究班における古典的 PKU 患児に対する Phe 除去治療乳およびたんぱく補助剤の摂取量別食事・栄養摂取状況調査では、学童・思春期期の患者が、乳幼児期に比べて増加する成長のためのたんぱく必要量を補う目的で使用し、フェニルアラニン無添加総合アミノ酸粉末（A-1、雪印）および低フェニルアラニンペプチド粉末（MP-11、森永）のたんぱく補助剤にはビタミン・ミネラルが含まれないために、一日の総摂取量も推奨量を下回るケースが多いことが明らかとなった。二つ目は、毎日の食事メニューが偏ることである。PKU 患者は成長障害、精神障害出現の予防を目的に血中 Phe 濃度を一定に保つ必要があるため、生涯に亘って低 Phe 食の摂取が推奨される。しかし、患者が入手する Phe 含量が低い食品の種類が限定的であることが多い。これは、食品の栄養成分表示には Phe 量が示されていないために、摂取が可能かどうかを判断することが煩雑になり、食品選択の範囲が



広がらないことが理由と考えられる。そのため、毎食のメニューに使用する食材の種類が単一的になりやすく、栄養素ごとの摂取量にも偏りが生じやすい。

これらのことから、低フェニルアラニン食であって可能な限りビタミン・ミネラルを補給し、なおかつ食事を楽しむことができるようなレシピの開発を目的とした。

## B. 研究方法

PKU 患者の食事療法において、自然食品のみを使用した食事の摂取により、身体機能を維持するためのたんぱく源の摂取は確保しつつかつ低 Phe 食とすることは困難である。このため、PKU 患者は、乳児期では Phe 除去ミルクに母乳または乳児用調整粉乳を加えたものを、幼児期では Phe 除去ミルクを摂取しながら低たんぱくの食材を使用した食事を摂る。中学生から成人にかけては、Phe 除去ミルクのみでは一日の必要たんぱく量にみあったアミノ酸の摂取量が不足するため、2種類あるたんぱく補助剤の使用割合が増加する。たんぱく補助剤のうち、フェニルアラニン無添加総合アミノ酸粉末 (A-1) は Phe に比べアミノ酸含量は約6倍 (窒素量から換算したたんぱく質93.7g / 粉末100g) であるが、ビタミンは配合されておらず、ミネラルはナトリウムと塩素のみの配合である。また、低フェニルアラニンペプチド粉末 (MP-11) は Phe に比べアミノ酸含量は約5倍 (窒素量から換算したたんぱく質75.0g / 粉末100g) であり、ビタミンは配合しておらず、ミネラル10種を配合する。このミネラル10種のうち、カルシウム、マグネシウム、ナトリウム、カリウム、リン、鉄、銅、亜鉛、ヨウ素は、Phe 除去ミルクの約3～10倍を含み、Phe 除去ミルクと異なりセレン、マンガンを含有する。

PKU 患者の食事内容は、穀類、野菜類、いも類などの低たんぱくの植物性食品が中心となる。そのため、動物性食品が供給源であるビタミン B<sub>12</sub> は、Phe 除去ミルクからの補給となる。学童期・思春期にかけて Phe 除去ミルクの使用割合を減らし、たんぱく補助剤の使用割合を増やす中で、前回の食事・栄養摂取状況調査においてはたんぱく源の摂取量は食事摂取基準の推奨量 (RDA) に近かった。しかし、たんぱく補助剤に配合さ

れていないビタミン類 (B<sub>1</sub>、B<sub>12</sub>、葉酸) の総摂取量は少なく、Phe 除去ミルクを摂取していない場合には摂取量減少は顕著である<sup>8)</sup>。

また、PKU 患者は、主に腎臓病患者向けに開発されている低たんぱくの穀類製品を利用する。この理由は、自然食品全体からの Phe 摂取量を減らすためである。厳格な食事制限を行う PKU 患児の場合、食事は低たんぱく穀類の主食、野菜中心の主副菜、Phe 除去ミルクおよびたんぱく補助剤という内容である。肉、魚、鶏肉、大豆・大豆製品はほとんど食卓に並ぶことはなく、PKU 患者には栄養素摂取面に加えて、食事内容が他の児や家族と異なることによる心理社会的な影響もある。

このようなことから、今回は以下の①、②を使用してレシピを開発することとした。

### 1. 重点的に使用する食材の選定

#### ① Phe 除去ミルク

出生後から成人まで使用できる PKU 用の治療用剤 (剤名: フェニルアラニン除去ミルク配合散「雪印」) で、11種のビタミン、10種のミネラルを含み、栄養素を総合的に配合したミルクである。

前述のように、たんぱく補助剤は、学童期・思春期以降のたんぱく摂取必要量を確保するために開発されており、粉末100gあたりのたんぱく換算量は Phe 除去ミルクの約5、6倍である。しかし、ビタミンの配合はない。また、低フェニルアラニンペプチド粉末 (MP-11) は、たんぱく換算量1gあたりのミネラルは Phe 除去ミルクと比べて同量程度であるが、Phe を含む (たんぱく1g 当たり3mg) ため、ミネラル補給の目的のみの増量は Phe 摂取量の増加を招く。

このため、たんぱく補助剤の摂取は確保しつつ、Phe 除去ミルクを添加または増量することを前提とし、Phe 除去ミルクを料理に使用した。

#### ② 低たんぱくミート

ハウス食品(株)より発売されているセルロースやグルコマンナンで肉の風味や食感をだした、たんぱく質0gの商品である。糖質、脂質、食物繊維のほか、カリウム、カルシウム、リン、鉄、亜鉛を含む。ミンチタイプとミートボールタイプがある。動物性食品が自由に使用できない PKU 患者にとっては献立の幅を広げることができる。

