

図8. 平成25年度施設別タンデムマス検査実施状況 (再採血率・精査率)

表4. 平成25年度タンデムマス検査実施状況 (施設別集計)

施設No	2013年度 検体数	項目	陽性数	再採血 数	即精検 数	再採血後 精検数	総精検 数	発見 患者数	陽性率	再採血率	即精検率	再採血後 精検率	総精査率	発見頻度	PPV
1	47,078	全項目	169	55	3	10	13	4	0.36%	0.12%	0.006%	0.021%	0.028%	1:11,770	30.77%
2	25,317	全項目	3,720	170	5	10	15	1	14.69%	0.67%	0.020%	0.039%	0.059%	1:25,317	6.67%
3	932	全項目	7	7	0	0	0	0	0.75%	0.75%	-	-	-	-	-
4	13,233	全項目	166	85	16	25	41	0	1.25%	0.64%	0.121%	0.189%	0.310%	-	-
5	14,909	全項目	260	25	3	1	4	0	1.74%	0.17%	0.020%	0.007%	0.027%	-	-
6	17,402	全項目	68	20	1	1	2	1	0.39%	0.11%	0.006%	0.006%	0.011%	1:17,402	50.00%
7	16,654	全項目	446	39	0	2	2	0	2.68%	0.23%	-	0.012%	0.012%	-	-
8	23,326	全項目	951	180	1	3	4	2	4.08%	0.77%	0.004%	0.013%	0.017%	1:11,663	50.00%
9	12,075	全項目	243	58	0	9	9	3	2.01%	0.48%	-	0.075%	0.075%	1:4,025	33.33%
10	12,919	全項目	401	41	5	7	12	0	3.10%	0.32%	0.039%	0.054%	0.093%	-	-
11	18,892	全項目	140	26	0	7	7	0	0.74%	0.14%	-	0.037%	0.037%	-	-
12	15,938	全項目	471	15	0	0	0	0	2.96%	0.09%	-	-	-	-	-
13	11,877	全項目	86	17	6	2	8	0	0.72%	0.14%	0.051%	0.017%	0.067%	-	-
14	8,597	全項目	296	25	1	6	7	0	3.44%	0.29%	0.012%	0.070%	0.081%	-	-
15	23,324	全項目	466	80	0	7	7	0	2.00%	0.34%	-	0.030%	0.030%	-	-
16	16,360	全項目	65	45	1	2	3	0	0.40%	0.28%	0.006%	0.012%	0.018%	-	-
17	680	全項目	5	0	0	0	0	0	0.74%	-	-	-	-	-	-
18	13,301	全項目	727	137	0	5	5	0	5.47%	1.03%	-	0.038%	0.038%	-	-
19	31,359	全項目	2,292	184	16	18	34	2	7.31%	0.59%	0.051%	0.057%	0.108%	1:15,680	5.88%
20	46,931	全項目	2,265	183	6	8	14	4	4.83%	0.39%	0.013%	0.017%	0.030%	1:11,733	28.57%
21	7,010	全項目	1,445	13	1	2	3	0	20.61%	0.19%	0.014%	0.029%	0.043%	-	-
22	36,729	全項目	1,729	189	10	8	18	2	4.71%	0.51%	0.027%	0.022%	0.049%	1:18,365	11.11%
23	19,298	全項目	1,169	48	15	3	18	2	7.64%	0.31%	0.088%	0.020%	0.118%	1:7,849	11.11%
24	7,345	全項目	190	82	0	1	1	1	2.59%	1.12%	-	0.014%	0.014%	1:7,345	100.00%
25	29,957	全項目	901	125	4	10	14	2	3.01%	0.42%	0.013%	0.033%	0.047%	1:14,979	14.29%
26	27,963	全項目	1,007	91	5	13	18	1	3.60%	0.33%	0.018%	0.046%	0.064%	1:27,963	5.56%
27	65,847	全項目	2,903	439	9	17	26	6	4.26%	0.66%	0.014%	0.026%	0.039%	1:10,975	23.98%
28	100,375	全項目	2,654	182	8	18	26	8	2.64%	0.18%	0.008%	0.018%	0.026%	1:12,547	30.77%
29	15,619	全項目	270	49	6	3	9	0	1.73%	0.31%	0.038%	0.019%	0.058%	-	-
30	37,987	全項目	1,309	159	7	10	17	2	3.45%	0.42%	0.018%	0.026%	0.045%	1:18,994	11.76%
31	72,450	全項目	8,193	220	2	16	18	6	11.31%	0.30%	0.003%	0.022%	0.025%	1:12,075	33.33%
32	64,994	全項目	1,842	330	11	24	35	7	2.83%	0.51%	0.017%	0.037%	0.054%	1:9,285	20.00%
33	10,201	全項目	0	75	13	5	18	0	-	0.74%	0.127%	0.049%	0.176%	-	-
全体	862,879	全項目	36,756	3,390	155	253	408	54	4.26%	0.39%	0.018%	0.029%	0.047%	1:15,979	13.24%
max									20.61%	1.12%	0.121%	0.189%	0.310%		
min									0.36%	0.09%	0.003%	0.006%	0.011%		

