

③分析数が増える事でスケールメリットを最大化できる。

④タンデムマスの分析数を多く出来れば、検査費用を落としながら既存の検査施設との共存が可能（スクリーニングが遠い存在にならない）。

【欠点】

①検体の輸送などが煩雑になり、1日以上タイムラグが出る。

②十分な集約化が出来ないと、逆に高コストになる。

タンデムマス法では、従来1検体を約2分強で分析することが可能であったが、最近では機器の高性能化が進み分析時間はさらに短くなる傾向がある。当科では最短で1分析を74秒で分析することが可能となった。この場合、1台のタンデムマスが分析できる検体数は9.5万～最大19万検体/年と計算される。実際にこれだけの分析を行う事ができれば、これまでに比べて大幅な低コスト化も可能である。タンデムマス法では質量分析計を使用することから精度管理にも大きな配慮が必要となるが、一施設あたりの分析数が多いと単独施設で毎日分析を行えるならば、この点でも望ましい。我が国ではこれまで自治体単位での新生児マススクリーニングが浸透しており、これらのシステムを活用しながら、質の高いタンデムマススクリーニングを導入する手段として、従来のスクリーニングとの分離も有効な手段と考えられるが、その際は検体受付の共通化や検体輸送方法の再検討などの結果が出るまでの時間を短縮に配慮する必要があると考えた。

3. 新しい質量分析計の信頼性、精度に関する検討

前年に続き、同じキットを使用しても2つの機器間では分析値の相違があったが、指標毎の補正係数を使用することで機器間の比較は容易であった。同一施設内で2つ以上の質量分析計を使用する場合は機器の個体差に留意して補正係数を使用するなどに対処可能であると思われた。また、異なる施設間であっても前処理法が同一であり、あらかじめ同じ精度管理検体を測定しておけば、補正係数を使用することで比較可能

であると考える。

LC-8030およびLC-8040はこれまで新生児マススクリーニング領域における使用経験がなかったが、約2年間における耐久性の検討においては既存の質量分析計と同等と評価した。LC-8040は一般的に新生児マススクリーニングに用いられる汎用機種よりも高感度機種である。C5-DCなどの感度が求められる部分については汎用機種よりもCV値が低いなどの違いはあるものの、現状のタンデムマス分析においては実質的な差は無視出来ると考えられる。

E. 結論

1. 島根大学では26,069名をスクリーニングし、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。C5-OH軽度上昇から3-MCC欠損症の保因者の診断例があった。
2. 確定診断例の主治医へのアンケートでは、診断および治療における情報不足が明らかになった。早急なガイドライン整備と、陽性例の追跡調査体制の整備が必要と考えた。
3. タンデムマス法を既存検査施設と分離して行う場合、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になる。
4. タンデムマス・スクリーニングにおいてはShimadzu社のLC-8030およびLC-8040はWaters社のACQUITY TQDと同等の信頼性を有すると考えた。
5. 同一の前処理を用いた場合、異なる施設間でも補正係数を用いるなどして対応可能であることが明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamada K, Takahashi T, Takayanagi M, Fukao T, Fukuda S, Yamaguchi S. : Intracellular in

- vitro probe acylcarnitine assay for identifying deficiencies of carnitine transporter and carnitine palmitoyltransferase-1. *Anal Bioanal Chem.* 2013 405(4): 1345-51. (Feb)
- 2) Yamaguchi S, Li H, Purevsuren J, Yamada K, Furui M, Takahashi T, Mushimoto Y, Kobayashi H, Hasegawa Y, Taketani T, Fukao T, Fukuda S: Bezafibrate can be a new treatment option for mitochondrial fatty acid oxidation disorders: Evaluation by in vitro probe acylcarnitine assay. *Molecular Genetics and Metabolism* 107: 87-91, 2012 (September)
 - 3) Purevsuren J, Hasegawa Y, Fukuda S, Kobayashi H, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Yamaguchi S: Clinical and molecular aspects of Japanese children with medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism* 107: 237-240, 2012 (September)
 - 4) 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 (June)
 - 5) 山田健治, 虫本雄一, 高橋知男, 小林弘典, 長谷川有紀, 白田信光, 山口清次: 遊離カルニチンおよびアシルカルニチンの安定性の検討. *日本マススクリーニング学会誌* 22 (1) 49-60 (June)
- ## 2. 学会発表
- 1) Kobayashi H, Yamada K, Purevsuren J, Mushimoto Y, Takahashi T, Hasegawa Y, Ito M, Yamaguchi S: Beneficial effect of bezafibrate on boy with the late-onset gluraricaciduria type 2. *The 2nd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases & The 12th Asian-European Workshop on Inborn Errors of Metabolism & The 12th Korean Congress of Inherited Metabolic Disease.* Seoul, Korea, 2012, April
 - 2) 小林弘典: 対象疾患ごとのスクリーニング指標とカットオフ値の設定. 第38回日本マス・スクリーニング学会. ワークショップ. 東京, 2012年8月
 - 3) 小林弘典: タンデムマス・スクリーニングの従来のスクリーニングと分離する事の利点・欠点. 第38回日本マス・スクリーニング学会. ワークショップ. 東京, 2012年8月
- ## 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

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

研究要旨

2011年3月に出された厚生労働省児童家庭局母子保健課長通知により、多くの自治体でタンデムマス・スクリーニングが開始されている状況がみられたため、全国44の検査実施機関に対し、その実施状況調査をアンケート方式で行った。その結果、平成24年10月末時点で19施設（43%）が既に公費によるスクリーニングを実施しており、平成24年12月から平成25年4月までに開始する計画で準備を進めている施設が8施設（18%）となっていた。自治体数としては平成24年10月末までの開始が27自治体（40%）、準備中が9自治体（13%）となっており、本スクリーニングが順調に進捗していることが把握できた。

研究協力者

田崎隆二（（一財）化学及血清療法研究所）

事業区分（公費、研究）、④年間検査数、⑤対象疾患数、⑥対象疾患名、その他を含め合計11項目とした。回答先は分担研究者（重松教授）宛とした。

研究分担者

重松陽介（福井大学医学部看護学科・小児科）

A. 研究目的

2011年3月の厚生労働省児童家庭局母子保健課長通知を受け、多くの自治体でタンデムマス・スクリーニングが開始されている状況にあるが、研究班として、本スクリーニングの精度管理や発見患者の医学的管理の状況を調査し、その有用性の確認を行う責務がある。今回はその状況調査の基礎資料として現状調査を行うことを目的として実施した。

