

201506011A(1/2)

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

**新生児マススクリーニングのコホート体制、
支援体制、および精度向上に関する研究**

平成 27 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 山口清次

(1/2冊 総括研究報告)

平成 28 (2016) 年 3 月

(2 年目)

目 次

I. 総括研究報告 (1/2 冊：本報告書)

新生児マススクリーニングのコホート体制、支援体制、および精度向上に関する研究 (研究代表者：山口清次)	3
--	---

II. 分担研究報告 (2/2 冊：別冊)

1. マススクリーニングのコホート・コンサルテーション体制に関する研究

(分担：山口清次)

- 1) 北海道・札幌の新生児マススクリーニングの現況と問題点
長尾雅悦
- 2) 東北地区（青森、宮城・仙台、山形、福島）の
新生児タンデムマス・マススクリーニングの現状（2014 年度）
坂本 修
- 3) 愛知県でのタンデムマススクリーニング実績
伊藤哲哉、中島葉子、酒井好美
- 4) 大阪府、大阪市、堺市における新生児マススクリーニング体制
新宅治夫
- 5) False negative を防ぐために：広島での経験と取り組み
但馬 剛
- 6) 福岡地区におけるタンデムマス・スクリーニングの現状と課題
井上貴仁、廣瀬伸一
- 7) 熊本地区の新生児スクリーニングと九州・沖縄地域の診療ネットワーク
中村公俊
- 8) 沖縄県の新生児タンデムマス・スクリーニング開始 1 年間について
知念安紹
- 9) CPT2 酵素欠損症と突然死の関連について
高柳正樹
- 10) コンサルテーション体制確立に関する取り組み、および患者コホート体制確立に関する
枠組みづくり
小林弘典
- 11) 新生児マススクリーニングで発見される患者の遺伝子診断プロジェクト
深尾敏幸

2. マススクリーニング検査精度向上に関する研究（分担：重松陽介）

- 1) qNMR による SI Traceable なマススクリーニング測定対象化合物定量法
中島英規
- 2) 平成 26 年度タンデムマス検査実施状況調査報告について
花井潤師、福土 勝、石毛信之、田崎隆二

- 3) タンデムマス検査データ Web 解析システムについて
花井潤師、福士 勝、石毛信之、田崎隆二
 - 4) 東京都における LC-MS/MS 法を用いたイソ吉草酸血症の二次検査法の検討
石毛信之、花井潤師、福士 勝、田崎隆二
 - 5) 新生児スクリーニング検査実施機関における施設基準及び検査実施基準等のガイドライン
準拠に関するセルフチェック方式による調査結果と今後の対策について
福士 勝、花井潤師、田崎隆二、石毛信之
3. 外部精度管理体制の確立に関する研究 (分担：原田正平)
- 1) タンデムマス・スクリーニング導入以後の各自治体における
先天性代謝異常等検査実施要綱 (要領) の記載内容に関する研究
原田正平、渡辺倫子、鈴木恵美子、中島英規
 - 2) ウェブ登録システムを用いた平成 27 年度精度試験について
中島英規、鈴木恵美子、渡辺倫子
 - 3) 平成 26 年度よりの新しい精度管理体制を補完するための
ブレインドを用いた精度管理の持続可能性について
鈴木恵美子、渡辺倫子、中島英規
 - 4) 平成 27 年度技能試験の結果と平成 28 年度以降の方向性について
渡辺倫子、鈴木恵美子、中島英規、志村明子、品田京子、前田堂子、後藤温子、
小澤仁子、相崎潤子
4. 次世代のマススクリーニングの在り方に関する研究 (分担：松原洋一)
- 1) 重症複合免疫不全症に対する新生児スクリーニング法の開発
小野寺雅史
 - 2) パーキンエルマー TREC 測定システムによる新生児 SCID マスクリーニングの検討
小島勢二、小島大英、奥野友介、村松秀城
 - 3) 原発性免疫不全症 (PID) マスクリーニングの現状と課題
今井耕輔
5. 治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究 (分担：大浦敏博)
- 1) 20 歳以上でも特殊ミルクが必要である理由
岡野善行、服部俊一、藤本浩毅、野井香梨、岡本美紀
 - 2) ケトンフォーミュラ 817-B の難治性てんかんに対する有効性
高橋幸利、今井克美、太田晶子、岡村和彦、杉浦真季、名切佑花、
山田志帆、竹浪千景
 - 3) 低カリウム・中リンフォーミュラ 8806 の小児慢性腎疾患に対する有効性
濱崎祐子

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧

Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷

I. 総括研究報告

新生児マススクリーニングの コホート体制、支援体制、および精度向上に関する研究

研究代表者 山口清次（島根大学医学部教授）

研究課題

新生児マススクリーニングのコホート体制、支援体制、および精度向上に関する研究

研究代表者 山口清次（島根大学医学部 教授）

研究要旨

2014年度からタンデムマス（TMS）スクリーニングが全国に導入されたのを機に、新生児スクリーニング（NBS）のうち先天性代謝異常等検査の体制立て直しを目的として、以下の5つの分担研究：すなわち①コンサルテーション・患者コホート体制に関する研究、②スクリーニング検査精度向上に関する研究、③外部精度管理体制の確立に関する研究、④次世代のスクリーニングの在り方に関する研究、⑤治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究を行い、今年度以下の成果を得た。

(1) 希少疾患に対するコンサルテーション体制：TMSコンサルテーションセンター開設から2年目となり、全体として窓口機能が軌道に乗ってきた。行政、医療機関、検査施設、あるいは患者家族の連携のための小冊子も定期的に刊行している。

(2) 患者登録コホート体制：自治体の把握している患者数は研究班が独自に医療機関を対象として調査した患者数よりもやや多い傾向があり、双方の調査結果は必ずしも一致しないことが明らかになった。より正確な患者把握体制が必要である。また自治体を対象とした患者コホート体制構築に対する意識調査によると、個人情報の漏えいを危惧して慎重になっている自治体が半数以上にのぼった。個人情報保護に配慮した悉皆性のある患者登録コホート体制の整備に向けた検討がさらに必要である。

(3) TMSスクリーニングで発見された患者の遺伝子型の調査：次世代シーケンサーを用いて遺伝子診断パネルを作り2015年5月より検査を開始した。2015年12月の時点で50例を検査した。テーラーメイド治療に貢献することが期待される。

(4) カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-II（CPT2）欠損症を一次対象疾患とする場合の課題に関する研究：TMSスクリーニング対象疾患のうち突然死または突然死様症状で発症した症例を学会・文献報告で調査し15例を収集し、本研究班で設定した診断指標を用いて検査したところ15症例中14例がCPT2欠損症であった。これまでCPT2欠損症は偽陽性、偽陰性が多いという理由で一次対象疾患に入っていなかったが、今年度感度の高い診断指標を開発したことで、一次対象疾患となる可能性が示唆された。

(5) スクリーニング二次検査法の開発：先天性代謝異常等検査と同じ検体を用いる鑑別診断法を確立した。一例としてイソ吉草酸血症と特定抗菌薬による偽陽性例が鑑別できるようになった。