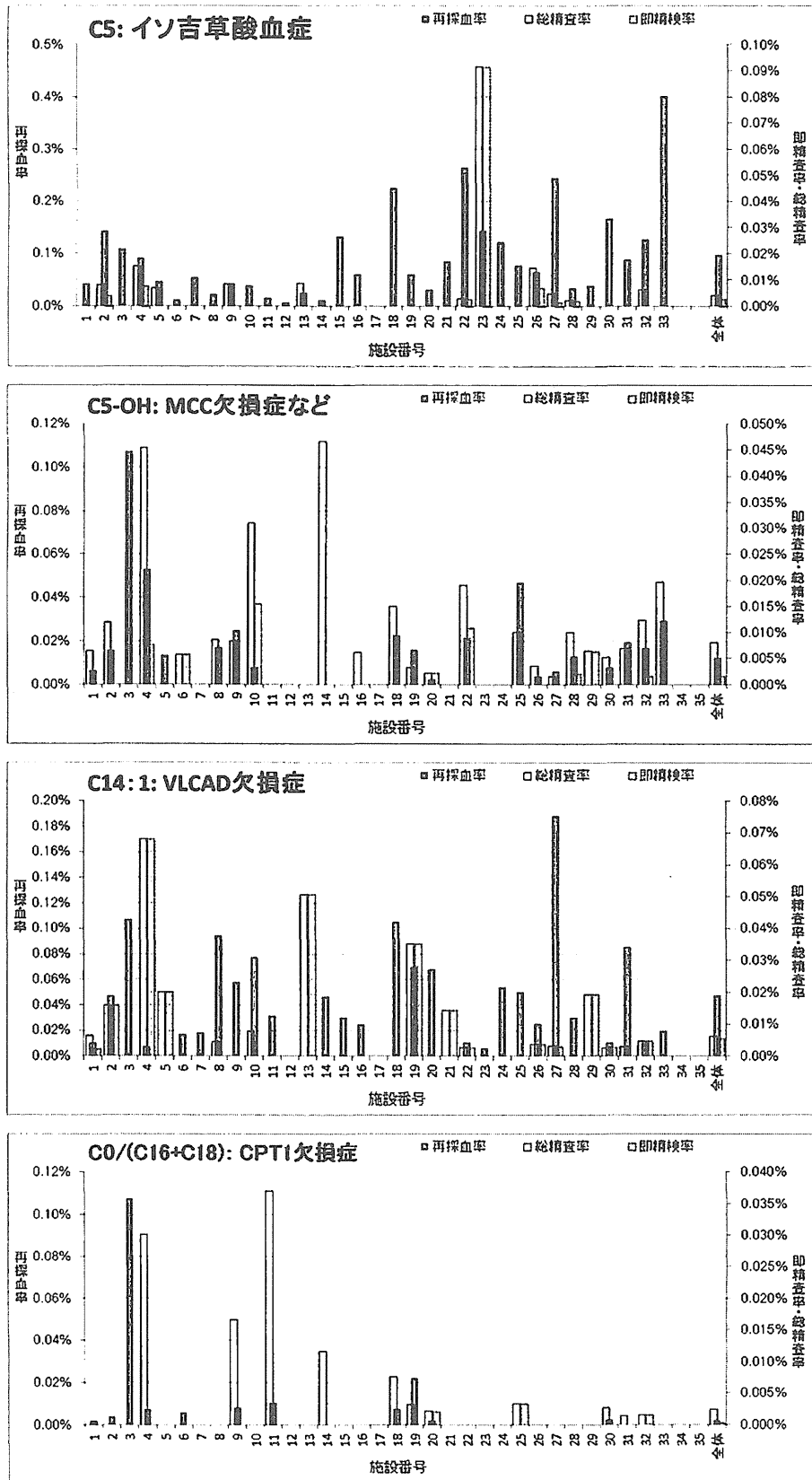


図9. 再採血率, 精査率の施設間差が大きな指標

熟練度が増すことにより、施設間差も軽減されることが予想される。しかしながら、今回行った調査を、今後、毎年継続的に行うことができれば、施設間差も軽減し、検査精度の均質化を図ることが可能と思われる。さらに、今回配布した内部精度管理ツールを活用し、定期的に自施設の検査データの分布を確認することが極めて重要である。

TMS実施状況の調査結果では、一次疾患の全施設合計の再採血率は0.39%であり、厚生労働省研究班で作成した「タンデムマスQ&A 2012」<sup>2)</sup>での、再採血率の目安0.1%から0.6%に収まっており、全体平均では、適正な精度でTMSが行われていることが示唆された。また、総精査率については0.047%となっており、各疾患の陽性適中率 (PPV) から推定される適正な精査率0.05%の範囲<sup>3)</sup>となっていた。

しかしながら、施設ごとの集計結果を見ると、施設によっては再採血率や総精査率が高い施設があった。TMS検査の開始にあたっては、厚生労働省研究班が示した基準値<sup>4)</sup>を採用しているのが一般的であるが、陽性率が高い施設では、各指標の正常値分布や内部精度管理の結果などから、カットオフ値の適正さを評価し、再採血率などが高くなる原因を検討する必要がある。

また、対象疾患ごとの総精査率と発見患者数の関係を見ると、総精査率の高い疾患にあっても、発見患者数が多いものと少ないものがある。一般的には、発見頻度が高い疾患では、精査率が高くなることが推測されるが<sup>5)</sup>、メチルクロトニルグリシン血症、VLCAD欠損症、カルニチントランスポーター異常症などの比較的発見頻度が低い疾患でも、総精査率は高かったが、患者の発見数は多くはなかった。この原因については、今後、患者と偽陽性例との検査結果を解析して、カットオフ値設定の適正さに起因する問題か否かについて検討する必要性が示唆された。

なお、二次対象疾患のシトリン欠損症は、低い総精査率でありながら、高率に患児が発見されている。本疾患は、Citを指標にTMS検査が行われているが、他の疾患の指標であるPhe、

Met、ガラクトースなどの高値により精査となり、本症と診断されるケースも含まれていることが高率な患者発見となっていると考えられる<sup>6)</sup>。

一次疾患の検査指標の施設別結果をみると、検査のばらつきやカットオフ値設定に起因すると推定された再採血率等の高値となる施設があった。この他に、再採血率等の高値が検査そのものではなく、それ以外が原因と推定される指標もあった。すなわち、C5の再採血率等が高くなる施設では、ピボキシル基含有薬剤による偽陽性<sup>7)</sup>が推測された。また、C5-OHについては低体重児における高値の遷延などが偽陽性<sup>8)</sup>の原因と推測されたケースもあった。

TMSは、これまでのスクリーニングに比べ、各施設での内部精度管理が重要となる。施設ごとに内部精度管理ツールを活用して、定期的に検査データの確認を行い、また、全国集計結果と比較し、自施設の現状を詳細に分析することにより、カットオフ値の適正さの確認が可能となる。今後も継続的に各施設の正常値分布調査を実施していくには、より簡便な検査データの収集と、結果のリアルタイムの解析が必要であり、アメリカRegion4 Storkプロジェクト<sup>9)</sup>のようなWebベースのデータベース構築と解析システムの整備も目指すべきであろう。

## 謝 辞

この研究は、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)「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)の助成を受けて実施した。調査にご協力いただいた検査施設等の関係者の方々に感謝いたします。

## 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) 山口清次: タンデムマスの検査精度は?.

- 新しい新生児マススクリーニング タンデムマスQ&A 2012. 厚生労働科学研究 (成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業), 出雲市, 2012, P14.
- 3) 花井潤師, 吉永美和, 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(2) -患者データ, 再採血率, 精査率から考える-, 日本マス・スクリーニング学会誌, 23(1), 61-67, 2013.
  - 4) 重松陽介, 畑 郁江, 稲岡一孝: 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(3), 13-18, 2011.
  - 5) 大浦敏博, 虹川大樹, 相川純一郎, 他: 新生児マススクリーニングを契機に発見されたCitrin欠損症による新生児肝内胆汁うっ滞症: 9症例の臨床像の検討. 日本マス・スクリーニング学会誌, 11(3), 23-27, (2001).
  - 6) 雨瀧由佳, 野町祥介, 花井潤師, 他: タンデム検査で偽陽性を生じる抗生剤使用の問題点とその対応について. 日本マス・スクリーニング学会誌, 20(3), 213-216, (2010).
  - 7) 石毛信之, 藤川研人, 穴澤 昭, 他: C5-OH軽度高値が遷延した低出生体重事例について. 日本マス・スクリーニング学会誌, 23(2), 231, 2013.
  - 8) David M. S. McHugh, Cynthia A. Cameron, Jose E. Abdenur, et al. Clinical validation of cutoff target ranges in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: A worldwide collaborative project. Genet Med, 13(3), 230-254, 2011.

## Recent status of quality assurance in newborn screening for inborn error of metabolism using tandem mass spectrometry

- Attempts to enhance internal quality control

Junji Hanai<sup>1)</sup>, Masaru Fukushi<sup>2)</sup>, Nobuyuki Ishige<sup>3)</sup>, Ryuji Tasaki<sup>4)</sup>, Seiji Yamaguchi<sup>5)</sup>, Yosuke Shigematsu<sup>6)</sup>

- 1) Sapporo City Institute of Public Health, 2) Sapporo Immuno Diagnostic Laboratory, Co. Ltd.,
- 3) Tokyo Health Service Association, 4) The Chemo Sero-Therapeutic Research Institute,
- 5) Department of Pediatrics, Shimane University School of Medicine, 6) Department of Health Science, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui

*Jpn J Mass Screening 25: 57-66, 2015*

## タンデムマス法の導入にともなう 新生児マススクリーニングの新しい体制

山口清次 (鳥根大学医学部小児科教授)

### I. はじめに

新生児マススクリーニング (NBS) は、放置するとやがて障害が発生するような先天代謝異常症を、発症していない新生児期に発見して介入し、障害発生を防止する小児保健の代表的な事業である。NBSを導入している欧米先進国では「大変優良な公衆衛生事業」であるといわれている<sup>1)</sup>。

2014年度よりわが国に新しいスクリーニング検査法であるタンデムマス法 (TMS) が導入された。一方、TMSの登場にともなって、従来のNBSの課題も浮き彫りになってきた<sup>2)</sup>。TMS導入にともなう新しい体制の整備について述べたい。