B. 研究方法

1. 調査実施日

平成24年10月5日

2. 調査締切日

平成24年10月19日

3. 調査対象

国内44検査機関

4. 調査方法

アンケート調査用紙の郵送並びにE-mailを利用した方法。

5. 調査内容及び回答送付先

調査内容は①委託自治体名、②事業開始日、③

C. 研究結果

1. アンケート回収率

88.6%（39施設／44施設）

2. 公費による開始状況

(1)実施施設：43.2%（19／44施設）

(2)実施自治体：40.3%（27／67自治体）

(3)開始年月：

2012年4月1日以前に開始：4施設（7自治体）

2012年4月1日に開始：8施設（13自治体）

2012年7月～10月開始：7施設（7自治体）

公費にて開始した19施設について開始年月を調査した結果、既に2012年4月1日以前に開始していた4施設以外は年度替わりである4月1日開始が全体の42%、それ以降の10月までに開始した施設が37%であり、開始した施設の約8割が2012年度での開始となっていた。

3. 未実施施設における公費開始に向けての準備状況

アンケート調査を行った2012年10月の時点で未実施施設にて記載があった今後の開始計画についてまとめた。その結果、2012年12月から2013年4月までに開始する計画で準備を進めている施設は8施設、9自治体であった。これは既に開始した自治体を含め、検査施設で61.4%、自治体で

53.7%という高い実施状況を示すものであった。

4. 対象疾患数

本スクリーニングでの対象疾患を有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、アミノ酸代謝異常症の3分類として各疾患数を調査したところ、厚生労働省の通知にある合計16疾患が13施設(68%)、その他の組み合わせが6施設(32%)となっていた(表1-2)。

D. 考察

今回の調査は2011年3月の厚労省課長通知により、国内検査機関がどの程度、公費負担によるタンデムマス・スクリーニングを開始しているかの状況調査を目的としたアンケート調査であり、回答までの猶予期間も短かったが約90%の回答率が得られた。

実施状況は全体の43%(19施設)が既に開始し、2012年12月以降にも8施設が計画しており、全体の61%が2013年4月までに開始できている状況が把握できた。しかし今回、回答が得られなかった5施設の中にも既に開始中または計画中的との情報が得られているのが2施設、4自治体あること、また、今回の調査対象には大学研究機関である島根大学、福井大学は含まれておらず、これらを合計すると少なくとも国内の約50%の検査機関・自治体で実施中(または近々開始)という状況であった。調査時点では未確定であった残りの自治体でも現在、予算申請中のところがあり、2013年4月からは多くの検査機関・自治体での開始が予想される。

対象疾患数についての調査(添付資料4~7)では、厚労省課長通知に記載された16疾患とするところが全体の68%(13/19施設)を占め、22疾患または23疾患の組み合わせが6施設となっていた。今後、二次対象疾患とされてい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)やCPT2欠損症等が一次対象疾患に追加される可能性があり、対象疾患を決めている各自治体においては本研究班の情報に対して迅速、且つ柔軟な対応が必要であり、自治体毎に決められた精密医療機関・専門治療機関との情報交換も今後、更に蜜にすべきと思われた。

E. 結論

2012年10月末でのアンケート調査により、全国19検査機関(27自治体)で既にタンデムマス・

スクリーニングが開始されており、近々開始予定として既に準備中である検査機関が8施設(9自治体)となっていた。既に開始している施設に2013年4月までに開始予定と回答した施設を加えると合計27施設となり、国内の61%(自治体数では36自治体、54%)を占めた。今後も順調に拡大していくことが予想された。

《謝辞》

今回の調査にご協力頂いた全国の検査機関(新生児スクリーニング実施機関)に感謝致します。

《調査に協力頂いた検査機関》

北海道薬剤師会	神奈川県予防医学協会
札幌市衛生研究所	新潟県保健衛生センター
岩手県予防医学協会	富山県衛生研究所
宮城県公衆衛生協会	石川県予防医学協会
山形県衛生研究所	甲府市医師会臨床検査センター
福島県保健衛生協会	長野県健康づくり事業団
茨城県総合健診協会	岐阜県公衆衛生検査センター
栃木県保健衛生事業団	静岡県予防医学協会
群馬県健康づくり財団	愛知県健康づくり振興事業団
埼玉県立小児医療センター	三重県科学技術振興センター
さいたま市健康科学研究センター	滋賀県健康づくり財団
東京都予防医学協会	大阪府立母子保健総合医療センター
ちば県民保健予防財団	大阪市環境保健協会
兵庫県保健財団	
神戸市医師会医療センター	
岡山県健康づくり財団	
島根県立中央病院	
広島市医師会臨床検査センター	
山口県予防保健協会	
香川県予防医学協会	
長崎県健康事業団	
大分市医師会立アルメイダ病院	
化学及血清療法研究所	
宮崎県健康づくり協会	
鹿児島県民総合保健センター	
沖縄県総合保健協会	

F. 健康危険情報(該当なし)

G. 引用文献(なし)

H. 研究発表

1. 論文発表(該当なし)
2. 学会発表(該当なし)

