

表2. 予後調査(2011-2011年発見患者)

代謝異常症	疾患名	病型	生年月日	死亡	生存	遅れ(DQ)	特記事項	地域
脂肪酸	CPT-1欠損症		2011-05		○	無		石川県
	CPT-1欠損症		2010		○	無		山口県
	CPT-2欠損症		2011-05		○	無		岩手県
	CPT-2欠損症		2010-02		○	最重度心身障害	見逃し例:7ヶ月時低血糖発作	広島県
	VLCAD欠損症		2010-12		○	無		大阪市
	VLCAD欠損症		2010-08		○	無		大阪市
	VLCAD欠損症		2010-08		○	無		大阪市
	MCAD欠損症		2011-05		○	無		札幌市
	MCAD欠損症		2011		○	無し		鳥取県
	MCAD欠損症		2011					神奈川県
	MCAD欠損症		2010-12		?	?	受診なし:父韓国人/母ウクライナ人	大阪市
	MCAD欠損症		2010-10		○	無		東京都
	MCAD欠損症		2010-07		○	無		札幌市
	MCAD欠損症		2010					千葉県
	MCAD欠損症		2010-01		○	無		石川県
	有機酸	グルタル酸尿症2型		2011				
カルニチントランスポータ異常症			2011-01		○	無		京都市
プロピオン酸血症		古典型	2010-01		○	無(DQ:90-100)		札幌市
プロピオン酸血症		軽症型	2011-12		○	無		大阪府
プロピオン酸血症		軽症型	2011-10		○	無		大阪市
プロピオン酸血症		軽症型	2011-09		○	無		大阪市
プロピオン酸血症		軽症型	2011-09		○	無		千葉県
プロピオン酸血症		軽症型	2010-12		○	無		大阪市
プロピオン酸血症		軽症型	2010-11		○	無		熊本県
プロピオン酸血症		軽症型	2010		○	無		香川県
プロピオン酸血症		軽症型	2010-05		○	無		大阪市
プロピオン酸血症		軽症型	2010-10		○	無		大阪市
プロピオン酸血症		軽症型	2010-01		○	無		大阪府
メチルマロン酸血症		古典型	2011-08		○	有(DQ:20-30)	新生児期発症	熊本県
メチルマロン酸血症		古典型	2011	○			新生児期に死亡	宮城県
メチルマロン酸血症		軽症型	2011-09		○			大阪市
複合カルボキシラーゼ(HCS)欠損症(MCD)		2011-03		○	無		岩手県	
3MCC欠損症		2011-12		○	無		大阪市	
3MCC欠損症		2010		○	無	兄がMCC	宮城県	
3MCC欠損症		2010					東京都	
3MCC欠損症		2010					神奈川県	
グルタル酸血症1型		2010-10		○	無		熊本県	
アミノ酸	シトルリン血症I型	軽症型	2011-07		○	無		大阪市
	アルギニノコハク酸尿症		2011		○	有(DQ80)		鳥取県
	MSUD	軽症型	2010-03		○	無	姉がMSUD	大阪府
	シトリン欠損症		2011-10		○	無		石川県
	シトリン欠損症		2011-07		○	無		熊本県
	シトリン欠損症		2011-04		○	無		徳島県
	シトリン欠損症		2011-03		○	無		東京都
	シトリン欠損症		2011-03		○	無		大阪府
	シトリン欠損症		2011-03		○	無		さいたま市
シトリン欠損症		2010-07		○	無		大阪市	

表3. MCAD欠損症のタンデムマス・スクリーニング

指標	検査施設	カットオフ(nmol/ml)
C8	福井大学	0.30
C8	A	0.20
C8	B	0.38

* 発見患者データ

検体	C8 (nmol/ml)	検査施設
初回濾紙血	0.21	A
精検時血清	0.47	福井大学

酵素活性:対照平均値の23% (広島大学)

表4. 対象疾患に対するスクリーニング指標とカットオフ値(2012年度福井大学版: 案)

疾患名	再採血依頼基準値 [nmol/ml]・判定式	即精密検査基準値 [nmol/ml]
フェニルケトン尿症	Phe>180	Phe>600
メーブルシロップ尿症	Leu+Ileu>350 & Val>250	Leu+Ileu>600
ホモシスチン尿症	Met>80	
シトルリン血症1型	Cit>100	Cit>300
アルギノコハク酸尿症	Cit>100	Cit>300
メチルマロン酸血症	C3>3.6 & C3/C2>0.25	C3>8 & C3/C2>0.25
プロピオン酸血症	C3>3.6 & C3/C2>0.25	C3>8 & C3/C2>0.25
イソ吉草酸血症	C5>1.0	C5>5 (C0<10なら特に急ぐ)
メチルクロトニルグリシン尿症	C5OH>1.0	C5OH>2 (C0<15なら特に急ぐ)
ヒドロキシメチルグルタル酸血症	C5OH>1.0	C5OH>2 (C0<15なら特に急ぐ)
複合カルボキシラーゼ欠損症	C5OH>1.0	C5OH>2 (C0<15なら特に急ぐ)
グルタル酸血症1型	C5DC>0.25 [0.35] <Non-D: 0.2?>	
MCAD欠損症	C8>0.3 & C8/C10>1.4	C8>0.6 (血清で分析する)
VLCAD欠損症	C14:1>0.4 & C14:1/C2>0.013	C14:1>1.0 (血清で分析する)
三頭酵素/LCHAD欠損症	C16OH>0.05 & C18:1OH>0.05	
CPT1欠損症	C0/(C16+C18)>100	
CPT2欠損症	C16>3.0 & (C16+C18:1)/C2>0.62	
TRANS欠損症	C16>3.0 & (C16+C18:1)/C2>0.62	
全身性カルニチン欠乏症	C0<10	
シトリン欠損症	Cit>38 & Cit/Ser>0.25, (Tyr > 200, Arg > 60, Phe >120, Met > 80)	
βケトチオラーゼ欠損症	C5OH>1.0 & C5:1>0.01	
グルタル酸血症2型	C8>0.3 & C10>0.35 & C12>0.4 & C10/C2>0.014	
SCAD欠損症	スクリーニングしない	
HAD(SCHAD)欠損症	スクリーニングしない	
高チロシン血症1型	スクリーニングしない	
高アルギニン血症	スクリーニングしない	

3-ケトチオラーゼ欠損症、シトリン欠損症は一次対象疾患スクリーニングの鑑別診断疾患として二次対象疾患としての取り扱いを続けることを提言したが、本年度の研究成果もこの提言を支持するものであった。

二次対象疾患の中で、CPT-2欠損症は、乳幼児突然死や重篤な急性脳症発症を来す脂肪酸酸化異常症の中でも頻度が高く、改良されたスクリーニング指標により順調に患者発見のシステムが機能する(図2)ことが示されたので、一次対象疾患とすることを提言する。

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)は、昨年度急性発症例が経験された。本症スクリーニングでは母の低カルニチン血症が新生児のカルニチン欠乏に影響を与えることが知られている。母の低カルニチン血症は、母がカルニチントランスポータ異常症、メチルクロトニルグリシン尿症、グルタル酸血症1型であることによって生じる。本年度はグルタル酸血症1型の母が診断された。概ね母の疾

患は軽症型であるものの、疾患そのものあるいはカルニチン欠乏による健康障害発生の可能性をふまえ、診断情報を健康管理に生かすために、母の検査を行うべき事を説明して対応すべきであると考えられる(図3)。母の疾患を考慮した上で、一次対象疾患とすることを提言する。

一次対象疾患の中で、B12反応型を中心とした軽症型のメチルマロン酸血症は偽陰性となりうることを本年度経験された。適切な二次検査を導入することで指標のカットオフ値を下げるか、あるいは別の指標を導入して偽陰性例を無くす必要がある。カットオフ値を下げた場合、最軽症型のプロピオン酸血症に対する配慮が更に必要になってくる。この意味でも本年度開発したGC/MSによる濾紙血中有機酸分析法が広く利用される必要がある。またLC/MS/MS法での二次検査法の開発も急がれる。今後の重要な課題である。

表4に福井大学での対象疾患に対するスクリーニング指標とカットオフ値を示した。表3に示し

一次対象疾患 (16 疾患)	二次対象疾患 (9 疾患)
見逃し例はきわめて少ない 早期治療が障害発生の予防・軽減に効果的と判断される疾患 (一部に「超重症病型」* があります)	現段階では「検討段階」としている疾患 (理由) 新生児期に見逃す可能性がある または、確定診断が必ずしも容易でない または、治療効果が確実ではないなど
① フェニルケトン尿症 ② メーブルシロップ尿症 ③ ホモシスチン尿症 ④ シトルリン血症 (1 型) ⑤ アルギニノコハク酸血症 ⑥ メチルマロン酸血症 ⑦ プロピオン酸血症 ⑧ イソ吉草酸血症 ⑨ メチルクロトニルグリシン尿症 ⑩ HMG 血症 ⑪ 複合カルボキシラーゼ欠損症 ⑫ グルタル酸血症 1 型 ⑬ MCAD 欠損症 ⑭ VLCAD 欠損症 ⑮ TFP(LCHAD) 欠損症 ⑯ CPT1 欠損症	⑰ 高チロシン血症 1 型 ⑱ アルギニン血症 ⑲ シトルリン欠損症 ⑳ 3-ケトチオラーゼ欠損症 ㉑ CPT2 欠損症 ㉒ TRANS 欠損症 ㉓ 全身性カルニチン欠乏症 ㉔ グルタル酸血症 2 型 ㉕ COHAD 欠損症