### II. 新生児マススクリーニングの歴史

タンデムマス法が導入されるまでのNBSの歴史的背景<sup>3)</sup>を表1に示す。1960年頃に米国のガスリー博士が「ガスリー法」を発明し、ただちに欧米を中心に普及した。ガスリー法はわが国でも1960年代前半から試験研究が始められ、1977年より全国実施された。その後1979年に先天性甲状腺機能低下症、1989年より先天性副腎過形成症 (CAH) が追加され、1991年以降対象疾患は6疾患であった。

1990年代にタンデムマス法が開発され、2000年頃を境に世界的に注目されるようになった。わが国では1997年より福井大学で試験研究が行われ<sup>4)</sup>、2004年から厚生労働省科学研究費の補助を受けて研究班 (研究代表者 山口清次) が組織された。2011年に厚生労働省母子保健課長通達が出されてタンデムマス法は全国

自治体に広がり、2014年度より全国で始まった。これにともないガスリー法はなくなった。

### III. 従来から行われているマススクリーニングの方法

ガスリー法は、枯草菌の増殖輪の直径からアミノ酸を半定量する方法でアミノ酸代謝異常症のスクリーニング法である。アミノ酸血症3疾患を対象に行われた。ペイゲン法はガラクトースの濃度を測定する方法で、ポイトラー法はガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼの活性測定によってガラクトース血症I型をスクリーニングする方法である。CHの診断指標のTSHやCAHの診断指標の17OHPの測定はELISA法が最も多い。TMS法は質量分析法の一種で、アミノ酸とアシルカルニチンを高感度に測定できる方

表1 わが国の新生児マススクリーニングとタンデムマス導入までの歴史

1960	ガスリーテスト開発 (ガスリー)
1977	日本で新生児マススクリーニング事業開始 (アミノ酸血症を対象)
1979	先天性甲状腺機能低下症が対象疾患に追加
1990頃~	タンデムマス法によるスクリーニング法開発
1997	日本でタンデムマス法の試験研究 (福井大学)
2000頃~	タンデムマス法が世界的に注目
2004	厚生労働省タンデムマス・スクリーニング研究班発足
2011	厚生労働省母子保健課長通達 (タンデムマス法の導入)
2014	タンデムマス法が全国に導入 (ガスリーテストは廃止)

法として登場した。

#### IV. タンデムマス法による拡大スクリーニング

タンデムマスは正式には「タンデム型質量分析計」という。質量分析計が直列に2つ並んだ構造の高感度分析機器である。血液ろ紙から直径3mmのディスクを打ち抜き、その抽出液をこの機械にかけると、1回の分析で多種類のアミノ酸とアシルカルニチンが同時測定され、図1に示すような20~30種類の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を一斉にスクリーニングできる方法である。これを

「拡大スクリーニング」という。従来からの対象疾患のアミノ酸代謝異常症3疾患もタンデムマスで発見できるので、ガスリーテストは不要となった。ただ、ガラクトース血症、先天性副腎過形成症、先天性甲状腺機能低下症の3つの病気はタンデムマスで検査できないので、これまでと同様の方法で検査する必要がある。

#### V. タンデムマス法で発見される1次対象疾患・2次対象疾患

TMSで発見できる可能性のある疾患は30種類以上にのぼる。しかしNBS対象疾患には満たすべき一定

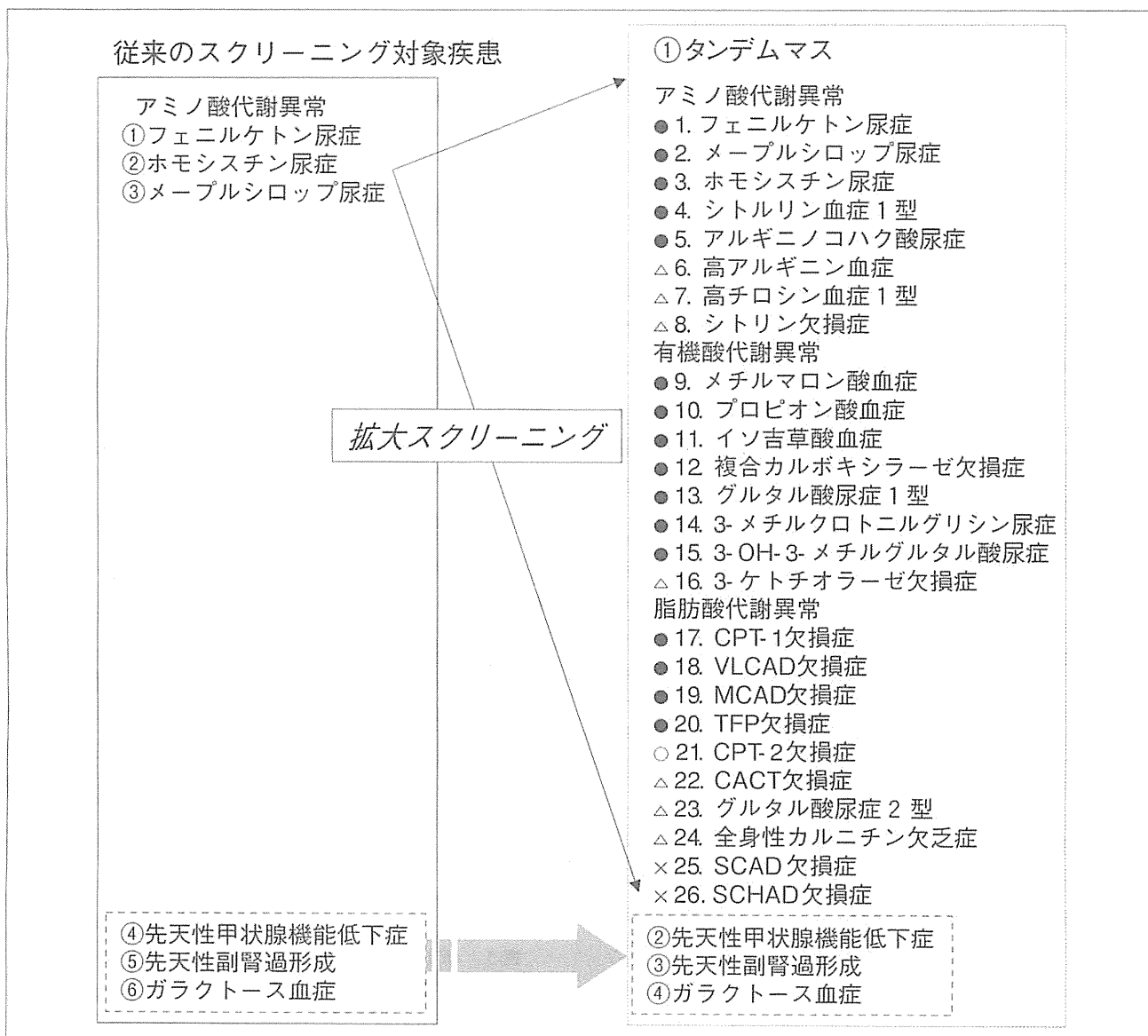


図1 タンデムマス導入による拡大スクリーニング

略字:CPT 1とCPT 2 =それぞれカルニチンバロミトイルトランスフェラーゼ-Iと-II, VLCAD:極長鎖アシルCoA脱水素酵素, MCAD:中鎖アシルCoA脱水素酵素, TFP:三頭酵素, CACT:カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ, SCAD=短鎖アシル-CoA脱水素酵素, SCHAD=短鎖3-ヒドロキシアシル-CoA脱水素酵素。