(6) Web解析システムの構築：TMSスクリーニング検査機関と日本マススクリーニング学会技術者部会で行っている内部精度管理をWeb上で解析するシステムを開発した。これにより、検査施設でデータをアップロードすれば、自施設の正常値分布、カットオフ値の適正度、偽陽性者、患者の測定値のデータなどをみることができ、他施設との比較も容易にできるようになった。データは自動的に更新可能で以前に比べ簡便でより多くの情報が得られるので、スクリーニング検査の質向上に貢献すると思われる。

(7) 先天性代謝異常等検査施設基準の充足状況：日本マススクリーニング学会が47項目を努力目標として提示している先天性代謝異常等検査施設基準の充足状況を調査したと

ころ、全47項目を満たしている施設はなく、10～46項目が7施設、30～40項目が20施設、20～30項目は6施設、10～20項目は3施設あった。今後の努力目標としながら、改善すべきである。

(8) 外部精度管理体制の構築：主にTMSスクリーニングの外部精度管理体制の確立を目的として、1年目に作成した標準検体を用いて、技能試験（PT試験）を3回、精度試験（QC試験）を1回行った。今年度はPT試験とQC試験が予定期日に遅れることなく行われ、試験自体は軌道に乗りつつある。さらに今年度は全国検査機関をネットワーク化して分析データの日内変動、日間較差、バラつき、偏りなどを自動的に処理、評価するための統計解析プログラムを作成した。

(9) TMSスクリーニング導入前後の各自治体のNBS実施要綱の改定状況：書類上対象疾患が以前の6疾患から19疾患となっていることが確認された。まだ少なくとも13自治体で連絡協議会を持っていないことが分かった。さらに、低出生体重児の2回目採血の必要性などが要綱に示されていない自治体等があり、今後改善すべき課題である。

(10) 網羅的遺伝子解析導入に関する課題の検討：米国 NIH やバージニア州などで基礎研究が始まっているが、費用面、診断精度、倫理的問題などの問題が解決される必要がある。

(11) 重症複合免疫不全症（SCID）の新生児スクリーニングに関する研究：SCID 患者は診断が得られていない状態で過ごした場合、感染症が原因で1才以前に死亡することが多い。感染症に罹患する前に骨髄移植等の介入によって発症予防が可能である。米国、台湾などにおいて、TREC（T-cell receptor excision circle）測定によるT細胞欠損症のスクリーニングが実施され、発生頻度は1:58,000程度というデータが出されている。NBSによる救命効果が期待されており、費用対効果、診断精度などを中心に今後検討すべきである。

(12) 治療用特殊ミルクの種類と出荷量：出荷量は年々増加傾向にある。年々患者数が蓄積すること、TMSスクリーニングの導入等により対象疾患の種類が増加すること、成人後も引き続き治療用特殊ミルクを必要とする患者が年々増加していることが挙げられる。ケトンフォーミュラ（817-B、難治性てんかん用）、低カリウム・中リンフォーミュラ（8808、腎疾患用）のような先天性代謝異常以外の用途の治療用ミルクも特殊ミルクに追加されたが、多くの場合、登録外品として全額メーカー負担で供給されている。先天性代謝異常用のフォーミュラに係る費用は、実費のみで約3億円であり、メーカーのボランティアに依存しない安定供給の体制整備が望まれる。

研究分担者

重松陽介（福井大学医学部 教授）
原田正平（国立成育医療研究センター研究所
マススクリーニング研究室長）
松原洋一（国立成育医療研究センター研究所長）
大浦敏博（東北大学小児科非常勤講師）

法の導入によって、先天性代謝異常等検査の対象疾患は6疾患から19疾患に拡大した。対象疾患拡大によって、障害の発生予防の恩恵を受ける小児の数も増えることが期待されている。新技術導入によるスクリーニング効果を高め、先天性代謝異常等検査を国民の福祉向上に役立てるためには、種々の体制整備が不可欠である。

A. 研究目的

2014年度より全国の自治体で新生児スクリーニング（以下、NBS）における先天性代謝異常等検査にタンデムマス（TMS）法が導入された。TMS

そこで本研究では、①希少疾患のコンサルテーション体制の構築、②患者コホート体制の構築、③スクリーニング診断精度の技術向上、④精度管理体制の充実、⑤発見された患者に対する治療用特殊ミルクの安定的供給体制の確立、

さらに⑥次世代の新生児スクリーニングのあり方について提言することを目的として研究を行った。

B. 研究方法

以下の5つの分担研究を柱にして研究を進めた。

表1. 分担研究と研究分担者

研究分担	研究分担者
1. コンサルテーション・患者コホート体制に関する研究	山口清次
2. スクリーニング検査精度向上に関する研究	重松陽介
3. 外部精度管理体制の確立に関する研究	原田正平
4. 次世代のスクリーニングの在り方に関する研究	松原洋一
5. 治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究	大浦敏博

1. コンサルテーション・患者コホート体制に関する研究

1) コンサルテーション体制

①TMS スクリーニングコンサルテーションセンターの2015年度の現状を調査した。

②対応マニュアルをブラッシュアップした。

2) TMS スクリーニングの実施状況

①各地区のTMSスクリーニングの現状と課題を調査した。

②2013年度の発見患者数と頻度について、研究班と情報誌「特殊ミルク情報」（特殊ミルク共同安全開発委員会広報部会編集）に公表されたデータを比較した。

3) 患者コホート体制の検討

①自治体を対象とした患者コホートに対する意識調査を行った。

②2014年度の発見患者数と内訳、および、2013年度発見患者の1年後のコホート調査を行った。

4) TMSスクリーニングで発見された患者の遺

伝子型の調査

TMSスクリーニングで発見された患者の治療法向上を目的として、同意の得られた症例について、次世代シーケンサーを用いた遺伝子型の調査を行った。

5) CPT2欠損症を一次対象疾患とする場合の課題に関する研究

脱水時など非常時に発症し突然死にいたる危険性の高いCPT2欠損症について、①突然死をきたした症例の収集、②診断指標、感度、特異度、および臨床的意義について検討した。

2. スクリーニング検査精度向上に関する研究

1) 検査施設間の連携体制の構築

①TMS スクリーニングの実施状況：TMS 検査施設を対象に初回検査件数、再採血数、精査数、発見患者数などを調査した。

②Web 解析システムの構築：TMS 検査機関の間で、各機関の正常値分布と中央値、発見された患者の測定値、カットオフの設定など情報を共有する体制を作る目的でWeb 解析システムを開発しその妥当性を検討した。