I. 知的財産権の出願・登録状況(該当なし)

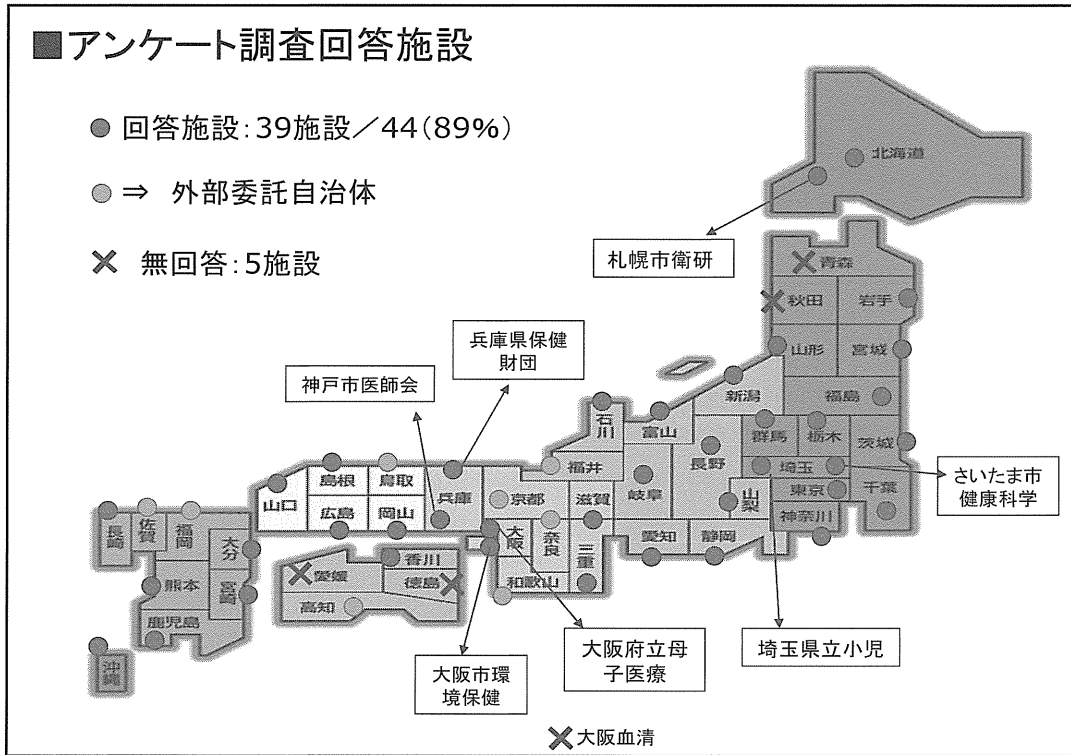


図1. アンケート調査回答施設一覧

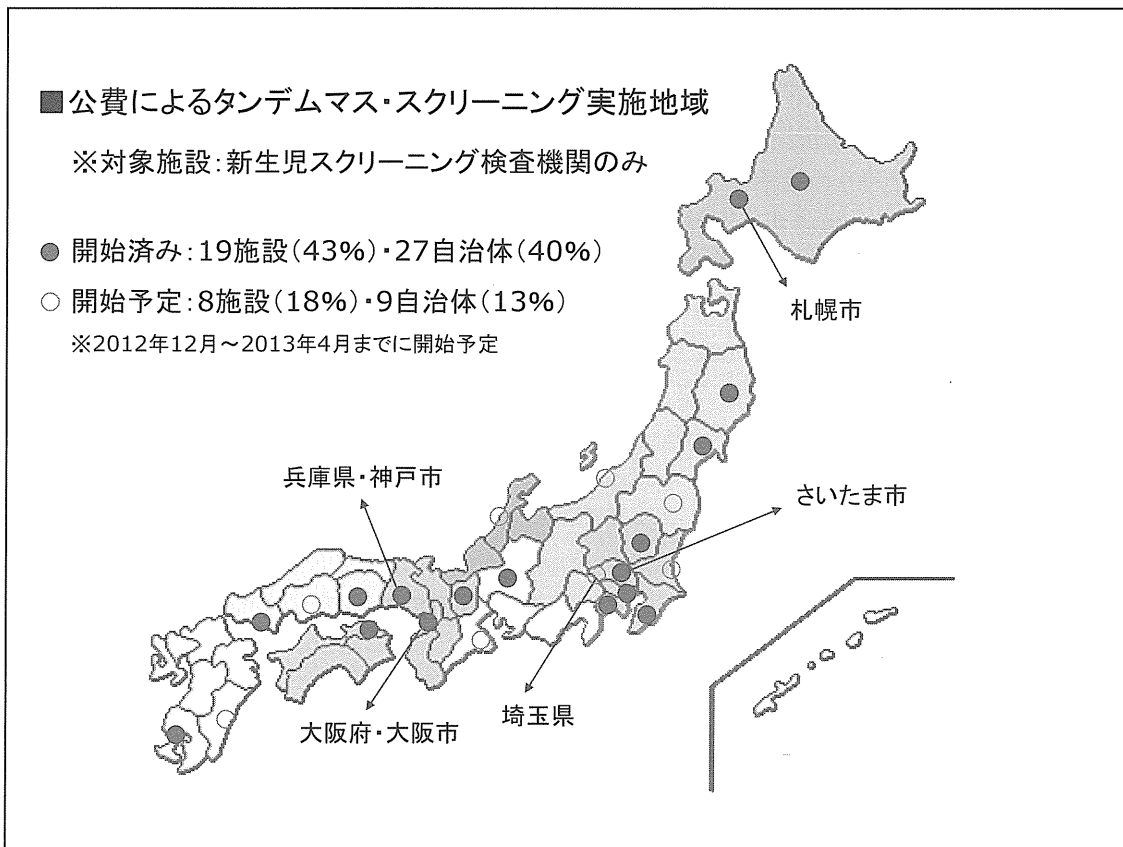


図2. 実施地域一覧

表1. 対象疾患数の調査結果(A~Dの4分類) ※パターンCは厚労省通知文記載内容

パターン	有機酸代謝異常症	脂肪酸代謝異常症	アミノ酸代謝異常症	合計	施設数
A.	9	8	6	23	2
B.	8	8	6	22	3
C.	7	4	5	16	13
D.	8	8	7	23	1

表2. 対象疾患名とパターン分類

分類	No.	疾患名	A	B	C	D
有機酸代謝異常症	1	メチルマロン酸血症	○	○	○	○
	2	プロピオン酸血症	○	○	○	○
	3	イソ吉草酸血症	○	○	○	○
	4	メチルクロトニルグリシン尿症	○	○	○	○
	5	HMG (3-ヒドロキシ-3-メチルグルタン酸) 血症	○	○	○	○
	6	マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	○	○	○	○
	7	グルタル酸尿症 1 型	○	○	○	○
	8	βケトチオラーゼ欠損症	○	○	×	○
	9	メチルグルタコン酸尿症	○	×	×	×
脂肪酸代謝異常症	1	MCAD 欠損症	○	○	○	○
	2	VLCAD 欠損症	○	○	○	○
	3	TFP (LCHAD) 欠損症	○	○	○	○
	4	CPT1 欠損症	○	○	○	○
	5	CACT 欠損症	○	○	×	○
	6	全身性カルニチン欠乏症	○	○	×	○
	7	CPT2 欠損症	○	○	×	○
	8	グルタル酸尿症 2 型	○	○	×	○
アミノ酸代謝異常症	1	フェニルケトン尿症	○	○	○	○
	2	メープルシロップ尿症	○	○	○	○
	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尿症	○	○	○	○
	6	シトルリン欠損症	○	○	×	○
	7	アルギニン血症	×	×	×	×
	8	高チロジン血症 1 型	×	×	×	○