●=1次対象疾患; ○=1次対象疾患に格上げ検討中; △=2次対象疾患; ×=対象疾患外

表2 タンデムマス法対象疾患の主な臨床像と疾患

	アミノ酸代謝異常症	有機酸代謝異常症	脂肪酸代謝異常症
疾患の例	PKU, メーブルシロップ尿症, ホモシスチン尿症, シトルリン血症I型, アルギニノコハク酸尿症など	メチルマロン酸血症, プロピオン酸血症, イソ吉草酸血症, グルタル酸血症I型など	MCAD欠損症, VLCAD欠損症, CPT-II欠損症, 全身性カルニチン欠乏症, グルタル酸血症II型など
よくみられる臨床所見	1. 発達遅滞 2. 急性脳症 3. 血管障害 4. 高アンモニア血症	1. 哺乳不良 2. 多呼吸 3. ケトーシス発作 4. 急性脳症, 突然死 5. 神経退行	1. 急性脳症, 突然死 2. 間欠発作 3. 骨格筋症状 (CPK上昇など) 4. 心筋障害, 肝障害

の要件がある<sup>5)</sup>。例えば治療法のある疾患、自然歴のわかっている疾患、アクセスできる医療機関のあること、偽陽性、偽陰性の少ないことなどである。これをもとにNBSが予後改善に効果的であると判断される16疾患を「1次対象疾患」とし、一方現時点では、偽陰性・偽陽性が多かったり、診断・治療効果のエビデンスが十分といえない疾患を「2次対象疾患」として引き続き検討することとしている。

#### VI. タンデムマス対象疾患の臨床的特徴

タンデムマス法で発見される疾患は、前述のようにアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症である<sup>56)</sup>。それぞれの臨床像を表2に示している。アミノ酸代謝異常症では、PKUのように放置すると徐々に発達遅滞が進む疾患が多い。尿素回路異常症では、重症度に個人差があるものの高アンモニア血症による精神症状、意識障害の危険がある。

有機酸代謝異常症では、筋緊張低下、多呼吸、ケトアシドーシスの間欠発作、あるいは急性脳症、神経退行などがみられる。脂肪酸代謝異常症では間欠的に全身けんたい、急性脳症、突然死、骨格筋症状(筋痛、筋緊張低下)、心不全、肝機能障害などがみられる。

#### VII. わが国のタンデムマス試験研究の結果

TMSを導入したパイロット研究は、1997年に福井大学で始められ、2004年より厚生労働省研究班が組織され本格的に試験研究が行われた<sup>78)</sup>。2012年までに計約195万人の新生児の試験研究の結果、TMSで発見される疾患全体の頻度は約9千人に1人で、1次対象疾患16疾患に限ると1.1万人に1人であった。日本で頻度の高い疾患は、プロピオン酸血症(4.5万人に1人)、フェニルケトン尿症(5.3万人に1人)、メチルマロン酸血症と中鎖アシル-CoA脱水素酵素(MCAD)欠損症がそれぞれ11万人に1人という頻度であった。ま

たこのパイロット研究によって、日本人には軽症型プロピオン酸血症が多いことがわかったが、治療が必要かどうかについてはまだ結論が出ていない。

#### VIII. 新生児マススクリーニングの課題と対応

TMS導入を機に、立て直すべきいくつかのNBSの課題が浮かび上がってきた(表3)。

##### 1. 稀少疾患の診療支援

NBSで発見される疾患は稀少疾患であり、小児科専門医でもなじみのない疾患が多い。特にTMS対象疾患は特にその傾向が強い。特に専門家のいない自治体では臨床現場で戸惑うこともありうる。さらに確定診断のためにはしばしば特殊検査が必要となるが、その施設は現在限られ、医療保険の体制も十分ではない。

##### 2. 患者コホート体制

現在NBS事業は自治体事業となっており、その実施形態は自治体の裁量に任せられている部分が多く、全国的な患者登録、長期追跡の仕組みはない。稀少疾患であるからこそ、患者登録、追跡の体制を整備して、稀少疾患の診療技術を向上させるべきである。また患者の長期追跡のエビデンスは、自治体の事業評価、行政サービスに役立つ。さらに患者家族の実際の生活実態も把握できるので、治療法向上、地域格差の是正にも役立つ。

表3 新生児マススクリーニングの課題と新しい体制の整備

1. 稀少疾患の診療支援
2. 患者コホート体制
3. 精度管理体制
4. 患者家族のQOL向上
5. 治療用特殊ミルクの安定供給体制

表4 偽陽性者の問題：陽性を告げられた時の家族の気持ち（例）

- 
1. 万一病気だったらどうなるの？
  2. 結果が出るまで夜も眠れない
  3. お産などめでたくもない
  4. 今自分にしてやれることは？
  5. 「正常でした。良かったね」と言われても納得いかず
  6. 一般の医者には、深刻さがわかってもらえない？
  7. マスクリーニングなんか受けるんじゃなかった
- 
- （お茶の水女子大学 迫田麻莉，川目 裕ら）<sup>9)</sup>より引用，一部改変

### 3. 精度管理体制

TMSは精密分析機器であり，施設間や試薬ロット間で測定値にも微妙な差異があり，カットオフ値も施設ごとに配慮しなければならない。このため継続的な外部精度管理体制が不可欠である。2014年度からTMS精度管理センター（2015年時点では成育医療センター研究所内NBS研究室）を置き，年3回のPT試験（TMS対象疾患以外の疾患も含め異常な検体を正しく発見できるかをみる）と，年1回のQT試験（既知の測定値と比較，再現性と変動を調べる）が行われている。問題のある検査機関に対しては，指導をすることもある。

### 4. 患者家族のQOL向上

NBS対象疾患の患者家族は，周囲に同じ疾患の患者がいないため，予想以上に孤独感と不安の中での生活を余儀なくされている。まして自分の主治医が専門的知識を持っているのかどうかという不安を感じていることもある。

最近，患者家族会などが組織され，患者家族の交流が盛んになりつつある。これに行政担当者や専門家との情報交換の場があれば，QOLの改善に役立つ。疾患に関する新しい情報は，患者家族を勇気づける。

またNBSでは偽陽性・偽陰性の問題も重要である。「見逃すより偽陽性の方がまし」と考えがちであるが，偽陽性が多すぎると，家族にとっては非常に大きなストレスとなる。表4に示すように<sup>9)</sup>，最終結果が出るまでの家族のストレスは想像以上であるという報告がある。これらの心情をよく理解して，家族へのカウンセリングにあたるべきである。

NBSで発見された小児が正常に成人して社会参加できるようになったものの，成人後の医療補助制度が不備のために毎月数万円の自己負担が発生することも

ある。NBSが始まって38年が経過した結果クローズアップされた問題である。現在小児慢性特定疾患が難病指定となるべく見直しが進められている。

### 5. 治療用特殊ミルクの安定供給

NBSで発見されるいくつかの疾患では治療用特殊ミルクを使った食事療法が行われる。しかし先天代謝異常症に対する特殊ミルク（登録品）の供給は，乳業メーカーと国が1/2ずつ負担することで始まった。しかし年々患者数が蓄積し，TMS導入でさらに患者の数が増え，また成人後にも治療の必要な疾患がクローズアップされるようになった。このため乳業メーカーの無償のボランティアに依存する当初からの制度では持ちきれなくなっている。登録外ミルク（先天代謝異常症以外のミルク，例えばケトンフォーミュラ，MCTミルク，低ナトリウムミルクなど）は100%乳業メーカーのボランティアに頼っている状況であり，早晚この仕組みは破たんする可能性がある<sup>10)</sup>。早急な対応が求められる。

## Ⅹ. タンデムマス法導入にともなう新生児マスクリーニングの新しい体制

拡大スクリーニングが世界的に普及しつつあるが，新しい技術に対応した新しい体制が求められる<sup>11)</sup>。TMS導入にともない以下のような新しい体制整備が進められている。