2) 二次検査体制の構築

①スクリーニングと同じ検体を用いて行うLC-MS/MSによるマルチモードクロマトグラフィーの実用化を検討した（1年目に技術は確立した）

②偽陽性と真の陽性者の測定値の検討：カットオフ近くの測定値の判断の精度を高めるために、各施設で経験した陽性者と偽陽性者のデータを収集した。

③突然死の頻度の高いCPT2欠損症の新しい診断指標を検討した。

④「新生児スクリーニング検査実施機関における施設基準及び検査実施基準等のガイドライン準拠に関するセルフチェック方式を検討した。

3. 外部精度管理体制の確立に関する研究

1) 外部精度管理、内部精度管理体制の構築

①外部精度管理体制の確立を目的として、1年

目に作成した標準検体を用いて、全国検査機関を対象としたTMSスクリーニング精度管理試験の在り方を検討した。

②測定値の妥当性の評価：全国検査機関をネットワーク化した統計解析プログラムを作成した。

③精度管理を補完することを目的として、ブラインドサンプル（以下、BLS）を用いる外部精度管理状況を評価した。

2) 先天代謝異常等検査実施要綱の改定状況の調査

67自治体を対象に、2016年1月時点の先天性代謝異常等検査実施要綱を収集し、2008年時点と比較して改定状況を調査した。

4. 次世代のスクリーニングの在り方に関する研究

1) 網羅的遺伝子解析導入に関する課題の検討
費用、技術的問題、頻度、特異度等の課題について諸外国の状況を調査した。

2) 重症免疫不全症（SCID）の新生児スクリーニングの現状と課題に関する研究

SCIDのパイロットスクリーニングの結果を検討した。

5. 治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究

1) 治療用特殊ミルクの需要の検討

①治療用特殊ミルクの種類と出荷量について検討した。

②特殊ミルクの成人患者に占める割合について検討した。

③ケトンフォーミュラ（817-B、難治性てんかん用）の使用状況と必要性について調査した。

④低カリウム・中リンフォーミュラ（8808、腎疾患用）の使用状況と必要性について検討した。

（倫理面への配慮）

患者コホート研究、および遺伝子解析を必要とする研究は各機関の倫理委員会で承認を受けている。

C. 研究結果

1. コンサルテーション・患者コホート体制に関する研究（研究代表者 山口清次）

1) コンサルテーション体制

①TMS コンサルテーションセンターの稼働状況：2015年1月～12月の相談件数は107件であった（表2）。内訳は小児科医から80件、自治体から14件で、検査施設からの相談は1件（昨年18件）であった。検査施設での業務が安定してきたことを反映している可能性がある。

表2. コンサルテーションセンターへ相談件数

	2015 1年間	2014* 9カ月間
小児科医師	80	45
産科施設	2	6
検査施設	1	18
自治体	14	8
計	107	77*

*2014年9か月間のデータ

（平成27年度報告書より）

②対応マニュアルのブラッシュアップ：2014年度からの質問と対応が蓄積されたので「よくあるご質問」の編集に取り掛かった。

2) TMSスクリーニングの実施状況

①全国各地のTMSスクリーニングの現状と課題：北海道、東北、愛知、大阪、広島、福岡熊本沖縄から各地区の課題を調査した（表3）。主な課題として以下の点が挙げられた。旧来のアミノ酸代謝異常症3疾患とTMS対象疾患の精査機関が異なり情報がうまく共有できない、TMS一次対象疾患のみを対象として、二次対象疾患は陽性が疑われても精査対象としないため、家族に伝わらない可能性がある、連絡協議会がないため情報共有しにくい、などである。

表 3. 各地区のスクリーニング状況と課題（抜粋）

地区 (報告者名)	課題
北海道 (長尾雅悦)	<ul style="list-style-type: none"> ・年1回連絡会議 ・軽症型・病型の診断：カットオフ値の検討が必要である
東北6県 (坂本 修)	<ul style="list-style-type: none"> ・連絡協議会が開催されない（青森） ・旧来のアミノ酸代謝異常症3疾患とTMSスクリーニング対象疾患の精査機関が異なったままであり、情報が正しく把握できない（青森） ・低出生体重児などで再検査を繰り返す例がある（青森） ・二次対象疾患は、陽性が疑われても精査対象としない（山形）
愛知 (伊藤哲哉)	<ul style="list-style-type: none"> ・GC/MSなどの特殊検査の公費負担のしくみが必要
大阪 (新宅治夫)	<ul style="list-style-type: none"> ・低出生体重児でC5-OH陽性になることが多い ・入札制度になってから、検査機関が変更され、再検、精査数が大きく変化・連絡協議会が開催されている
広島 (但馬 剛)	<ul style="list-style-type: none"> ・血中メチルマロン酸測定ができればコバラミン代謝異常をスクリーニングできる ・VLCAD欠損症、CPT2欠損症の特異的診断マーカーの開発が望まれる
福岡 (廣瀬伸一)	<ul style="list-style-type: none"> ・TMSスクリーニング陽性者の情報共有のしくみがない（連絡協議会がない）
熊本 (中村公俊)	<ul style="list-style-type: none"> ・九州先天代謝異常症診療ネットワーク（これまで4回開催）による連携体制が構築されている
沖縄 (知念安紹)	<ul style="list-style-type: none"> ・自治体が協力的で連絡協議会設置し、医療機関と検査機関との連携がよい ・カットオフ値の設定をさらに検討すべきである

②2013年度の発見患者数と頻度を、医療機関を対象にした研究班の調査と、自治体からの回答をもとに情報紙「特殊ミルク情報」（特殊ミルク共同安全開発委員会広報部会編集）に掲載された結果と比較した（表4）。自治体の把握した患者数は、対象103万人出生のうち115例で発見頻度は

1:1.1万であった。研究班の調査では協力の得られた新生児の母数は90万人で発見された患者数は73名（頻度1:1.2万）であった。医療機関を直接調査した数と自治体の把握している患者数は必ずしも一致していないことが分かった。

表4. 2013年度の発見患者数と頻度：研究班と特殊ミルク情報のデータ比較

年度	2013				1997～2012
	研究班調査		特殊ミルク情報*		パイロット
疾患名	数	頻度	数	頻度	頻度
PKU	19	1: 47K	25	1: 41K	1: 53K
MSUD	2	1: 450K	3	1: 340K	1: 1950K
HCY	0	—	4	1: 260K	1: 650K
CTL-1	2	1: 450K	2	1: 515K	1: 330K
ASA	1	1: 900K	1	1: 103K	1: 980K
MMA	6	1: 150K	6	1: 170K	1: 110K
PPA	15	1: 60K	15	1: 70K	1: 45K
MCD	0	—	0	0	1: 650K
MCC def	3	1: 300K	3	1: 340K	1: 150K
IVA	1	1: 900K	1	1: 1030K	1: 650K
GA1	2	1: 450K	3	1: 340K	1: 180K
MCAD def	3	1: 300K	4	1: 260K	1: 100K
VLCAD def	5	1: 180K	9	1: 110K	1: 160K
TFP def	1	1: 90K	1	1: 1030K	—
CPT1 def	2	1: 450K	1	1: 1030K	1: 310K
CTL-2	5	1: 180K	37	1: 28K	1: 80K
3KT def	1	1: 900K			—
CPT2 def	2	1: 450K			1: 260K
PCD	3	1: 300K			1: 260K
GA2	0	—			1: 310K
CACT def	0	—			—
計	73	1: 12K			115
調査母数	(90万)		(103万)		(195万)