Ⅱ. 分担研究報告書

3. 効果的な診療ネットワークの整備に関する研究

研究分担者 松原洋一（東北大学大学院医学系研究科教授）

分担研究課題

効果的な診療ネットワークの整備に関する研究

研究分担者 松原洋一（東北大学大学院医学系研究科教授）

研究要旨

わが国における新生児タンデムマス・スクリーニングにおける診療ネットワークの整備について検討を行った。スクリーニング陽性例では、まずその確定診断を実施する検査提供体制が重要である。本分担研究では、日本先天代謝異常学会の理事・評議員を対象とする遺伝子検査実施状況調査をもとにしてさらに追加修正を加えた。全国的にこれらの確定診断検査を提供している施設が存在が把握されたが、そのほとんどは大学研究室で研究費を主体として費用が賄われていた。次に、平成24年に新たに保険適用となった新生児タンデムマス・スクリーニング対象疾患群の遺伝子検査16種類について、国内の検査会社による検査提供状況を調査した。その結果、これらを保険適用として提供している検査会社や施設は皆無であった。検査会社に対して調査を行ったところ、その理由として(1)年間の検体数が少ない稀少疾患であるため、検査体制を立ち上げるだけの採算がとれない、(2)保険点数が検査に必要な実費より低い、(3)検査結果の報告に必要な専門的知識を有していない、(4)各遺伝子検査の試薬キットが存在せず、体外診断薬として薬事承認されていない試薬や検査機器（シークエンサーなど）を用いて社内で検査方法を確立することに対する懸念などが挙げられた。

研究協力者

青木洋子（東北大学・准教授）
新堀哲也（東北大学・助教）

A. 研究目的

わが国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が有効に機能し、発見された患者が適切な治療を受け、障害を持つことなく社会の一員として活躍できるようにするためには、スクリーニング検査後の系統的な診療ネットワークを構築するとともに長期的なフォローアップをおこなう事が重要である。

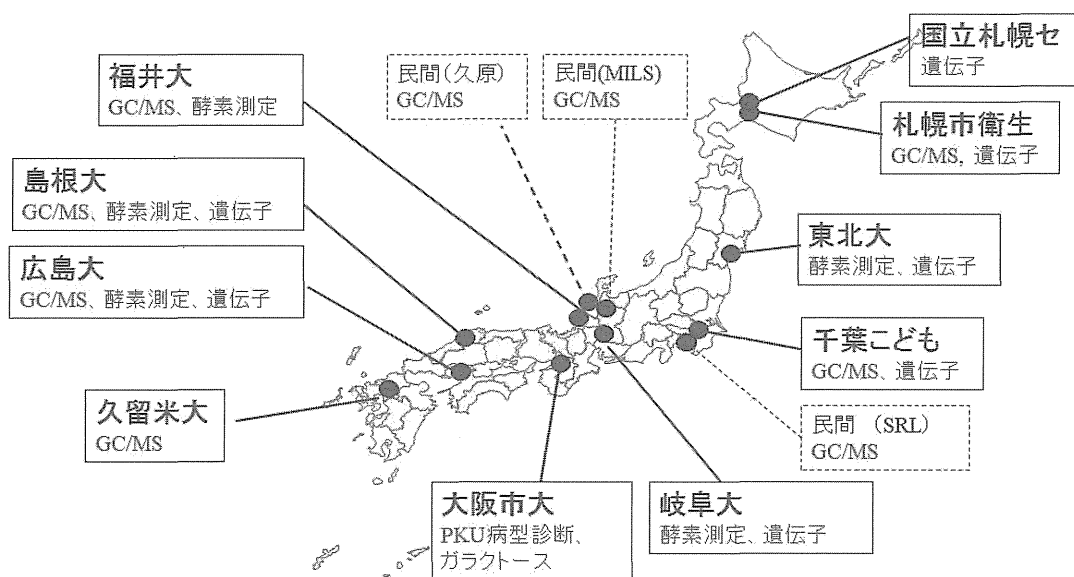
スクリーニング陽性例にたいしては、その確定診断を実施する検査提供体制が必要である。次に、全国的に患者数を把握し、登録・追跡をおこない、適切な診療提供を支援することが望まれる。また患者会との連携による peer support の提供も重要である。さらに、これらの活動を統括するとともに、全国のスクリーニング実施施設と診療施設をコーディネートし、精度管理、

研修・啓発企画などの中心となる組織を構築する事が必要と考えられる。

本年度の分担研究では、これまでに実施した確定診断施設の実態調査および平成24年に新たに保険収載された新生児タンデムマス・スクリーニング対象疾患群の遺伝子検査の実施状況をもとに、その問題点とあるべき診療ネットワークの構築について検討をおこなった。

B. 研究方法

- 1) 昨年度実施した、日本先天代謝異常学会の理事・評議員を対象とする遺伝子検査実施状況調査をもとに、その後の修正を加えて全国マップを作製した。
- 2) 平成24年に新たに保険適用となった新生児タンデムマス・スクリーニング対象疾患群の遺伝子検査を表1に示す。これらの遺伝子検査16種類について、国内の検査会社による検査提供状況を調査した。またその提供・実施状況について情報を収集した。



(図 1)

(表 1)

平成 24 年に新たに保険適用となった新生児タンデムマス・スクリーニング対象疾患群の遺伝子検査。カッコ内に疾患分類を示す。

- | | |
|---------------------|-------------|
| 1) フェニルケトン尿症 | (アミノ酸代謝異常症) |
| 2) メープルシロップ尿症 | (アミノ酸代謝異常症) |
| 3) ホモシスチン尿症 | (アミノ酸代謝異常症) |
| 4) シトルリン血症 (1 型) | (尿素サイクル異常症) |
| 5) アルギニノコハク酸血症 | (尿素サイクル異常症) |
| 6) メチルマロン酸血症 | (有機酸代謝異常症) |
| 7) プロピオン酸血 | (有機酸代謝異常症) |
| 8) イソ吉草酸血症 | (有機酸代謝異常症) |
| 9) メチルクロトニルグリシン血症 | (有機酸代謝異常症) |
| 10) HMG 血症 | (有機酸代謝異常症) |
| 11) 複合カルボキシラーゼ血症 | (有機酸代謝異常症) |
| 12) グルタル酸血症 1 型 | (有機酸代謝異常症) |
| 13) MCAD 欠損症 | (脂肪酸代謝異常症) |
| 14) VLCAD 欠損症 | (脂肪酸代謝異常症) |
| 15) MTP (LCHAD) 欠損症 | (脂肪酸代謝異常症) |
| 16) CPT1 欠損症 | (脂肪酸代謝異常症) |

(倫理面への配慮)

