

19. Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248–254
20. Honma Y, Ishii Y, Yamamoto-Yamaguchi Y, Sassa T, Asahi K (2003) Cotylenin A, a differentiation-inducing agent, and IFN- α cooperatively induce apoptosis and have an antitumor effect on human non-small cell lung carcinoma cells in nude mice. *Cancer Res* 63:3659–3666
21. Schulze-Bergkamen A, Okun JG, Spiekerkotter U, Lindner M, Haas D et al (2005) Quantitative acylcarnitine profiling in peripheral blood mononuclear cells using in vitro loading with palmitic and 2-oxoadipic acids: biochemical confirmation of fatty acid oxidation and organic acid disorders. *Pediatr Res* 58:873–880
22. Tein I, De Vivo DC, Bierman F, Pulver P, De Meirleir LJ et al (1990) Impaired skin fibroblast carnitine uptake in primary systemic carnitine deficiency manifested by childhood carnitine-responsive cardiomyopathy. *Pediatr Res* 28:247–255
23. Stanley CA (1987) New genetic defects in mitochondrial fatty acid oxidation and carnitine deficiency. *Adv Pediatr Infect Dis* 34:59–88

PEDIATRICS®

OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS

Coagulopathy in Patients With Late-Onset Ornithine Transcarbamylase Deficiency in Remission State: A Previously Unrecognized Complication

Kenji Ihara, Makoto Yoshino, Takayuki Hoshina, Nawomi Harada, Kanako Kojima-Ishii, Mika Makimura, Yuki Hasegawa, Yoriko Watanabe, Seiji Yamaguchi and Toshiro Hara

Pediatrics 2013;131:e327; originally published online December 3, 2012;
DOI: 10.1542/peds.2012-0030

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:

<http://pediatrics.aappublications.org/content/131/1/e327.full.html>

PEDIATRICS is the official journal of the American Academy of Pediatrics. A monthly publication, it has been published continuously since 1948. PEDIATRICS is owned, published, and trademarked by the American Academy of Pediatrics, 141 Northwest Point Boulevard, Elk Grove Village, Illinois, 60007. Copyright © 2013 by the American Academy of Pediatrics. All rights reserved. Print ISSN: 0031-4005. Online ISSN: 1098-4275.

American Academy of Pediatrics

DEDICATED TO THE HEALTH OF ALL CHILDREN™



Coagulopathy in Patients With Late-Onset Ornithine Transcarbamylase Deficiency in Remission State: A Previously Unrecognized Complication

AUTHORS: Kenji Ihara, MD, PhD,^a Makoto Yoshino, MD, PhD,^b Takayuki Hoshina, MD, PhD,^a Nawomi Harada, PhD,^b Kanako Kojima-Ishii, MD, PhD,^a Mika Makimura, MD, PhD,^a Yuki Hasegawa, MD, PhD,^c Yoriko Watanabe, MD, PhD,^b Seiji Yamaguchi, MD, PhD,^c and Toshiro Hara, MD, PhD^a

^aDepartment of Pediatrics, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan; ^bDepartment of Pediatrics and Child Health, Kurume University School of Medicine; and ^cDepartment of Pediatrics, Shimane University School of Medicine

KEY WORDS

coagulopathy, late-onset type, ornithine transcarbamylase deficiency

ABBREVIATIONS

ALT—alanine aminotransferase

AST—aspartate aminotransferase

OTC—ornithine transcarbamylase

PIVKA-II—des- γ -carboxyprothrombin

PT—prothrombin time

VK—vitamin K

www.pediatrics.org/cgi/doi/10.1542/peds.2012-0030

doi:10.1542/peds.2012-0030

Accepted for publication Jul 31, 2012

Address correspondence to Kenji Ihara, MD, PhD, Department of Pediatrics, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, 3-1-1, Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, 812-8582, Japan. E-mail: k-ihara@pediatr.med.kyushu-u.ac.jp

PEDIATRICS (ISSN Numbers: Print, 0031-4005; Online, 1098-4275).

Copyright © 2013 by the American Academy of Pediatrics

FINANCIAL DISCLOSURE: The authors have indicated they have no financial relationships relevant to this article to disclose.

FUNDING: No external funding.

abstract

The late-onset type of ornithine transcarbamylase (OTC) deficiency is almost asymptomatic before an abrupt onset of metabolic crisis in adolescence. This study focused on coagulopathy in OTC deficiency. We collected laboratory data regarding coagulation from OTC-deficient patients in Kyushu University Hospital in Japan or from cases reported from previous articles. Five patients with late-onset OTC deficiency, admitted to Kyushu University Hospital at the first metabolic attack or who presented at the outpatient clinic in the hospital, were analyzed, and 3 additional cases of OTC deficiency with coagulopathy in previous articles were included. As a result, the blood ammonia levels in these patients were remarkably high at the time of the metabolic attack, and prothrombin times were far below the normal level. The prothrombin times remained significantly abnormal on remission, despite almost normal levels of blood ammonia, serum aspartate aminotransferase, and alanine aminotransferase. Coagulation abnormality is a previously unidentified complication of OTC deficiency in remission state. This information will aid in the identification of patients with OTC deficiency before a lethal metabolic crisis occurs during adolescence. *Pediatrics* 2013;131:e327–e330

Ornithine transcarbamylase (OTC) deficiency, an X-linked disorder, is the most frequent urea cycle disorder characterized by an acute clinical manifestation of hyperammonemia, accounting for >60% of all urea cycle disorders.¹ The classic type of OTC deficiency demonstrates a severe hyperammonemia during infancy and sometimes proves fatal, whereas the late-onset type is almost asymptomatic before an abrupt onset of metabolic crisis in adolescence.²⁻⁴ The early diagnosis of the late-onset type is sometimes difficult because the first crisis usually appears in either adolescent or adult patients who have exhibited normal growth and development. Specific findings of abnormal metabolites in urine such as orotic acid or uracil are critical for making an accurate diagnosis of OTC deficiency.⁵ In contrast, the biochemical markers in routine examinations are usually within the normal ranges. Consequently, the identification of specific markers in a routine biochemical analysis would be clinically beneficial for patients with OTC deficiency. Coagulopathy in OTC deficiency is usually accompanied by acute liver failure, and slight changes in the coagulation data in a remission state have been overlooked as nonspecific findings. Hence, coagulopathy is not recognized as a consequence of OTC deficiency by itself. This report focused on the presence of any underlying coagulation abnormality in OTC deficiency during a metabolically compensated state. We retrospectively collected laboratory data on coagulation from the clinical records of OTC-deficient patients of Kyushu University Hospital in Japan. A bibliographic search was also conducted to determine whether any coagulopathy had previously been noticed before the abrupt onset of metabolic attack in cases of OTC deficiency.

METHODS

Patients with OTC deficiency, admitted to Kyushu University Hospital at the first

metabolic attack or who presented at the outpatient clinic in the hospital from January 1993 to December 2010, were enrolled in this study. A systematic search of the PubMed database was conducted for all articles from 1990 through 2012 with the terms "OTC deficiency," "coagulopathy," "coagulation," or "prothrombin time" in the title, abstract, or key words to determine whether any articles described coagulation abnormality before and after the onset of metabolic attack in OTC-deficient patients.

RESULTS

Five patients were identified at our hospital as follows: patient 1 was a 10-year-old boy with OTC deficiency underlying asymptomatic coagulopathy of unknown etiology before the onset of metabolic crisis. Two patients (patients 2 and 4) were diagnosed during the asymptomatic period because the brother of patient 2 and the maternal uncle of patient 4 died of OTC deficiency at the first metabolic attack. Patients 3 and 5 experienced the first attack during infancy (10 months) and childhood (10 years), respectively. The database search identified 3 publications, and 3 cases of OTC deficiency from these articles with the description of the coagulation at remission state are shown in Table 1 (patients 6-8).⁶⁻⁸

Six of these 8 patients were male. Five patients were successfully treated and maintained normal growth and development for years. One patient died a sudden death at 19 years of age. The 2 patients described in the literature developed a metabolic attack at 24 years of age and died at the first attack. The levels of blood ammonia of these patients were remarkably high during the metabolic attack, whereas other laboratory data such as aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) levels were indistinctive.

In contrast, prothrombin times (PTs) were below the normal level at the metabolic attack and were also considerably abnormal during remission. The blood ammonia, serum AST, ALT, or albumin levels were close to normal ranges while the patients were being managed by using either mild restriction of protein intake or oral arginine supplementation (Table 1).