*自治体から厚労省に回答され、「特殊ミルク情報」に掲載された患者数

3) 患者コホート体制の検討

①自治体を対象に患者登録に協力を依頼したところ、表5に示すように、発見された症例情報の回答は2014年度の調査では57/67 (86%)であったが、2015年度の調査では35/67 (52%)であった。

さらに全国衛生部長会の協力を得て各自治体を対象に「厚労省が患者登録を行うと仮定した場合協力できるか」という質問をしたところ、表6に示すように「協力可能」と答えた自治体は26/67

(39%)であった。自治体の個人情報保護条例とのすり合わせが今後の課題となる。

表5. 患者登録体制について自治体の対応調査

	調査自治体数 (N=67)	
	(2014年)	(2015年)
回答	57 (85%)	35 (52%)
拒否	2 (3%)	11 (17%)
未回答	8 (12%)	21 (31%)

表6. 厚労省が患者登録を行う場合の協力

協力可能	26自治体 (39%)		
協力不可	41 (61%) 再検討すると答えた10自治体を含む	一切提供できない	12
		個人情報保護条例により不可	10
		情報を把握できていない	4
		患者同意がないため	1
		無回答	4
		登録体制の詳細が不明のため	10

②2013年度発見患者の1年後のコホート調査を行った。表7に示すように、協力自治体の壁（協力自治体86.5%）、医療機関での診断確認作業（94例の陽性者のうち診断確認できたのは73例）、および1年後のコホートにおける回収率の壁（64.5%）などが課題としてあがった。

表7. 1年後のコホート調査

	調査	回収
1次調査（自治体数） 研究班→自治体	67	58 (86.5%)
2次調査（医療機関数） 研究班→医療機関	98	94 (95.9%)
診断名確認した症例	73 (21例除外)	
コホート（1年後）	73	49 (64.5%)

4) TMSスクリーニングで発見された患者の遺伝子型の調査

TMSスクリーニング対象疾患を中心に、先天性代謝異常等検査で発見された患者の遺伝子型検査のレジストリーを行った。2015年5月～12月の時点で、表8に示すように50例を検査中である（2015年12月時点で23例の結果がでている）。

表8. 遺伝子検査依頼症例数(2015年12月時点)

臨床診断	症例数
メチルマロン酸血症	9
カルニチントランスポーター異常症	6
プロピオン酸血症	6
メチルクロトニルグリシン尿症	5
VLCAD異常症	3
3-メチルクロニルCoAカルボキシラーゼ欠損症	2
グルタル酸血症（1型）	2
MCAD欠損症	2
シトリン欠損症	2
フェニルケトン尿症	3
シトルリン血症1型	2
OTC欠損症	1
CPS-1欠損症/NAGAS欠損症	1
アルギノコハク酸尿症	1
ガラクトース血症II型	1
軽症型マルファルルホキラーゼ/経度ビオチン欠乏	1
軽症高フェニルアラニン血症	1
三頭酵素欠損症	1
ホモスチン尿症	1
メープルシロップ尿症	1
計	50

5) CPT2欠損症を一次疾患とする場合の課題に関する研究

①TMS対象疾患のうち突然死または類似症状で発症した症例を学会報告、または医学中央雑誌から収集した。表9に示すように、16例を収集した。症例1, 2, 3, 9は昨年既に報告した症例である。年齢は生後3日から1才1カ月で、乳児期後半（生後7か月から1才3か月）が多かった。収集した16例中15例はCPT2欠損症であった。他の1例はVLCAD欠損症であった。転帰は16例中15例が突然死様の経過をとり、他の1例は蘇生後重症心身障害児となっている。

TMSスクリーニングとの関連をみると、16例中12例はTMSスクリーニング開始前の症例である。症例1と症例2は、TMSスクリーニングでCPT2欠損症が見逃されていた。症例3は、TMSスクリーニングでCPT2欠損症の所見がみられたが一次対象疾患でないという理由でそれ以上の検査が行われなかった。症例4は、TMSスクリーニングで発見されたにもかかわらず、ノロ胃腸炎に引き続いて突然死した。

表 9. タンデムマス対象疾患の判明した突然死例

	NBS	発症年齢	発症形態 前駆症状	診断 (欠損症)	転帰
1	異常なし	7m	発熱、急性脳症	CPT2	重度 CP
2	FAOD 疑	8m	—	CPT2	突然死
3	異常なし (CPT2 除外)	8m	発熱、倦怠	CPT2	突然死
4	CPT2 診断	1y3m	ノロ胃腸炎	CPT2	突然死
5	開始前	3d	低体温	CPT2	突然死
6	開始前	1m	—	VLCAD	突然死
7	開始前	4m	感冒症状	CPT2	突然死
8	開始前	6m	感冒症状	CPT2	突然死
9	開始前	9m	発熱、下痢	CPT2	突然死
10	開始前	11m	感冒症状	CPT2	突然死
11	開始前	1y1m	発熱	CPT2	突然死
12	開始前	1y1m	けいれん	CPT2	突然死
13	開始前	?	ライ症候群	CPT2	突然死
14	開始前	?	インフルエンザ	CPT2	突然死
15	開始前	?	?	CPT2	突然死
16	開始前	?	?	CPT2	突然死

(協力者 高柳、2015. 12. 23 報告) CP=脳性マヒ、FAOD=脂肪酸代謝異常症

②CPT2欠損症スクリーニングのための診断指標、感度、特異度について検討した。

図 2A に示すように、従来の指標では相当数の症例を見逃す可能性が高い(カットオフ値より左側の症例は見逃し例)。すなわち少なくとも 5 例

中 3 例の見逃し例があった。一方新指標(図 2B)で、C16 が 3.0 以上、かつ $(C16+C18:1)/C2$ 比が 0.62 以上としたところ、5 例すべて検出され見逃し例はなかった。

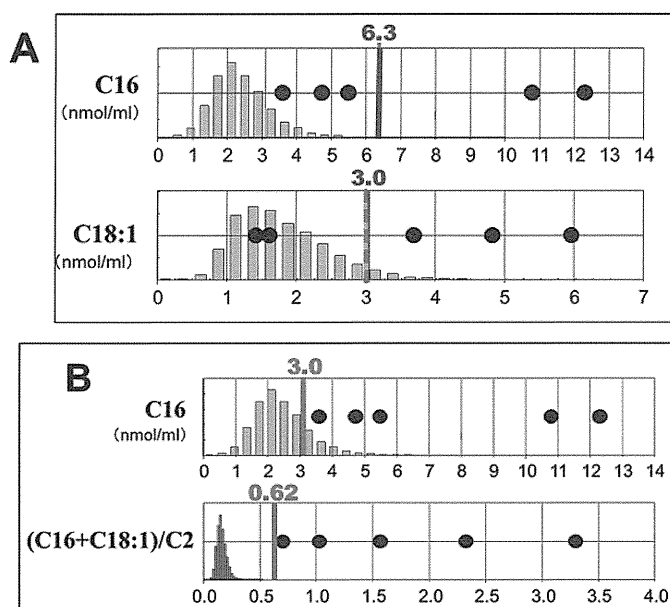


図 2. CPT2 欠損症の新旧指標による検出状況(重松、花井らのデータより)