### 1. タンデムマススクリーニング（TMS）普及協会

TMSが新たに導入されたことにもなって，2014年から新しいコーディネート体制ができた。図2に示すように，自治体からNPO法人TMS普及協会に精度管理とコンサルテーション業務を委託されている。TMS協会ではさらに，自治体，医療機関との連携，精度管理委員会の定期開催，および患者等の投稿による情報誌「タンデムマス通信」を発刊している。

### 2. コンサルテーションセンター

TMSに関連して，NBSデータの読み方，確定診断の進め方，治療，およびマスクリーニングの仕組みに関すること等について相談したい時，コンサルテーションセンターで全国どこからでも相談を受け付けている。図3に示すように相談窓口（03-3375-2550）から専門家のネットワークにつなぐ。コンサルタントのメ



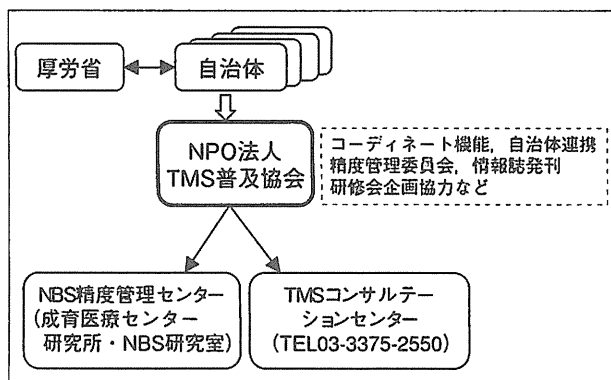


図2 新しい新生児マススクリーニング体制 (2015年時点)

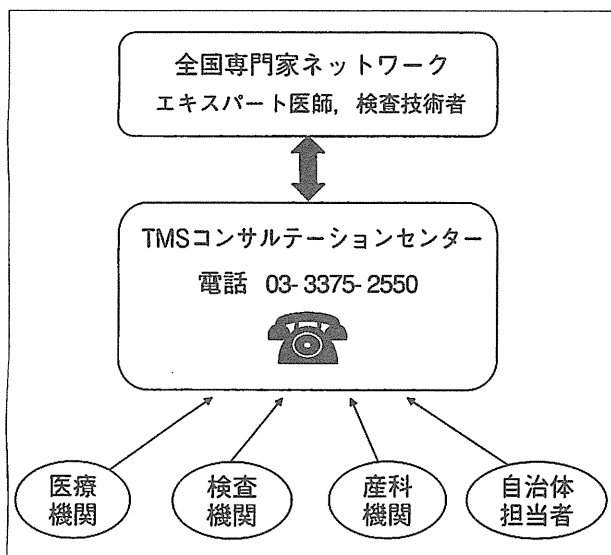


図3 TMS コンサルテーションセンター

ンバーは、日本マススクリーニング学会から推薦されたエキスパート医師、および検査技師が対応している。これらの仕組みがスムーズな診療、地域格差を是正することを期待する。

### 3. 遺伝カウンセリング体制

TMS法対象疾患には、従来の対象疾患と異なるいくつかの特殊性がある。例えば、①乳児期早期に発症する超重症型の存在、②ふだん正常に生活しているのに何かのストレスを契機に突然急性脳症などで発症、③NBSで異常を示すが生涯無症状で過ごすかもしれない疾患、あるいは、④治療が必要かどうか見解の定まっていない疾患もある。

乳児期早期に発症してあらゆる治療に抵抗して死亡するような最重症の病型の場合、マススクリーニングの効果が期待できない。このような症例では、家族の希望によって出生前診断<sup>12)</sup>を行い遺伝カウンセリング

に対応することもある。また最重症型でなくても、マススクリーニングと対象疾患に関する相談は増えることが予想される。対象疾患の特徴、自然歴をよく理解したうえで遺伝カウンセリングが必要となる。

### 文 献

- 1) Wilcken B, Haas M, Joy P, Wiley V, Bowling F, Carpenter K, Christodoulou J, Cowley D, Ellaway C, Fletcher J, Kirk EP, Lewis B, McGill J, Peters H, Pitt J, Ranieri E, Yaplitto-Lee J, Boneh A. Expanded newborn screening : outcome in screened and unscreened patients at age 6 years. *Pediatr* 2009 ; 124 : e241-248.
- 2) 山口清次. 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. *公衆衛生* 2012 ; 76 : 853-857.
- 3) Kitagawa T, Matsuda I, Aoki K, Owada M, Tada K, Okano Y, Ohura T, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Takayanagi M, Maruse H. A history of the development of newborn mass-screening for inborn errors of metabolism in Japan. *J Jpn Mass Screening (日本マス・スクリーニング学会誌)* 2013 ; 23 : 262-269.
- 4) Shigematsu Y, Hirano S, Hata I, Tanaka Y, Sudo M, Tajima T, Sakura N, Yamaguchi S, Takayanagi M. Selective screening for fatty acid oxidation disorders by tandem mass spectrometry : difficulties in practical discrimination. *Journal of Chromatography B* 2003 ; 792 : 63-72.
- 5) 山口清次編. タンデムマス・スクリーニングガイドブック. 東京 : 診断と治療社, 2013 : 8-11.
- 6) 山口清次編. 有機酸代謝異常ガイドブック. 東京 : 診断と治療社, 2011.
- 7) 山口清次. 厚生労働科学研究 (成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業) タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究. 平成22~24年度総合研究報告書, 2013.
- 8) Yamaguchi S, Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Furui M, Taketani T, Fukuda S, Fukao T, Shigematsu Y. Expanded newborn mass screening with MS/MS and medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in Japan. *J Jpn*

- Mass Screening (日本マス・スクリーニング学会誌)  
2013 ; 23 : 270-276.
- 9) 迫田麻莉, 四元淳子, 山本佳世乃, 川目 裕. 新生児スクリーニング陽性・偽陽性という結果が親の心理社会面に与える影響に関する文献的検討. 日本遺伝カウンセリング学会誌 2011 ; 32 : 157-167.
- 10) 大浦敏博. 特殊ミルク事業の現状と課題. 特殊ミルク情報 2013 ; 49 : 9-11.
- 11) Yamaguchi S. Newborn screening in Japan : Restructuring for the new era. *Annals Academy of Medicine* 2008 ; 37 (suppl 3) : 13-17.
- 12) 長谷川有紀, 山口清次. 先天性代謝異常の出生前診断. *周産期医学* 2008 ; 38巻増刊 : 161-164.

## アシルカルニチンプロフィールを参照した 脂肪酸酸化異常症スクリーニング陽性判定の重要性

重松陽介<sup>1)</sup>, 畑 郁江<sup>2)</sup>

1) 福井大学医学部健康科学, 2) 福井大学医学部小児科

### 【要 旨】

脂肪酸酸化異常症のタンデムマス・スクリーニングにおいては、対象疾患用のスクリーニング指標とカットオフ値を単純に適用すると、哺乳不足などでの異化亢進状態を陽性判定することになり、偽陽性例が増える。特に極長鎖アシルCoA脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症の陽性判定には、C14:1値がC10~C14アシルカルニチン値より上昇しているというプロフィール判定が必要である。中鎖アシルCoA脱水素酵素 (MCAD) 欠損症の陽性判定にはC8/C10比>1の条件が必須である。脂肪酸異化亢進状態ではグルタル酸尿症2型 (GA-2) 様のアシルカルニチンプロフィールとなるが、GA-2は1次対象疾患では無いので、慎重に対応すべきと考えられた。