DISCUSSION

Coagulation abnormalities have rarely been recognized in association with OTC deficiency. Coagulopathy may occur if the metabolic attacks cause severe liver damage or disseminated intravascular coagulation, but such critical conditions were not found in any of these patients. These cases also demonstrated the presence of abnormalities in coagulation even during remission. The findings suggest that coagulopathy may be a useful sign for detecting an underlying OTC deficiency, especially in boys with nonspecific clinical symptoms such as cyclic vomiting or psychological problems. To the best of our knowledge, no common genetic coagulopathy has yet been identified in the Japanese population; therefore, it is likely that this coagulation abnormality may be specific to OTC deficiency.

The pathogenesis of such a coagulation abnormality is unclear. This coagulopathy does not seem similar to that in fulminant hepatic failure with the collapse of protein synthesis in the liver. The coagulopathy in OTC deficiency might be under the same mechanism that occurs with vitamin K (VK) deficiency because elevation of serum des- γ -carboxyprothrombin (PIVKA-II) levels was sometimes detected, and VK administration seemed effective for these patients. The coagulation factors II, VII, IX, and X are activated in a VK-dependent manner during carboxylation at the γ -terminus-glutamate in

TABLE 1 Clinical, Molecular, and Laboratory Data of the Patients

Variable	RR	Patient No.							
		1	2	3	4	5	6 (Thurlow et al, ⁷ 2010)	7 (Schimanski et al, ⁶ 1996)	8 (Zammarchi et al, ⁸ 1996)
Gender		M	M	M	M	M	M	F	F
Proband		Himself	Brother ^a	Himself	Maternal uncle ^a	Himself	Himself	Herself	Herself
Transmission type		ND	Maternal	Maternal	Maternal	ND	Maternal	ND	ND
OTC gene mutation		R40H	R40H	IVS2-1G>A	R40H	R40H	R40C	Deletion	ND
Diagnosis									
Age		10 y	PP	8 mo	1 mo	10 y	24 y	24 y	11 mo
Method		BDx	GDx	BDx	BDx	BDx	BDx	BDx	BDx
Age at first attack		10 y	12 y	7 d	None	10 y	24 y	24 y ^c	None
Representative data at attack									
AST/ALT, U/L	13–33/6–30	31/23	16/14	86/126 ^d	—	67/154 ^d	114 (AST) ^d	52/47 ^d	—
PT, % [INR]	≥70% [0.90–1.10]	44 [1.59] ^d	56 [1.37] ^d	11 ^d	—	17.5% ^{d,e}	ND [2.7] ^d	ND [3.0] ^d	—
APTT, s	26.0–41.0	38.3	38.4	64.0 ^d	—	60.7 ^d	ND	ND	—
Ammonia, μmol/L	7–39	175 ^d	399 ^d	112 ^d	—	214 ^d	348 ^d	380 ^d	—
Representative data at remission, age		15 y	17 y	23 y	16 y	12 y	24 y	24 y	11 m
AST/ALT, U/L	13–33/6–30	21/21	12/11	25/34 ^d	16/8	29/18	Normal	32/32 ^d	223/103 ^d
PT, % [INR]	≥70 [0.90–1.10]	58 [1.40] ^d	68 [1.20] ^d	69 [1.22] ^d	82 [1.11] ^d	64.1 ^{d,e}	ND [2.2] ^d	ND [3.0] ^d	50 ^d
APTT, s	26.0–41.0	42.1 ^d	40.6	44.0 ^d	32.0	30.3	47.0 ^d (RR: 29–37)	Normal	42 (RR: 30–45)
Ammonia, μmol/L	7–39	19	27	41	9	19	Normal	23.5	74 ^d
PIVKA-II, mAU/mL	<40	32	27	37	56 ^d	ND	ND	ND	ND
Serum albumin, g/dL	4.0–5.0	4.1	4.2	3.9	5.0	4.0	ND	ND	ND
Frequency of severe attack		Once	3 times	3 times	None	3 times	Once	Once	None
Long-term treatment		A, P	A	A, P	A	A, B	—	—	B, P, C
Outcome (age)		Healthy adolescent (16 y)	Healthy adolescent (17 y)	Healthy adult (24 y)	Healthy adolescent (17 y)	Dead (19 y)	Dead (24 y)	Dead (24 y)	Healthy (ND)

A, oral arginine supplement; APTT, activated partial thromboplastin time; B, oral sodium benzoate treatment; BDx, biochemical diagnosis based on the hypersecretion of orotic acid and uracil in urine without elevation of any specific amino acid in blood; C, oral citrulline treatment; GDx, genetic diagnosis by the analysis of the *OTC* gene; INR, international normalized ratio; ND, not described or not available; P, intake protein restriction; PP, during the prenatal period; RR, reference range.

^a Dead.

^b Deletion, T892del,G893del in exon 9.

^c In pregnancy.

^d The laboratory data out of RRs.

^e Hepaplastin test (normal range: 67%–138%).

their N-terminal domains, whereas in the absence of VK or in the presence of VK antagonists, hepatic VK-dependent carboxylase activity is inhibited, and PIVKA-II is released into the blood.⁹ It is possible that abnormal metabolites in association with OTC deficiency, such as orotic acid, might inhibit the hepatic VK-dependent carboxylase. In fact, hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinuria syndrome, which is a congenital error in the metabolism of ornithine accompanied with substantial elevations of orotic acid, is also associated with coagulopathy.^{10,11} In addition, a large amount of polyunsaturated fatty acids reduced the expression

of γ -glutamyl carboxylase in apolipoprotein E knock-out mice.¹² Taken together, orotic acid or other unknown abnormal products in common with hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinuria syndrome may affect the lipid metabolism and reduce the γ -glutamyl carboxylase activity and, consequently, cause coagulopathy. Further investigation is needed to understand the pathophysiology of coagulation in OTC deficiency. Moreover, the discovery of novel factor-specific inhibitors may provide valuable information for the design of new anticoagulation drugs with mechanisms of action distinct

from warfarin or novel oral anticoagulants.¹³

CONCLUSIONS

The current results suggest that coagulation abnormality is a previously unidentified complication of late-onset OTC deficiency in a metabolically compensated state. This information would be beneficial for undiagnosed patients to avoid lethal metabolic crises during adolescence.

ACKNOWLEDGMENT

We thank Professor Brian Quinn for help with the manuscript.

REFERENCES

1. Kido J, Nakamura K, Mitsubuchi H, et al. Long-term outcome and intervention of urea cycle disorders in Japan. *J Inherit Metab Dis.* 2012;35(5):777–785
2. Gilchrist JM, Coleman RA. Ornithine transcarbamylase deficiency: adult onset of severe symptoms. *Ann Intern Med.* 1987;106(4):556–558
3. Finkelstein JE, Hauser ER, Leonard CO, Brusilow SW. Late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in male patients. *J Pediatr.* 1990;117(6):897–902
4. Yoshino M, Nishiyori J, Yamashita F, et al. Ornithine transcarbamylase deficiency in male adolescence and adulthood. *Enzyme.* 1990;43(3):160–168
5. Grompe M, Jones SN, Caskey CT. Molecular detection and correction of ornithine transcarbamylase deficiency. *Trends Genet.* 1990;6(10):335–339
6. Schimanski U, Krieger D, Horn M, Stremmel W, Wermuth B, Theilmann L. A novel two-nucleotide deletion in the ornithine transcarbamylase gene causing fatal hyperammonia in early pregnancy. *Hepatology.* 1996;24(6):1413–1415
7. Thurlow VR, Asafu-Adjaye M, Agalou S, Rahman Y. Fatal ammonia toxicity in an adult due to an undiagnosed urea cycle defect: under-recognition of ornithine transcarbamylase deficiency. *Ann Clin Biochem.* 2010;47(pt 3):279–281
8. Zammarchi E, Donati MA, Filippi L, Resti M. Cryptogenic hepatitis masking the diagnosis of ornithine transcarbamylase deficiency. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1996;22(4):380–383
9. Shearer MJ. Vitamin K metabolism and nutrition. *Blood Rev.* 1992;6(2):92–104
10. Fecarotta S, Parenti G, Vajro P, et al. HHH syndrome (hyperornithinaemia, hyperammonaemia, homocitrullinuria), with fulminant hepatitis-like presentation. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29(1):186–189
11. Smith L, Lambert MA, Brochu P, Jasmin G, Qureshi IA, Seidman EG. Hyperornithinemia, hyperammonemia, homocitrullinuria (HHH) syndrome: presentation as acute liver disease with coagulopathy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1992;15(4):431–436
12. Vanschoonbeek K, Wouters K, van der Meijden PE, et al. Anticoagulant effect of dietary fish oil in hyperlipidemia: a study of hepatic gene expression in APOE2 knock-in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(11):2023–2029
13. Schulman S, Crowther MA. How I treat with anticoagulants in 2012: new and old anticoagulants, and when and how to switch. *Blood.* 2012;119(13):3016–3023