旧指標(A)では、5 例中少なくとも 3 例の見逃しが出るが、一方新指標(B)では検討した 5 例では見逃しはない。

CPT2 欠損症と判明した 10 症例を新旧指標にあてはめて表 10 に示した。旧指標で正しく診断できたのは、症例 1、2、7、および 8 の 4 例のみで

あった。これに対し、新指標を当てはめると 10 例全例が CPT2 欠損症と診断された。

表 10. CPT2 欠損症の新旧診断指標による検出状況の比較

症例	旧指標		新指標		CO
	C16	C18:1	(C16+C18:1)/C2	C16	
1	<u>10.82</u>	<u>4.73</u>	<u>1.02</u>	<u>10.82</u>	29.0
2	<u>12.2</u>	<u>6.05</u>	<u>3.26</u>	<u>12.2</u>	14.9
3	4.79	1.48	<u>1.60</u>	<u>4.79</u>	9.9
4	3.45	1.68	<u>0.75</u>	<u>3.45</u>	25.3
5	5.6	<u>3.6</u>	<u>2.3</u>	<u>5.6</u>	13.0
6	3.51	1.18	<u>0.77</u>	<u>3.51</u>	13.3
7	<u>8.42</u>	<u>3.01</u>	<u>1.76</u>	<u>8.42</u>	14.3
急性発症（突然死）例の新生児期濾紙血分析					
8	<u>10.19</u>	<u>5.59</u>	<u>26.3</u>	<u>10.19</u>	25.1
9	5.56	2.80	<u>2.59</u>	<u>5.56</u>	16.6
10	5.18	-	<u>2.28</u>	<u>5.18</u>	25.1
基準値	<6.3	<3.0	<0.62	<3.0	10<

単位：C16= nmol/mL。下線を引いた数字は異常値を示す。

新指標による CPT2 欠損症診断の感度・特異度は、表 11 に示すように、感度 100%で特異度(非

患者を陰性とする率)は 99.998%と計算され、極めて良好であった。

表 11. 新診断指標による CPT2 欠損症の診断の感度と特異度（福井大学 重松ら）

	CPT2欠損症患者	非患者	計
スクリーニング陽性	8	25	33
スクリーニング陰性	0	1,083,463	1,083,463
計	8	1,083,488	1,083,496

また図 3 に示した広島大学の調査でも、新指標の陽性者 22 例中患者が 10 名（46%）であった。

すなわち新指標は本症のスクリーニング指標として優れていることが明らかになった。

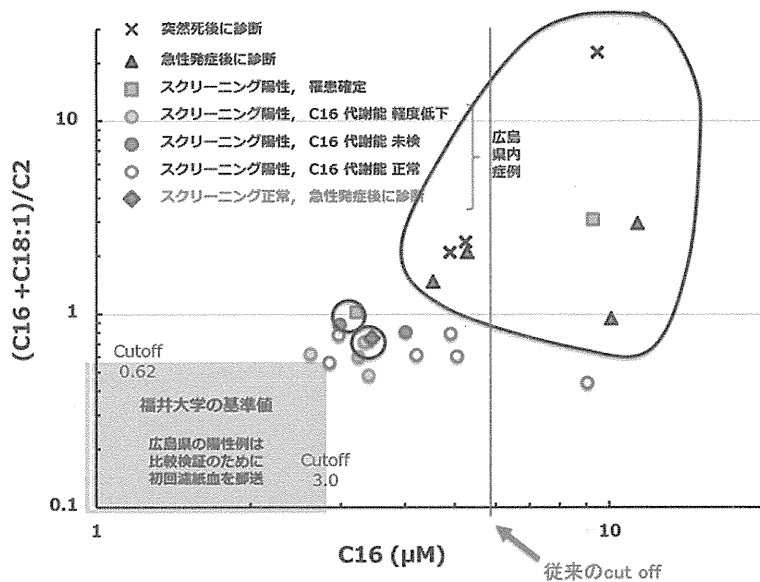


図3. ろ紙血中のCPT2欠損症新診断指標の分布(広島大学 但馬剛ら)

2. スクリーニング検査精度向上に関する研究

1) 検査施設間の連携体制の構築

①TMS スクリーニングの実施状況：TMS 検査施設 38 施設中 34 施設からの回答があった。2014 年の初回検査件数は 90.2 万で、再採血数は 2013 年度 (0.39%) と比較すると、2014 年 (0.35%) と増加は見られなかった(図4)。発見患者数は 2013 年度 (54 例) よりも 2014 年度 (76 例) により多く把握できた。

②Web 解析システムの構築：従来から TMS 検査機関では日本マススクリーニング学会技術者部会の作成した内部精度管理ツールを用いて、正常値の分布、カットオフ値、偽陽性者、患者の測定値のデータなどを E メールベースで行ってきた。図5に従来から行ってきた正常値分布の集計チャート出力例を示している。

今回各検査施設が上記のデータをクラウドサーバ上にアップロードする Web 解析システムを開発した。これによって各施設における診断指標の正常値(箱ひげ図)、ばらつき、カットオフの位置をみることができ、さらに他施設との比較、データの更新も自動化され、簡便に行えるようになった。

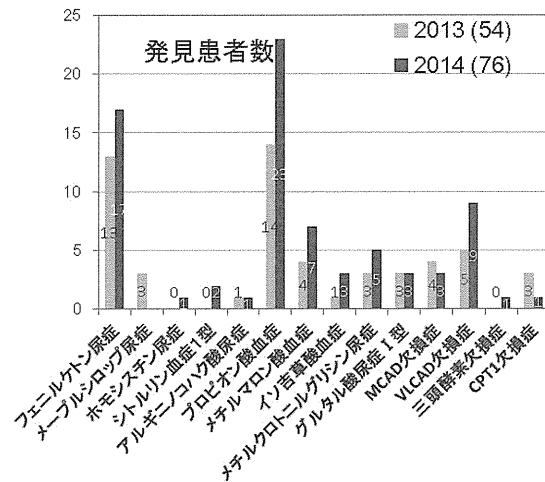
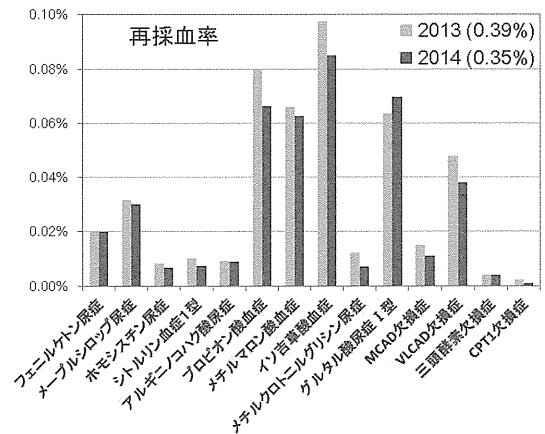