日本マススクリーニング学会誌 25(1): 67-73, 2015

### 【キーワード】

脂肪酸β酸化, グルタル酸尿症2型, 哺乳不足, 異化亢進, 偽陽性

### 1. はじめに

濾紙血中のアシルカルニチンは、脂肪酸酸化異常症患者において変化するだけでなく、患者以外でも日常の食物摂取や医療行為としての薬剤服用など多くの要因により変化するので、その評価は慎重に行う必要がある。中でも、飢餓に伴う脂肪酸異化亢進状態での変化は、グルタル酸尿症2型患者での変化と似た点があるため、脂肪酸酸化異常症をスクリーニングする上で特に配慮が必要である。

新生児期においては、母乳栄養を重視する医療現場で、長期間の哺乳量不足のため脂肪酸異化亢進が顕著となる例が少なからずみられる。濾紙血アシルカルニチンのプロフィールを参照

することによりこのような状態にある新生児を認識し判定することはある程度可能である。ただ、検査機関がこの判定結果を分娩医療機関にどのように伝えるかによって、新生児医療現場に様々な波紋を呼ぶことになるため、難しい判断となることも予想される。

ここでは、実際に陽性判定を協議した新生児のデータを踏まえ、適切に脂肪酸酸化異常症スクリーニング判定を行う上で考慮すべき点を検討し報告する。

### 2. 方 法

2012年から2014年の間に、福井県、石川県、富山県、静岡県、広島県でのタンデムマス・スクリーニングにおいて、陽性判定を協議した新生児例の濾紙血分析測定データ（それぞれの検査施設での分析データ）を検討に供した。また、福井大学での試験研究中、あるいは上記期間中に福井大学に送付された新生児濾紙血について福井大学でprecursor ion scan分析を行ったデータも検討に使用した。一部の検査施設からは、

受付日：平成27年2月26日 受理日：平成27年3月18日

<連絡先> 重松 陽介

〒910-1193 福井県吉田郡永平寺町松岡下合月23

福井大学医学部看護学科

Tel:0776-61-3111 Fax:0776-61-8563

E-mail:yosuke@u-fukui.ac.jp

スクリーニング指標の分析値の分布に関するデータの提供を受けた。

### 3. 結果と考察

陽性判定を協議した対象疾患はVLCAD欠損症とMCAD欠損症が多く、そのほとんどが飢餓に伴うグルタル酸尿症2型 (GA-2) 様のアシルカルニチン変化であった。

図1に脂肪酸β酸化とアシルカルニチンの関係を示した。飢餓に伴い血中に放出された多量の遊離脂肪酸はミトコンドリアに運び込まれβ酸化を受けるが、この異化亢進状態ではミトコンドリア内にアセチルCoAや中・長鎖アシルCoAが多量に存在し、それぞれカルニチンと結合し、アセチルカルニチン (C2) が増加したGA-2様の変化として観測される。

#### 1) VLCAD欠損症陽性例の検討

表1に、VLCAD欠損症例やGA-2例と共に、VLCAD欠損症での陽性判定検討例1~4を示した。

表1に症例1として示したVLCAD欠損症例は酵素活性測定で軽症型と確認された。おそらく異化亢進状態であったためC2が軽度上昇し、C14:1も軽度の上昇であったが、C10やC12はC14:1以上には上昇していない。再採血濾紙血ではC2が低下し、C14:1はカットオフ値を下回っていたが、同時に採取した血清のC14:1は血清でのカットオフ値を少しだけ上回っていた。

表1に症例9, 10としてGA-2患者2例のアシルカルニチン値を示した。C14:1はカットオフ値以上に上昇しているが、C10, C12の上昇の方が大きいのがわかる。また、GA-2ではC4やC5の短鎖アシルカルニチンも上昇する一方C2は上昇しないので、単なる異化亢進状態とは一応区別出来る。図2に発症後診断した晩期発症型GA-2患者の保存新生児期濾紙血中アシルカルニチンプロファイル (誘導体化法による) をマススペクトルで示した<sup>1)</sup>。上段A例は表1のGA-2患者1 (症例9) に類似し、下段B例では短鎖アシルカルニチンとしてはC5が増加し、C14を中

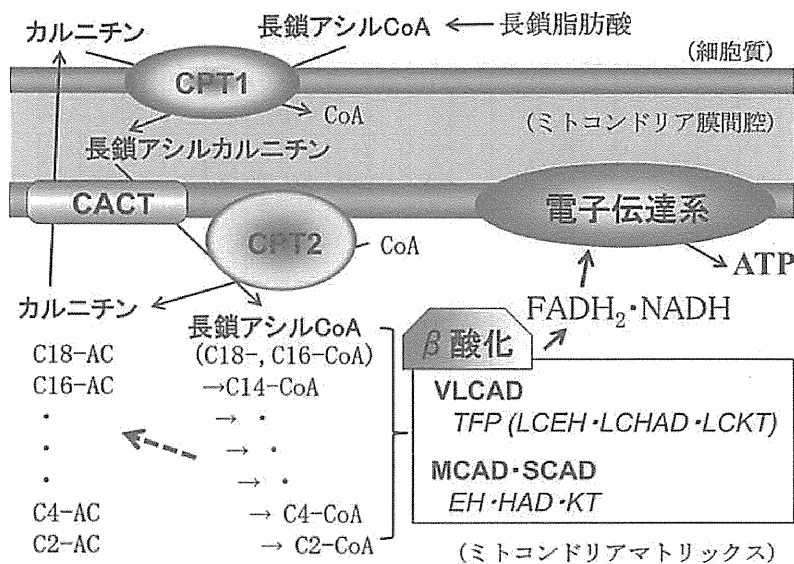


図1. 脂肪酸β酸化とアシルカルニチン

トリグリセリドなどから遊離した長鎖脂肪酸はCPT1酵素の作用でカルニチンと結合し、CACTおよびCPT2によりミトコンドリア内に運び込まれ長鎖アシルCoAとなりβ酸化を受ける。長鎖アシルCoAが次々と代謝される課程でそれぞれに対応したアシルカルニチン (AC) が生じるので、新生児スクリーニングでは濾紙血中のアシルカルニチンを分析することで代謝異常を検出する。

(略語) CPT: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ, CACT: カルニチン-アシルカルニチントランスロカーゼ, VLCAD: 極長鎖アシルCoA脱水素酵素, TFP: 三頭酵素, LCEH: 長鎖エノイルCoAヒドラーゼ, LCHAD: 長鎖3-ヒドロキシアシルCoA脱水素酵素, LCKT: 長鎖ケトチオラーゼ, MCAD: 中鎖アシルCoA脱水素酵素, SCAD: 短鎖アシルCoA脱水素酵素, EH: エノイルCoAヒドラーゼ, HAD: マトリックス3-ヒドロキシアシルCoA脱水素酵素, KT: ケトチオラーゼ