本研究は、個人の医療情報や個人情報を取り扱っていない。また、遺伝子検査そのものを実施する研究ではなく、遺伝学的検査関連のガイドラインには該当しない。

C. 研究結果

1) 遺伝子検査実施状況

図 1 に結果を示す。全国 13 か所で新生児タン

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た。確定診断の手法は、ガスクロマトグラフィー／マススペクトロメトリー (GC/MS) による代謝産物の一斉分析 (化学診断)、酵素活性の測定 (酵素診断)、DNA 診断などの遺伝学的検査である。昨年度の調査時点では、13 施設により、のべ 52 種類の検査項目について提供がなされており、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。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（DNA 診断）の検査会社による提供状況

これまでに把握しえた限りにおいては、新生児タンデムマス・スクリーニング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存在しなかった。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。

その理由について大手の臨床検査提供企業2社の遺伝子検査担当者と討議したところ、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、完全な赤字検査である。
- ・ 各遺伝子検査項目の立ち上げ自体にもそれなりの費用が掛かるが、予想される年間検体数はそれに見合わないほど数少ない。
- ・ 検査結果の報告に際して十分な情報提供ができない。すなわち、同定された遺伝子変化が病因であるか、あるいは機能に大きな影響を及ぼさない遺伝子多型であるのかの判断をするだけの専門的知識を会社として有していない困難。
- ・ 報告した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データや専門的知識を会社として保有していない。
- ・ 各検査の試薬キットが存在せず、体外診断薬として承認されていない試薬や検査機器（シークエンサーなど）を用いて社内で独自に検査方法を確立することへの懸念。

D. 考察

新生児マススクリーニング対象疾患に対する確定診断検査は、生涯にわたる治療を開始するための確証として極めて重要である。また、病型の確定をおこなって治療方針を決定する際にも有用である。さらに、遺伝カウンセリングへの情報提供を行い、次子の罹患リスクの推定を行うとともに、出生前診断などの選択肢を両親に提示することも必要である。

これらの検査には、一般臨床検査と異なる特

殊な技術が必要とされ、院内で検査を実施することは実際上不可能である。昨年度の調査では、これらの検査についてはおもに大学の研究室が研究費を充当して提供している実態が明らかとなった。

平成24年に新生児タンデムマス・スクリーニング対象疾患群の16種類の疾患に対してその遺伝子検査が保険適用となる画期的な措置が取られた。しかしながら、本調査で明らかとなったように、その提供状況は全く改善されなかった。その最大の理由は、(1)4,000点では赤字となる、(2)結果報告に必要な専門的知識がない、ということであった。

遺伝子検査のコストについて、海外の検査会社による提供価格を調査したところ、タンデムマススクリーニング対象疾患のプロピオン酸血症は2,000ユーロ（約25万円、ベルギーのGENDIA社による）あるいは4,830ドル（約46万円、米国のGeneDX社による）、またメチルマロン酸血症（MUT型）は、800ユーロ（約10万円、GENDIA社）あるいは1,690ドル（約16万円、GeneDX社）であった。また、これらの遺伝子検査を国内で提供しているNPO法人オーファンネットジャパンでは、プロピオン酸血症が11万5千円、メチルマロン酸血症（MUT型）が6万5千円であった。オーファンネットジャパンは非営利組織で、試薬実費だけで検査を提供しており、検査機器の購入・維持・運転費および人件費などは含まれていない。そのため海外の検査会社に比べて破格の低価格で検査を提供できているが、少なくともこの価格を上回らなければ、商業的な検査提供は不可能と考えられる。

タンデムマス対象疾患の中には、わが国において世界に先駆けて遺伝子変異が明らかにされたものも少なくない。具体的には、MCAD欠損症、複合カルボキシラーゼ血症、VLCAD欠損症などが挙げられる。前2者は本分担研究者らによって、日本の科学研究費を用いて解明された研究成果である。私たちの研究室では長年にわたってこれらの遺伝子検査を臨床サービスとして無償で提供し続けてきたが、もはや研究として成立しなくなったため検査提供を断腸の思いで中止した経緯がある。一方、欧米ではこれらの遺伝学的検査が標準医療として実施されており、わが国発祥の医学研究成果が欧米でのみ活用されて

いるという皮肉な現状となっている。

稀少疾患における遺伝子検査結果の解釈は、その疾患に通暁した専門家でないとは困難なことも多い。同定された遺伝子変異が病因となっているか、あるいは単なる多型なのかということについては、研究の歴史の中でたびたび評価が反転したことも多く、当該疾患に関連する論文を網羅・把握している必要がある。検査提供にあたって「結果解釈に特殊な専門的知識が必要」という点については、大学の各疾患専門家と検査会社を有機的にリンクさせることによって問題解決を図ることが可能かもしれない。この点について検査会社の担当者と討議したが、医師による結果解釈が付加されるとさらにコストがかかる、国公立所属の研究者・医師と民間検査会社との間の契約はしばしば困難などの指摘を受けた。

またさらに、今後は単なる検査提供だけではなく、主治医が診断をおこなうプロセスを支援するとともに、治療をおこなうにあたっての医学的な助言を提供すること、さらには陽性患者に対する情報提供、心理的支援、社会的支援も重要と考えられる。また全国的な患者数の把握と、登録・追跡をおこない、適切な診療提供を支援することが必要である。患者会との連携による peer support の提供も望まれる。これらの活動を統括するとともに、全国のスクリーニング実施施設と診療施設をコーディネートし、精度管理、研修・啓発企画などの中心となる組織を構築する事が喫緊の課題と考えられる。

E. 結論

平成24年に新生児タンデムマス・スクリーニング対象疾患群の遺伝子検査が保険適用となったが、実際には保険での提供がなされていない。保険点数の見直しとともに、単なる検査提供にとどまらない包括的な診療支援体制を整備する