図4. 2013年度と2014年度の再採血率と発見患者数

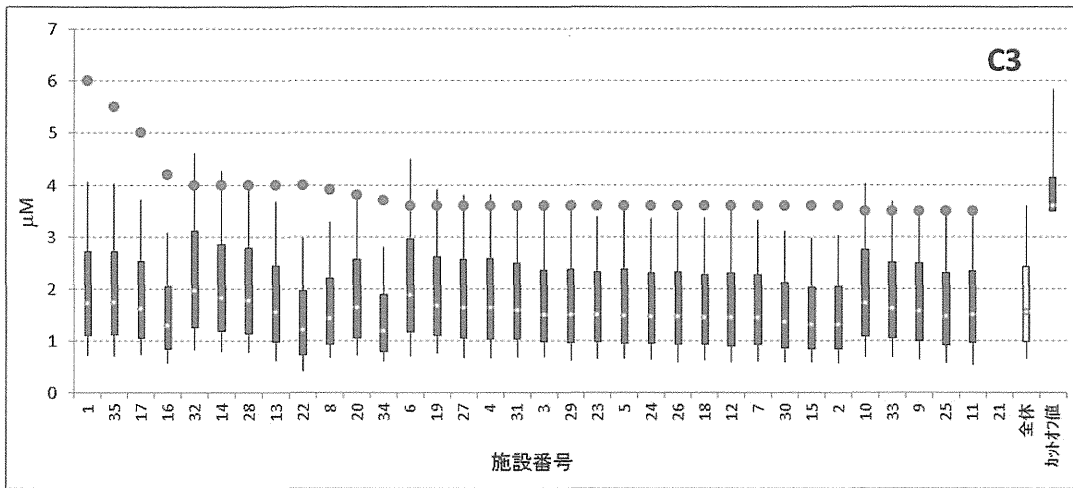


図 5. アシルカルニチン (C3) の正常値分布とカットオフの表示

横軸は施設番号を示し、縦軸は C3 の測定値 (nmol/mL) を示す。正常値分布の箱ひげ図とカットオフ値 (●) が表示されている。Web 解析システムによってこれらが自動化される。

2) 二次検査体制の構築

①スクリーニングと同じ検体を用いる鑑別診断法の確立を目的として、LC-MS/MS 法によるアミノ酸およびアシルカルニチン分析法の実用化を検討した。イソバレリルカルニチン(IVC)、ピバロイルカルニチン(PC)の分離定量法を確立し、C5

上昇例 40 例を試験したところ、36 例 (90%) に PC が検出され、薬剤性偽陽性例と判定された。真の先天代謝異常症であるイソ吉草酸血症は特定できなかったが、既知の患者の検体の分析によってこの方法の有用性を確かめた (図 6)。

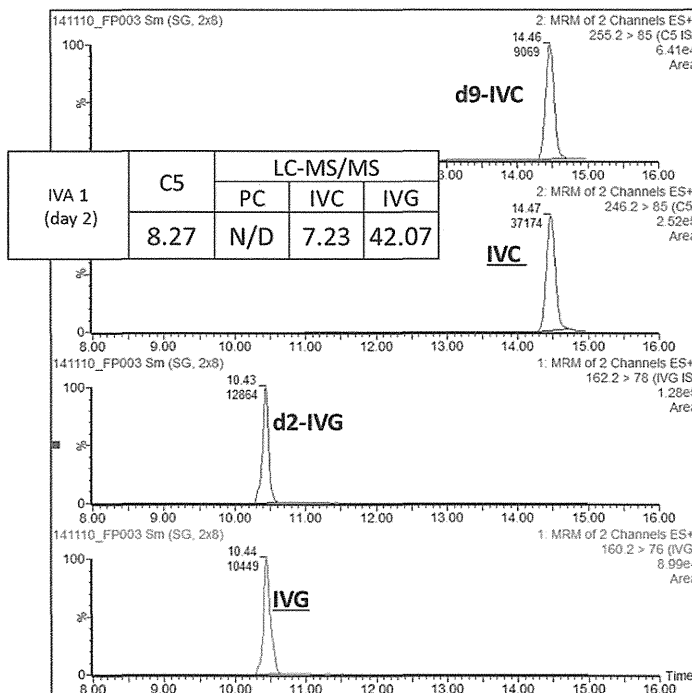


図 6. イソ吉草酸血症の LC-MS/MS による分析例

3) スクリーニング検査施設基準の充足状況

日本マススクリーニング学会が推奨したスクリーニング検査施設基準(表12)の充足状況を調査した。この基準では47項目を努力目標として

提示しているが、全47項目を満たしている施設はなく、10~46項目が7施設、30~40項目が20施設、20~30項目は6施設、10~20項目は3施設あった。

表12. 日本マススクリーニング学会の推奨する検査施設基準の骨子

1. 検査機能
1-1 一次検査の迅速・正確な実施
1-2 二次検査の実施により偽陽性率の低減・陽性的中率の向上
1-3 精密検査以降のフォローアップ検査(特殊検査)の実施
2. 精度保証体制
2-1 組織の検査体制と検査の責任体制の明確化
2-2 検査前・検査・検査後プロセスの精度管理による総合的精度保証体制
2-3 外部精度管理への参加による定期的な検査能力の評価
3. 検査体制, 教育研修
3-1 適正な検査担当者数の配置, 認定技術者の有無
3-2 検査・精度管理責任者, 検査担当者の新生児スクリーニング関連研修の計画的な受講, 学術的・技術的なレベルアップ
4. コンサルタント医師
4-1 検査結果の判定時に助言指導, 精密検査医療機関受診のコーディネート
5. 関係機関との連携
5-1 都道府県・指定都市, 産科等採血医療施設, 精検・治療医療機関との連携

3. 外部精度管理体制の確立に関する研究

1) 外部精度管理、内部精度管理体制の構築

①外部精度管理体制の確立を目的として、1年目に作成した標準検体を用いて、技能試験(PT試験)を3回、精度試験(QC試験)を1回、全国のTMS検査施設に送って、PT試験、QC試験を行い、さらにその結果を自治体に報告するシステムを構築した。

②内部精度管理検体を作成し、全国のTMS検査施設に送りQC試験を行ったが、そのデータを質を評価するソフトを開発した。これにより全国検査機関をネットワーク化し、分析データの日内変動、日間較差、バラつき、偏りなどを自動的に処理して、測定値の妥当性の評価するための統計解析プログラムを作成した。

③ブラインドサンプル(BLS)を用いる外部精度管理: 精度管理を補完することを目的として、今年度はTSHを添加したサンプルで11施設を対象にのべ202検体を送って評価した。その結果検査施設で受け取ってから7日以内に結果報告の来た割合は、異常検体の場合が90%、正常検体が61%

であった。以上の疑われる時早く報告されている傾向がうかがわれた。BLS検体を用いた精度管理は、回数の限られている(年3回)PT試験を補完できる可能性が高い。

2) 先天代謝異常等検査実施要綱の改定状況の調査

①タンデムマス法導入の項目: 平成20年時点と平成27年時点の要綱を比較して改定状況を調査した。分析対象とした57自治体のすべての自治体において、書類上対象疾患が以前の6疾患から19疾患となり、TMSタンデムマス法が測定法として採用されていた。