表1. VLCAD欠損症陽性判定の検討例とVLCAD欠損症例及びグルタル酸尿症2型例

	症例番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
アシルカルニチン (nmol/ml)	福井大学 対照値	VLCAD欠損症	VLCAD欠損症 判定検討1	VLCAD欠損症 判定検討2	VLCAD欠損症 判定検討3	VLCAD欠損症 判定検討4	VLCAD欠損症 偽陽性1	VLCAD欠損症 偽陽性2	GA-2偽陽性	GA-2患者 1	GA-2患者 2
C0	27.2±7.3	18.8	43.3	24.7	22.4	14.6	22.4	20.9	24.6	27.0	30.6
C2	16.5±4.7	27.1	31.7	42.1	24.7	18.7	14.8	23.3	45.8	15.1	12.0
C3	<3.5	1.14	1.81	1.71	1.65	1.97	1.58	1.11	2.52	0.37	0.72
C4	<1.0	0.26	0.48	-	0.31	0.21	0.20	0.22	0.50	12.18	1.52
C5	<0.50	0.18	0.23	0.16	0.13	0.12	0.10	0.07	0.16	4.31	1.72
C5-OH	<0.5	0.51	0.14	0.25	0.23	0.29	0.15	0.17	0.37	0.08	0.16
C5-DC	<0.25	0.19	0.25	0.26	0.17	0.13	0.11	0.13	0.51	0.26	0.21
C6	<0.3	0.12	0.24	-	0.06	0.05	0.03	0.06	0.15	1.19	0.38
C8:1	0.13±0.06	0.17	0.56	-	-	-	-	-	-	-	-
C8	<0.3	0.17	0.42	0.55	0.26	0.12	0.06	0.15	0.35	1.08	0.76
C10:1	<0.3	0.17	0.33	-	0.12	0.10	0.08	0.12	-	0.07	0.31
C10	<0.33	0.32	0.83	0.73	0.80	0.32	0.11	0.38	0.62	1.72	1.05
C12	<0.4	0.29	0.83	0.50	0.52	0.31	0.10	0.32	0.75	4.03	0.68
C14:1	<0.4	0.55	0.72	0.43	0.41	0.31	0.33	0.41	0.52	0.92	0.34
C14	<0.5	0.24	0.69	0.54	0.33	0.30	0.27	0.32	0.80	4.38	0.52
C16	<6.3	1.04	3.84	5.22	4.03	2.56	1.67	2.39	5.93	8.18	1.83
C18:1	<3.0	1.57	2.39	-	1.61	0.94	1.15	1.14	2.20	3.44	1.19
C18	<2.6	0.56	1.62	1.31	1.01	0.58	0.49	0.41	1.84	2.38	0.79
C16-OH	<0.05	0.02	0.04	0.06	0.04	0.03	0.04	0.03	0.05	0.08	0.01
C18:1-OH	<0.05	0.02	0.03	0.04	0.03	0.02	0.03	0.02	0.04	0.05	0.02

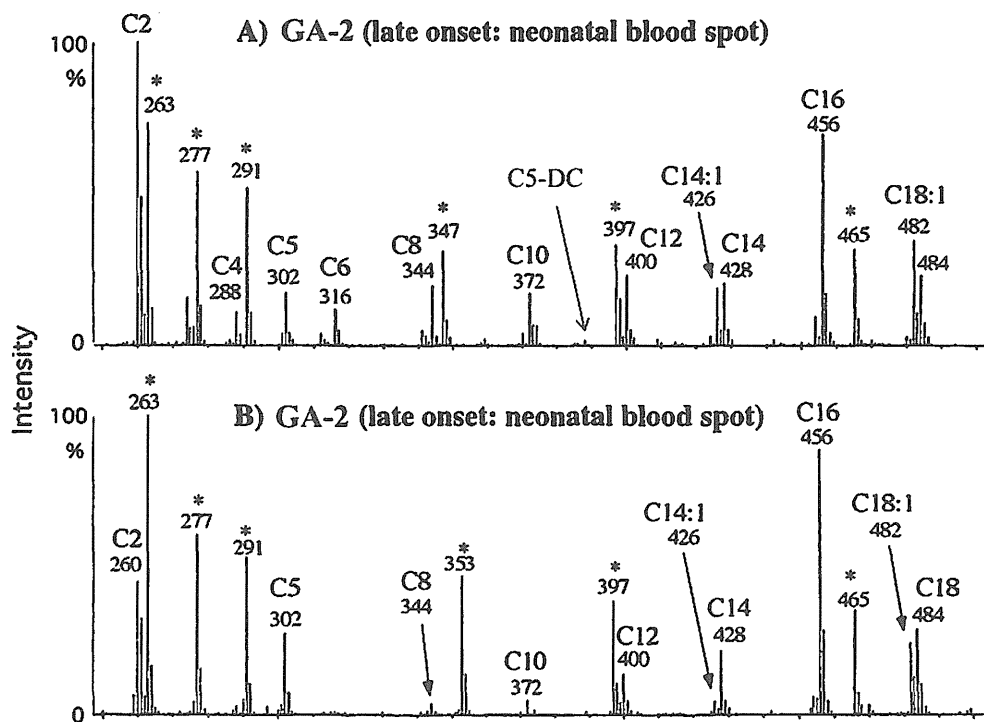


図2. グルタル酸尿症2型患者の新生児期濾紙血アシルカルニチンプロファイル

既報<sup>1)</sup>の晩期発症型グルタル酸尿症2型 (GA-2) 患者の新生児期濾紙血のタンデムマス分析結果 (誘導体化法) の図の部分再掲した。詳細は本文を参照されたい。

心とした中・長鎖アシルカルニチンが増加していた。

VLCAD欠損症判定検討例1~3 (症例2~4) では、C14:1がカットオフ値を越えていたが、一方C2が上昇し、C10、C12がC14:1以上に上昇していた。C8もそれぞれの検査施設のカットオフ値を越えていたので、当初“VLCAD欠損症とMCAD欠損症で陽性”と判定されていた。

検討例4 (症例5) では、C14:1が当該検査施設でのカットオフ値 (0.3) をかろうじて越えており、一方C10がC14:1より少し高い値であった。C2はあまり上昇していないが、実際には異化亢進のため二次性のカルニチン欠乏を来し、C2を含めアシルカルニチン全体が低下して来ている状況と判断される。また、濾紙血の分析では急性期のアシルカルニチン変化を有しない赤血球によって“値が薄められる”ので、特に濾紙血C2の上昇の程度は血清中C2と比べ軽度となることに注意すべきである。

VLCAD欠損症判定検討例1~4の全てで、異

化亢進状態にもかかわらず、C14:1/C2比はVLCAD欠損症スクリーニングのカットオフ値を越えていた。

以上より、検討例1~4は、グルタル酸尿症2型様のアシルカルニチンプロファイルを示す異化亢進状態であり、VLCAD欠損症ではないと判定される。また、C14:1/C2比は指標として有効に機能していないと考えられた。これに変わる指標としては、 $C14:1/C10 > 1$ 、 $C14:1/C12 > 1$ 、 $C14:1/C14 > 1$ の全てをみとすこととすれば偽陽性例を減らせると考えられる。

なお、濾紙血分析では、VLCAD欠損症陽性判定においてC16~C18の長鎖アシルカルニチンの値は利用しない。濾紙血では、VLCAD欠損症患児でも健常児でもC16~C18の長鎖アシルカルニチン値はC14:1より高値である。血清分析では、VLCAD欠損症患児のC14:1値はC16~C18の長鎖アシルカルニチン値より高いが、重症型VLCAD欠損症患児ではC16~C18の長鎖アシルカルニチン値の方が高いことがある<sup>1)</sup>。

症例8として示したGA-2の偽陽性例は、C5-DCの上昇が顕著である以外はVLCAD欠損症判定検討例2(症例3)に似ている。即ち、中～長鎖アシルカルニチンとC2の上昇が明らかで、短鎖アシルカルニチンの上昇が見られないので、異化亢進状態でありGA-2ではないと判定される。

このC5-DCの上昇については注意が必要である。グルタル酸血症1型(GA-1)については、例えばC5-DC/C2といった異化亢進を加味したスクリーニング指標の設定が難しいので、C5-DC上昇例についてはグルタル酸血症1型陽性として再採血検査とすべきである。今後LC-MS/MS法による二次検査で、GA-1の診断指標である3-ヒドロキシグルタル酸<sup>2)</sup>の濾紙血中濃度測定が可能になれば、GA-1での再採血率は減らすことが出来る。

症例6および7として示したVLCAD欠損症の偽陽性例では、C2は上昇していないか軽度の上昇で、C14:1のみ軽度上昇しているため陽性判定となったが、精密検査時の血清C14:1上昇なく、酵素活性低下もなかった。

新生児期濾紙血C14:1が、C10やC12の上昇を伴わないで、軽度上昇する状況として3つのタイプが報告されている<sup>3)</sup>。即ち、VLCAD欠損症軽症患者であり、再採血濾紙血ではC14:1が正常化するタイプA、VLCAD欠損症保因者で異化亢進状態のタイプB、患者でも保因者でもないが単に異化亢進状態のタイプCである。表1の症例1のVLCAD欠損症患者はタイプAであり、症例6、7のVLCAD欠損症偽陽性例はタイプBかCということになる。広島大学小児科での酵素活性測定及び遺伝子変異解析結果<sup>4)</sup>においても、保因者で患者と同等のC14:1軽度上昇が見られているが、C2がどの程度上昇していたかは示されていない。

## 2) MCAD欠損症陽性例の検討

表2にMCAD欠損症での陽性判定例

を示した。

MCAD欠損症の陽性判定については、C8とC8/C10比を組み合わせて行われていたが、それ以外のアシルカルニチンの測定値についての評価が必ず行われているわけではなく、アシルカルニチンプロフィールを評価する上で十分なデータが提供されない場合もあった。

表1に示した判定検討例は、C2が軽度増加し、C8アシルカルニチンがカットオフ値(当該施設では0.3nmol/ml)を越えていたが、C8/C10比が1に近い値だったので、協議の対象となった。

MCAD欠損症では、表に示したような軽症型患者であっても、通常C10の値はC8より有意に低い。このため、C8/C10比が1を越えていなければ「異常なし」判定でよいと考えられる。この例ではC2が上昇しており「哺乳不足」による異化亢進が想定される。MCAD欠損症の保因

表2. MCAD欠損症陽性判定の協議例とMCAD欠損症例およびMCT摂取例

	症例番号	1	2	3
アシルカルニチン (nmol/ml)	福井大学 対照値	MCAD 欠損症	MCT 摂取例	判定 検討例
C0	27.2±7.3	31.9	19.0	25.1
C2	16.5±4.7	27.8	12.6	23.0
C3	<3.5	2.80	1.04	-
C4	<1.0	0.25	0.27	-
C4-OH	<0.23	0.10	0.09	-
C5	<0.50	0.13	0.12	-
C5-OH	<0.5	0.19	0.09	-
C5-DC	<0.25	0.16	0.13	-
C6	<0.3	0.32	0.31	0.22
C8:1	0.13±0.06	0.17	0.08	-
C8	<0.3	0.56	0.42	0.47
C10:1	<0.3	0.10	0.16	-
C10	<0.33	0.36	0.64	0.49
C12	<0.4	0.10	0.29	0.15
C14:1	<0.4	0.10	0.14	0.14
C14	<0.5	0.34	0.29	0.25
C16	<6.3	5.96	2.90	2.46
C18:1	<3.0	2.02	1.45	-
C18	<2.6	1.44	0.77	0.96
C16-OH	<0.05	0.029	1.45	-
C18:1-OH	<0.05	0.031	0.77	-

者では、新生児期の異化亢進時に長鎖アシルカルニチンが上昇しないで、C2, C10と共にC8が軽度増加することが知られている<sup>5)</sup>。この検討例が保因者である可能性はあるが、酵素活性測定や遺伝子解析は行われていない。

MCT摂取例では、表のようにMCT摂取量が多量でなければC2の上昇はみられず、C10優位で中鎖アシルカルニチンが上昇することがあるが、C8値やC8/C10比でMCT摂取かどうかの判定は困難である。

MCAD欠損症のスクリーニング精度を上げるためC8:1に注目した報告<sup>6)</sup>がある。血清アシルカルニチン分析によるMCAD欠損症の化学診断の場合、 $C8 < C8:1$ の場合はMCAD欠損症ではないとする判断が提唱されていた(私信)が、新生児期濾紙血でこの点を検討したものである。即ち、MCAD欠損症患者は、C8/C8:1比が4.0(生下時体重<1,500g)あるいは5.0(生下時体重 $\geq$ 1,500g)以上であった。この報告は米国アトランタからのものなので、採血日齢がわが国より早期であり、また重症型が多いという背景があるが、MCAD欠損症患者のC8値は1.29~38.8nmol/mlに分布し、偽陽性児は0.36~1.61nmol/mlに分布していた。偽陽性児のC8:1は0.16~5.1nmol/ml、C8/C8:1は0.42~9.2に分布していた。このC8:1アシルカルニチンは長鎖不飽和脂肪酸に由来し、食物摂取量により変動すると思われる。表2で示した軽症型MCAD欠損症児のC8/C8:1比は3.3、MCT摂取例が5.3ということであり、採血日齢や重症度の違いを考慮して適応すべき指標と考えられた。

#### 4. 結論

- 1) VLCAD欠損症のスクリーニングでは、C14:1値がカットオフ値を越えていても、C10~C14アシルカルニチン値の方が高い場合は陽性と判定しなければ偽陽性例を減らせる。この場合、C14:1/C2比は用いない。
- 2) MCAD欠損症のスクリーニングでは、C8値がカットオフ値を越えていても、C8/C10

比<1.0の場合は陽性と判定しなければ偽陽性例を減らせる。

- 3) グルタル酸血症1型のスクリーニングでは、C5-DC値がカットオフ値を越えていれば、C2値やC10~C14アシルカルニチン値にかかわらず、陽性判定とし、再採血検査を行う。
- 4) GA-2は1次対象疾患では無いので、通常、陽性判定をしない。しかし、ベザフィブラートなどによる治療が行われるようになってきており、将来的には1次対象疾患となることもありうる。この場合、C2値の上昇がなく、C4~C14アシルカルニチンがおしなべて上昇しているというGA-2のアシルカルニチンプロフィールを理解していると、飢餓時の異化亢進によるGA-2様アシルカルニチン変化との鑑別に役立つ。

#### [文献]

- 1) Shigematsu Y, Hirano S, Hata I, Tanaka Y, Sudo M, Sakura N, Tajima G, Yamaguchi S. Newborn mass screening and selective screening using electrospray tandem mass spectrometry in Japan. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 776(1): 39-48, 2002.
- 2) Shigematsu Y, Hata I, Tanaka Y, Tajima G, Sakura N, Naito E, Yorifuji T. Stable-isotope dilution gas chromatography-mass spectrometric measurement of 3-hydroxyglutaric acid, glutaric acid and related metabolites in body fluids of patients with glutaric aciduria type 1 found in newborn screening. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 823(1): 7-12, 2005.
- 3) Schymik I, Liebig M, Mueller M, Wendel U, Mayatepek E, Strauss AW, Wanders RJ, Spiekeroetter U. Pitfalls of neonatal screening for very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency using tandem mass spectrometry. *J Pediatr* 149(1): 128-130, 2006.



- 4) 但馬 剛, 津村弥来, 香川礼子, 岡田 賢, 原 圭一, 佐倉伸夫. VLCAD欠損症の確定検査. 特殊ミルク情報. 50; 11-13, 2014.
- 5) Maier EM, Pongratz J, Muntau AC, Liebl B, Nennstiel-Ratzel U, Busch U, Fingerhut R, Olgemöller B, Roscher AA, Röschinger W. Dissection of biochemical borderline phenotypes in carriers and genetic variants of medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: implications for newborn screening. *Clin Genet* 76(2): 179-187, 2009.
- 6) Hall PL, Wittenauer A, Hagar A. Newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: performance improvement by monitoring a new ratio. *Mol Genet Metab* 113(4): 274-7, 2014.

## Evaluation of acylcarnitine profile is indispensable for the judgment of cut-off values for fatty acid oxidation disorders

Yosuke Shigematsu<sup>1)</sup>, Ikuc Hata<sup>2)</sup>

1) Department of Health Science, University of Fukui, 2) Department of Pediatrics, University of Fukui

*Jpn J Mass Screening* 25: 67-73, 2015