Coagulopathy in Patients With Late-Onset Ornithine Transcarbamylase Deficiency in Remission State: A Previously Unrecognized Complication

Kenji Ihara, Makoto Yoshino, Takayuki Hoshina, Nawomi Harada, Kanako Kojima-Ishii, Mika Makimura, Yuki Hasegawa, Yoriko Watanabe, Seiji Yamaguchi and Toshiro Hara

Pediatrics 2013;131:e327; originally published online December 3, 2012;
DOI: 10.1542/peds.2012-0030

Updated Information & Services	including high resolution figures, can be found at: http://pediatrics.aappublications.org/content/131/1/e327.full.html
References	This article cites 13 articles, 3 of which can be accessed free at: http://pediatrics.aappublications.org/content/131/1/e327.full.html#ref-list-1
Permissions & Licensing	Information about reproducing this article in parts (figures, tables) or in its entirety can be found online at: http://pediatrics.aappublications.org/site/misc/Permissions.xhtml
Reprints	Information about ordering reprints can be found online: http://pediatrics.aappublications.org/site/misc/reprints.xhtml

PEDIATRICS is the official journal of the American Academy of Pediatrics. A monthly publication, it has been published continuously since 1948. PEDIATRICS is owned, published, and trademarked by the American Academy of Pediatrics, 141 Northwest Point Boulevard, Elk Grove Village, Illinois, 60007. Copyright © 2013 by the American Academy of Pediatrics. All rights reserved. Print ISSN: 0031-4005. Online ISSN: 1098-4275.

American Academy of Pediatrics

DEDICATED TO THE HEALTH OF ALL CHILDREN™



今月の主題 周産期の臨床検査

話題

新しい新生児マススクリーニング：タンデムマス法について

山口 清次

臨 床 検 査

第 56 卷 第 7 号 別刷

2012年 7 月 15 日 発行

医学書院

新しい新生児マススクリーニング： タンデムマス法について*

山口清次¹⁾

KEYWORDS タンデムマス法, 新生児マススクリーニング, 有機酸代謝異常症, 脂肪酸代謝異常症, 拡大スクリーニング

[臨床検査 56:770-776, 2012]

1. はじめに

新生児マススクリーニングとは、知らずに放置するとやがて重大な健康被害の起こるような代謝疾患を、発症前に発見して障害を予防する事業である。わが国では1977年から全国的に開始され、これまでに約4,300万人の新生児が検査を受け、1万人以上の小児が障害から免れたと考えられている^{1,2)}。

新しいスクリーニング検査技術として、最近“タンデムマス法”が開発され普及しつつある^{3,4)}。タンデムマス法では、1回の検査で多数の疾患をスクリーニングできるため、小児の障害予防事業を拡大できる技術として普及しつつあるので、現状を紹介したい。

2. これまでの新生児マススクリーニング

わが国ではこれまで、表1に示すような6疾患が対象となっている。方法は、Guthrie法、酵素法、Beutler法、ELISA法(enzyme-linked immunosorbent assay)などが用いられている²⁾。このうち先天性甲状腺機能低下症は、頻度が約3,000人に1人と最も高く、治療薬(レボチロキシンナトリウム水和物)は安価で、早期に治療を開始すれば予後も良く、費用便益の最も良い対象疾患である。副腎過形成症も約1.7万人に1人で

ある。

一方、アミノ酸代謝異常症3疾患では、フェニルケトン尿症の発見頻度は7万人に1人であるが、他の2疾患は数十万人に1人と、極めて稀である。ガラクトース血症は3~4万人に1人発見されるが、大部分は門脈形成異常や原因不明の一過性の症例が占め、先天的酵素欠損によるガラクトース血症1型の頻度は80万人に1人である。極端に稀な疾患は、マススクリーニング対象疾患として疑問視されることもある。

3. タンデムマス法導入による拡大スクリーニング

タンデムマスは、質量分析計を直列に2台並べた構造の分析機器で、超高感度分析できる機器である。使用する検体はこれまでと同じ血液ろ紙の約3mmのパンチでよく、1回の分析で20種類以上の疾患を一斉スクリーニングができる。ランニングコストはこれまでとあまり変わらない。分析項目はアミノ酸とアシルカルニチンで、現在対象となっているアミノ酸代謝異常症3疾患の他に、有機酸・脂肪酸代謝異常症なども発見できるようになる^{5,6)}。

アミノ酸測定値に関しては、Guthrie法よりも精度がすぐれており、偽陽性、偽陰性も少ない。1回の分析は2分程度であり、1台のタンデムマスで、年間5万検体以上が処理できる。対象疾患が拡大すれば、それだけ発見される患者が増え、障害から救われる小児の数も増える。これを“拡大スクリーニング(expanded screening)”という⁷⁾。

* : Expanded Newborn Mass Screenig for Inherited Metabolic Disease using Tandem Mass Spectrometry

1) YAMAGUCHI Seiji 島根大学医学部小児科・教授

表1 これまでのマススクリーニングの対象疾患と発見頻度

疾患	頻度	費用 便益	検査法
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	1:7万 1:50万 1:80万	○ △ △	Guthrie 法 (または, 酵素法, HPLC 法)
4) ガラクトース血症(全体) (1型) (2型)	1:3万* (1:80万) (1:60万)	△	Peigen 法 (または, 酵素法, Beutler 法)
5) 先天性甲状腺機能低下症 6) 先天性副腎過形成	1:3,000 1:1.7万	◎ ○	ELISA 法

* : ガラクトース高値の多くは酵素欠損でなく, 門脈奇形やシトリン欠損症などの2次性のもので, 真の先天性ガラクトース血症は極めて稀である. 6疾患全体での発見頻度は約1,600人に1人である.

HPLC : high-performance liquid chromatography, ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay.

表2 タンデムマス法で発見できる代謝異常症の概略と診断マーカー

	タンデムマスの対象疾患	主な臨床症状	診断マーカー	頻度**
アミノ酸代謝異常症	● 1) フェニルケトン尿症*	けいれん, 発達遅滞	Phe	1:6万
	● 2) メープルシロップ尿症*	多呼吸, アシドーシス	Leu+Ileu, Val	1:156万
	● 3) ホモシスチン尿症*	遅れ, 発育異常	Met	1:78万
	● 4) シトルリン血症(1型)	興奮, 多呼吸, 昏睡	Cit	1:26万
	● 5) アルギニノコハク酸血症	興奮, 多呼吸, 昏睡	Cit, Cit/Arg, ASA	1:40万
	— 6) シトリン欠損症	一過性乳児肝炎類似症状	Cit, Cit/Ser, Phe, Met	1:8万
有機酸代謝異常症	● 1) メチルロン酸血症	アシドーシス, 遅れ	C3, C3/C2	1:12万
	● 2) プロピオン酸血症	アシドーシス, 遅れ	C3, C3/C2	1:5万
	● 3) イソ吉草酸血症	アシドーシス, 体臭	C5	1:52万
	● 4) メチルクロトニルグリシン尿症	筋緊張低下, ライ症候群	C5-OH	1:16万
	● 5) ヒドロキシメチルグルタル酸血症	重症低血糖, 発達遅滞	C5-OH	—
	● 6) 複合カルボキシラーゼ欠損症	湿疹, 乳酸アシドーシス	C5-OH	1:52万
	● 7) グルタル酸血症1型	アテトーゼ, 遅れ	C5-DC	1:18万
	— 8) βケトチオラーゼ欠損症	重症ケトアシドーシス発作	C5-OH, C5:1	—
脂肪酸代謝異常症	● 1) MCAD 欠損症	ライ症候群, SIDS	C8	1:10万
	● 2) VLCAD 欠損症	低血糖, 筋肉, 心障害	C14:1	1:16万
	● 3) 三頭酵素欠損症	ライ症候群, SIDS	C16-OH, C18-OH	—
	● 4) CPT1 欠損症	ライ症候群, 肝障害	C0/(C16+C18)	1:31万
	— 5) CPT2 欠損症	ライ症候群, 筋肉症状	(16+C18:1)/C2, C16	1:26万
	— 6) TRANS 欠損症	ライ症候群, SIDS	(16+C18:1)/C2, C16	—
	— 7) 全身性カルニチン欠乏症	ライ症候群, SIDS	C0(低下)	1:26万
	— 8) グルタル酸血症2型	ライ症候群, 低血糖	C8, C10, C12 など	1:31万

●=1次対象疾患(16疾患), *: 現行マススクリーニングの対象疾患, 新~乳: 新生児から乳児期, **: 2011年までのタンデムマス試験研究のデータ.