②採血日齢: 57自治体のうち44自治体において、採血日齢が「5~7」から「4~6」と早期化していた。

③連絡協議会、関連部署の連携についての記載: 11自治体の要綱に追加されていた。

④精度管理に関する追加項目: 10自治体で要綱に追加されていた。

⑤低出生体重児の2回目の採血の指示: 要綱に追加されていたのは、9自治体のみであった。

⑥確定患者の自治体への報告：患者追跡に関する記述が6自治体の要綱で削除されていた。

⑦追跡調査に関する文書：6自治体において「検査施設で確定診断された患者の台帳を作り、自治体に報告する」という記述が、要綱から削除されていた。

4. 次世代のスクリーニングの在り方に関する研究

1) 網羅的遺伝子解析導入に関する課題の検討

遺伝性疾患を網羅的に一斉するクリーニングできる方法として、whole genome sequence (WGS)、whole exome sequence (WES)、および一群の疾患群の遺伝子部分のみを調べる targeted re-sequencingの3種類がある。

①諸外国の状況：米国NIHで2013年より4つの医療機関でWESの応用に関して、倫理的な面を含めた検討が開始されている。またバージニア州において5,000家族20,000のWGS解析を試験的に開始されている。

②網羅的遺伝子解析の課題：現時点では1検体あたり十～数十万円かかり、費用面では現実的ではない。しかし、スクリーニングに適した体制を組むことは技術的には可能である。感度、特異度は現時点では、制約がありそれを理解した上でスクリーニングへの応用を考える必要がある。対象疾患の選定も各疾患の専門家を交えた慎重な議論が必要である。さらに偶発的所見にも配慮が必要である。倫理的課題は、既存の対象疾患と質的に異なるものではない。

2) 重症複合免疫不全症 (SCID) の新生児スクリーニングの現状と課題に関する研究

①重症複合免疫不全 (severe combined immunodeficiency: SCID) : 診断されていない状

態で過ごした場合、感染症のために1才以前に死亡することが多い。一方、感染症に罹患する前に骨髄移植等の介入によって発症を予防することが可能である。米国などの諸外国では、TREC (T-cell receptor excision circle)測定によってT細胞欠損症のスクリーニングが実施されている。

②検査の原理：検体量は、3.2mm大の血液ろ紙ディスクでよい。溶出したDNAをPCR法によってTREC (またはKREC)を増幅する。T細胞受容体再構成の副産物として生じる環状のDNAで、細胞増殖の際に複製されないため胸腺からの成熟T細胞産生量を推測するためのマーカーとなっている。発見された患者には、造血幹細胞移植、遺伝子治療による治療が実施されている。同様に、B細胞新生能のマーカー KREC (kappa-deleting recombination excision circles)の測定によるB細胞欠損症のスクリーニングも計画されている。これらの遺伝子検査は、塩基配列の変化を検出するものではなく、免疫関連細胞が作られる過程で生じる「特定の遺伝子産物の定量」である。

③我が国のSCIDパイロットスクリーニング：研究協力者3名によって詳細な検討が行われているが、現時点ではその検体規模は小さい。A機関：全国7～10か所の医療機関が参加し、年間5～15万検体のパイロットスクリーニングが計画されている。B機関：303名のパイロットで2例の偽陽性があった。1例は技術的な問題、もう1例は一過性リンパ球減少症であり、真の免疫不全症はなかった。C機関：すでに市販されているスクリーニング用キットを使って、213例の新生児と9例のSCID患者の検体を用いて検査したところ図7のような分布を示し患者と正常のオーバーラップはなかった。

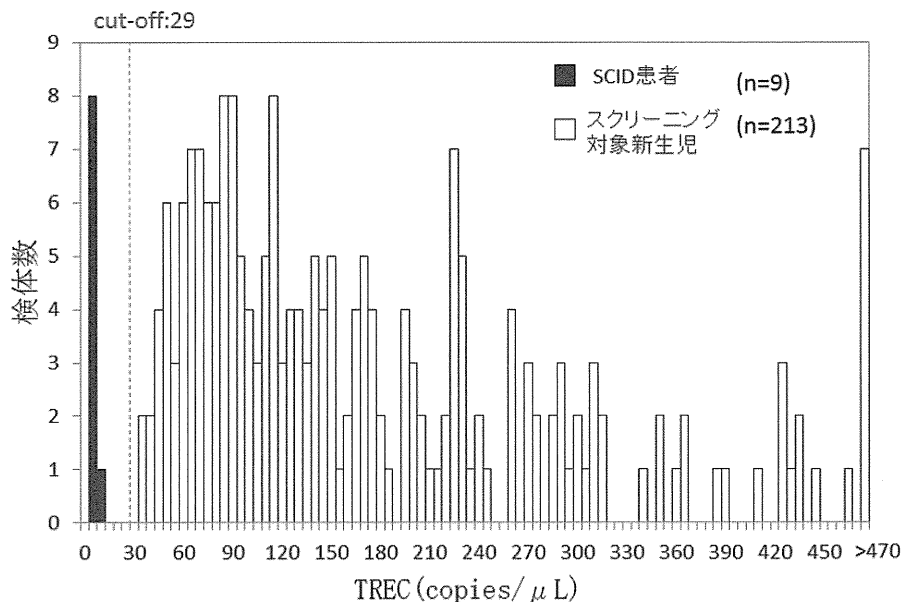


図 7. 新生児と SCID 患者のろ紙血中 TREC 値（名古屋大学のデータ）

④SCID スクリーニングの費用対効果：わが国の新生児出生 100 万とし、1 検体にかかる費用を 500 円と仮定した時、約 11 億円の便益が出ると試算されているが、今後パイロットスタディを通じてより正確な評価が必要である。

⑤SCID スクリーニングの海外のデータ：米国で検査を受けた新生児 303 万人のうち 52 名の患者が発見され（頻度 1: 58,000）、また台湾で 10 万人のうち 3 名（頻度 1:33,000）の患者が発見されたという報告がある。2016 年春の時点で米国ではすでに 38 州でスクリーニング事業として実施されている。

原病約 12%、高アンモニア血症 20%などであった。

表 13. PKU の成人患者（20 歳以上）の占める割合

年度	患者 発見数	患者 累積数	20歳以上 の患者	%
1977	6	—	0	0
1990	14	232	0	0
1997	16	343	6	1.7
2000	11	394	79	20
2010	12	570	232	40.7
2013	25	635	278	43.7

5. 治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究 治療用特殊ミルクの需要の検討

①治療用特殊ミルクの種類と出荷量：出荷量は年々増加傾向にあり、2008 年の出荷量は 20,000kg であったが、2014 年の特殊ミルク出荷量は 28,000kg（登録品 20,084kg；登録外品 7,912kg）であった。

②特殊ミルクの成人患者に占める割合：表 13 に示すように、PKU で成人患者の占める割合は、2010 年から 40%を超え、成人に達した患者数が増加している。PKU 以外の患者では、特殊ミルク出荷状況からみると成人患者の占める割合は、糖