ことが必要と考えられる。

F. 健康危険情報

緊急を要するものはない

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Metoki H, Ohkubo T, Obara T, Akutsu K, Yamamoto M, Ishikuro M, Sakurai K, Iwama N, Katagiri M, Sugawara J, Hirose T, Sato M, Kikuya M, Yagihashi K, Matsubara Y, Yaegashi N, Mori S, Suzuki M, Imai Y; BOSHI Study Group. Daily serial hemodynamic data during pregnancy and seasonal variation: the BOSHI study. *Clin Exp Hypertens*. 34 (4): 290-6, 2012.
2. Patrinos GP, Smith TD, Howard H, Al-Mulla F, Chouchane L, Hadjisavvas A, Hamed SA, Li XT, Marafie M, Ramesar RS, Ramos FJ, de Ravel T, El-Ruby MO, Shrestha TR, Sobrido MJ, Tadmouri G, Witsch-Baumgartner M, Zilfalil BA, Auerbach AD, Carpenter K, Cutting GR, Dung VC, Grody W, Hasler J, Jorde L, Kaput J, Macek M, Matsubara Y, Padilla C, Robinson H, Rojas-Martinez A, Taylor GR, Vihinen M, Weber T, Burn J, Qi M, Cotton RG, Rimoin D; (International Confederation of Countries Advisory Council) . Human variome project country nodes: Documenting genetic information within a country. *Hum Mutat*. 2012 [Epub ahead of print]

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

Ⅱ. 分担研究報告書

4. 患者の QOL 向上に関する研究

研究分担者 大浦敏博（仙台市立病院小児科）

分担研究課題

患者の QOL 向上に関する研究

研究分担者 大浦敏博（仙台市立病院小児科、東北大学小児病態学分野）

研究要旨

新生児マス・スクリーニング対象疾患患者の QOL を考えるうえで、その治療に不可欠である特殊ミルクの問題は避けて通れない。今回、特殊ミルクの安定供給上の問題点について整理した。薬価収載されている特殊ミルク 2 品目は 20 歳以降小児慢性特定疾患の適応が外れるため、経済的負担が大きくなる。また患者にとっては治療用食品も高額となっている。登録特殊ミルク 25 品目は掛かる費用の 50% が公費、残りが乳業メーカー負担で患者負担は無い。しかし対象年齢は 20 歳未満であるため、成人期に達した患者に供給する場合は全額メーカー負担となっており、企業の負担が過重になっている。

A. 研究目的

1) 初めに

新生児マス・スクリーニング対象疾患の多くは治療用特殊ミルクを用いた食事療法が不可欠である。その為、特殊ミルクを安定的に且つ患者への過重な経済的負担なく供給することは患者家族の QOL を考える上で重要である。

2) 特殊ミルク共同安全開発委員会について

我が国では 1977 年 10 月に全国規模の新生児マス・スクリーニングが開始された。1980 年 12 月に厚生事務次官通達「昭和 55 年特殊ミルク共同安全開発事業助成費の国庫補助について」が出され、恩賜財団母子愛育会総合母子保健センターに助成金を交付、研究開発部に特殊ミルク事務局を置き、特殊ミルク共同安全開発委員会（以下本委員会）が組織された。本委員会の主な業務は先天代謝異常症のマス・スクリーニングにより発見された患児およびその他の先天代謝異常患児の治療のために使用される「登録特殊ミルク」の改良開発と安定供給である。

3) 分類

現在、健康保険が適応となる薬価収載品としてフェニルケトン尿症とメープルシロップ尿症用の二つの特殊ミルクが出されている。また、特殊ミルク事務局で扱われる登録特殊ミルク（25 品目）、登録外特殊ミルク（13 品目）と有料の市

販品（10 品目）がある。今回、特殊ミルクの供給上の問題点を整理し、さらに患者家族の経済的負担についても現状を調査する。

B. 研究方法

PKU 親の会連絡協議会の協力を得て、その経済的負担について、メールでの意見聴取および親の会で行われたアンケート調査の結果を参照した。登録および登録外特殊ミルクのデータに関しては特殊ミルク事務局より資料の提供をうけた。

C. 研究結果

1. 特殊ミルクの問題点

1) 薬価収載品目

現在、フェニルアラニン除去ミルク配合散「雪印」とロイシン・イソロイシン・バリン除去ミルク配合散「雪印」の 2 品目がある。この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治療研究事業による医療費助成が適応にならないため、その 3 割が自己負担分となり、さらに治療用食品、医療費など高額の出費が科せられることになる。親の会で行ったアンケートの結果を表 1 に示した。経済的理由で治療を中断する例もみられた（親の会会報 39 号）。

2) 登録特殊ミルク

特殊ミルク共同安全開発委員会により、一定の基準のもとに品質や成分、使用法などが検討されたミルクである。タンデムマススクリーニングで発見される患児の治療に必要な特殊ミルクの多くが登録特殊ミルクである。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%ずつ負担している。年間約15,000kg供給されている。

登録特殊ミルクの供給は一部の例外を除き20歳未満に限定されているが、治療は20歳で中止できるわけではない。20歳以上に対する登録特殊ミルクの供給は13%を占めるが、乳業メーカーが全額負担している。

3) 登録外特殊ミルク

登録特殊ミルクから外れた品目であり、先天

代謝異常以外にも吸収障害や電解質異常などが含まれる。全額乳業メーカーの負担になっている。タンデムマススクリーニング対象疾患用特殊ミルクとしてはアルギニン血症用フォーミュラがあるが、その出荷量は少ない。登録外特殊ミルクは年間約7000kg供給されているが、その約80%が「明治ケトンフォーミュラ（817-B）」と「明治低カリウム・中リンフォーミュラ（8806）」で、それぞれ難治性てんかんと慢性腎不全に用いられている。

D. 考察

特殊ミルクの分類と課題を表2にまとめた。先天代謝異常症に用いる特殊ミルクは品目数が多く、それぞれの製造量は少ない。その為、平均単価は一般調整粉乳の5倍と高額である。商品化するにしても、供給量が少ないため採算を取ることが困難であることが問題点と考えられる。

表1. PKU親の会での医療費等アンケート結果

> 検査費用: (円/回) <ul style="list-style-type: none"> 18~19歳: 3,000以下(1名)、3,001~6,000(4名) 20~29歳: 3,000以下(9名)、3,001~6,000(14名)、6,001~9,000(6名) 無回答(2名) 30歳~ : 3,000以下(5名)、3,001~6,000(6名)、6,001~9,000(2名)、無回答(3名) 	
----- > 特殊ミルク処方に掛かる費用(円/回) <ul style="list-style-type: none"> 20~29歳: 20,000以下(7名)、20,001~40,000(9名)、40,001~60,000(3名) 60,001~(6名)、無回答(5名) 30歳~ : 20,000以下(8名)、20,001~40,000(5名)、40,001~60,000(1名) 無回答(2名) 	
----- > 治療食品代: (円/月) <ul style="list-style-type: none"> 18~19歳: 10,001~20,000(2名)、20,001~40,000(1名)、40,001~60,000(1名) 20~29歳: 10,000以下(10名)、10,001~20,000(10名)、20,001~40,000(4名) 無回答(6名) 30歳~ : 10,000以下(5名)、10,001~20,000(6名)、20,001~40,000(2名) 無回答(2名) 	