SIDS: sudden infant death syndrome(乳幼児突然死症候群), MCAD: medium-chain acyl-CoA dehydrogenase(中鎖アシル-CoA 脱水素酵素), VLCAD: very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase(極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素), CPT: carnitine palmitoyltransferase(カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ), SCHAD: short-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase(短鎖3-ヒドロキシアシル-CoA 脱水素酵素).

タンデムマス法で発見される疾患と診断マーカーを表2にリストしている. 理論的には20種類以上の疾患が発見できるが, 現時点で, 見逃しが極めて少なく, 発見すれば治療効果が期待できる16疾患を“1次対象疾患”としている. 一方, 現

時点では, 見逃し例が相当数ありうる疾患や, 治療効果が十分に確認されていない疾患は“2次対象疾患”として, 引き続き検討するとしている^{8,9)}.

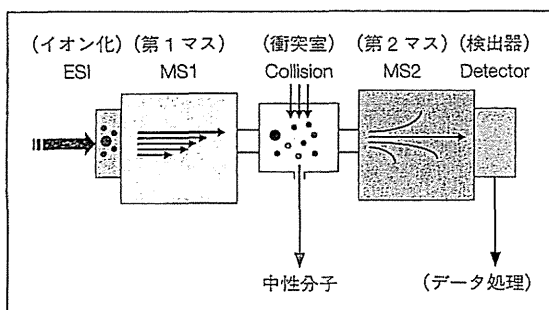


図1 タンデムマス法の原理

ESI: エレクトロスプレーイオン化, MS1: 第1マス室(プレカーサーイオン測定), 衝突室でアルゴンガスの粒子によって断片化, MS2: 第2マス室(プロダクトイオン測定). アシルカルニチンはMS1でのプレカーサーイオンをスキャンすることによって測定される. アミノ酸は, プレカーサーイオンとプロダクトイオンの質量数が一定の差を持っているときに, そのプレカーサーイオンが測定される.

4. 新しい対象疾患と診断マーカー

表2に示すように, 新しく加わる対象疾患として, アミノ酸代謝異常症に含まれる尿素回路異常症の他, 有機酸・脂肪酸代謝異常症がある. 尿素回路異常症はアミノ酸から生じるアンモニアの処理ができないために高アンモニア血症を起こす. 有機酸代謝異常症は, アミノ酸の中間代謝過程の酵素障害によって有機酸が体内に蓄積する. 脂肪酸代謝異常症は, β 酸化系に障害があるため, ブドウ糖からのエネルギー供給が低下したとき, エネルギー産生不全におちいる.

これらの臨床症状は, 生後数日からみられる哺乳低下, 多呼吸, 意識障害, あるいは感染などを契機に急性発症する急性脳症, 突然死などである. 一部の疾患では, 生後数か月頃から徐々に発達障害が進行するものもある¹⁰⁾.

診断マーカーは, アミノ酸代謝異常症と尿素回路異常症ではアミノ酸, 有機酸・脂肪酸代謝異常症ではアシルカルニチンである.

アミノ酸自動分析計に比べると, タンデムマス法で測定できるアミノ酸は限られているので, スクリーニング対象疾患も限られる. またアシルカルニチン分析では, アシル基を反映する質量数だけの情報となるので, 異性体の鑑別はできない.

5. タンデムマス法の概略

タンデムマスは2つの質量分析計が直列に並んだ構造を持つ. 図1に示すように, エレクトロス

プレーイオン化法(electrospray ionization; ESI)でイオン化された試料が第1質量分析室(第1マス)で質量分析される. この時測定された粒子をプレカーサーイオン(親イオン)という. 続いて衝突室でアルゴンガスの粒子に衝突して, 粒子は一定の法則で断片化される. これをプロダクトイオン(断片)といい, 第2マスで質量分析される¹¹⁻¹³⁾.

アシルカルニチンは m/z 85 の断片をもつことを利用して, 第2マスに m/z 85 の断片が入ると, 第1マスでの親イオンを測定する. これを“ペアレントイオンスキャン法”という.

一方, アミノ酸の場合, 衝突室で断片化されたとき中性分子が発生し第2マスには到達できず, ここで失われる. この中性分子は一定の法則に従って生成され, アミノ酸ごとに特定の質量数である. 例えば, Val, Leu, Met, Phe など多くのアミノ酸では質量数 46 (非誘導体化法の場合) の中性分子が失われる. このことを利用して第1マスで測定した粒子の質量数と第2マスで測定した質量数の差が一定の数(多くは 46) のとき, 第1マスで測定した質量数の粒子のイオン強度を測定してアミノ酸が測定される. これを“ニュートラルロススキャン法”という.

親イオンをすべてスキャンする方法(スキャン法)とあらかじめ目的とする物質の親イオンの質量数を設定してより高感度に分析する方法(multiple reaction monitoring; MRM)とがある. MRM 法では不要なイオンは測定しないため測定感度は良い. 一方スキャン法ではアシルカルニチン全体のプロフィールをみることができる.

6. 検体の前処理

検体前処理として, “誘導体化法”と“非誘導体化法”とがある^{14,15)}. その比較を表3に示した. 図2に示すように, 非誘導体化法は極めて簡便であり, マスクリーニングのような多数検体をスクリーニングするには適している. 人件費も節約できる. 一方, 血液ろ紙の抽出液をそのまま分析するため, 誘導体化法に比べ感度の高い機種が要求され, より高額な機器を必要とするため, いまだに誘導体化法を採用している施設は多い. しかし最近安価で高感度の機器が開発されたため, 今後は“非誘導体化法”が主流になるであろう.

表3 タンデムマス分析における誘導体化と非誘導体化の比較

	誘導体化	非誘導体化
長所	1. イオン化効率がよく、感度のよい分析となる 2. 質量数が大きくなるため精度のよい分析となる	1. 抽出操作のみなので測定対象物質の分解が起こりにくい 2. 危険な試薬は使わないので特別な設備が要らない 3. 調製操作が単純であり大量検体処理に適している(人件費削減可能)
短所	1. 調製操作が複雑であり、前処理の時間と人手がかかる 2. 腐食性のある試薬を取り扱うためドラフトなどの設備が必要である 3. 誘導体化の過程で化合物の分解が起こることがある 4. 誘導体化反応が不十分なとき不適切な分析となることがある	1. より高性能の機器が必要である 2. 質量数が小さい物質では精度が不十分になることがある

[文献15]より作成]

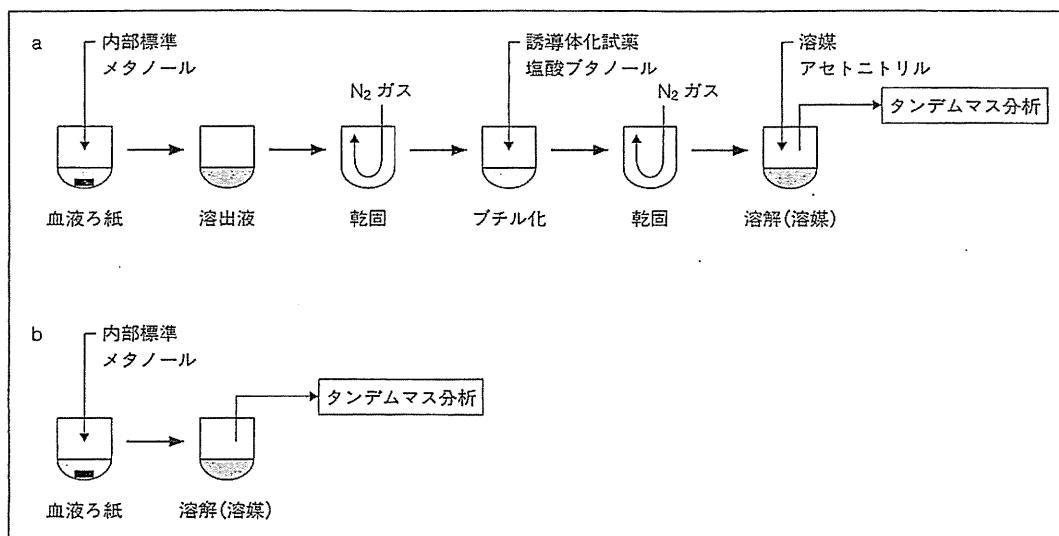


図2 検体前処理の流れ
a: 誘導体化法, b: 非誘導体化法。

7. スクリーニング後の確定診断

微量のサンプル(血液ろ紙検体)で検査した後、陽性者については確定診断する必要がある。スクリーニング段階で測定値がカットオフ値からかけ離れているときは、ただちに治療が必要となるが、それほどかけ離れてない場合は、再検査、精密検査によって確定診断する必要がある¹⁶⁾。