③ケトンフォーミュラ（817-B、難治性てんかん用）の使用状況：817-B フォーミュラの出荷量は、表 14 に示すように難治性てんかんの治療を中心に年々増加している。グルコーストランスポーター1（Glut-1）異常症とピルビン酸脱水素酵素複合体（PDHC）欠損症が 2012 年 4 月より対象疾患として認められ、登録品としての出荷量が急激に増加した。

表 14. ケトンフォーミュラ（817-B）の症例数の推移

疾患名	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年
Glut-1 異常症	0	1	20	43	56	62	62
PDHC 欠損症	5	9	12	16	35	38	40
てんかん・難治性痙攣	133	159	149	143	174	184	189
ミトコンドリア異常症	1	3	16	16	6	12	17
その他	8	8	10	6	11	11	11
合計	147	180	207	254	282	307	319

④低カリウム・中リンフォーミュラ（8808、腎疾患用）の使用状況：8806は小児慢性腎臓病の治療用特殊ミルクとして我が国で開発された特殊ミルクであり、小児慢性腎臓病患儿の栄養管理上欠かせないミルクなのである。対象疾患は小児腎臓病であるため、登録外品として全額メーカー負担で供給されている。表 15 に示すように 2008 年度から使用症例数の増加傾向が見られ、2014 年度の出荷量は 3,135kg である。

表 15. 腎疾患用フォーミュラ（8808）の患者数の推移

疾患名	2011年	2012年	2013年	2014年
腎不全	71	73	90	91
先天性腎低形成	15	20	20	24
その他の腎疾患	10	6	11	6
腎機能障害	0	0	2	6
その他	3	3	2	6
合計	99	102	125	133

D. 考察

2014 年度から先天性代謝異常等検査に TMS スクリーニングが導入された。わが国で新生児スクリーニングとして先天性代謝異常等検査が開始されて今年で 39 年が経過するが、これまでの先天性異常等検査体制の課題を検討し将来に向けた体制作りを目的として研究を行った。

TMS スクリーニングで発見される疾患が超希少疾患のため、専門医や研究者が全国的に少なく、検査結果の解釈や精密検査の実施、治療方針などについて、患者に接する主治医と専門家が連携できる体制を構築することを目的として、2014 年度より「TMS コンサルテーションセンター」が設置された。今年度 2 年目となり相談窓口機能は定着してきたように思われる。また各地区の TMS スクリーニングの実情と課題を調査したところ、TMS スクリーニングは定着してきたが、自治体によって対応に温度差が残っていることがうかがわれた。例えばいまだに連絡協議会のない自治体があったり、二次対象疾患に対する考え方が不十分であったり、あるいは低出生体重児の 2 回目採血（内分泌疾患のスクリーニング）が実施されていないなどの課題がある。

患者コホート体制の研究で、厚労省の調査で自治体の把握していた患者数と、研究班が医療機関を対象に調査した患者数には乖離のあることもわかった。自治体の把握している患者数には少数例の偽陽性も含まれる可能性がある。自治体として、疾患の細かい情報まで把握する必要はないと思われるが、正確な患者数、患者の転帰について情報を把握する仕組みが必要である。さらに発見された患者の登録、コホート体制について自治体の対応をアンケート調査したところ、個人情報保護条例に慎重になる自治体が半数以上みられた。先天性代謝異常等検査における患者コホート体制の意義は、以下の点が挙げられる。i) 正確な疾

患頻度（重症度）の把握、ii)希少疾患の治療法向上、iii)診療内容のバラつき是正、iv)事業評価、行政サービス向上、v)患者家族のQOL向上（不安の軽減）、あるいはvi)障害発生予防事業の社会啓発などがあげられよう。これまでわが国の先天性代謝異常等検査に組織だった患者登録コホート体制がなく、先天性代謝異常等検査が「病気を発見しただけ」で終わっている可能性がある。今後コホート体制を整えてゆくべきである。

CPT2 欠損症を一次疾患にする必要性を示すデータが得られた。TMS スクリーニング対象疾患のうち突然死の起こった症例を学会や文献で検索したところ、16 例中 15 例が CPT2 欠損症であった。CPT2 欠損症は発症後に診断される脂肪酸代謝異常症として頻度が高いにもかかわらず、偽陽性、偽陰性の多さから TMS スクリーニングでは二次対象疾患とされてきた。また CPT2 欠損症が強く疑われる症例に遭遇しても「二次対象疾患」という理由で確定診断されないまま、みすみす突然死に至った症例もあった。今回新しい診断指標を検討したところ、感度、特異度共に優れていることが明らかになった。CPT2 欠損症を一次対象疾患として積極的に診断する体制が望ましい。TMS スクリーニングにおいては、外部精度管理と内部精度管理が必須である。成育医療センター・マススクリーニング研究室（MS 研）での外部精度管理（年 3 回の PT 試験と年 1 回の QC 試験）は 2 年目に入り試験時期も滞滞なく軌道に乗ってきたと思われる。また本研究班で、検査施設で行ってきた内部精度管理をアップロードして、それぞれの施設がデータのバラつき、カットオフの設定等について他施設と比較できるような Web 解析システムを開発した。新たな経費負担はなく精度管理の質が大いに向上することが期待される。

患者家族のストレス軽減のために、偽陽性、再採血検査の件数を減らす目的として、初回検体で LC-MS/MS を用いる精密検査法も開発した。さらに日本マススクリーニング学会の提唱した検査施設基準の充足状況について調査した。完全にすべてを満たす施設はなかったが、徐々に質を高め

てゆく指標として今後もチェックしてゆくべきである。

今後検討すべき先天性代謝異常等検査の在り方として、網羅的遺伝子解析によるスクリーニングは米国の一部で基礎的な検討が始まっているが、経済的な問題、診断精度の問題、倫理的問題も含めて検討課題が山積している。さらに次に検討すべき対象疾患として重症複合免疫不全症（SCID）スクリーニングが米国の半数の州や台湾などですでに始まっている。海外のスクリーニングによると頻度はおおよそ 1: 58,000 と言われており、感染症を発症する前に発見されて介入された症例では効果は極めてよいといわれている。今年度 SCID スクリーニングの研究を行ってきているわが国の 3 つのグループから現状調査が報告された。これまでのところパイロット研究では真の SCID は発見されていない。しかし既知の患者を SCID スクリーニングで検査したところ明確に検出できることを確認されている。これからのパイロット研究の発展が期待される。

最後に、治療用特殊ミルクの問題として、特殊ミルクの供給の相当の部分をメーカーのボランティアに頼ってきたため、TMS スクリーニングの開始にともなう必要な患者数の増加、年々蓄積してゆく患者数、成人患者数の増加などの要因で特殊ミルクの供給体制を抜本的に改定すべきである。さらに先天代謝異常ではないが、難治性てんかん等に対する「ケトンフォーミュラ」、腎疾患に対する「低カリウム・中リンフォーミュラ」は、実質的に全額メーカー負担となっているが、これらも年々使用する症例数は増加傾向にあり、早晚供給体制の問題が顕在化することが予想される。特殊ミルクの必要度と効果のエビデンス、真に必要な特殊ミルクの品目の整理などの研究を急ぎ、安定的な供給体制構築が求められる。

E. 結論

今年度の強調すべき研究成果は以下のように集約される。