表2. 特殊ミルクの分類と課題

	医薬品目 (2品目)	登録品目 (25品目)	登録外品目 (13品目)
分類	医療用医薬品 (処方箋が必要)	特殊ミルク共同安全開発委員会により、品質や成分、使用方法が検討された品目	品質や成分、使用方法が検討された品目
入手	・処方箋にて薬局で購入（20歳未満は小慢研究事業により一部公費負担）	・公費、メーカー負担により無料 ・医師が事務局に依頼し承認を受ける	・メーカー全額負担により無料 ・医師が事務局に依頼
適応条件	適応疾患	・先天代謝異常症 ・20歳未満	原則として先天代謝異常症
課題	20歳以降の助成が無い	・新規登録品目が困難 ・適応外や20歳以降の使用量が増加	使用量の増加 (8806, 817-B)

フェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症は生涯にわたり、特殊ミルクを用いた食事療法を継続する必要がある。しかし、20歳以降は治療用食品に加えて特殊ミルクにかかる経済的負担も大きく、親の会のアンケート結果からも経済的問題で治療が中断されない様に何らかの援助を求める意見があった。患者のQOLを考えると最も重要なのは、病気が治療によりコントロールされ、通常の生活を送れることである。その為にも特殊ミルクが生涯にわたり患者に安定的に供給される仕組みを、経済的問題を含めて検討する必要がある。

登録特殊ミルクも対象年齢が20歳未満であり、20歳以上に提供された経費は全額乳業メーカー負担となっている。登録外特殊ミルクの負担と合わせ、企業の負担が増大しており、患者の治療用特殊ミルクが企業の負担の上に成り立っている現状は、今後の安定供給の観点からも大きな課題といえる。

E. 結論

医薬品の特殊ミルクは20歳以降の経済的負担が問題となっている。登録および登録外特殊ミルクに関しては、乳業メーカーの負担が増大し

ている現状が明らかとなった。

謝辞：この報告書をまとめるにあたり、資料を提供して頂いたフェニルケトン尿症親の会連絡協議会斎藤ゆみこ様、特殊ミルク事務局木下和子様、青木菊麿様に深謝します。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

- 1) 知っておきたい特殊ミルクの知識. 第115回日本小児科学会学術集会, モーニング実践講座. 平成24年4月22日, 福岡
- 2) 特殊ミルクの現状と課題. 日本小児科連絡協議会 特殊ミルク安定供給のためのワークショップ. 平成24年11月11日, 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

II. 分担研究報告書

5. 新技術を応用した有機酸血症治療法の開発

研究分担者 宮崎 徹 (東京大学大学院医学系研究科教授)

分担研究課題

新技術を応用した有機酸血症治療法の開発

研究分担者 宮崎 徹（東京大学大学院医学系研究科 教授）

研究要旨

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

A. 研究目的

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

B. 研究方法

(1) ナノ・ミセル型遺伝子ベクター作製・最適化

遺伝子発現プラスミド DNA をポリエチレングリコールの外殻で被ったものがナノ・ミセルベクターの基本形である。DNA とポリエチレングリコールの量比、コンドロイチン硫酸（細胞取り込み効率を上昇すると言われている）の必要

性、他の親水性外殻の使用の検討など本使用目的への最適化を行う。

(2) GFP 発現ベクターを用いた胎児肝臓での発現に関する予備実験

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

(3) PCC-/- マウスの胎児治療法確立

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

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

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

以上の解析結果から、PA胎児治療の最適プロトコルを確立する。

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

C. 研究結果

平成23年度までに、DNAとポリエチレングリコールの量比、コンドロイチン硫酸の濃度等の検討により、ナノ・ミセルベクターの条件検討を行い、PCC^{-/-}マウス胎児治療のための最適化ベクターの条件を見出した。さらに、GFP発現DNAを包埋したナノ・ミセルベクターの、羊膜上血管からの注入する量を10 μ l～300 μ l（DNA濃度に換算して1mg/mlに固定してある）の間で数点取り、肝臓におけるGFPの発現で最適量について検討した。また、注入速度については100 μ l/分～1ml/分で検討した。その結果、量は100～150 μ l、速度は150～200 μ l/分が、デリバリー効率と導入した遺伝子の発現持続性への効果と、およびレシピエント胎児に対するダメージの少なさの面で、最適であることが確認された。

以上の条件を用い、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を行った結果、この方法ではほぼ肝臓特異的にナノ・ミセルベクターを取り込ませる事ができ、さらにGFPの発現は出生後2週間以上維持されることを確認した。

平成24年度は、以上の予備実験をもとに、さらに条件検討を加えながら、PCCナノ・ミセル

ベクター（CAGGS-PCCAベクターをナノ・ミセルに包埋したもの）を、PCC^{+/-}オスと交配したPCC^{+/-}メス子宮中のE17マウス胎児に、羊膜上血管より注入し、移入PCCA遺伝子の発現、PCC活性の補填度、さらにPCC^{-/-}新生仔の生存について詳細に検討した。ナノ・ミセルベクター移入後、メスマウスの腹壁を縫合し、E19.5まで飼育したのち、帝王切開法にて胎児を摘出し、仮親に飼育させた。確率上、1/4の割合で新生児中にPCC^{-/-}が存在するはずである。

通常PCC^{-/-}マウスは出生後36時間以内に重度のケトアシドーシスを発症し死亡する。ナノ・ミセルベクターを移入された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匹認められた（図1）。それぞれのマウスの肝臓におけるPCC（PCC α 鎖：PCCA）遺伝子のmRNA発現レベルを定量的RT-PCRにて解析した。生後5日目の野生型マウス（WT）の肝臓における発現を100%として換算したものを図1に示す。96時間生存群と120時間生存群におけるPCCA mRNA発現レベルはKO（PCCAの発現欠損）マウスに比べて有意な増加（ $p < 0.05$ ）を示す。以前我々は肝臓特異的にPCCA遺伝子を野生型の20%程度発現させたトランスジェニックマウスでPCC^{-/-}マウスの病態を、生存も含め完全にレスキューしている。この20%が疾患レスキューのクリティカルライン（C.P.）となると考えられるが、今回ナノ・ミセルを移入したPCC^{-/-}マウスではい