表4に示すように、アミノ酸に異常があり、アミノ酸代謝異常症(尿素回路異常を含む)が疑われるときには、アミノ酸自動分析計で精密に評価することによって診断できる。高フェニルアラニン血症の場合、悪性高フェニルアラニン血症と鑑別

するために血液プテリジン分析を行う。またテトラヒドロピオプテリン(BH₄)反応性高フェニルアラニン血症の病型を鑑別するためにBH₄負荷試験を行うことがある。

アシルカルニチンの異常から有機酸代謝異常症が疑われる場合は、GC/MS(gas chromatography/mass spectrometer)による尿中有機酸分析(note参照)によってほとんどの症例が生化学診断される¹⁷⁾。さらに血中カルニチンを測定して遊離カルニチン欠乏の程度を評価する。

脂肪酸代謝異常症が疑われるときには、血液ろ紙のみならず血清でアシルカルニチン分析をす

表4 確定診断のために必要な検査

検査項目 の異常	疑われる 疾患	確定診断の方法			
		アミノ酸分析	有機酸分析 (GC/MS)	遺伝学的 検査	その他
アミノ酸	アミノ酸 代謝異常症	◎	○	△	BH ₄ 負荷試験 プテリジン分析
アシルカ ルニチン	有機酸 代謝異常症	△	◎	○	タンデムマス精査*
	脂肪酸 代謝異常症	△	○	○~◎	タンデムマス精査*

◎：確定診断に必須である，○：確定診断の参考になる，△：時々必要なことがあるが原則として不要，*：誘導体化による精査，血液ろ紙のみならず血清，尿の分析，あるいは遊離カルニチン測定などを含む。

脂肪酸代謝異常症は，タンデムマス結果が典型的で臨床検査所見もそれを支持する所見があれば確定診断可能。遺伝学的検査とは，酵素，遺伝子検査をさす。

る。全身性カルニチン欠乏症の場合は，尿中カルニチン分析も行ってカルニチンクリアランスを測定することによって診断される。脂肪酸代謝異常症のうち，一部は尿中有機酸分析で異常がみられるので診断がより確かなものになる。長鎖脂肪酸代謝異常では非ケトン性ジカルボン酸尿がみられる。短鎖脂肪酸代謝異常ではエチルマロン酸，メチルコハク酸の増加がみられる。中鎖アシル-CoA 脱水素酵素 (medium-chain acyl-CoA dehydrogenase；MCAD) 欠損症では，ヘキサノイルグリシン，スベリルグリシンが検出される。またグルタル酸血症2型では，特徴的な有機酸プロフィールがみられるのでこの段階で生化学的に確定診断される。

しかし，GC/MS，タンデムマス検査で確定診断に至らないときは，末梢リンパ球や皮膚線維芽細胞を用いて酵素活性で直接確定診断する場合もある¹⁸⁾。また培養細胞とタンデムマス法を用いる

in vitro probe acylcarnitine assay (note 参照) によって酵素活性を評価する方法もある^{19,20)}。さらに，血液や培養細胞で遺伝子検査によって確定することも少なくない。

いずれにせよ病気であるかないかは一生の問題であるので確定診断は不可欠である。確定診断のためには特殊な検査が必要になるので，全国数か所の専門施設に相談できるネットワークが構築されつつある^{21,22)}。

8. タンデムマス法導入のいくつかの課題

タンデムマス法が導入されると，マススクリーニングの質的向上が期待できる。さらにその対象疾患には乳幼児突然死 (sudden infant death syndrome；SIDS) や原因不明の急性脳症のような発症形態をとる疾患が少なくない。タンデムマス法は小児の障害予防に貢献するのみならず，小児の難病の病態解明にも貢献する可能性がある。一方，いくつかの課題もある^{23,24)}。

尿中有機酸分析

有機酸は弱酸性であり体内に増加した有機酸は体液の恒常性を維持するために，直ちに尿中に排出される。有機酸とその代謝産物は血中よりもはるかに尿中に多いので，尿中有機酸を溶媒抽出，誘導体化などの処理をして GC/MS (gas chromatography/mass spectrometer) で測定する。代謝プロフィールから有機酸代謝異常症の生化学診断が可能である¹⁷⁾。

in vitro probe acylcarnitine assay

培養細胞とタンデムマス法を組み合わせた脂肪酸代謝異常の酵素診断法である。培養液はブドウ糖フリー，脂肪酸フリーでカルニチンが過剰量含まれている。この培養液にパルミチン酸 (あるいはオクタン酸など) を負荷後 72~96 時間培養して，培養液中のアシルカルニチンを測定する。β酸化に異常があるとその障害部位に対応したアシルカルニチンが増加することで障害部位を特定する¹⁹⁾。

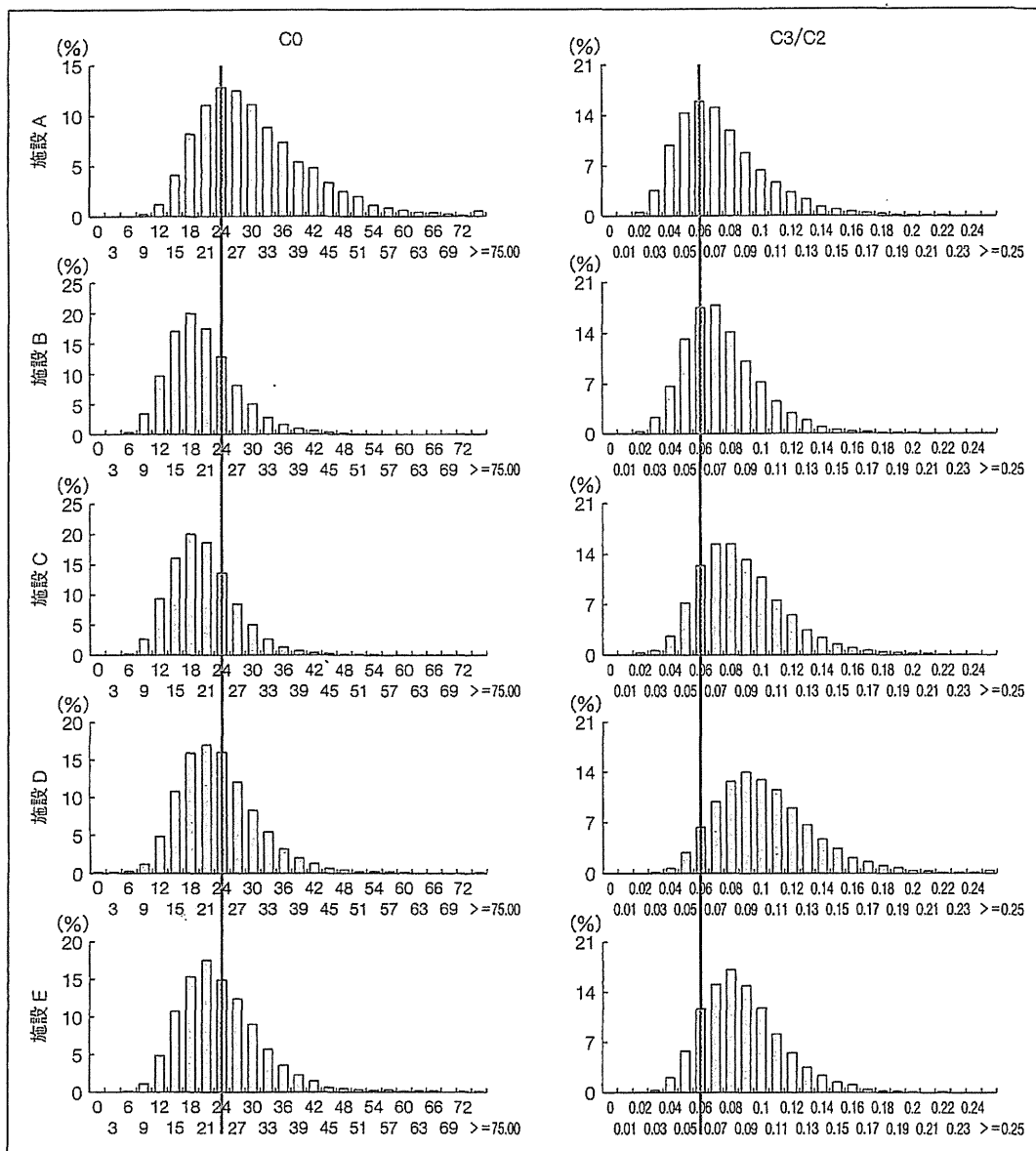


図3 施設間の測定値の差

C0：遊離カルニチン，C3：プロピオニルカルニチン，C2：アセチルカルニチン。

同じ検体を測定したにもかかわらずヒストグラムのピークが施設間でずれていることがわかる。

〔山口清次：タンデムマス Q&A 2012—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)冊子, 2012より転載〕