### ③低たんぱく食品

低フェニルアラニンとするために有効なたんぱく調整ご飯やでんぷん小麦粉も適宜使用した。

## 2. 栄養価の設定

1日あたりのエネルギーおよび主要な栄養素の摂取目標量を、必要量の高まる学童期後半から思春期に焦点を当て、10歳～17歳の食事摂取基準（2010年版）<sup>9)</sup>をもとに設定した。エネルギーは、推定エネルギー必要量のうち、上記の年齢範囲の中で男女の身体活動レベルIおよび

IIの中央付近のである2000kcalを採用した。たんぱく質も同様に推奨量（RDA）の中央付近の値である50～60gを採用した。このうち、80%はPhe除去ミルク、たんぱく補助剤からの摂取<sup>6)8)</sup>となるため、1日の食事からの摂取量は10g程度と考えた。カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、レチノール当量は、エネルギーの設定条件と同様に、推奨量からそれぞれ800mg、300mg、10mg、9mg、750μgとした。

この他、ビタミンB<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>、B<sub>6</sub>についても、目標とする量は設定しないが、含まれるよう考慮した。

表1. 各料理のレシピ

レシピ名	材料	作り方	工夫点
タコライス	(1人分) 冷凍低たんぱくミート(ミンチ)60g、玉ねぎ40g、サラダ油10g、ミニトマト40g、レタス30g、ゆめごはん1/25(キッセイ薬品工業)180g、プロセスチーズ5g、調味料:ケチャップ30g、ウスターソース18g、カレー粉1g、にんにく3g、塩少々、コショウ少々	①玉ねぎ、にんにくはみじん切りにする。レタスは千切り、ミニトマトは4等分にする。②調味料を混合する。③フライパンにサラダ油をひき、玉ねぎを十分に炒める。④冷凍低たんぱくミート(ミンチ)を③に加え、火が通れば調味料を加えて煮詰める。⑤温めたゆめごはん1/25の上に、レタス、④、ミニトマトを盛り付ける。	冷凍低たんぱくミートおよび低たんぱくごはんを使用した。またPhe含量の低い野菜を使用しつつ、カルシウム、ビタミンB <sub>1</sub> 、B <sub>6</sub> の給源としてチーズを使用した。
夏野菜のキーマカレー	(1人分) 冷凍低たんぱくミート(ミンチ)80g、なす80g、黄パプリカ15g、ミニトマト75g、サラダ油13g、しょうが3g、にんにく2g、カレー粉3g、ゆめごはん1/25(キッセイ薬品工業)180g、調味料A:塩0.5g、固形コンソメ2g、水40g、調味料B:オレンジマーマレード3g、ヨーグルト7g	①しょうが、にんにくはみじん切り、なすは半分の長さに切り、縦8等分にくし切りにする。黄パプリカは乱切り、ミニトマトは半分切りにする。②鍋にサラダ油、にんにく、しょうがを弱火で熱し、香りが出たら、なす、冷凍低たんぱくミート、黄パプリカ、ミニトマト、カレー粉の順に加え、炒める。③しんなりしてきたら、合わせておいた調味料Aを加え、5分ほど煮る。④調味料Bを加え、さらに5分ほど煮る。⑤温めたゆめごはん1/25の上に、④を盛る。	冷凍低たんぱくミートおよび低たんぱくごはんを使用してPhe量を抑えた。
なすのひき肉はさみ揚げ	(1人分) 冷凍低たんぱくミート(ミンチ)60g、なす100g、白ねぎ10g、干しひじき2g、しょうが2g、片栗粉2g、サラダ油適量、調味料:濃口しょうゆ3g、出汁5g	①なすは皮つきのまま縦4枚に切り、水さらしてアクを抜く。②白ねぎ、しょうがはそれぞれみじん切りにする。③干しひじきを水戻しする。④ボウルに冷凍低たんぱくミート(ミンチ)と②③を入れ、手でよく練り混ぜる。⑤ペーパータオルで①の水気を取り、半身2枚1組にし、1枚ずつ片面に片栗粉をまぶす。⑥の半量ずつを片栗粉の付いた面で挟む。⑦フライパンにサラダ油を適量入れ、⑤を入れて軽く焦げ目が付くまで中火で両面を炒める。⑧⑥を盛り付け、混合した調味料をかける。	低たんぱくミートを使用し主菜とした。Phe量が多くなる程度に、マグネシウム、鉄などミネラルの給源である干しひじきを加えた。
肉だんごと野菜のコンソメ煮	(1人分) 冷凍低たんぱくミート(ボール)30g、しいたけ20g、玉ねぎ50g、にんじん20g、チンゲン菜20g、赤パプリカ5g、黄パプリカ5g、オリーブ油5g、水150cc、粉末コンソメ1g、塩0.5g、コショウ少々、ローリエ1枚	①しいたけは石づきを切り落としてスライスする。玉ねぎはくし型に切ったものをさらに横半分切りにする。にんじんは色紙切りにする。チンゲン菜は4cm長さ切りにする。赤パプリカ、黄パプリカは一口大に切る。②鍋にオリーブ油を熱し、冷凍低たんぱくミート(ボール)を転がしながら強火で炒め、肉に火が通ったら①の野菜を加えて炒める。③②に分量の水と粉末コンソメ、ローリエを加えて中火で煮る。野菜が柔らかくなれば、ローリエを取りだし、塩をコショウで味付けし、火を止める。	低たんぱくミートを使用した。レチノール当量チンゲン菜は野菜の中ではたんぱく含量が低く、カルシウム、マグネシウム、鉄、銅の含量が比較的高めである。
ポトフ風スープ	(1人分) キャベツ30g、玉ねぎ30g、じゃがいも25g、にんじん20g、固形コンソメ2.7g、水150cc、冷凍低たんぱくミート(ボール)30g、塩少々、コショウ少々	①キャベツ、じゃがいも、にんじんを食べやすい大きさに切り、玉ねぎは薄切りにする。②鍋に水、コンソメ、玉ねぎ、じゃがいも、にんじんを入れて軟らかくなるまで煮る。③冷凍低たんぱくミート(ボール)、キャベツを加えて塩、コショウで味を調える。	低たんぱくミートを使用した。
ミルク鍋	(1人分) 大根40g、にんじん40g、チンゲン菜40g、白ねぎ40g、しめじ20g、冷凍低たんぱくミート(ボール)30g、牡蠣3粒(54g)、有塩バター13g、グンブンのT・T小麦粉(グンブン)7g、Phe除去ミルク(粉)30g(水を加えて200ccに調整)、塩少々、コショウ少々	①鍋にスライスした大根、にんじん、白ねぎ、ざく切りにしたチンゲン菜、ほぐしたしめじ、冷凍低たんぱくミート、牡蠣を順に並べ、蓋をして中火でしんなりするまで煮る。②フライパンを弱火にかけ、有塩バターとグンブンのT・T小麦粉をなめらかになるまで炒め、200ccに調整したPhe除去ミルクの一部を少しずつ加えてルーをのばし、塩・コショウで味付けする。③①がしんなりしたら②のルーと残りのPhe除去ミルクを加え、蓋をして3～4分中火で炊く。	低たんぱく小麦およびPhe除去ミルクを使用した。Phe除去ミルクは加熱の影響が少なくなるよう分割使用する。動物性食品の中で最もPhe含有量の低く、ビタミン・ミネラルの給源である牡蠣を加えた。
簡単かぼちゃグラタン	(1人分) かぼちゃ200g、玉ねぎ50g、有塩バター10g、グンブンのT・T小麦粉(グンブン)20g、Phe除去ミルク(粉)30g(水を加えて200ccに調整)、塩少々、コショウ少々、固形コンソメ2.7g、パン粉3g	①かぼちゃを一口大に切って電子レンジで5分ほど加熱する。玉ねぎは薄切りにする。②フライパンにバターをひき、玉ねぎを炒める。③玉ねぎに火が通ったら、グンブンのT・T小麦粉を少しずつ入れ、混ぜる。④次にPhe除去ミルクを少しずつ加え、だまを作らないように混ぜる。⑤塩、コショウ、固形コンソメ、かぼちゃを入れてとろろになるまで煮込む。⑥耐熱容器に⑤を入れてパン粉を散らし、焼き色が付くまでオーブンで焼く。	低たんぱく小麦およびPhe除去ミルクを使用した。
スイートポテト	(6個分) サツマイモ300g、砂糖30g、有塩バター8g、Phe除去ミルク(粉)15g(水を加えて100ccに調整)	①サツマイモの皮を剥き、一口大に切り、水にさらしておく。②サツマイモが軟らかくなるまで電子レンジに掛ける。③②を裏ごして砂糖、有塩バター、調整したPhe除去ミルクを加え混ぜる。④好きな形に成形し、焼き色が付くまでオーブンまたはトースターで焼く。	Phe除去ミルクの加熱時間が短縮されるよう、サツマイモを裏ごした後に加えることとした。
イチゴジャムホットケーキ	(1人分) グンブンのT・T小麦粉(グンブン)20g、塩少々、Phe除去ミルク(粉)6g、上白糖9g、サラダ油12g、除去ミルク(粉)7g(水を加えて45ccに調整)、有塩バター8g、ホイップクリーム(乳脂肪)、イチゴジャム(高糖度)30g、さくらんぼ(缶詰)15g、ミント葉	①ボウルにグンブンのT・T小麦粉と塩、Phe除去ミルク(粉)6g、上白糖、サラダ油を入れ、調整したPhe除去ミルクをよく混ぜる。②フライパンに有塩バターをひき、①を小さめに丸く4枚焼く。③焼きあがったら少し冷まし、ホイップクリームとイチゴジャムを挟む。④上段面にはホイップクリームと、4等分したサクランボを載せ、ミントの葉を飾る。	ホットケーキの材料として低たんぱく小麦とPhe除去ミルクを使用した。
洋ナシのパンナコッタ風	(6人分) Phe除去ミルク(粉)90g(水を加えて600ccに調整)、はちみつ80g、粉寒天4g、レモン汁2.5g、バニラエッセンス、洋梨(缶詰)110g、ミントの葉数枚、ソース:グラニュー糖70g、水適量、Phe除去ミルク(粉)6g(水を加えて40ccに調整)、有塩バター12g	①調整したPhe除去ミルクとはちみつを鍋で混ぜ中火にかける。②沸騰直前で火を止め、粉寒天を混ぜ、溶かす。③粗熱を取り、レモン汁、バニラエッセンスを加え、水で濡らした型に流し、冷蔵庫で冷やし固める。④ソース用のグラニュー糖を鍋に入れ、グラニュー糖が溶ける程度の水を加え、溶かしながら中火にかける。⑤カラメル色になりだしたら火から離し、調整したPhe除去ミルクを混ぜ、有塩バターを加えて混ぜる。⑥③が固まったら、型から外し、スライスした洋梨を飾り、ソースをかけ、ミントの葉を飾る。	ゼラチンの代わりに寒天を使用した。Phe除去ミルクを含めてPhe含量の少ない食材を使用したデザートとした。なしは果物の中では、Phe含量が低い。

最も重要なフェニルアラニン量は、3歳以降のフェニルアラニン摂取量の目安35～15mg/kg/日をもとに、なるべく多くの幅広い年代に適応できる値として、20mg/kg/日以下を基準と設定した。この値を用いて、体重50kgの人を基準とし、1日1000mg、1日3食では1食当たり330mg以下をPheの摂取目標量に設定した。その他の栄養素は、料理1品につき、1種以上ができる限り上記の量に近づくことを目標とした。

### C. 研究結果

10品の料理を作成した。各料理のレシピおよび調理上の工夫点を表1に、栄養価は表2に示す。Phe除去ミルクについては、従来牛乳を材料の一つとする料理でPhe除去ミルクに置き換えることとし、加熱調理によるビタミンの損失を少なくできるように調理段階の後方に加えることとした。液体として使用する場合の調整濃度は、推奨されている濃度範囲の下限である15w/v%とした。低たんぱくミートは、固有の味がするため、味付けに香辛料、香味野菜などを使用することとした。また、炒め調理では、動物肉よりも焦げ付きやすい点に留意が必要であった。

### D. 考察

たんぱく含量の低い自然食品を選ぶことに加えて、市販の低たんぱく食品を利用し低フェニルアラニン食を作ることは容易である。しかし、食事全体の低フェニルアラニン量を前提に、ビタミン・ミネラルを増量することは容易ではない。学童期・思春期以降の患者がPKU以外の栄養不足による栄養障害や疾患を予防するには、

①低たんぱく、高ビタミン・ミネラルの食材を利用する、②保険収載のフェニルアラニン除去ミルクの摂取を続けるなどの工夫が必要である。今回のレシピは、これらに着目し、自然食品からも可能な限りビタミン・ミネラルを摂取し、なおかつ食事に対する意欲が湧くことを目的に作成したものである。生涯に亘って食事療法による血中Phe濃度の維持が必要であるPKU患者のQOLの維持・向上を目指して、今後もこのようなレシピの開発・普及が望まれる。

なお、今回作成したレシピは、冊子にまとめ、PKU親の会連絡協議会を通じてPKU患者へ配布した。

### E. 結論

低フェニルアラニンであって、ビタミン・ミネラルの増量を目指してレシピを開発した。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) 新宅治夫：新生児マス・スクリーニング、大阪小児科医会会報161：37-40，2012
- 2) 新宅治夫：フェニルケトン尿症の新しい治療法 食事療法から薬物療法へ，大阪小児科医会会報158：9-13，2011

#### 2. 学会発表

- 1) Shintaku H. Role of tetrahydrobiopterin (BH4) therapy in PKU, 第12回国際小児神経学会・

表2. 各料理の栄養価

レシピ名	エネルギー(kcal)	たんぱく質(g)	カルシウム(mg)	マグネシウム(mg)	鉄(mg)	亜鉛(mg)	レチノール当量(μg)	ビタミンB1(mg)	ビタミンB2(mg)	ビタミンB6(mg)	Phe(mg)
タコライス(チーズ無)	575	2.2	60	24	1.2	0.4	56	0.09	0.05	0.20	80
タコライス(チーズ有)	592	3.4	92	25	1.3	0.6	69	0.09	0.07	0.20	140
夏野菜のキーマカレー	616	3.0	74	34	1.6	0.6	72	0.12	0.10	0.22	107
なすのひき肉はさみ揚げ	133	1.6	61	33	1.6	0.3	14	0.06	0.08	0.07	59
肉だんごと野菜のコンソメ煮	131	1.7	46	14	0.5	0.4	192	0.06	0.07	0.18	57
ポトフ風スープ	99	1.6	34	14	0.4	0.3	153	0.05	0.03	0.16	56
ミルク鍋(牡蠣無し)	348	6.8	193	31	2.7	1.4	574	0.20	0.28	0.27	91
ミルク鍋(牡蠣3つ)	380	10.4	240	71	3.7	8.5	586	0.22	0.36	0.32	210
簡単かぼちゃグラタン	254	5.5	78	34	1.5	0.7	437	0.13	0.19	0.33	135
スイートポテト(2個)	191	1.2	40	25	0.7	0.2	23	0.11	0.03	0.28	67
イチゴジャムホットケーキ	631	5.5	70	8	0.9	0.5	165	0.06	0.10	0.06	172
洋ナシのパンナコッタ風	188	2.6	59	6	1.1	0.5	82	0.06	0.10	0.07	4

※赤字・・・比較的、栄養価の高いものを示す。

※フェニルアラニン値が算出されていない食材は、たんぱく質量の5%として算出した。

第11回アジア環太平洋小児神経学会 (ICNC/AOCCN2012), 2012. 5. 26-6. 1 ブリスベン

### 3. その他

- 1) 小松祥子, 他: 管理栄養士の卵が考えた PKU の患者さんのための楽しいレシピ, アデイス

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

### I. 参考文献

- 1) Modan-Moses D, Vered I, Schwartz G, et al. Peak bone mass in patients with phenylketonuria. *J Inher Metab Dis.* 2007; 30: 202-8
- 2) Allen JR, Humphries IRJ, Waters DL, et al. Decreased bone mineral density in children with phenylketonuria. *Am J Clin Nutr.* 1994; 59: 419-22
- 3) Hvas AM, Nexø E, Nielsen JB. Vitamin B<sub>12</sub> and vitamin B<sub>6</sub> supplementation is needed among adults with phenylketonuria. *J Inher Metab Dis.* 2006; 29: 47-53
- 4) Wiersinga WJ, de Rooij SEJA, Huijmans JGM, Fischer JC, Hoekstra JBL. Diagnosis of vitamin B12 deficiency revised. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2005; 149: 2789-94
- 5) Robinson M, White F, Cleary MA, Wraith E,

Lam WK, Walter JH. Increased risk of vitamin B12 deficiency in patients with phenylketonuria on an unrestricted or relaxed diet. *J Pediatr.* 2002; 136: 545-7

- 6) 三戸節子, 他: 平成21年度特殊ミルク改良部会 第二部会共同研究報告 先天性アミノ酸代謝異常症の食事療法におけるたんぱく質代替物の役割, 特殊ミルク情報, 第44号, 60-63
- 7) 三戸節子, 他: 平成21年度特殊ミルク改良部会 第二部会共同研究報告 先天性アミノ酸代謝異常症における体たんぱく食治療の質的評価に関する研究 -フェニルケトン尿症治療におけるアミノ酸スコアの検討-, 特殊ミルク情報, 第45号, 55-62
- 8) 小松祥子, 他: 古典的フェニルケトン尿症 (PKU) 患児のタンパク代替物別の食事・栄養摂取状況調査、平成23年度厚生労働省科学研究 (子ども家庭総合研究事業) 「タンデムマス等の新技術を導入した新しい新生児マススクリーニング体制の確立に関する研究」分担研究: 「効率的な体制, 臨床的效果に関する研究」(分担: 山口清次) 平成23年度 総括・分担研究報告書, 31 ~ 33頁, 2012年3月
- 9) 日本人の食事摂取基準(2010年版), 厚生労働省, 健康局, 2005

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・スクリーニングのガイドライン（案）について

### 研究要旨

国内のどこで生まれても同レベルで高品質な新生児スクリーニングを受けることを保証するため、タンデムマス・スクリーニングのガイドラインとして、「検査施設基準」と「検査実施基準」（案）を作成した。

「検査施設基準」では、1) 検査機能として偽陰性例を最小化し、適正な偽陽性率と陽性的中率を確保できる能力を有していること、2) 精度保証体制として施設責任者、精度管理責任者および検査担当者などの責任体制を明確化し、検査前、検査時、検査後の精度管理・精度保証体制を確立していること、3) 施設規模と要件として検査施設は年間3万検体以上の検査を受託できる能力を有していること、4) タンデムマス検査専任検査技術者がいること、5) コンサルタント医師の設置していること、6) 全ての関係機関・関係者による密接な連携体制が確立されていることを要件とした。

「検査実施基準」では、検査システムの標準化を図るため精度保証・精度管理基準、基準への適合度の評価方法、評価結果をもとに実施する改善方法を規定して、全ての検査施設で高品質・均質な検査が実施できることを目標とした。

### 研究協力者

福士 勝（札幌IDL・所長、日本マス・スクリーニング学会技術システム検討委員会）

重松陽介（福井大学医学部健康科学・教授、日本マス・スクリーニング学会技術システム検討委員会）

山口清次（島根大学医学部・教授）

その結果と平成22、23年度の本研究班での報告を併せて検討することにより、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）としてまとめた。

（倫理面への配慮）

該当事項なし。

### A. 研究目的

国内のどこで生まれても同レベルで高品質な新生児スクリーニングを受けることを保証するため、タンデムマス・スクリーニングのガイドラインとして「検査施設基準」と「検査実施基準」を作成することにより検査施設と検査の標準化を図る。

### B. 研究方法

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、海外のタンデムマス・スクリーニングに関連するガイドライン、論文及び学会報告を調査し、

### C. 研究結果

#### 1. タンデムマス・スクリーニング検査施設基準（案）

日本マス・スクリーニング学会の「新生児マス・スクリーニング検査施設基準」に準じた。

##### 1) 検査機能

偽陰性例を最小化し、適正な偽陽性率と陽性的中率を確保できる検査システムが確立されていること。必要に応じて2次検査の実施を考慮すべきである。（米国 Region 4 Project は患者発見率1:3,000の場合、偽陽性率0.3%、陽性的中率20%を適切としている。）

##### 2) 精度保証体制

施設責任者、精度管理責任者、検査担当者などの検査の責任体制が明確であり、検査前、検

査時、検査後の精度管理・精度保証体制の確立されていること。

第三者機関が実施する外部精度管理により、検査施設の信頼性が確保されていること。

### 3) 施設規模と要件

「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誌21巻、207-209, 2011年)と同様に、検査施設は年間3万検体以上を受託できる能力を有していること。

検体の分割・再郵送などによる紛失及び検査の遅延などを防止し、検体の郵送・受付・成績発行業務などの過誤を防止するため、タンデムマス・スクリーニング検査施設は従来の新生児スクリーニング対象疾患も同時に実施できる施設であることが望ましいこと。

### 4) 検査技術者

タンデムマス・スクリーニングの検査担当者は新生児スクリーニングに加えてタンデム質量分析計の運用・管理の教育訓練を受けている者で専任とし、検査開始後も定期的に関連学会や研修会に出席し、最新知識の取得と検査技術の向上を図ることができること。また、日本マス・スクリーニング認定技術者制度で認定された者であることも重要である。

### 5) コンサルタント医師の委嘱

確定診断あるいは診療コンサルタントの窓口となる地域スクリーニング中核医師及び地域中核医療機関を定め、代謝異常を専門とする医師の指導を受けることができる体制が整備されていること。

コンサルタント医師、地域スクリーニング中核医師、採血医療機関、検査機関及び行政母子保健所管部門(保健所、保健センターを含む)間の情報伝達・共有システムの構築による迅速な対応を可能とすること(電話、FAX、e-mailなどによる効果的なシステム)。

### 6) 関係機関の連携

採血を担当する医師会産婦人科及び小児科医会、精査・診断・治療部門である専門医療機関、保護者への広報・教育及び精密検査対象者や確定患者の追跡調査等を行う自治体の母子保健担当部門などの新生児スクリーニングに関与する全ての関係機関・関係者と密接な連携体制を確保していること。

都道府県・政令指定都市により組織された新

生児スクリーニング関係機関・者による連絡協議会等の地域の連携組織が行う持続的なスクリーニングシステムの評価、改善事業の支援ができること。

## 2. タンデムマス・スクリーニングの検査実施基準(案)

タンデムマス・スクリーニングの全て検査過程における適切な手順と質の確保に要求される基準を設定し、設定した基準への適合度の評価と評価結果に基づく改善を行うための方法を標準化した。このため、検査施設の検査能力の妥当性と検査結果の信頼性の確保に必要な精度保証・精度管理の評価項目とルーチン業務で実施すべき評価方法と改善方法を設定した。

1) タンデム質量分析計システム(タンデムマスシステム)導入時の機器の選定、機器の性能の校正と検証、導入後の保守点検の基準

#### i) タンデムマスシステムの導入

非誘導体化法に対応可能な感度があり、かつ保守管理サービスが保証されていること。

#### ii) タンデムマスシステムの保守・点検

要求される精度と再現性が確保できるように保守点検プログラムが整備されていること。

#### iii) タンデムマスシステムの校正と検証

タンデムマスシステムのセットアップ時の適切な標準品によるタンデムマスシステムの最適化の実施に加えて、スクリーニング開始後も大規模な機器の洗浄や保守点検終了時、新生児検体分布の大きな変化時にも最適化によるシステムの再検証が必要である。

2) タンデムマス・スクリーニング検査法の妥当性の評価と検証

#### i) 検査法の妥当性の評価方法

直線性、検出限界、定量上限、精度、正確さ、キャリアオーバー、特異性を検証すること。

#### ii) 検査法の妥当性の定期的な検証と項目

ルーチン検査導入後は、6ヶ月に1回程度の定期的な実施に加えて、検査機器の変更時及び検査法の変更時にも実施すること。

検証項目は直線性、回収率、精度、正確度とし、使用する検体は検査済み新生児検

体又は精度管理用検体とすること。

### 3) カットオフ値の設定とその検証

カットオフ値の設定は検査方法、使用する機器のパラメーター、スクリーニングプログラムの対象疾患に対する考え方、受容可能な偽陽性率等を考慮する。測定値に影響を与える検査機器及び検査方法の変更、二次検査の実施の有無や最新の知見（新しいバイオマーカー、患者の臨床データ）なども考慮されるべきである。

#### i) カットオフ値の初期設定の手順

- a) カットオフ値の初期設定に必要な新生児濾紙血液検体数は各検査施設の検査精度に依存するが、3,000検体程度でも可能であるが、可能な限り5,000から10,000検体程度を目標とすること。
- b) カットオフ値の設定は、データが正規分布に従う場合は、平均値+1/4標準偏差から6標準偏差で設定する。データが正規分布に従わない場合は、パーセンタイル値によるカットオフ値を設定することができる。
- c) 多数の患者データが利用可能な場合は、患者と正常者分布から適切なカットオフ値を設定することができる。
- d) 初期設定カットオフ値の妥当性の評価は、同一方法で同一機器使用の他施設及び背専門学術誌に掲載された論文、外部精度管理機関、厚生労働科学研究班、学会などによる調査データと比較することで行い、検討で設定したカットオフ値が著しく異なる場合（例えば20%以上）、検査方法の再評価を行って再設定することが望ましい。再設定したカットオフ値は新たに新生児濾紙血液1,000検体程度を測定することにより再評価すること。

#### ii) 陽性率の評価

陽性数が多い場合はカットオフ値を上げ、0の場合はカットオフ値を下げる。初回採血検体で精密検査と再採血を行う場合のそれぞれのカットオフ値（2段階）を設定すること。

#### iii) 検査開始後のカットオフ値の再評価

機器、方法及び内部標準物質の変更時にはカットオフ値を再評価すること。さらに、検査開始後は、定期的（月、四半期、年）に陽

性率を確認してカットオフ値を慎重にモニターし、偽陽性数が期待値よりも高い場合はカットオフ値を再設定すること。

偽陽性率の低減のためにカットオフ値を上げた場合、偽陰性例の発生率が増加することを考慮し、他の指標の利用や初回採血検体の2次検査法の導入で偽陽性例の低減が可能な場合はカットオフ値を変えるべきではない。

偽陰性例の報告があった場合は、カットオフ値の再評価を含めてスクリーニング全体のプロセスを評価すべきである。

### 4) 精度保証と精度管理

検査施設の検査能力の妥当性と信頼性の客観的な評価には、検査前、検査時、検査後の精度管理を実施するために設定される基準を定量的及び定性的に検証することが必須である。

- i) タンデムマス・スクリーニング検査施設における精度管理は、適切な新生児濾紙血液検体の確保、タンデムマスシステムの性能の維持・管理、タンデムマス・スクリーニングに適した内部精度管理と許容ルールの設定、迅速な検査結果の報告、陽性検体のフォローアップ等、スクリーニングの全ての工程が含まれる。
- ii) タンデムマス・スクリーニング検査施設では、検査システム全体の精度と信頼性確保に必要な精度管理実施項目を決定し、そのパラメーターをルーチン業務（毎日、毎週、毎月）として管理し、基準を満たさない場合は是正措置をとり、その結果を記録しておくこと。

## D. 考察

国内のタンデムマス・スクリーニング検査施設における検査システムを標準化し、施設間差の解消と高品質で同レベルの検査を実施できるようにするため、ガイドラインとして「検査施設基準」（案）と検査実施基準」（案）を作成した。「検査施設基準」（案）では、検査施設の検査機能、精度保証体制の確立、検査実施能力、専門医師のコンサルトを受けることができること、関係機関・関係者による密接な連携体制が確立されていることを要件した。また、「検査実施基準」（案）では、使用するタンデム質量分析システムの保守管理と最適化の実施方法、精度保証・精

度管理基準、基準への適合度の評価方法、評価結果をもとに実施する改善方法、カットオフ値の設定方法等を具体的にまとめた。

このガイドラインに準拠した検査が実施されているかどうかをモニタリングするには、検査前、検査時、検査後の各ステップにおいて正確で迅速な検査行われているかどうか適切な指標を用いて評価する必要がある。検査前の指標としては採血日齢、採血から検査機関での受付までの所要日数、不備検体の割合とその理由等の適切な検体の確保の取り組みがある。検査時の指標としては、検体受付から検査開始までの時間（24時間以内に検査が開始されていること）、内部精度管理及び外部精度管理の実施結果と改善内容が記録され、外部機関による評価が可能になっていること。検査後の指標としては、検体受付から検査結果報告までの日数、再採血日齢、精密検査受診日齢、確定診断結果、フォローアップ調査による偽陽性・偽陰性データの収集・解析システムの有無がある。

タンデムマス・スクリーニングを受託できる検査施設が本ガイドラインに準拠した検査が可能な施設に限定できるようにするため、実施主体の都道府県、政令指定都市の母子保健担当者に本ガイドラインについて十分に理解していただく必要がある。

また、検査実施機関がガイドラインに準拠しているかどうかを検証できる外部機関による認証・査察システムの構築が必須であり、日本マス・スクリーニング学会と外部精度管理を担当する

機関と検討を行うことにより早急に確立することが望まれる。

なお、本ガイドライン（案）は日本マス・スクリーニング学会誌第21巻3号（2012年）に掲載し、会員からの意見を求めており、平成25年3月までに日本マス・スクリーニング学会のコンセンサスとして公表の予定である。

## E. 結論

全国で同一レベルの高品質なタンデムマス・スクリーニングが実施されるためには、本ガイドラインで提案した検査施設基準及び検査実施基準による標準化された検査が行われることが必須である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) 福士 勝：タンデムマス・スクリーニング分析法と精度管理の標準化と検査施設基準，第39回日本マス・スクリーニング学会，東京都，平成24年8月

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



## II. 分担研究報告書

### 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

研究分担者 重松陽介（福井大学医学部教授）

分担研究課題

タンデムマス診断精度向上・維持、対象疾患設定に関する研究

研究分担者 重松陽介（福井大学医学部教授）

研究要旨

平成24年度のタンデムマス・スクリーニングは、11月末の時点で、従来の研究協力7機関での実施に加え、17自治体でのスクリーニング事業として行われ、年間スクリーニング数は50万超であり、更に規模が拡大した。累積受検者数は約200万新生児、累積発見患者数は215例（対象疾患患児頻度：1/9,100）となり、ヒドロキシメチルグルタル酸血症以外の一次対象疾患は全て見つかった。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。

二次対象疾患とされたCPT-2欠損症と全身性カルニチン欠乏症（カルニチントランスポータ異常症）について、偽陰性例の急性発症や急性脳症としての発症例があったことを踏まえ、改良されたスクリーニング指標の有用性が示され、一次対象疾患とすべきことが推奨された。母が対象疾患であることに起因する児の全身性カルニチン欠乏症スクリーニング陽性例への対応についても、更に知見が蓄積された。

スクリーニング指標のカットオフ値の設定にあたっては、施設毎の機器調整や試料調製法に起因して分析値が変動するため、患者以外の新生児の分析値を統計学的に評価し、施設毎に設定値を定める必要があることが明らかとなった。更に引き続き、それぞれのスクリーニング施設での統計値と患者での分析値とを集約し、カットオフ値の妥当性の検証を行うことが必要である。また、再採血率を低減するために、二次検査法の開発を行いその有用性を示すとともに、更に新たな方法の開発を進める必要性も指摘した。

研究協力者

花井潤師（札幌市衛生研究所）  
佐々木純子（岩手県予防医学協会）  
北川照男、石毛信之（東京都予防医学協会）  
稲岡一考（大阪府母子保健総合医療センター）  
酒本和也（大阪市環境保健協会）  
小林弘典（島根大学医学部小児科）  
田崎隆二（財団法人化学及血清療法研究所）

A. 研究背景と目的

タンデムマス・スクリーニング対象疾患は希少疾患であり、そのスクリーニングの妥当性や意義を明らかにするためには大規模試験研究が必要である。また、対象疾患は乳幼児突然死や急性脳症発症が特徴であり、スクリーニング指

標とカットオフ値の設定に関して更に研究開発が求められている。特に二次対象疾患とされたCPT-2欠損症と全身性カルニチン欠乏症（カルニチントランスポータ異常症）について、急性発症時の重篤生を踏まえ、一次対象疾患とすることが出来るようなスクリーニング法の改良が要請されている。

この試験研究の課題は、上記の点に加え、検査施設の分析データを踏まえた患者データを収集することで精度管理体制を検討すること、わが国における対象疾患患者頻度を明らかにすること、発見患者に対する新生児期からの早期治療の効果を検討することである。更にまた、二次検査法の開発や精密検査法の開発により、スクリーニングシステムの精度を更に高めることである。

## B. 研究方法

研究分担者・協力者の所属する施設と、自治体でのスクリーニング事業を担っている北海道薬剤師会、神奈川県予防医学協会、ちば県民保健予防財団、さいたま市健康科学研究センター、岡山県健康づくり事業団から、スクリーニングに関するデータを収集した。

CPT-2欠損症に対する改良された指標とカットオフ値を用い、陽性率（要精密検査率）などが検討された。

初回ろ紙血を用いた二次検査として、プロピオン酸血症・メチルマロン酸血症、及びグルタル酸血症1型診断用にGC/MSによる濾紙血中有機酸分析法を検討した。安定同位体標識体を内部標準として含むメタノール溶液で濾紙血片から有機酸を抽出し、tBDMS誘導体化し、3-hydroxypropionic acid、methylmalonic acid、glutaric acidをSIM法で定量した。

## C. 研究結果

### 1. スクリーニング集計と患者発見頻度

表1に示したように、平成24年1月から11月までに約41万新生児が検査されている（これには2012年4月スクリーニング開始の宮城県、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ので、規模としては年間50万以上となっていると思われる）。

累積受検者数は約200万新生児、累積発見患者数は215例（対象疾患患児頻度：1/9,100）となり、ヒドロキシメチルグルタル酸血症以外の一次対象疾患は全て見つかった。ヒドロキシメチルグルタル酸血症についても、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判明した。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. 発見患者予後調査

2011-2011年発見患者について予後調査を行った（表2）。脂肪酸酸化異常症では、MCAD欠損症が最も多く、死亡例や神経学的異常を呈した

症例はなかった。CPT-2欠損症の見逃し例は生後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時は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・スクリーニングの自治体事業化

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（研究協力者報告書参照）。

### 4. 精度管理と対象疾患

スクリーニング指標に関して患者以外のデータをヒストグラム表示する統計処理ツールが札幌市衛生研究所から提供され、書く検査機関のデータ分布の比較が引き続き行われた（研究協力者報告書参照）。

MCAD欠損症スクリーニングにおけるカットオフ値が異なる状況を表3に示す。検査施設AではC8値の分布が低かったためカットオフ値は0.20nmol/mlに設定されていたが、発見された患児のC8値は0.21nmol/mlであった。福井大学での血清中C8濃度はそれと比べて高い値であった。残存酵素活性からは軽症型と考えられた。

福井大学でのCPT-2欠損症に対する改良された指標とカットオフ値による精密検査率は0.016%（2011-2012）であった。2例の患者が診断された。

メチルマロン酸血症の偽陰性例を1例経験した。新生児濾紙血C3値4.79、C3/C2は0.23（カットオフ値：0.25）であり、重篤なケトアシドーシス発作を12ヶ月時に経験した。発達は正常で、尿中メチルマロン酸排泄は軽症型のレベルであった。

全身性カルニチン欠乏症（カルニチントランスポータ異常症）スクリーニングにおいて、新生児の低カルニチン血症が母のグルタル酸血症1型診断に結びついた例を経験した。母は著しい低カルニチン血症を呈していた。

チロシン血症1型のスクリーニングのためチロ

シン高値例に対する初回濾紙血サクシニルアセトン測定が、福井大学で389,079新生児に対して実施（2005年～2012年）されたが、患者は発見されなかった。

### 5. 二次検査・精密検査の検討

図4にメチルマロン酸血症・プロピオン酸血症の診断のための濾紙血中有機酸分析 GC/MS クロマトグラムを示した。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り、特に後者は軽症

型プロピオン酸血症の診断に利用出来る結果であった（図5）。

図6にグルタル酸血症1型・2型の診断のための濾紙血中有機酸分析 GC/MS クロマトグラムを示した。グルタル酸濃度は感度良く測定できたが、3-ヒドロキシグルタル酸濃度測定については十分な感度が得られなかった。

### D. 考察

昨年度の研究で既に、高チロシン血症1型、高アルギニン血症、HAD（SCHAD）欠損症を二次対象疾患から除外すること、グルタル酸血症2型、

表1. タンデムマス・スクリーニング試験研究結果[～2012.11]

(疾患名)	福井大	島根大	札幌市	東京都	化血研	大阪府	大阪市	神奈川県	千葉県	岩手県	さいたま市	岡山県	北海道	(総計)
<b>脂肪酸酸化異常症</b>														57
CPT1欠損症	2	2			1									5
CPT2欠損症	5			(1)1						1				(1)7
VLCAD欠損症	2	(1)3	1	1	1	1	3							(1)12
MCAD欠損症	4	1	(1)4	(1)4	1	1		(1)2	1					(3)18
TFP欠損症	(1)1			(1)1										(2)2
グルタル酸血症2型	2		(1)2	1		1								(1)6
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ異常症	2		2		(1)1	1	1							(1)7
<b>有機酸代謝異常症</b>														86
メチルマロン酸血症	(1)6	(1)6			1	(1)3		(2)2						(5)18
プロピオン酸血症	11	(1)4	(1)7	(1)2	4	3	(1)5	(3)3	2			(1)1	(1)1	(9)43
1,7-ジヒドロクサントニン酸血症	1	1		1										3
複合カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症	1					1				1				3
3MCC欠損症	(1)3	2	(1)1	2	2	1		1	(1)1					(3)13
グルタル酸血症1型	3				2	1		1						7
<b>アミノ酸代謝異常症</b>														72
フェニルピルニド尿症	(3)10	5	(2)5	(2)4	2	(3)9	1		1					(10)37
メープルシロップ尿症						1								1
ホモシチン尿症				(1)1		2								(1)3
シロリン血症1型	1	2			1	1	1							6
アルギニンコリ酸血症	1	1												2
シリン欠損症	10			(1)4	1	5					(1)2		(1)1	(3)23
<患者数>	65	27	16	17	17	31	10	9	5	2	2	1	2	215
2011.1～12	5	4	2	2	2	7	3	1	3	2	1			32
2012.1～11	6	3	6	8	1	4	1	6	1	0	1	1	2	40
<スクリーニング総数>	643,368	205,790	124,139	162,422	226,547	296,889	84,744	82,533	75,867	13,737	2,522	15,192	16,237	1,949,987
2011.1～12	51,622	36,410	16,259	19,193	27,362	50,543	23,173	18,148	34,389	10,229	790			288,118
2012.1～11	47,414	24,323	14,954	72,962	34,174	46,480	20,977	61,566	41,478	9,508	1,732	15,192	16,237	406,997

[註-1] 疾患別患者数の( )内の数字は、2012年の発見患者数

[註-2] 斜体は2次対象疾患

[註-3] 2012.4.開始の宮城県、岐阜県、京都府、和歌山県、香川県、高知県、及び 2012.7.以降開始の自治体が含まれていない。

[略語] CPT1:カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ1、CT: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、MCAD:中鎖アシル CoA 脱水素酵素、TFP:三頭酵素、3MCC:3-メチルクロトニル CoA カルボキシルラーゼ