図1. タンデムマス・スクリーニング対象疾患(最終案)

スクリーニング指標とカットオフ値 : $(C16+C18:1)/C2 > 0.62$ & $C16 > 3.0$

↓ (要精検率:0.016% [福井大学 2011-2012])

<精密検査>

血清アシルカルニチン分析 : $C16 > 0.15$ & $C18:1 > 0.15$

↓ 末梢リンパ球脂肪酸酸化能試験 (福井大学小児科)

↓ *CPT2* 遺伝子変異解析 (広島大学小児科)

図2. *CPT-2*欠損症のタンデムマス・スクリーニング - 偽陰性を防ぐための新たな対応 -

スクリーニング指標とカットオフ値 : $C0 < 10$ nmol/ml

↓ 再採血検査 : 濾紙血アシルカルニチン分析 : $C0 < 10$ nmol/ml

→ 母親の濾紙血アシルカルニチン分析 : $C0 < 10$ nmol/ml

(下記の疾患が見つかる可能性について説明と同意が必要)

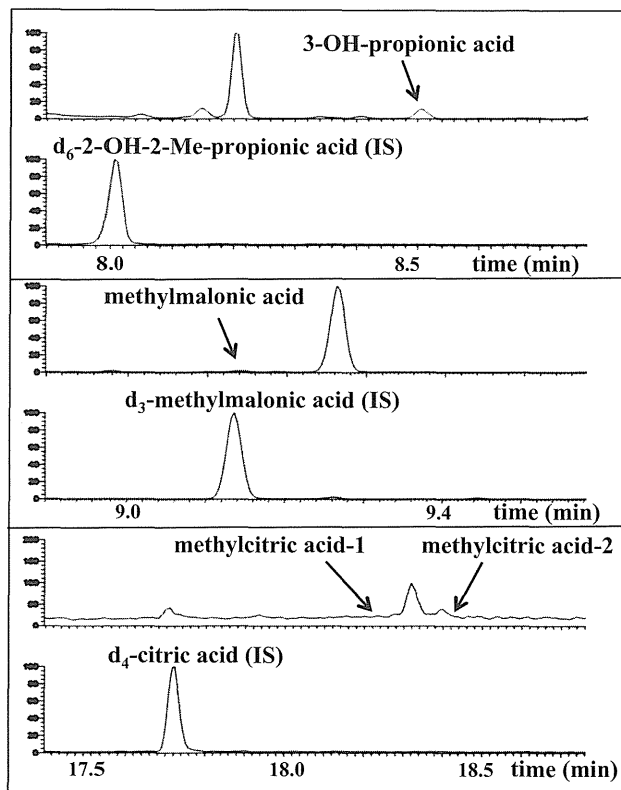
- 全身性カルニチン欠乏症 (カルニチントランスポータ異常症)
- メチルクロトニルグリシン尿症
- グルタル酸血症 1 型

↓ 遊離カルニチン腎排泄率 : $> 10\%$

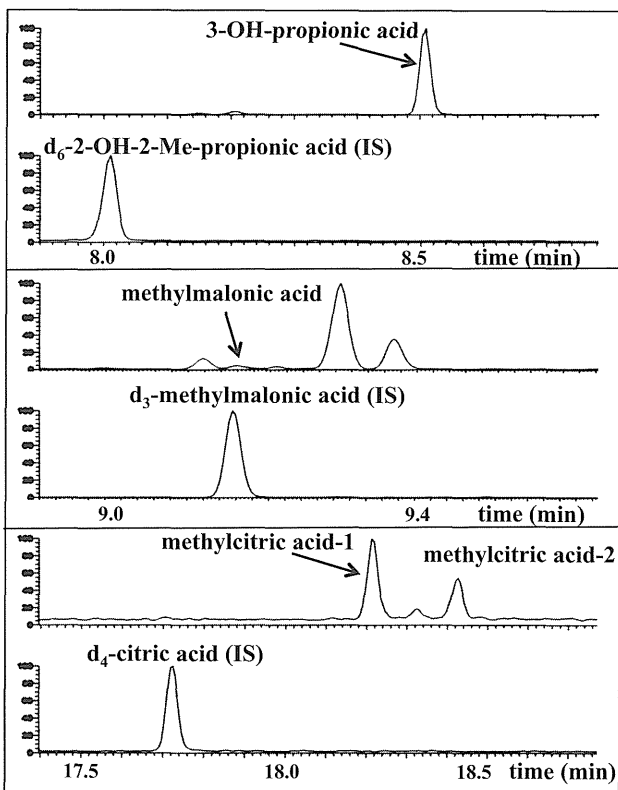
↓ *OCTN2* 遺伝子変異解析

図3. 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) のタンデムマス・スクリーニング

[A] 対照



[B] プロピオン酸血症



[C] メチルマロン酸血症

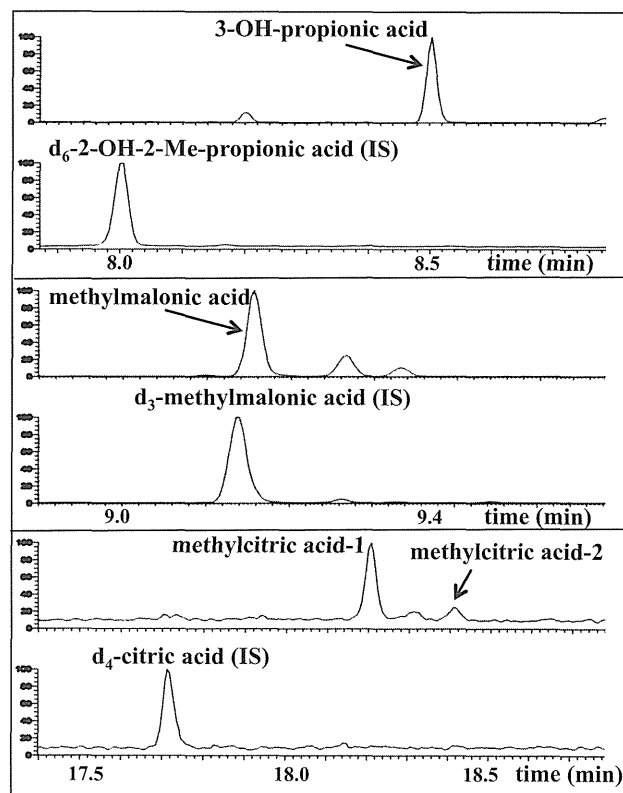


図4. GC/MSによる濾紙血中有機酸分析(プロピオン酸血症とメチルマロン酸血症)

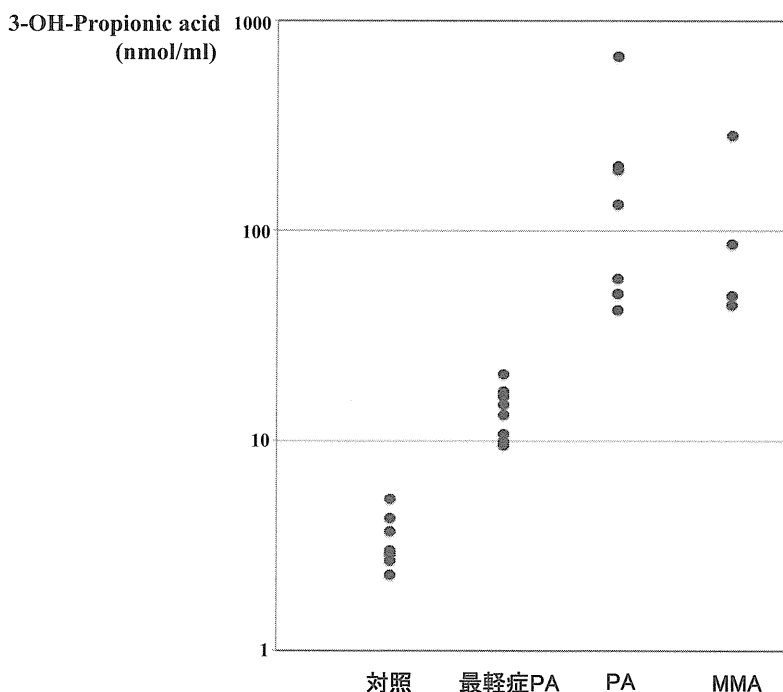
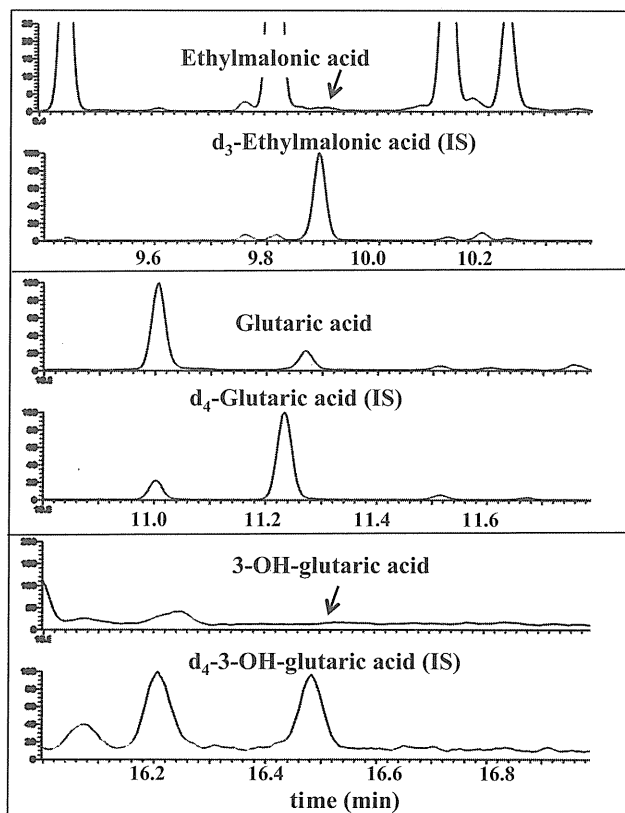


図5. 濾紙血中3-OH-propionic acid濃度によるプロピオン酸血症 (PA)とメチルマロン酸血症 (MMA)の診断

[A] 対照



[B] グルタル酸血症1型

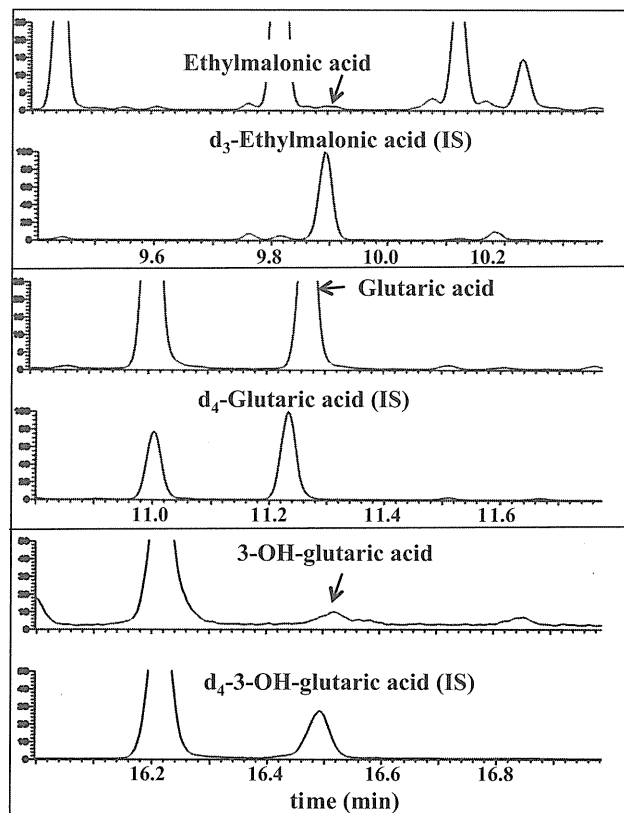


図6. GC/MSによる濾紙血中有機酸分析(グルタル酸血症1型)

た通り、検査施設の分析値には解離がある現状では、分析器機の性能維持のための整備や分析手順の精度管理がきわめて重要であり、それぞれの検査機関でスクリーニングされてくる患者の

分析値情報の蓄積と共有は今後とも引き続き取り組むべき重要な課題である。研究班での試験研究事業が終了するにあたって、このための組織的取り組みが切望される。

E. 結論

研究班での成果を踏まえ、スクリーニング事業を意義あるものとするためには、更にスクリーニング指標やカットオフ値を改善し、施設間差を克服する取り組みが必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 重松陽介, 畑 郁江: タンデムマス・スクリーニング. III. マス・スクリーニング異常の対応のポイント. 実地臨床に役立つ先天代謝異常症の知識. 小児科診療. 76(1); 85-92, 2012.
- 2) 重松陽介, 福士 勝: 新生児マススクリーニングの現状-世界と日本. 小児内科. 44(10), 2012. 10.
- 3) 重松陽介: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I 欠損. 先天代謝異常症候群(第2版)上. 日本臨床社(大阪). 510-512, 2012. 10.
- 4) 畑 郁江, 重松陽介: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II 欠損. 先天代謝異常症候群(第2版)上. 日本臨床社(大阪). 516-519, 2012. 10.
- 5) Kobayashi Y, Ishikawa N, Tsumura M, Fujii Y, Okada S, Shigematsu Y, Kobayashi M: Acute severe encephalopathy related to human herpesvirus-6 infection in a patient with carnitinepalmitoyltransferase 2 deficiency carrying thermolabile variants. Brain Dev. 2012 Jul 30. [Epub ahead of print]
- 6) 花井潤師, 野町祥介, 高橋広夫, 三觜 雄, 佐々木純子, 磯部充久, 石毛信之, 穴澤 昭, 安片恭子, 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: タンデムマス・スクリーニングのカットオフ値各指標の施設間差の検討. 日本マス・スクリーニング学会誌. 22(1); 49-60. 2012. 06.

2. 学会発表

- 1) Shigematsu Y, Hata I, Tajima G: Secondary carnitine deficiency in patients with fatty acid oxidation disorders during acute crisis. The

2nd Asian Congress for Inherited Metabolic diseases. 2012, 4. Soul, Korea.

- 2) Shigematsu Y, Hata I, Tajima G: Mass spectrometry in newborn screening of fatty acid oxidation disorders - diagnostic approach using lymphocytes. 19th International Mass Spectrometry Conference. 2012. 9. Kyoto, Japan.
- 3) 福士 勝, 重松陽介, 山口清次: 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学術集会. 2012, 8. 東京.
- 4) 花井潤師, 野町祥介, 高橋広夫, 佐々木泰子, 佐々木純子, 磯部充久, 石毛信之, 穴澤 昭, 安片恭子, 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: タンデムマス・スクリーニングの標準化に向けて-対象疾患スクリーニング指標標準化のための評価法-. 第39回日本マス・スクリーニング学会学術集会. 2012, 8. 東京.
- 5) 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学術集会. 2012, 8. 東京.
- 6) 重松陽介, 畑 郁江, 伊藤順庸, 新井田要, 但馬 剛, 田崎隆二, 新宅治夫, 小林弘典, 大浦敏博: CPT-1 欠損症のスクリーニング指標の妥当性の検討. 第39回日本マス・スクリーニング学会学術集会. 2012, 8. 東京.
- 7) 重松陽介, 畑 郁江: タンデムマス時代での GC/MS 臨床応用の再検討. シンポジウム「タンデムマス・スクリーニングにおける GC/MS 分析の意義とピットフォール」. 第37回日本医用マススペクトル学会年会.
- 8) 重松陽介, 畑 郁江, 但馬 剛, 金澤正樹: 長鎖脂肪酸酸化異常症患者における二次性カルニチン欠乏. 第54回日本先天代謝異常学会・第11回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 2012, 11. 岐阜.

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

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

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－

研究要旨

タンデムマス・スクリーニングのカットオフ値を設定するにあたっては、正常群と患者群のオーバーラップまたは近接している指標にあつては、正常値の分布と患者の測定値の関係の確認が重要である。さらに、スクリーニングの再採血率、精査率は、疾患の発見頻度に応じて考慮すべきであり、タンデムマス検査の対象疾患全体として、再採血率は0.5%、精査率は0.05%前後を目安にカットオフ値を設定することが望ましい。

研究協力者

花井潤師、吉永美和、高橋広夫、佐々木泰子（札幌市衛生研究所）、野町祥介（札幌市環境局）、佐々木純子（（公財）岩手県予防医学協会）、磯部充久（さいたま市健康科学研究センター）、石毛信之、穴澤 昭（（公財）東京都予防医学協会）、安方恭子（（公財）ちば県民保健予防財団）、木下洋子、山上祐次（（公財）神奈川県予防医学協会）、酒本和也（（財）大阪市環境保健協会）、田崎隆二（（一財）化学及血清療法研究所）、小林弘典、山口清次（島根大学小児科）、重松陽介（福井大学）

A. 研究目的

タンデム質量分析器を用いる新生児マス・スクリーニング（以下、タンデムマス・スクリーニング）において、各指標のカットオフ値を設定するにあたっては、各施設において、指標となる物質それぞれの正常値を把握し、統計学的手法により、疾患ごとに設定することが必要である¹⁾。

今回、正常群と患者群との測定値の比較、並びに、スクリーニングの再採血率や精査率と疾患の発見頻度との関係から、適正なカットオフ値を設定する上で考慮すべき知見を得たので報告する。

B. 研究方法

各施設の陽性率および精査率は、昨年度の調

査結果を用いた¹⁾。患者の測定値は、分担研究者の重松教授が集約したものを利用した。

C. 研究結果

1. 代謝異常症患者の測定値と正常値の比較

(1)プロピオン酸血症（PA）：測定指標のC3において、誘導体化施設と非誘導体化施設の正常値の分布の違いから、誘導体化施設5.0 nmol/ml、非誘導体化施設3.6 nmol/mlと異なったカットオフ値が用いられていた。また、患者群のうち、誘導体化施設でもっともC3低値を示した例の測定値は、正常群の99%タイル値に相当しており、患者群と正常群でのC3の分布はオーバーラップしていることが確認された。また、C3/C2比のカットオフ値は、研究班の標準値0.25が用いられていたが、患者のうち、C3/C2比が低値を示した症例では、正常群の99.5%タイルに相当しており、患者群と正常群でのC3/C2比分布についても、オーバーラップしていることが確認された（図1）。

(2)メチルマロン酸血症（MMA）：患児はすべて非誘導体化施設での発見例であった。患者一例のC3は非誘導体化施設のカットオフ値を下回っていた。また、C3/C2比は、患児のうち3例でカットオフ値0.25よりも低値であったが、この患児のスクリーニング施設（島根大学小児科）ではカットオフ値として0.22を使用していた（図2）。

(3)CPT-2欠損症：測定指標のC16値が最も低値を示した患児の値は正常群の90%タイルを下

回ることが確認された。一方、(C16+C18:1) / C2比では、患者群と正常群は良好に分離されていることが確認された (図3)。

(4) VLCAD 欠損症：測定指標は C14:1 が用いられるが、カットオフ値 (0.4 nmol/ml) 付近で発見された患児も確認された。また、C14:1 を指標

にした場合、血液ろ紙での検査で見逃す場合があることが示唆されているが²⁾、補助指標の C14:1/C2 比では、C14:1 低値を示した患児いずれでも、カットオフ値 (0.013) を大きく上回った (図4)。

(5) その他の疾患：C5-OH を指標とする疾患のメ

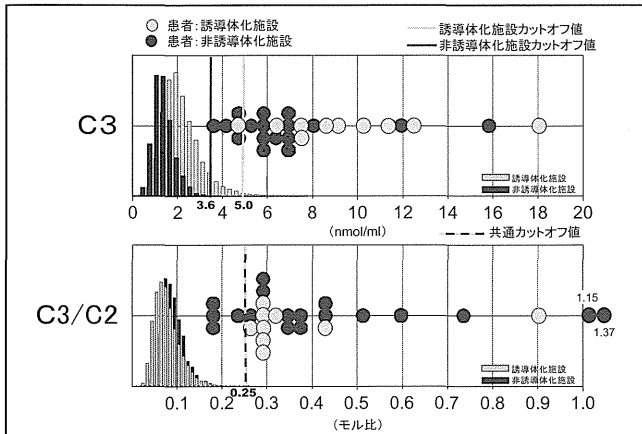


図1. プロピオン酸血症患児の測定値

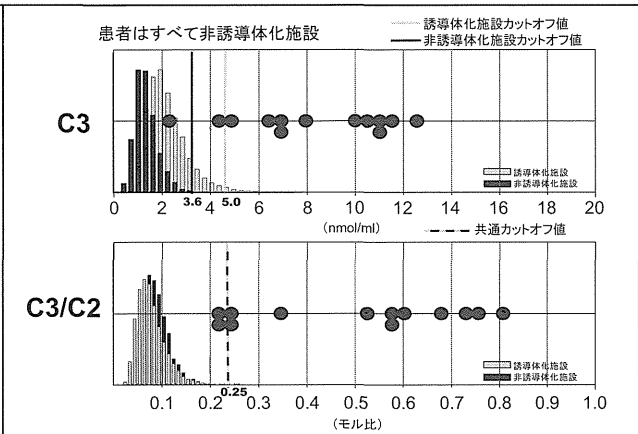


図2. メチルマロン酸血症患児の測定値

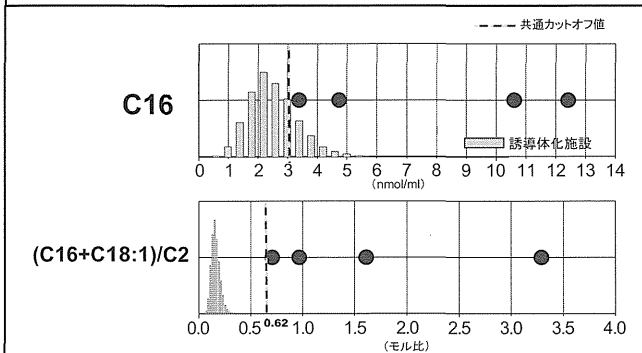


図3. CPT-2欠損症患児の測定値

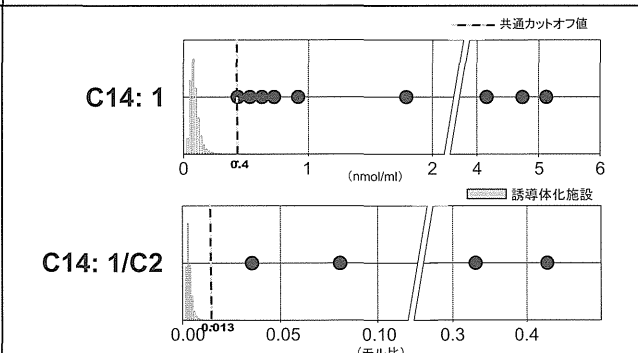


図4. VLCAD欠損症患児の測定値

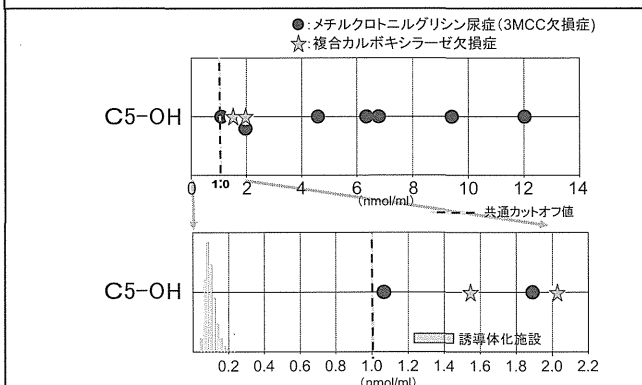


図5. メチルクロトニルグリシン尿症、複合カルボキシラーゼ欠損症患児の測定値

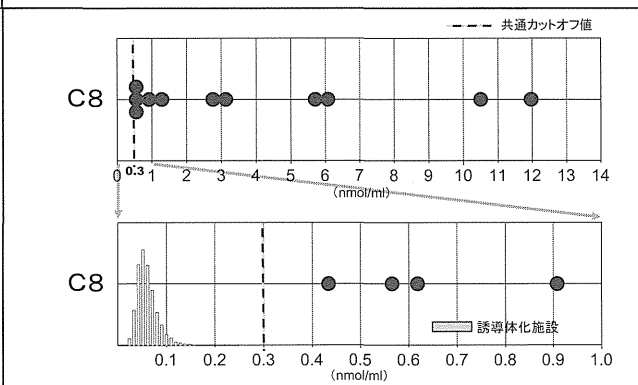


図6. MCAD欠損症患児の測定値

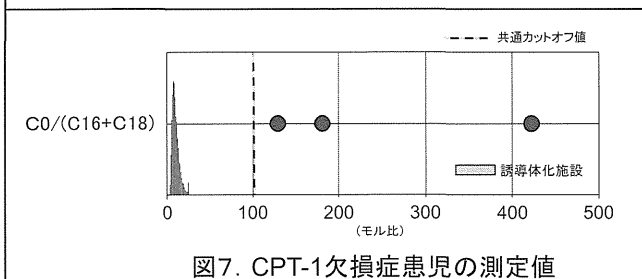


図7. CPT-1欠損症患児の測定値

注1) 図中のヒストグラムは正常群を表しており、横軸は各指標の濃度またはモル比、縦軸は度数 (%) を表している。
 注2) 図3から図7の患者については、誘導体化施設、非誘導体化施設のカットオフ値が共通なため、区別をしていない。

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の患児の測定値（図5）、C8を指標とするMCAD欠損症患児の測定値（図6）、C0/(C16+C18)比を指標とするCPT-1欠損症患児の測定値（図7）は、いずれの疾患においても、正常群と良好に分離されていた。

2. 再採血率・精査率はどのくらいが適切か

(1) 発見頻度と陽性適中率との関係から

スクリーニング精度の評価指標として、陽性適中率（positive predictive value, PPV）が知られている。表1に、横軸に検査での陽性率（再採血率または精査率）、縦軸に各疾患の発見頻度を取り、陽性率に対応した例数と発見頻度から推定

される患児数から、陽性適中率を推定した（表1）。

通常、クレチン症スクリーニングでは、再採血率は0.5%～2.0%あたりになっており、これは、10万人の検査では、再採血数が500～2000人となるが、発見頻度を2千人に1人とした場合、患者は50人存在することから、PPVは2.5～10%と推定される。同様に、精査率については、通常、0.1%～0.5%程度、すなわち、10万人の検査では、精査数が100～500人で、その中の推定患者は50人となり、PPVは10～50%と推定される。

このことから、発見頻度に応じた各疾患の推定PPVをもとに、適切な陽性率を推定することができる。PAでは、発見頻度を1/50,000と仮定すると、適切な再採血率はPPV2.0～10%に対応

表1. 発見頻度と陽性率から推定した陽性適中率

			再採血率・精査率											
			0.001%	0.002%	0.005%	0.01%	0.02%	0.05%	0.1%	0.2%	0.5%	1.0%	2.0%	5.0%
検査で陽性となる人数(10万人あたり)⇒			1	2	5	10	20	50	100	200	500	1000	2000	5000
疾患の発見頻度		1/1,000	100						100%	50%	20%	10%	5%	2%
	クレチン症	1/2,000	50					100%	50%	25%	10%	5%	2.5%	1%
		1/5,000	20				100%	40%	20%	10%	4%	2%	1%	
	神経芽細胞腫	1/10,000	10			100%	50%	20%	10%	5%	2%	1%		
	GAH	1/20,000	5		100%	50%	25%	10%	5%	2.5%	1%			
	プロピオン酸血症	1/50,000	2	100%	40%	20%	10%	4%	2%	1%				
	メチルマロン酸血症	1/100,000	1	100%	50%	20%	10%	5%	2%	1%				
	グルタル酸尿症1型	1/200,000	0.5	50%	25%	10%	5%	2.5%	1%					
	イソ吉草酸尿症	1/500,000	0.2	20%	10%	4%	2%	1%						
	アルギニノコハク酸尿症	1/1,000,000	0.1	10%	5%	2%	1%							

↑
患者数(10万人あたり)

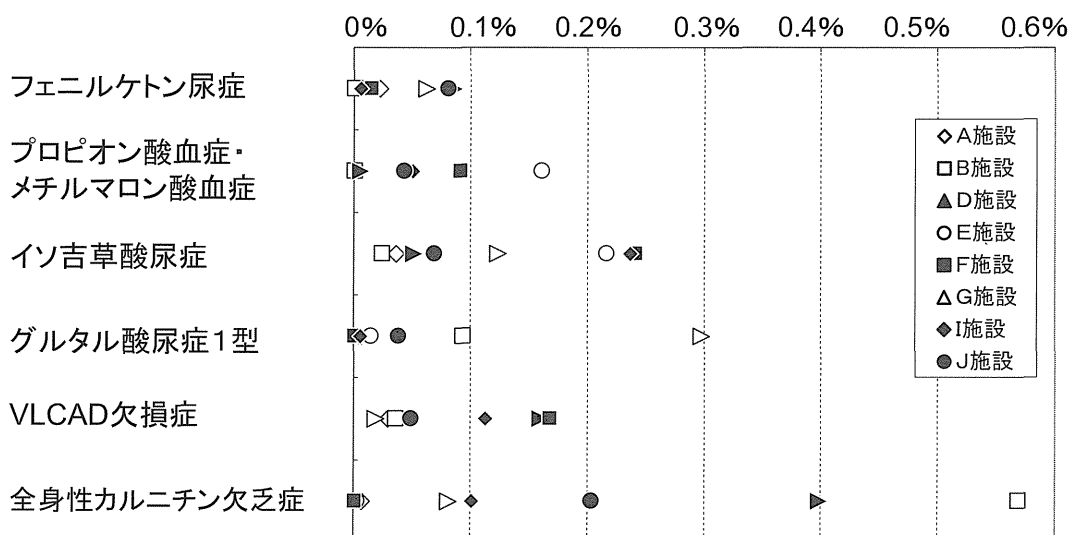


図8. 各疾患の施設別の再採血率

する0.1%～0.02%に、精査率はPPV10%～40%に対応する0.02%～0.005%と推定された。

(2)各疾患の再採血率と精査率

研究協力者の各施設の各疾患ごとの再採血率は、グルタル酸尿症1型 (GA1)、VLCAD 欠損症、全身性カルニチン欠乏症、イソ吉草酸尿症など、発生頻度の低い疾患において、PPV から推定 (発見頻度を20万人に1人と仮定) した適切な再採血率0.005%～0.05%よりも、高い再採血率の施設が多かった (図8)。また、各施設のタンデムマス・スクリーニング全体の再採血率及び精査率は、再採血率が0.2%～1.1%、精査率が0.02%～0.12%となっていた (図9)。

D. 考察

昨年度、研究協力施設における各指標の正常値の分布を確認し、前処理条件、測定機器、内標の違いなどにより、各施設の正常値の分布、各指標の陽性率は必ずしも同一の傾向を示さない場合があることを示したが¹⁾、今回、これらの正常値の分布と患者の測定値を比較した。

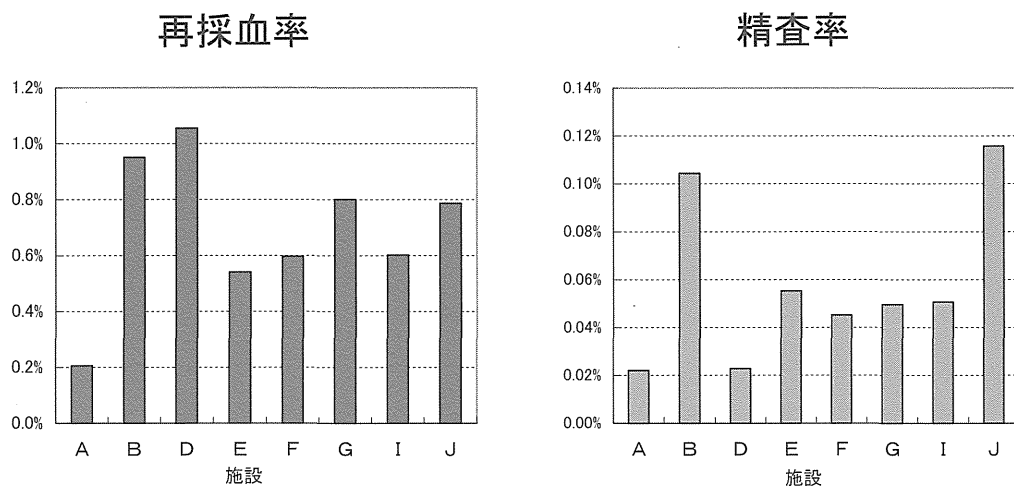
PA や MMA の指標となる C3 及び C3/C2 比については、カットオフ値と正常値群の分布が近接しており、それぞれ単独の指標での判定では、患者検体の見逃しの可能性がある。このため、判定には C3 と C3/C2 比の2種類の指標のカットオフ値を併用する必要性が確認された。また、タンデムマス・スクリーニングにおいては、わずかな条件の違いや機器の管理の違いなどにより、測定値が低めや高めに測定されることがあ

り、ルーチン検査では、常に見逃しや偽陽性が起こる可能性を意識し、日頃の内部精度管理を充実させる必要があることが示唆された。

最近、CPT-2 欠損症では患者の見逃しの可能性が報告されたが³⁾、指標である C16 については、患者の測定値が正常群の90%タイルを下回る例もあり、スクリーニングの判定においては、新たな指標として提案された (C16+C18:1) /C2 比との併用による判定が必要であることが確認された。

以上のように、特に、正常群と患者群の測定値がオーバーラップまたは近接している指標にあっては、カットオフ値の設定には注意が必要であり、今後、患者測定値の集積と正常群との比較を十分に行う必要があることが示唆された。

次に、対象疾患の発見頻度に応じて、スクリーニングでの再採血や精査などの陽性適中率 (PPV) を推定して、スクリーニングでの適切な再検査率や精査率を試算した。通常、クレチン症スクリーニングで行われている精度においては、再採血率が0.5%～2.0%、精査率は0.1%～0.5%程度となっている。この場合、PPV は再採血では2.5～10%、精査では10～50%と推定された。このことは、再採血や精査での PPV をこの範囲になるようなカットオフ値を設定することで、クレチン症と同等程度のスクリーニングの精度を確保できると考えられる。これをもとに発見頻度に応じた適正な再採血率を推定すると、5万人1人の疾患 (PA) では0.05%前後、10万人1人の疾患 (MMA) では0.02%前後、



(タンデムマス検査全体の率として)

図9. 各施設別の再採血率・精査率

20万人1人の疾患（GA1）では0.01%前後と考えられた。研究協力施設の再採血率や精査率を見ると、発見頻度の低い疾患でも、適正な再採血率と比べると、高い再採血率を示す施設もあり、カットオフ値設定の再確認が必要と考えられた。

さらに、上記 PPV から推定される適正な再採血率や精査率から、タンデムマス検査全体としての陽性率を考えると、再採血率は0.5%前後、精査率は0.05%程度で十分な精度での代謝異常症スクリーニングが可能と考えられた。この点については、タンデムマス Q&A（2012）においても、タンデムマス法（一次対象疾患の16疾患全体）の再採血率は0.1%から0.6%であることが示されており、これらの陽性率を確認することで、カットオフ値設定の適正さを確認することが可能と考えられた。

E. 結論

タンデムマス・スクリーニングのカットオフ値を設定するにあたっては、正常群と患者群の測定値がオーバーラップまたは近接している指標にあつては、正常値の分布と患者の測定値の関係の確認が重要である。さらに、スクリーニングの再採血率、精査率は、疾患の発見頻度に応じて考慮すべきであり、タンデムマス検査全体として、再採血率は0.5%、精査率は0.05%前後を目安にカットオフ値を設定することが望ましい。

F. 健康危険情報

（該当なし）

G. 引用文献

- 1) 花井潤師, 野町祥介, 高橋広夫, 他: タンデムマス・スクリーニングのカットオフ値－各指標の施設間差の検討－, 日本マス・スクリーニング学会誌, 22(1), 49-60, 2012.
- 2) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 他: 経過中血液ろ紙分析でカットオフ値を下回った極長鎖アシル-CoA脱水素酵素欠損症の2例: 血清分析の必要性, 日本マス・スクリーニング学会誌, 19(3), 75-79, 2009.
- 3) 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, 平成23年度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）総括・分担研究報告書, 51-58, 2012.

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 花井潤師, 野町祥介, 高橋広夫, 他: タンデムマス・スクリーニングのカットオフ値－各指標の施設間差の検討－, 日本マス・スクリーニング学会誌, 22(1), 49-60, 2012.

2. 学会発表

- 1) 花井潤師, 野町祥介, 高橋広夫, 他: タンデムマス・スクリーニングの標準化に向けて－対象疾患スクリーニング指標標準化のための評価法－, 日本マス・スクリーニング学会, 2012年8月 東京都

I. 知的財産権の出願・登録状況

（該当なし）

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

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

研究要旨

札幌市では、2005年度から調査研究事業としてタンデムマスによる新生児マス・スクリーニングを開始し、2010年8月より母子保健事業として検査を行っている。2010年4月～2012年12月までに、44,906人の検査を行い、10人の患者を発見した。そのうち、2012年1月～12月までの1年間では、16,190人の検査を行い、プロピオン酸血症1例、3-メチルクロトニルグリシン尿症1例、MCAD欠損症1例、グルタル酸尿症2型1例、高フェニルアラニン血症2例、計6例の患者を発見した。また、新生児マス・スクリーニングでは正常判定であったが、後日、シトリン欠損症と判明した例が1例あった。

研究協力者

吉永美和、太田 優、花井潤師、高橋広夫、
佐々木泰子（札幌市衛生研究所）
野町祥介（札幌市環境局）
長尾雅悦、田中藤樹
（国立病院機構北海道医療センター小児科）
小杉山清隆（手稲溪仁会病院小児科）
窪田 満（埼玉県立小児医療センター小児科）

通常のスクリーニングに加え、タンデムマス検査を行い、患者の発見頻度、再採血率等から検査の精度、治療効果等を評価する。検査対象疾患及び指標は既報（野町祥介 他：札幌市における5年4か月のタンデムマスによるマス・スクリーニング・パイロットスタディ結果とこれをふまえた事業化について、平成22年度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 分担研究報告書、58-60, 2011.）に示したとおりである。

A. 研究目的

タンデムマスによる多項目検査（タンデムマス検査）を新生児マス・スクリーニングに導入し、その有用性を明らかにし、かつ現行の問題点について洗い出し、改善方法を検討する。

新生児マス・スクリーニングの結果、要精密検査となった児のフォロー検査は、札幌市の母子保健事業「マス・スクリーニング関連疾患依頼検査」により実施した。

B. 研究方法

新生児マス・スクリーニング申込書で、保護者がタンデムマス検査を希望した児について、

C. 研究結果

2010年4月～2012年12月までに、44,906人の検査を行い、10人の患者を発見した。発見患者

表1. 札幌市のタンデムマス検査結果（2010年4月～2012年12月）

初回検体数	45,430
タンデムマス検査希望者数	44,906 (98.8%)
要再採血数	101 (0.22%)
要精密検査数	12 (0.03%)
患者数	10

発見患者疾患名
プロピオン酸血症 1人
3-メチルクロトニルグリシン尿症 1人
MCAD欠損症 3人
グルタル酸尿症2型 1人
フェニルケトン尿症 1人、高フェニルアラニン血症 3人

数は、表1のとおりである。そのうち、2012年1月～12月までの1年間では、札幌市の新生児マス・スクリーニングを受検した16,341人のうち、申込書でタンデムマス検査を希望した16,190人について検査を行った。

検査の結果、8人が要精密検査と判定され、そのうち、プロピオン酸血症1例、3-メチルクロトニルグリシン尿症1例、MCAD欠損症1例、グルタル酸尿症2型1例、高フェニルアラニン血症2例、計6例の患者を発見した。要精密検査例の詳細は、表2のとおりである。

症例1は、初回検査でC5-OHアシルカルニチンが高値であり、精査時も引き続き高値であった。尿中有機酸分析を行ったところ、3-メチルクロトニルグリシン、3-ヒドロキシイソ吉草酸が高値であったことから、3-メチルクロトニルグリシン尿症が示唆された。

症例2、7は、初回検査、再採血検査でフェニルアラニンが軽度高値であり、要精密検査判定

となった。精査時も、軽度高値が継続しており、高フェニルアラニン血症としてフォロー中である。

症例3は、要再採血判定となる検査結果であったが、同胞が同疾患であったことから、初回検査で精査判定とし、遺伝子検査で同胞と同じ変異が確認された。

症例4は、症状からミトコンドリア異常症が疑われ、日齢3の、ろ紙血検体、尿検体の検査依頼があった例である。タンデムマス検査の結果、C4～C16アシルカルニチンが全般に高値であり、尿中有機酸分析の結果、グルタル酸及びジカルボン酸類の上昇が見られたことから、グルタル酸尿症2型が示唆された。ビタミンB2大量投与、CHDFの施行により、検査結果は正常化した。

症例5は、初回検査、再採血検査でシトルリンが軽度高値であったことから、コンサルタント医の助言により、再々採血検査を行い、軽度高値が継続していたことから、要精密検査判定とした。

表2. 札幌市におけるタンデムマス検査要精密検査例の詳細(2012年1月～12月)

症例	指標物質	指標検査値 (採血日齢)		精査結果	遺伝子型
		初回採血	再採血		
1	C5-OH	9.2μM (4)		3-メチルクロトニルグリシン尿症	
2	Phe	138.1μM (5)	155.1μM (14)	良性高フェニルアラニン血症	
3	C3/C2	0.30 (4) (C3 10.3μM)		プロピオン酸血症	PCCB Y435C / Y435C
4	C8,C10	C8 1.5μM C10 3.6μM (3)		グルタル酸尿症2型	
5	Cit	45.6 μM (5)	51.9μM (15) 47.4μM (28)	Cit 軽度高値継続 (フォロー中)	
6	C8	2.4μM (5) (C8/C10 4.7)		MCAD 欠損症	ACADM R53C / 449-452delCTGA
7	Phe	145.2μM (4)	130.5μM (10)	良性高フェニルアラニン血症	
8	C8,C10	C8 0.76μM C10 1.7μM (4)		栄養不足による 一過性の異常	

※指標検査値のうち、()内の数値は、判定には使用していない。

表3. 新生児マス・スクリーニングでは正常判定だったシトルリン欠損症例

検査時期	検査値	遺伝子型
新生児スクリーニング	Cit 31.1μM, Gal 4.3mg/dL, Gal-1-P 5.2mg/dL (正常判定)	SLC25A13 IVS11+1G>A (Mutation II) homo
3か月(依頼検査初回)	Cit 162.9 μM, Gal 52.0mg/dL, Gal-1-P <0.1mg/dL	
3か月(依頼検査フォロー)	Cit 56.8 μM, Met 424.8 μM	

現在も軽度高値が継続しており、フォロー中である。

症例6は、C8 アシルカルニチンが高値だったことから、直接精査判定となり、精査時も引き続き高値であったことから MCAD 欠損症が疑われた。遺伝子検査で MCAD 欠損症の変異が確認された。

症例8は、新生児マス・スクリーニング時、C6～C14 アシルカルニチンが高値であり、グルタル酸尿症2型が疑われたため初回検査で精査判定とした。精査時の結果は正常化しており、尿中有機酸分析でも異常所見は認められなかった。母の栄養状態が悪く、母乳不足で児の体重減少も大きかったことから、児の栄養状態の悪化により、一過性にアシルカルニチンプロファイルに影響が出たと考えられた。

また、表3のとおり、新生児マス・スクリーニングは正常判定であったが、札幌市の母子保健事業「胆道閉鎖症スクリーニング」で、要精密検査となり、その後の検査でシトリン欠損症と診断された児が1例確認された。精密検査の結果、胆道閉鎖症は否定的であったが、黄疸が続いており、生後3か月時に当所へ依頼検査があり、シトルリン、ガラクトースが高値だったことから、シトリン欠損症が疑われ、遺伝子検査で同疾患と確定した。

D. 考察及びその他の関連事項のまとめ

タンデムマス検査の希望率は、2012年は、99.1%であり、希望率は前年より高値となった。2010年8月に申込書の様式を変更したが、この様式が分かりにくかったため、希望率が低下していたと考えられ、今年度申込書の再改定を行った。その結果、希望率が回復したものと考えられる。

2012年は、要再採血率は、0.23%とタンデムマス検査開始直後より低下している。また、要

精密検査8例中6例が患者であり、陽性的中率は75%と良好であることから、検査の精度が向上していると考えられる。

札幌市では、これまで調査研究事業として行ってきた、要精査例のフォロー検査について、2012年8月より「札幌市マス・スクリーニング関連疾患依頼検査」として母子保健事業化し、今後継続的にフォロー検査を行う体制を確保することができた。

E. 結論

新生児マス・スクリーニングにタンデムマス検査を導入することにより、より多くの患者を発見することができた。発見患者の多くは良好に経過しており、新生児スクリーニングの有用性が向上した。

また、シトリン欠損症は、現在の指標のみでは、新生児期に発見することが難しいと考えられるため、指標物質を追加するなど、何らかの検討が今後必要である。

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) 吉永美和, 太田 優, 花井潤師 他: タンデムマス・スクリーニング導入後の現状-札幌市における7年間の経験-, 第39回 日本マス・スクリーニング学会 2012年8月 東京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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

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－

研究要旨

本会では2005年～2012年までの6年4ヶ月間、厚生労働科学研究補助金による子ども家庭総合研究事業「わが国の21世紀における新生児マス・スクリーニングのあり方に関する研究（主任研究者 山口清次島根大学小児科教授）」の研究協力者の一員となって試験研究を実施し、その経験を踏まえて2012年度から東京都内で出生する新生児への本スクリーニングを開始した。2012年4月～12月までに東京都内で出生した新生児76,651名をタンデムマスで検査した。その結果、一次対象疾患5例（フェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、プロピオン酸血症、MCAD欠損症、LCHAD欠損症 各1例）、二次対象疾患2例（CPT-2欠損症、シトリン欠損症各1例）の患者を発見した。スクリーニング陽性者の診断には、酵素活性や遺伝子検査が必要な場合も多く、本スクリーニングで発見された患児の予後向上には、これらの検査が可能な施設や治療施設に検査と治療を依頼できる体制の構築が重要である。

研究協力者

北川照男（公財）東京都予防医学協会理事長
石毛信之（公財）東京都予防医学協会主査
穴澤 昭（公財）東京都予防医学協会部長
鈴木 健（公財）東京都予防医学協会参与
大和田操（公財）東京都予防医学協会研究部長
石毛美夏 日本大学医学部小児科助教

A. 研究目的

本会は、2005年から東京都の承認と東京都内の23の新生児医療施設の協力を得て、厚生労働科学研究補助金による子ども家庭総合研究事業「わが国の21世紀における新生児マス・スクリーニングのあり方に関する研究（主任研究者 山口清次島根大学小児科教授）」の研究協力者の一員となり、タンデムマスを用いた試験的な新生児マス・スクリーニングを実施してきた。その成果を踏まえて2012年4月からは東京都の指示の下に、東京都内で出生する新生児約10万人を対象に本スクリーニングを開始した。本会では、これを契機に従来の検査体制を見直し、いくつかの変更を加えた。今回、東京都の2012年4月から12月までの本スクリーニングの検査成績をまとめるとともに、診断ならびに治療施設間の

連携の重要性について考察し、スクリーニングの精度をより向上させる検査体制の構築を目的とする。

B. 研究方法

対象は本年4月～12月にスクリーニングした新生児は76,651名であった。2012年度からはタンデムマスの設置台数をこれまでの1台（誘導体化法）から3台（非誘導体化法）体制とした。そして、本会では確定診断のための検査の一部について実施する体制を整え、尿中・血中有機酸分析、血清アシルカルニチン分析、そして駿河台日本大学病院と共同で培養末梢リンパ球による *in vitro* probe assay (IVP) を実施している。なお、本会で診断が困難な疾患が疑われる精査例では、島根大学、福井大学、広島大学、そして千葉県こども病院はじめ各研究施設に検査を依頼した。

（倫理面への配慮）該当事項なし。

C. 研究結果

1. 対象疾患

東京都における本スクリーニングの開始にあたり、対象疾患は2011年3月の厚労省通知に示

された16疾患（アミノ酸代謝異常症5疾患、有機酸代謝異常症7疾患、脂肪酸代謝異常症4疾患）に決まった。一方、二次対象疾患が疑われた場合には、出生医療機関に連絡し、担当医師と相談の上、再採血・精査を依頼している。

2. スクリーニング成績

本年4月から12月までにスクリーニングした成績を表1～3に示した。検査数は76,651名で、再採血数は129例（0.17%）、精査は19例（0.02%）で、発見された患者数は6例（フェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、プロピオン酸血症、MCAD欠損症、LCHAD欠損症、シトリン欠損症各1例）であった。一方、二次対象疾患を疑って再採血を依頼した例は11例（0.01%）あり、そのうち精査は2例（0.003%）、そして発見された患者数は1例（CPT-2欠損症）であった。患児には早期の医療介入が行われ、全例が順調に発育・発達しているとの報告を受けている。なお、本スクリーニングで発見した患児のうちPKU、MCAD欠損症、シトリン欠損症は同胞例であり、PKU、MCAD欠損症では出生前に同胞の治療医療機関から連絡を受けていたので、速やかに診断に到り、治療が開始された。

3. 尿中有機酸分析ならびにIVPの成績

代謝異常症を疑って精査を依頼した場合に必要とされる確定診断のための検査を表4に示した。これらの検査の中で、本会でも実施している尿中有機酸分析とIVPについて、本会のスクリーニングで精査を依頼し、検査の依頼があった例について、その検査結果を表5と表6に示した。尿中有機酸分析（表5）は、有機酸代謝異常症の診断には不可欠であり、本会でもこれが検査できることによって、精査例が代謝異常症の可能性が高い例を早期に選別でき、より早い時期に医療介入することが可能となった。IVP（表6）は、幸いにも試験研究期間に診断されたMCAD欠損症、VLCAD欠損症患者の検査結果と比較することが可能であったため、ろ紙血ならびに血清のアシルカルニチン分析結果に加えて確定診断を得るためにより診断価値の高い情報を臨床側に提供することが可能と思われた。

D. 考察・結論

本会による2012年3月までのタンデムマスを用いた試験的スクリーニングでは良好な成績が得られた。本会では、試験期間中におけるカットオフ値の見直し等によって、先天性代謝異常症患者を効率よく発見しうる判定基準を考案できた。そして、患者の確定診断を得るための検査を依頼する精査医療機関、治療医療機関との連携も良好で、本会のスクリーニングで発見された患者は障害を生じることなく順調に経過している。さらに、本会においては、確定診断の支援を目的とした検査体制（血清および尿アシルカルニチン分析・アミノ酸分析、尿中有機酸分析等）を整えてきた。そして、2012年4月から、東京都で出生する新生児全例へのタンデムマス・スクリーニング実施に到った。

本スクリーニングでは、4月から12月までの9ヶ月間に、試験的研究期間とほぼ同様な頻度（約1万人に1人の割合）で患者が発見され、救命、障害の発生予防を可能とした。本スクリーニングの対象疾患の中には緊急に診断・治療を開始する必要がある疾患もあり、正しい診断を得るにはタンデムマスの再検査や尿中有機酸分析に加えて酵素活性測定や遺伝子解析を必要とすることも稀ではない。したがって、本スクリーニングで発見された患児の予後向上には、これらの検査が可能な施設や治療施設に検査と治療を依頼できる体制の構築が重要である。本会では確定診断のための検査の一部について協力したいと考えている。

E. 謝辞

本研究に協力して新生児ろ紙血液を提供して頂いた東京都内の産科施設の先生方ならびに関係各位、および発見された患者の診断確定にご指導、ご協力頂いた島根大学医学部小児科 山口清次教授、長谷川有紀先生、小林弘典先生、虫本雄一先生、福井大学医学部看護学科 重松陽介教授、畑 郁江先生、千葉県こども病院代謝科 高柳正樹先生、村山 圭先生、広島大学医学部小児科 但馬剛先生、大阪市立総合医療センター小児代謝・内分泌内科 依藤亨先生、札幌市衛生研究所 花井潤師先生に深謝する。

表1. 東京都におけるタンデムマス・スクリーニング成績 (2012年4月～12月)

検査数	76,651
再採血数 (%)	129 (0.18%)
精査数 (%)	19 (0.02%)
患者数(発見頻度)	6 (1/12,775)

表2. 精査19例の内訳

疑われた疾患	指標	精査数	患者数	疾患名
PKU, HPA	Phe	1	1	PKU*
HCU, 高メチオニン血症	Met	5	1	HCU
Cit 1, 高シトルリン血症	Cit	1	1	シトルリン欠損症**
PA, MMA	C3 & C3/C2	2	1	PA (Y435C homozygote)
GA1	C5-DC	1	0	異常なし
IVA	C5	4	0	全例、薬剤による偽陽性
MCD, HMG, MCC	C5-OH	3	0	全例、異常なし
TFP/LCHADD	C16-OH & C18:1-OH	1	1	TFP/LCHAD
MCADD	C8 & C8/C10	1	1	MCAD**
合計		19	6	

表3. 二次対象疾患を疑って再採血を依頼した例の診断結果

疑われた疾患	指標	再採血依頼数	精査数	疾患名(患者数)
CPT-2, CACT	C16 & (C16+C18:1)/C2	2	1	CPT-2 (1)
BKT	C5:1	1	0	
CTD	C0 ↓	6	0	
GA2	C8, C10	2	1	
合計		11	2	1

*海外にて同胞が本症と診断されている。
**試験研究期間に同胞が本症と診断されている。

表4. 確定診断のため検査と実施施設

検査	検査材料	
アミノ酸分析	血清、尿	本会
ブテリジン分析	尿	
アシルカルニチン分析	ろ紙血、血清、尿	
ピオチニダーゼ活性	ろ紙血	札幌市衛生研究所
有機酸分析	尿、ろ紙血	島根大学、福井大学、千葉県こども病院、本会
In vitro probe assay (IVP)	全血、線維芽細胞	島根大学、福井大学、駿河台日大病院 + 本会
酵素活性	全血、線維芽細胞	広島大学
遺伝子解析	全血	島根大学、広島大学、東北大学、大阪市立総合医療センター

表5. 本会で尿中有機酸分析を施行した例の検査成績

症例	精査対象疾患	タンデムマスの検査値(日齢)				尿中有機酸分析の結果(日齢)	診断
		精査依頼時		精査時			
1	MMA, PA	C3 7.84 (18)	C3/C2 0.32	C3 8.09 (25)	C3/C2 0.62	3-HPA, MC排泄増加 (26)	PA
2	MMA, PA	C3 8.49 (11)	C3/C2 0.29	C3 2.16 (13)	C3/C2 0.15	異常なし(13)	正常
3	IVA	C5 9.89 (9)	C0 6.68 (9)	C5 5.71 (10)	C0 5.76 (10)	異常なし(10)	正常
4	IVA	C5 4.46 (13)	C0 7.16 (13)	C5 2.48 (21)	C0 6.88 (21)	異常なし(21)	正常
5	IVA	C5 6.13 (22)	C0 6.78 (22)	C5 1.98 (33)	C0 8.84 (33)	異常なし(33)	正常
6	MCD等	C5-OH 1.08 (4ヶ月)		C5-OH 1.25 (5ヶ月)		異常なし(5ヶ月)	二次性ピオチン欠乏

症例3 フロモックス過剰量内服による偽陽性(28mg/kg 1日+ 14mg/kg 2日間)
 症例4 エラスボール使用による偽陽性(本会にて尿中有機酸分析を施行していない1例も本剤を使用していた)
 症例5
 症例6 低出生体重2回目採血からの精査例。有機酸の異常排泄を認めず。ピオチニダーゼ活性値正常(札幌市衛研)

表6. 本会にてIVPを施行した症例の検査結果

	本年診断したMCADD患児			同胞	
	2012年9月生・女児 40週/2642g			2008年8月生・男児 39週/2490g	
	出生時	初検	精査	初検	再採血
MS/MS検査時日齢	0	4	11	5	11
C8 (>0.30)	0.56	2.36	0.72	1.33	0.64
C8/C10 (>1.40)	2.00	1.55	2.10	2.54	2.94
IVP検査時日齢	10			3週	
C8 (対照: 0.19±0.07)	0.29 (健常成人: 0.09)			0.96	
C8/C10 (同: 0.98±0.13)	2.66 (1.52)			7.13	
C8/C4 (同: 1.05±0.45)	3.42 (1.08)			7.69	
酵素活性(%)	22			31.7	
ACADM 遺伝子変異	(依頼中)			449-452 del CTGA 820A>G	

●同胞例のIVPは島根大学小児科に依頼した(2008年10月)。IVPの対照値は文献¹⁾を引用した。
 ●酵素活性および遺伝子解析は広島大学小児科に依頼した。

F. 健康危険情報

該当事項なし。

G. 引用文献

- 1) 虫本雄一 他：末梢リンパ球とタンデム質量分析計を用いた日本人中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症3例の脂肪酸 β 酸化能の検討. 日本マス・スクリーニング学会誌 18 (3) : 250-255, 2008.

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Teruo Kitagawa : Newborn Screening for Inborn Error of Metabolism in Japan. A History of the Development of Newborn Screening. Pediatric Endocrinology Reviews Volume 10, Supplement 1: 8-25, 2012.

- 2) 石毛信之 他：乾燥ろ紙血中アシルカルニチンの保存期間と保存温度による安定性の検討－有機酸・脂肪酸代謝異常症患者の検体を用いた検討－. 日本マス・スクリーニング学会誌 22 (3) : 234-243, 2012.

2. 学会発表

- 1) 石毛信之 他：東京都におけるタンデムマス・スクリーニングの導入. 日本マス・スクリーニング学会, 東京都, 2012.
- 2) 石毛信之 他：東京都におけるタンデムマス・スクリーニングの導入と成績. 日本先天代謝異常学会, 岐阜県, 2012.

1. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

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

島根大学におけるタンデムマス・スクリーニングの報告

研究要旨

島根大学では2012年1月から2012年12月14日までに島根県、鳥取県の全例、愛媛県、山口県の一部などを対象とし、24,323検体をスクリーニングし、再検率は0.55%、精査数は15例であった。陽性者数は3名であり、軽症メチルマロン酸血症、軽症プロピオン酸血症、VLCAD欠損症が各一名であった。発見された症例はいずれも現在のところまで無症状で経過している。

これまで島根大学では既存対象疾患の検査施設と協力しながら、タンデムマス法を分離して行ってきた。この方法の場合、スケールメリットによる低コスト化や安定した分析を行い易い。一方、検体輸送の複雑化に伴うタイムラグが生じやすく、十分な数が集まらない場合はコスト増になる可能性などが問題となり得る。

また、昨年から引き続き、Waters社のTQDとShimadzu社製のLC-8030（途中からLC-8040に変更）における同時分析を行った。前処理方法と日々の精度管理検体を統一している場合、それぞれの指標における特有の係数を算出しておけば2台以上のタンデムマス機器間の測定値を比較する事は出来ると考えられた。

研究協力者

小林弘典（島根大学小児科・助教）
長谷川有紀（島根大学小児科・助教）
坂本 修（東北大学医学部小児科・講師）
大浦敏博（仙台市立病院小児科・部長）
山口清次（島根大学小児科・教授）

究を終了した。島根県および鳥取県では前年通り自治体事業として検査が実施された。すなわち、タンデムマス検査を島根大学小児科が受託し、既存6疾患（島根県ではアミノ酸代謝異常症をのぞく3疾患）を別施設での分析が終了後に島根大学小児科に血液ろ紙が1スポット郵送される。

A. 研究目的

タンデムマスによる新生児マススクリーニングを行い、我が国における疾患頻度を前方視的に調査するとともに、発見される患者の予後等について調査する。また、タンデムマス法を行う際の技術的、実務的な諸問題を明らかにし、新規に検査を開始する施設の支援を行う。

B. 研究方法

1. タンデムマスによるマススクリーニング

対象は愛媛県、岡山県、山口県、神戸市については県内の特定の施設について分析を行ったが、愛媛県を除く自治体では2012年内に各自治体でのタンデムマスによる新生児マススクリーニングが開始され、島根大学でのパイロット研

2. 異なる質量分析計間の相違に関する検討

前年度から引き続いて、Waters社製ACQUITY TQDとShimadzu社製のLC-8040（2012年8月まではLC-8030を使用）の2台の質量分析計を用いて、同一検体を両分析計で並列分析を行い、比較検討を行った。分析用キットにはPerkinElmer社のNeoBaseキットを用い、非誘導体化法での分析を行った。変動係数（CV値）の評価は分析毎のキットに付属する精度管理用検体（低濃度検体、高濃度検体を各一種類）を用いて行った。

（倫理面への配慮）

本研究内容については島根大学医学部医の倫理委員会での承認を受けた。

C. 研究結果

1. タンデムマスによるマススクリーニング

2012年1月から12月末までに26,069名を検査した。再検率は0.60%、精査率は0.08%であった。発見された患者は軽症プロピオン酸血症1例、VLCAD欠損症1例、メチルマロン酸血症1例であった。全例が発症前の診断であり、現在まで良好な経過をとっている。

その他、前年度にC5-OHの軽度上昇が続き、尿中有機酸分析で有機酸代謝異常症が否定されていた症例について、遺伝子解析から3-MCC欠損症の責任遺伝子の一つであるMCC α のヘテロ接合性変異である事が明らかになった。

また、過去3年におけるスクリーニング発見例について、主治医に対して書面もしくは電話によるインタビューによる予後調査を行った。多くの施設では、先天代謝異常症の専門医がおらず、診断や治療についての情報が不足していると感じている主治医が少なくなかった。VLCAD欠損症やMCAD欠損症、CPT-1欠損症、軽症プロピオン酸血症の症例については過去に発作のエピソードがなく、家族にどの様に、どの程度まで説明するか、などについて苦慮する場面がある事が明らかになった。

2. 異なる質量分析計間の相違に関する検討

前年度からTQDとLC-8030との比較を行ったが、多検体の分析に伴うCV値等の変動や質量分析計のトラブルについては大きな差がみられなかった。LC-8040について、CV値はともにすべて10%以内であり(表2)、2機種間の相違については決定係数(r^2)を検討したが、両者は非常に良好な相違を有していた。

表1. 島根大学における3年間の陽性例

疾患名	転帰
2010 シトリン欠損症	正常発達
2010 CPT-1欠損症	正常発達
2010 3-MCC欠損症	正常発達
2011 MCAD欠損症	正常発達
2011 PKU	正常発達
2011 古典型メチルマロン酸血症	死亡
2011 アルギニノコハク酸尿症	軽度発達障害
2011 VLCAD欠損症	正常発達
2012 VLCAD欠損症	正常発達
2012 軽症プロピオン酸血症	正常発達
2012 メチルマロン酸血症(B12反応性)	正常発達

表2. 精度管理検体を用いたLC-8040での再現性の検討

PerkinElmer MSMS kit		[2012/10/10~11/8 : N=65]								
		Ala	Cit	Gly	Leu	Met	Phe	Pro	Tyr	Val
Low	conc. (umol/L)	380.72	78.01	610.57	279.31	69.89	106.14	379.84	166.05	237.49
	CV(%)	7.13	6.78	9.58	4.82	7.86	4.84	4.45	5.41	6.48
High	conc. (umol/L)	868.73	241.43	1710.41	601.80	242.38	319.14	1102.75	547.45	567.09
	CV(%)	6.06	4.36	5.10	5.29	6.04	4.18	4.02	5.78	6.04
		C0	C2	C3	C4	C5	C5DC	C6		
Low	conc. (umol/L)	66.20	60.10	10.32	2.201	1.130	0.704	0.506		
	CV(%)	4.61	5.27	5.55	5.51	4.71	9.42	5.24		
High	conc. (umol/L)	162.99	154.30	27.29	6.072	3.138	1.855	1.433		
	CV(%)	5.49	4.16	4.84	5.16	4.55	8.02	5.47		
		C8	C10	C12	C14	C16	C18			
Low	conc. (umol/L)	0.756	1.104	1.716	1.937	10.266	2.210			
	CV(%)	4.83	5.48	6.30	6.69	6.54	6.85			
High	conc. (umol/L)	2.069	3.016	4.762	4.985	26.426	4.564			
	CV(%)	6.04	5.45	5.50	6.00	5.99	5.77			

D. 考察

1. タンデムマスによるマススクリーニング

スクリーニングにおいては再検率、精査率とも概ね昨年と同じであった。今回、C5-OH上昇例からMCC欠損症の保因者が同定されたが、C5-OH上昇かつ尿中有機酸分析が正常であれば少なくとも発症する可能性は否定的ともいえる。保因者診断は慎重に行われる必要があり、今後はこのような症例の扱いを含めた診断アルゴリズムの整備が必要と考えた。

また、診断例の主治医に対するアンケート調査では精密検査時の情報不足や診断後、フォローアップ時の情報不足が明らかになった。全国的な普及に際して、いずれの地域でも一定以上の診療の質を保つための体制作りが、早急に求められる。その一方で、軽症例などを含めた予後については不明な点が多く、今後も継続的な追跡調査が不可欠と思われる。

2. タンデムマス検査を既存スクリーニング対象疾患と分離する利点・欠点

タンデムマス法では既存のスクリーニング対象6疾患のうち、PKU、MSUD、ホモシスチン尿症の3疾患しか分析できず、残りは従来通りの分析を行う必要がある。島根大学ではこれまでタンデムマス分析のみを行ってきた。それらの利点、問題点は以下の様である。

利点

- ①安定した精度管理が期待できる。
- ②タンデムマス法はカットオフ値の変更や結果判定に知識や経験が要求される場合もあり、施設ごとの分析数が多ければそれらの蓄積が早い。