対象疾患が稀少疾患であり小児科医にとってもなじみがなく、いったん陽性者を目の前にすると戸惑うことも予想される。全国のネットワークを充実させること、疾患の診断と治療に関連した刊行物などで継続的な啓発が必要である。

精度管理も問題となる。新規に検査を始める施設では測定値が安定するまで一定期間が必要になり、また施設ごとに“偽陽性”率が高くなった

り、“見逃し例”が出る可能性もある。全国統一の固定したカットオフ値はまだできていないので、現段階では各施設で継続的に内部精度管理や外部精度管理を受けながら、季節ごとにカットオフ値を見直す必要がある。図3に施設ごとの測定値の違いを調査した結果の一部を示している^{21,22)}。

9. おわりに

微量検体で多数検体のスクリーニングが可能になり、また小児の急性脳症や、筋肉症状などを起こす先天代謝異常を簡単に診断できるタンデムマス法について述べた。タンデムマス法は新生児マススクリーニングへの導入のみならず、小児の原因不明の難病解明にも貢献するものと思われる。

本論文は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)を受けて行った研究成果の一部である。

文献

- 1) 成瀬浩, 山口清次: 新生児スクリーニングの30年. 臨床精神医学 33: 1453-1460, 2004
- 2) 山口清次: 新生児マススクリーニング Update—現在, 未来. 小児内科 41(増刊): 16-21, 2009
- 3) 重松陽介, 布瀬光子, 畑郁江, 他: Electrospray Tandem Mass Spectrometry による有機酸およびアミノ酸代謝異常症の新生児マススクリーニング. 日本マス・スクリーニング学会誌 8: 13-20, 1998
- 4) McCabe LL, McCabe ER: Expanded newborn screening: implications for genomic medicine. Annu Rev Med 59: 163-175, 2008
- 5) 特殊ミルク共同安全開発委員会編: タンデムマス導入にともなう新しいスクリーニング対象疾患の治療指針, 恩賜財団母子愛育会, 2007
- 6) Dhondt JL: Neonatal screening: from the 'Guthrie age' to the 'genetic age'. J Inher Metab Dis 30: 418-422, 2007
- 7) Schulze A, Lindner M, Kohlmüller D, et al: Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by electrospray ionization-tandem mass spectrometry: results, outcome, and implications. Pediatrics 111: 1399-1406, 2003
- 8) 山口清次: 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—3年間のまとめ—平成16~18年度総合研究報告書—厚生労働科学研究費補助金子ども家庭総合研究事業, 2007
- 9) 山口清次: 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—平成19~21年度総合研究報告書—厚生労働科学研究費補助金子ども家庭総合研究事業, 2010
- 10) 山口清次: 有機酸・脂肪酸代謝異常研究の進歩. 日本先天代謝異常学会雑誌 21: 26-36, 2005
- 11) Rashed MS, Bucknall MP, Little D, et al: Screening blood spots for inborn errors of metabolism by electrospray tandem mass spectrometry with a microplate batch process and a computer algorithm for automated flagging of abnormal profiles. Clin Chem 43: 1129-1141, 1997
- 12) De Jesús VR, Chace DH, Lim TH, et al: Comparison of amino acids and acylcarnitines assay methods used in newborn screening assays by tandem mass spectrometry. Clin Chim Acta 411: 684-689, 2010
- 13) 重松陽介, 畑郁江: タンデム質量分析新生児マススクリーニングのピットフォール. 日本マス・スクリーニング学会誌 15: 13-18, 2005
- 14) 重松陽介, 畑郁江: 非誘導体化試料調製によるタンデムマス・スクリーニング. 日本マス・スクリーニング学会誌 19: 11-17, 2009
- 15) 重松陽介, 畑郁江, 稲岡一考: タンデムマス・スクリーニングにおける非誘導体化分析. 日本マス・スクリーニング学会誌 21: 213-218, 2011
- 16) 北川照男, 松田一郎, 大和田操, 他: タンデムマス・スクリーニングで異常が発見された時の対応. 特殊ミルク情報 47: 40-48, 2011
- 17) 山口清次編: 有機酸代謝異常ガイドブック—GC/MSデータの読みかた・活かしかた, 診断と治療社, 2011
- 18) Tajima G, Sakura N, Yofune H, et al: Enzymatic diagnosis of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency by detecting 2-octenyl-CoA production using high-performance liquid chromatography: a practical confirmatory test for tandem mass spectrometry newborn screening in Japan. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 823: 122-130, 2005
- 19) Okun JG, Kölker S, Schulze A, et al: A method for quantitative acylcarnitine profiling in human skin fibroblasts using unlabelled palmitic acid: diagnosis of fatty acid oxidation disorders and differentiation between biochemical phenotypes of MCAD deficiency. Biochim Biophys Acta 1584: 91-98, 2002
- 20) Sim KG, Carpenter K, Hammond J, et al: Quantitative fibroblast acylcarnitine profiles in mitochondrial fatty acid β -oxidation defects: phenotype/metabolite correlations. Mol. Genet. Metab 76: 327-334, 2002
- 21) 山口清次: 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—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)平成23年度報告書, 2012
- 22) 山口清次: タンデムマス Q&A 2012—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)冊子, 2012
- 23) 山口清次: タンデムマスを導入した新生児スクリーニングの新時代. 小児保健研究 65: 725-732, 2006
- 24) 山口清次: タンデムマス導入による拡大スクリーニングの諸問題. 日本先天代謝異常学会雑誌 27: 36-41, 2011

新生児マススクリーニングの新たな展開 タンデムマス法の導入

山口清次

はじめに

新生児マススクリーニング(以下, 新生児 MS)は, 知らずに放置すると障害の起こる先天性疾患を発症前に見つけて, 障害を予防(または軽減)する事業である。

1950 年代にフェニルケトン尿症の治療ミルクが開発され, 1960 年代にガスリーテストが発明されて以来, 新生児 MS によって障害を予防するという考え方が急速に広まった^{1,2)}。

最近, タンデムマス法という新しい検査法を導入して対象疾患を拡大する動き(拡大スクリーニング)が, 世界的に普及しつつある^{3,4)}。わが国でも 2011 年に「タンデムマス法の導入の推進」について厚生労働省課長通達が出され, 現在全国自治体に広がりつつある。そこで, わが国のタンデムマス法導入による新生児 MS の新しい展開と今後の課題について述べたい。

わが国のこれまでの新生児 MS

わが国では 1977 年から新生児 MS が全国的に開始され, 2010 年までに 4,300 万人以上が新生児 MS を受け, この間 1 万人以上の小児が障害から救われたと言われている。これまで 6 疾患を対象に新生児 MS が行われてきた。その結果を表 1 に示しているが, 日本人における各対象疾患の頻度, 予後, 費用便益も明らかになってきた。

表 1 これまでのマススクリーニングの対象疾患と発見頻度(文献³⁾より)

疾患	頻度	検査法	費用便益
1) フェニルケトン尿症	1:7 万	ガスリー法,	○
2) メーブルシロップ尿症	1:50 万	HPLC 法,	△
3) ホモシチン尿症	1:80 万	酵素法など	△
4) ガラクトース血症(全体) (1 型) (2 型)	1:3 万* (1:80 万) (1:60 万)	ベイゲン法, ポイトラー法, 酵素法など	△
5) 先天性甲状腺機能低下症	1:3,000	ELISA 法など	◎
6) 先天性副腎過形成	1:2 万		○

*ガラクトース高値症例の大部分は酵素欠損による真の先天性ガラクトース血症でなく, 門脈奇形やシトリン欠損症等の 2 次性のものである。

費用便益: ◎=極めて良好, ○=良好, △=あまり良くない

タンデムマス法とは

タンデムマス(タンデム型質量分析装置)は, 質量分析計を直列に 2 台並べた構造の分析機器である。これまで使用してきた血液ろ紙を検体として^{5,6)}, 安価なランニングコストで, きわめて高感度に, 短時間の分析で(約 2 分), 代謝産物を一斉分析し, 1 回の分析で多くの疾患をスクリーニングできるため, ガスリーテストにとってかわりつつある。

対象疾患は図に示すように, 現行のアミノ酸血症 3 疾患を含むアミノ酸代謝異常症, 有機酸代謝異常症, および脂肪酸代謝異常症など 20 種類以

やまぐち せいじ: 島根大学医学部小児科教授 連絡先: ☎ 693-8501 島根県出雲市塩冶町 89-1

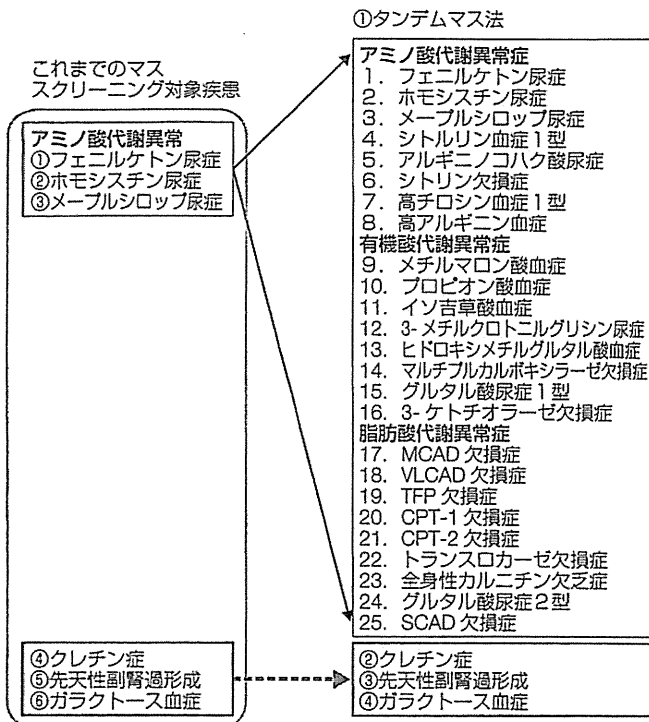


図 タンデムマス導入による拡大スクリーニング

上に広がる。

マススクリーニング対象疾患の設定

タンデムマス法を導入すると、1回の検査で多数の疾患が検査できるが、単に多くの疾患を見つければよいものではない。結果として小児の障害予防、福祉向上に役立つものでなければならない。

公的に行われる健診事業の対象疾患の要件として、表2に示すような Wilson & Jungner(1968)がある⁷⁾。厚労省研究班では、以上の基準に照らして、16疾患を「1次対象疾患」として提言している(表3)。現時点では引き続き検討の必要なものとして「2次対象疾患」としている。

タンデムマス法による疾患発見頻度

表3に、タンデムマス法で発見できる疾患と、これまでのパイロットスタディ(157万人対象)の結果を示している。発見頻度は、全体では約9千

表2 Wilson-Jungner の古典的基準とマススクリーニング対象疾患への適用 (WHO, 1968)

1. 放置すると重大な健康被害をもたらしうる
2. 自然歴の明らかな病気である
3. 効果的な治療法がある
4. 発症前に診断できる
5. 受け入れられる適切な検査法がある
6. 受け入れられる社会的合意が得られている
7. 診断・治療の施設が利用可能である
8. 患者、陽性者のフォローアップ体制ができてきている
9. 費用対効果バランスが適切である
10. 事業の意味、内容に関して受検者の同意が得られている

人に1人であり、1次対象疾患16疾患に限ると1.1万人に1人である。

これまでの対象疾患6疾患では、年間約400~500人の患者が発見されるが、タンデムマス法導入後には、これに約100名余り患者数が新たに発見されるようになるかと予想されている⁸⁾。

タンデムマス法の費用対効果

費用対効果は、表4に示すように、タンデムマス法導入は最低1.73倍から6.44倍の便益があると計算されている⁹⁾。比較のために、同じ経済学者の計算した予防接種の便益比を挙げている。水痘ワクチン4.0倍以上、ムンプスワクチン5.2倍、ヒブワクチン0.25~2.08倍、肺炎双球菌ワクチン1.08倍、HPVワクチン1.94~4.90倍と計算されている。この費用対効果計算には、患者数と事業にかかる費用が関係している。

検討されている新しい対象疾患

新しい対象疾患として検討中の疾患を以下に示す。

1. ウィルソン病

4~5万人に1人の頻度の疾患で、以前パイロット研究されたが、新生児期には見逃す可能性が高く、幼児期の方が効果的であると言われてい

表3 タンデムマス法による1次対象疾患と2次対象疾患(1997~2011年のパイロット研究より⁹⁾)

	疾患	発見頻度 [*]
1次対象疾患	アミノ酸代謝異常	
	1) フェニルケトン尿症**	1:6万
	2) メープルシロップ尿症**	1:156万
	3) ホモシスチン尿症**	1:78万
	尿素回路異常症	
	4) シトルリン血症(1型)	1:26万
	5) アルギニノコハク酸血症	1:40万
	有機酸代謝異常症	
	6) メチルマロン酸血症	1:12万
	7) プロピオン酸血症	1:5万
	8) イソ吉草酸血症	1:52万
	9) メチルクロトニルグリシン尿症	1:16万
	10) ヒドロキシメチルグルタル酸血症	—
	11) 複合カルボキシラーゼ欠損症	1:52万
	12) グルタル酸血症1型	1:18万
	β酸化異常症	
13) MCAD欠損症	1:10万	
14) VLCAD欠損症	1:16万	
15) 三頭酵素欠損症	—	
16) CPT1欠損症	1:31万	
2次対象疾患	19) シトリン欠損症	1:8万
	20) 3-ケトチオラーゼ欠損症	—
	21) CPT2欠損症	1:26万
	22) TRANS欠損症	—
	23) 全身性カルニチン欠乏症	1:26万
	24) グルタル酸血症2型	1:31万

1次対象疾患とは、見逃しがきわめて少ない、発見されたとき治療効果が優れていると判断されている疾患(しかし新生児期に急性経過をとる超重症型も含まれる)。2次対象疾患とは、現時点では見逃しが相当数あると思われ、また発見された後の診断治療が必ずしも容易でないため、引き続き検討の必要と判断された疾患である。

*発見頻度=1997~2011年までのパイロットスタディ計156万人検査の結果である(1997年より福井大学で開始、2004年より厚労省研究班で開始)。

**=現行マススクリーニングの対象疾患(アミノ酸代謝異常症3疾患)。

略字(疾患名):MCAD=中鎖アシル-CoA脱水素酵素; VLCAD=極長鎖アシル-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; SCHAD=短鎖3-ヒドロキシアシル-CoA脱水素酵素。

1)~16)は1次対象疾患、19)~24)は2次対象疾患。

る¹⁰⁾。

2. 重症複合型免疫不全症(SCID)

本症では易感染性があり、また生ワクチンなどで重大な予防接種禍を起こすことがある。患者頻度は4~5万人に1人と言われ、TRECsという因子を血液ろ紙を使ってPCR法で測定する¹¹⁾。

表4 タンデムマス・スクリーニングと予防接種の費用対効果

	増分便益費用比(BCR)	増分純便益(NET)
タンデムマス	1.73~6.44	71~143億円
水痘ワクチン	4.0以上	522億円
ムンプスワクチン	5.2	379億円
ヒブワクチン	0.25~2.08	-322~477億円
肺炎双球菌7価ワクチン	1.08	51億円
HPVワクチン(子宮頸癌)	1.94~4.90	305~1,263億円

※タンデムマスの場合、設定する検査費用によって差がある。1検体あたり2,000円(6.44倍の便益)~8,000円(1.73倍の便益)である。大日らより引用¹²⁾。

欧米では採用する国が増えつつある。

3. リンゾーム病

ムコ多糖症やファブリー病などを対象に、血液ろ紙を使って酵素活性を見る方法である。酵素補充療法をより早期に開始することによって、QOL(quality of life)を高めることが期待されている。高額な治療費、治療効果の限界、発症時期の問題などが課題である¹²⁾。

4. 胆道閉鎖症の便カラーカード

1か月健診の時に便の色を見る方法であり、簡単で安価である。平成24(2012)年度から母子手帳に便カラーカードが採用されている。胆道閉鎖症の外科手術の予後がまだ確実でない点が課題である。

5. サイトメガロウィルス感染症

PCR法で検討されている。難聴の原因となる。発見後の治療効果が課題である¹³⁾。

新生児MSの今後の課題

新生児MS事業が開始されて35年が経過する。事業開始当初に発見された患者はすでに成人している。タンデムマス法の導入を機に、いくつかの課題が提起されている¹⁴⁾。主な項目を表5に示している。

1. 精度管理の充実

新生児MSは、新生児にとって生涯に1回きりの検査であり、基本的に見逃しは絶対に許されな



表5 新生児マススクリーニングの諸問題

(1) 精度管理の充実 見逃し例, 偽陽性例の対策
(2) 全国的診療支援体制の整備 稀少疾患の確定診断, 治療コンサルタント等のコーディネート
(3) 患者の長期追跡体制 患者登録とフォローアップ体制
(4) 遺伝カウンセリング体制 重症型の存在, 長期予後に対する説明, 患者家族のサポート
(5) 患者のQOL向上 親の会との情報交換
(6) 患者の成人後の支援 成人後の医療費支援, 特殊ミルク等の安定供給
(7) 検査機関の効率的配置 タンデムマス適正配置による事業の効率化
(8) 中央コントロール組織 地域格差をなくすための中央組織の必要性

い、一方カットオフ値を下げて偽陽性が増えると、出産直後の家族にとっての精神的ストレスは小さくない。倫理的問題がある。

そして測定値は、同じ機種でも施設間で異なり、また時期によって微妙に異なることが少なくない。内部、外部の精度管理を継続的に続ける必要がある。そして第三者機関でチェックを受ける体制が必要である。

2. 全国的診療支援体制の整備

新生児MSで発見される疾患は、稀少疾患である。小児科専門医と言えども、スクリーニング陽性者を前にすると戸惑うかもしれない。しかし日本のどこで発見されても、適切な対応が取れる体制を作るためには、各自治体で、中核医師、中核医療機関を指定し、その医師が窓口となって、稀少疾患の専門機関のネットワークを利用する体制が現実的である。その他、ガイドライン、診療マニュアルなども充実する必要がある。

3. 患者の長期追跡体制

平成13(2001)年度より、新生児MS事業が自治体事業となって以後、個人情報扱いの制約のために、新生児MSで発見された患者の長期予後が把握しにくい状況となっている。新生児MS事業の評価、また稀少疾患に対する診療技術向上の

ためにも、長期的な患者追跡体制は不可欠である。

4. 遺伝カウンセリング体制

タンデムマス対象疾患の中には、新生児期に発症したために新生児MS結果が間に合わないケースもある。反対に、無症状で治療の必要性がないような症例も見つかることもある。また新生児MSによって、無症候性の保因者や、母親の病気が偶然見つかることもある。

家族の受けとめ方をよく理解しながら、正確な知識を伝え、必要以上のストレスから解放し、また適切な生活上の助言をして重篤な発作の予防に努める必要がある。

5. 患者のQOL向上

新生児MSの対象疾患は、稀少疾患のために、患者家族は相談できる人が少なく、孤独に陥りやすい。患者家族会と、行政、医療スタッフや研究者との交流の場を作ることによって、いろいろな情報を得ることは、患者家族のQOL向上の面からも効果的であると思われる。患者家族の生の声は、研究の方向性に反映させることもできる。

6. 患者の成人後の支援

新生児MS対象疾患は、原則として小児慢性特定疾患事業の対象となっており、患者家族の医療費自己負担分は補助される。しかし現在の制度では、20歳を過ぎると自己負担が発生し、場合によっては月々数万円の負担となる。このために成人後に治療をやめ、徐々に症状が出るケースが問題になりつつある。これでは新生児MSの効果を台無しにする可能性がある。

また食事療法に必要な特殊ミルクも、現時点では原則20歳までが対象である。特殊ミルクは通常のミルクに比べて高価であるが(数倍から10倍のコストがかかる)、これまでは、乳業メーカーのボランティアに頼る面が大きかった。特殊ミルクの安定的供給体制を考える時期に来ている。

7. 検査機関の効率的配置

タンデムマス機器の価格は現時点では約3千万円で、初期投資額は大きい。またその後の保守点検費用として年間約200万円が必要である。タン



デムマス1台で年間5万検体以上を分析する能力がある。したがって1台の機器でできるだけ多数の検体を分析する方が効率的であり、精度管理の面からも有利である。

研究班は、タンデムマス導入にあたって、近隣の自治体と調整して、1台のタンデムマスで少なくとも年間3万以上の検体を分析することを提言している。

8. 中央コントロール組織

地方分権の流れの中で、わが国の新生児MSは、平成13(2001)年度より国から自治体事業に移行した。以後、新生児MS事業は自治体の裁量に任されている。その結果、新生児MSにかかる予算、事業評価、質の維持、患者の追跡方法などは、自治体によって温度差が生まれている。何らかの中央組織を置いて、自治体と連携を取りながら、技術者研修、精度管理、患者登録、長期追跡、経費節減、社会啓発活動などを継続的に行うことが望ましい。

おわりに

あらゆる病気は基本的に「治療よりも予防」が大切である。特にこれから長い人生を歩む小児では、重要なテーマである。新生児MSはその代表的な事業の1つであろう。しかし対象疾患に満たすべき要件があるように、ただ隠れている病気を見つけて家族に伝えれば済む問題ではない。事業推進には倫理的、社会的、法的判断の求められる面がある¹⁵⁾。これらを念頭に置いて、新生児MS拡大による小児の福祉向上を進める必要がある。

本研究は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)を受けて行ったものである。

文献

- 1) 成瀬浩, 山口清次: 新生児スクリーニングの30年. 臨床精神医学 33: 1453-1460, 2004
- 2) Dhondt JL: Neonatal screening; from the 'Guthrie age' to the 'genetic age'. J Inherit Metab Dis 30: 418-422, 2007
- 3) McCabe LL, McCabe ER: Expanded newborn screening; implications for genomic medicine. Annual Review of Medicine 59: 163-175, 2008
- 4) 山口清次: タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの新時代. 小児保健研究 65: 725-732, 2006
- 5) 重松陽介, 他: Electrospray tandem mass spectrometryによる有機酸およびアミノ酸代謝異常症の新生児マススクリーニング. 日本マス・スクリーニング学会誌 18: 13-20, 1998
- 6) Shigematsu Y, et al.: Newborn mass screening and selective screening using electrospray tandem mass spectrometry in Japan. J Chromat B 776: 39-48, 2002
- 7) Wilson JMG, Jungner G: Principles and practice of screening for disease. p 163, World Health Organization, Geneva, 1968
- 8) 山口清次: 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. 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)平成23年度報告書, 2012
- 9) 大日康史, 菅原民枝: MS/MS マスクリーニングの費用対効果の予防接種との比較および国際比較. 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」平成22年度報告書, pp 123-125, 2011
- 10) 青木継稔, 他: 将来マス・スクリーニングに取り上げられる可能性の高い疾患について. 小児科診療 63: 1385-1390, 2000
- 11) 中川紀子, 他: TREC_s 定量を用いた重症複合型免疫不全症に対する新生児マススクリーニング法の開発. 日本マス・スクリーニング学会誌 19: 249-253, 2009
- 12) 田中あけみ: ムコ多糖症のマス・スクリーニング. 日本マス・スクリーニング学会誌 18: 224-228, 2008
- 13) 古谷野伸, 他: 先天性サイトメガロウイルス感染マススクリーニングについて. 日本マス・スクリーニング学会誌 21: 9-14, 2011
- 14) 山口清次: タンデムマス導入による拡大スクリーニングの諸問題. 日本先天代謝異常学会雑誌 27(1): 36-41, 2011
- 15) 松田一郎: 新生児スクリーニングに関する倫理的, 法的, 社会的問題の歴史的背景. 日本マス・スクリーニング学会誌 19: 189-215, 2009