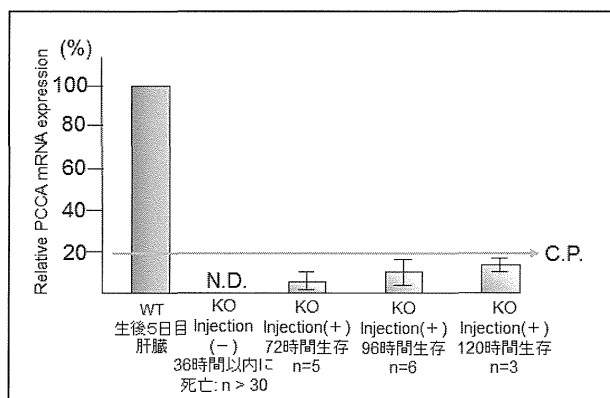


図1：PCCナノ・ミセル移入によるPCC遺伝子発現の補填と生存時間延長効果

ナノ・ミセル移入により生存時間が延長したPCC^{-/-}（KO）マウス肝臓におけるPCCA mRNA発現。C.P.（=野生型マウス（WT）の20%）：トランスジェニックマウスで生存を完全にレスキュー出来た際の発現レベル

れも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している。

D. 考察

以上の様に、昨年度までに検討し、最適条件を確立したナノ・ミセルベクターの作製法・移入法を用い、PCC^{-/-}の胎児でPCC酵素活性の補填を試みた。昨年度も一部試みたが、本年度はさらに実施例を増やし、発現と生存時間について詳細な解析を行った。移入が成功し、肝臓でのPCC発現補填が行われたPCC^{-/-}マウスでは、いずれも、疾患レスキューラインとなる、正常の内在性酵素活性の20%という目標には届かなかった。しかし、通常生後36時間以内にケトアシドーシスによって全例死亡するPCC^{-/-}マウスが、ナノ・ミセル移入によって最長120時間程度まで生存することを確認した。今後その補填効率を上昇させる必要がある。現在、(1)現在のE17より早期、まだ肝細胞の増殖が強い時期に注入し、ナノ・ミセルの取り込み率を向上できないか、(2) α 鎖だけでなく β 鎖の発現ベクターも同時に移入して酵素活性を向上できないか、(3)発現ベクターのプロモーターを変更する必要はないか、(4)新生児期に全身性に静注し発現にブーストをかけられないか、などについて順次検討を行っている。今後これらを検討し、補填する酵素活性を向上させ、PAの胎児治療の完成を目指したい。

E. 結論

胎児肝臓に対するナノ・ミセルを用いた遺伝子デリバリーの条件最適化を行い、PAのモデルマウスに対して胎児治療を試みた。残念ながら致死率改善までは到達できなかったが、PCC酵素活性の補填と生存時間延長に成功することが出来た。今後さらに検討を重ね、補填効率を高め、PAの胎児治療法完成を目指したい。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Matsushima, H., Geng, S., Lu, E., Okamoto, T.,

Yao, Y., Mayuzumi, N., Kotol, P. F., Chojnacki, B., Miyazaki, T., Gallo, R. L. & Takashima, A. Neutrophil differentiation into a unique hybrid population exhibiting dual phenotype and functionality of neutrophils and dendritic cell. *Blood* (in press : prepublished online Jan 10, 2013)

2) Geng, S., Matsushima, H., Okamoto, T., Yao, Y., Lu, R., Page, K., Blumenthal, R. M., Ward, N. L., Miyazaki, T. & Takashima, A. Emergence, origin, and function of neutrophil-dendritic cell hybrids in experimentally induced inflammatory lesions in mice. *Blood* (in press: prepublished online Jan 10, 2013)

3) Mori, M., Kimura, H., Iwamura, Y., Arai, S. & Miyazaki, T. Modification of N-glycosylation modulates the secretion and lipolytic function of Apoptosis Inhibitor of Macrophage (AIM). *FEBS Lett.* 586: 3569-3574 (2012)

4) Iwamura, Y., Mori, M., Nakashima, K., Mikami, T., Murayama, K., Arai, S. & Miyazaki, T. Apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) diminishes lipid droplet-coating proteins leading to lipolysis in adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 422: 476-481 (2012)

2. 学会発表

1) 中四国肝臓病研究会 特別講演 宮崎 徹 「脂肪融解タンパク質 AIM による肥満、脂肪肝、肝臓の病態橋渡し」岡山, 2013年1月12日

2) 動脈硬化研究会 特別講演 宮崎 徹 「脂肪融解タンパク質 AIM は様々な現代的疾患分撲滅の経穴たりえるか」横浜, 2012年12月13日

3) 第54回日本先天代謝異常学会総会・第11回アジア先天代謝異常症シンポジウム 招待講演 宮崎 徹 「脂肪融解タンパク質 AIM による様々な現代病の統一的な理解と新しい診断・治療戦略」岐阜, 2012年11月15日

4) International Symposium Guest Speaker Toru Miyazaki 「AIMing at Metabolic Syndrome-Towards development of novel therapies of modern metabolic diseases via AIM-」台湾, 2012年10月31日

- 5) 第34回日本臨床栄養学会総会 / 第33回日本臨床栄養協会総会 (第10回大連合大会) 特別講演 宮崎 徹 「脂肪融解タンパク質 AIM による様々な生活習慣病の統一的な理解と新しい診断・治療戦略」 東京, 2012年10月6日
 - 6) 第19回日本免疫毒性学会学術大会 特別講演 宮崎 徹 「AIM (Apoptosis Inhibitor of Macrophage) がひも解く生活習慣病としての自己免疫疾患」 東京, 2012年9月16日
 - 7) 第8回糖尿病と腎と循環器フォーラム 特別講演 宮崎 徹 「脂肪融解タンパク質 AIM による様々な生活習慣病の統一的な理解と新しい診断・治療戦略」 神奈川, 2012年7月27日
 - 8) 第30回内科内分泌代謝学サマーセミナー 特別講演宮崎徹 「生活習慣病・自己免疫疾患・癌：現代社会で増加する複合的疾患群の病態を AIM がひも解く」 群馬, 2012年7月13日 -14日
 - 9) ICI-ECE 2012 Symposium Chronic Inflammation and Insulin Resistance, Guest Speaker Toru Miyazaki 「Macrophage derived apoptosis inhibitor expressed by macrophages (AIM)」 イタリア, 2012年5月5日 -9日
 - 10) 第85回日本内分泌学会 特別講演 宮崎徹 「AIM が繋ぐ免疫と代謝・循環器・消化器疾患－病態解明と新規治療法に向けた新しい視点－」 名古屋, 2012年4月21日
- H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし