

分担研究課題

マススクリーニング検査精度向上に関する研究

研究分担者 重松陽介（福井大学医学部 教授）

研究要旨

タンデムマスを導入した拡大新生児マススクリーニング（TMSスクリーニング）が、平成26年度より自治体事業として全国展開された。TMSスクリーニングの検査精度向上に関する研究を行い以下の成果を得た。

1. 検査機関におけるスクリーニング実施状況：現在全国で38の検査施設が受託しているが、日本マススクリーニング学会（学会）技術部会が実施状況についてアンケート調査したところ34施設（回収率89%）から回答が得られた。非患者群の分析指標値分布やカットオフ値は、検査施設間で一定ではなかったが、一次対象疾患の患者発見率は平成26年度においては試験研究時とほぼ同程度（約1/12,000）であった。

2. 学会制定検査施設基準の準拠状況：検査担当者から回答された36検査施設では、全ての基準を満たしている施設は無く、基準の47項目中30項目以下しか満たしていない施設が約25%もあり、約44%の施設から検査委託費が低価格で不適正と回答された。

3. 内部精度管理用Web解析システムの開発：技術者部会が提供する内部精度管理ツールを利用して、各検査施設が行っている内部精度管理を支援しカットオフ値の適性度を検証するWeb解析システムを開発した。

4. 測定値の施設間差の是正：qNMRによる検査用試薬の純度検定や検量線作成用標品の調整を行い、その有用性を実証した。見逃しを防ぐため、新規スクリーニング指標が開発されカットオフ値の低減化を検討し、それを支援するためのLC-MS/MS法を用いた二次検査法も更に開発検証し、有用性を確認した。

5. CPT2欠損症の新しい診断指標の開発：乳幼児期突然死が問題となっていた二次対象疾患のCPT2欠損症/トランスロカーゼ欠損症について、新指標を用いてスクリーニングを実施していた検査機関から患者発見に関するデータ（分析新生児数約108万）を収集したところ、CPT2欠損症の患者発見感度100%、特異度99.998%、陽性的中率24.2%であった。精密検査法としての血清アシルカルニチン分析や酵素活性測定も全国で実施可能であったので、新指標を用いて一次対象疾患としてスクリーニングすべきであることを提言した。

研究協力者

中島英規（国立成育医療研究センター 研究員）

花井潤師（札幌市衛生研究所 課長）

石毛信之（東京都予防医学協会 主査）

福士 勝（札幌 IDL 所長）

田崎隆二（化学及血清療法研究所 検査係長）

畑 郁江（福井大学医学部小児科 講師）

A. 研究目的

タンデム型質量分析を用いた拡大新生児マススクリーニング（以下、TMSスクリーニング）が自治体事業として全国で実施され、それに伴い新規に委託された検査施設（指定検査施設）での分析技術や対象疾患病態理解に基づいた対応は改善が必要な状況である。これに対して、日本マス

スクリーニング学会（以下、「学会」）や成育医療研究センター・マススクリーニング研究室（以下、「マス研」）が中心となり、精度管理や実務研修などの事業を行っている。研究分担者は、これらの組織の協力を得て、全国の検査施設の分析技術や精度管理に関する情報を収集する一方、新たなスクリーニング精度保証技術（second-tier test：初回濾紙血を用いた“二次検査法”）を開発してきた。それらを踏まえ、今年度は以下の課題を検討した。

学会技術者部会を通じて、指定検査施設の分析データを収集し、スクリーニング指標とカットオフ値が機能しているかを確認する。

指定検査施設が、学会の推奨した施設基準を満たしているかどうかを調査し、問題点を検討する。

指定検査施設での分析精度を向上させるため、マス研と協力して外部精度管理の方法論の細部を検討する。

乳幼児期突然死が少なからず経験された二次対象疾患の CPT2 欠損症について、新開発のスクリーニング指標を用いてスクリーニングを実施していた自治体でのデータを収集し、一次対象疾患とすることの妥当性を検証する。

これまでに開発した二次検査法について、患者検体を用いて有用性をさらに検証する。

B．研究方法

(1-1)検査施設の検査実施状況調査（研究協力者・花井の報告書「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」に詳述）

(1-2)検査施設の正常新生児検査値分布と発見患者データに基づくカットオフ値の検証（研究協力者・花井の報告書「タンデムマス検査データ Web 解析システムについて」に詳述）

(2)指定検査施設での施設基準の準拠状況調査（研究協力者・福土の報告書「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」に詳述）

(3)外部精度管理方法の検討（研究協力者・中島の報告書「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」に詳述）

(4)二次検査法の有用性の検討

福井大学における試験研究で発見された患者の濾紙血や、自治体事業スクリーニングで発見された患者の濾紙血（家族の同意を得て収集）を分析に供した。昨年度の報告書に詳述した LC-MS/MS 分析法を用いた。安定同位体標識代謝物を内部標準とした LC-MS/MS 法であり、更に条件検討を修正して新規代謝物も追加分析した。また、二次検査法の有用性をさらに証明するために、この二次検査法で診断可能な対象疾患については、試験研究での分析データを用いてスクリーニング精度向上のための新指標を開発し、患者データを用いて精度を検証した。イソ吉草酸血症スクリーニングへの応用については研究協力者・石毛の報告書「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」に詳述した。

(5)新スクリーニング指標を用いた CPT2 欠損症スクリーニングの有用性の検討

福井大学における 2011 年度と 2012 年度の TMS スクリーニング試験研究では、新指標を用いて CPT2 欠損症スクリーニングが実施されたので、そのデータを解析に供した。2012 年度と 2013 年度は、31 自治体で新指標を用いた CPT2 欠損症スクリーニングが実施されたので、学会技術者部会を通じて個人情報を含まないデータを収集し解析に供した。

C．研究結果

(1-1)検査施設の検査実施状況調査

38 指定検査施設（全体の 89%）から 2014 年度の情報が得られた。受検新生児 902,093 において一次対象疾患患者 76 が発見されていた（発見頻度：1/11,870）（花井報告書「表 1」参照）。二次対象疾患では、CPT-2 欠損症患者が 1 例、シトリン欠損症患者が 12 例、全身性カルニチン欠乏症患者が 4 例発見されていた。

一次対象疾患での再採血率が前年の 0.39% から 0.35% に若干低下していた。

(1-2) 検査施設の正常新生児検査値分布と発見患者データに基づくカットオフ値の検証

指定検査施設から収集した 非患者でのスクリーニング指標の測定値分布、偽陽性例や患者での測定値分布を表示できる内部精度管理ツールが Web ベースで運用できるようになった(花井報告書参照)。

(2) 指定検査施設での施設基準の準拠状況調査

セルフチェック方式のアンケート調査で、新生児スクリーニング検査施設の日本マススクリーニング学会の推奨した施設基準への準拠は全 47 項目をクリアしている施設はなく、30 項目以下の指定検査施設が 25% もあった。

自治体からの検査委託費は 36 施設中 16 施設が低価格で不適正と回答しており、上記基準を満たせない背景状況となっていることが示唆された(福士報告書参照)。

(3) 外部精度管理方法の検討

TMS スクリーニング用内部標準試薬の純度は必ずしも充分高くなく、指標物質の測定値は補正が必要であることが判明した。正確に秤量した指標物質による検量線作成による定量法を実施すべ

きことを示す結果であった(中島報告書参照)。

(4) 二次検査法の有用性の検討

C5-OH アシルカルニチンの陽性例については、3-メチルクロトニルグリシン尿症、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸(HMGA)血症が対象疾患であり、母親の 3-メチルクロトニルグリシン尿症やビオチン欠乏も鑑別疾患となるが、HMGA などの有機酸、アシルカルニチン、アシルグリシンの LC-MS/MS 分析で定量可能であり(図 1、2、3 および表 1)、初回濾紙血での鑑別診断が可能であった。

ビタミン B12 反応型メチルマロン酸血症のスクリーニング指標として C3/Met 比を開発しカットオフ値が設定できた。二次検査法としてメチルマロン酸と相ホモシスチンの LC-MS/MS 分析法を開発した(図 4)。

アシルグリシン LC-MS/MS 分析は、抗生剤使用によるイソ吉草酸血症偽陽性を判定でき、再採血率を減らす上で有用であった(石毛報告書参照)。

図1. LC-MS/MS法による有機酸分析

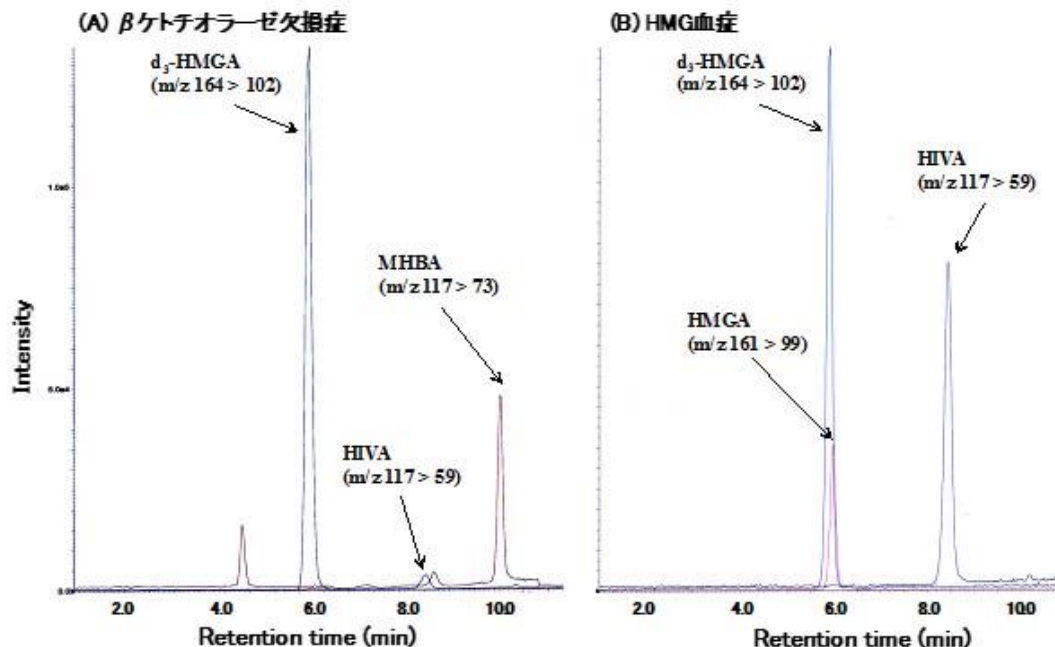


図2. LC-MS/MS法によるアシルグリシン分析

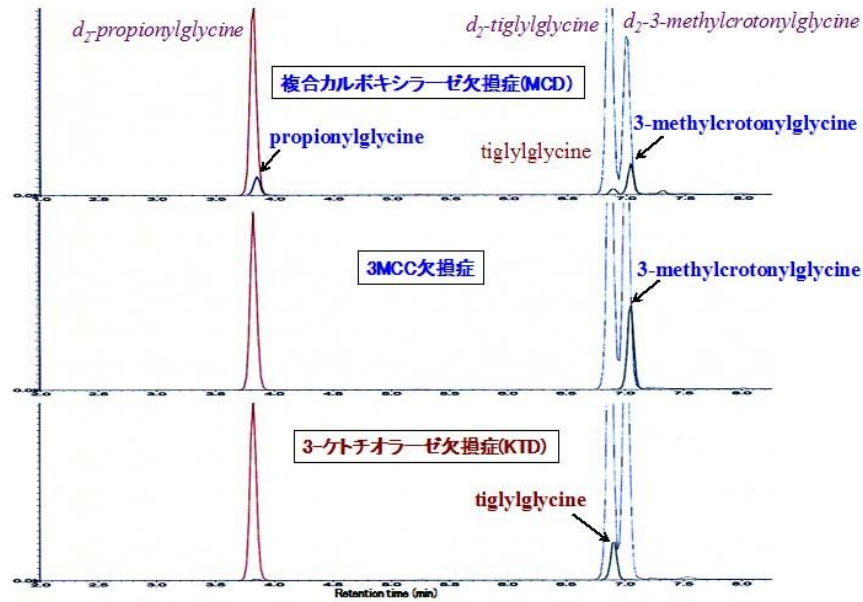


表1. C5-OH アシルカルニチン陽性例に対する LC-MS/MS 分析での各種測定値と鑑別診断

Diagnosis	C5-OH	Organic acid (μM)			Acylcarnitine (μM)					Acylglycine (μM)		
		HMGA	HIVA	3HMBA	propionyl	OH-isovaleryl	OH-Me-buteryl	tiglyl	Me-crotonyl	propionyl	tiglyl	Me-crotonyl
KTD	3.12	0.37	2.2	130.32	0.67	0.12	4.84	0.485	0.0023	0.02	2.67	0.01
KTD	2.75	0.10	1.3	39.06	1.62	0.13	3.61	0.615	0.0017	0.09	4.10	0.00
MCD ⁺	3.78	0.19	96.1	0.57	1.56	4.36	0.04	0.004	0.0040	1.73	0.06	0.51
MCD ⁺	5.00	0.28	344.1	1.11	3.79	4.76	0.17	0.008	0.0020	0.15	0.02	0.07
MCD ⁺⁺	2.21	1.04	624.5	0.44	1.78	1.44	0.02	0.030	0.0080	1.49	0.26	2.10
MCD ⁺⁺	3.38	0.19	187.5	0.53	4.12	3.35	0.01	0.008	0.0110	0.73	0.02	0.91
3MCCD	3.41	0.45	326.6	0.47	0.85	4.09	0.01	0.007	0.0124	0.03	0.01	1.08
3MCCD	11.90	0.23	238.5	0.60	0.13	10.01	0.01	0.001	0.0064	0.01	0.01	3.66
Baby of 3MCCD mother	3.88	0.24	11.7	0.55	0.86	5.69	0.01	0.002	0.0021	0.02	0.02	0.01
Baby of 3MCCD mother	6.83	0.11	14.7	0.39	0.41	5.10	0.01	0.004	0.0012	0.02	0.03	0.43
HMGLD	3.14	5.19	25.3	0.66	0.19	2.78	0.01	0.012	0.0023	0.04	0.01	0.07
controls; mean (SD)		0.53 (0.20)	2.1 (0.6)	0.60 (0.11)	1.17 (0.45)	0.09 (0.03)	0.01 (0.00)	0.003 (0.001)	0.0002 (0.0001)	0.02 (0.00)	0.01 (0.01)	0.01 (0.00)

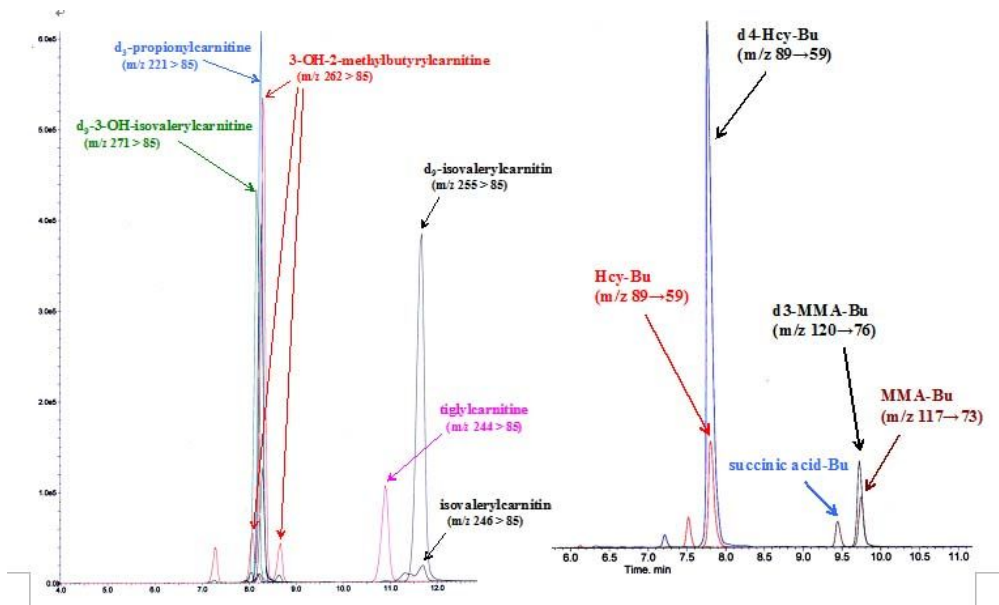


図3. LC-MS/MS 法によるアシルカルニチン分析

図4. LC-MS/MS でのメチルマロン酸・ホモシステイン分析
(cbIC 患者濾紙血分析: Hcy; ホモシステイン、
MMA; メチルマロン酸、Bu; ブチルエステル)

(5)新スクリーニング指標を用いた CPT2 欠損症スクリーニングの有用性の検討

福井大学でのスクリーニング指標の下限カットオフ値は、C16 が 3.0 μM、(C16+C18:1)/C2 が 0.62 (平均値+6.6SD) であったが、その他の検査施設でのカットオフ値は、それぞれの検査値の変動に合わせて調整された結果、C16 が 3.0~8.0 μM、(C16+C18:1)/C2 が 0.40~0.62 の範囲であった。

この新しい指標でのスクリーニング対象者数は約 100 万新生児で、8 例の CPT2 欠損症患者が発見された。2015 年 3 月末において偽陰性例の報告はない。よって、患者発見感度は 100%、特異度 (非患者を陰性とする率) は 99.998%、陽性的中率 (陽性者が患者である率) は 24.2% で

あった。また、陽性率 (精密検査を必要とした新生児の率) は 0.002% と極めて低値であった (表 2)。

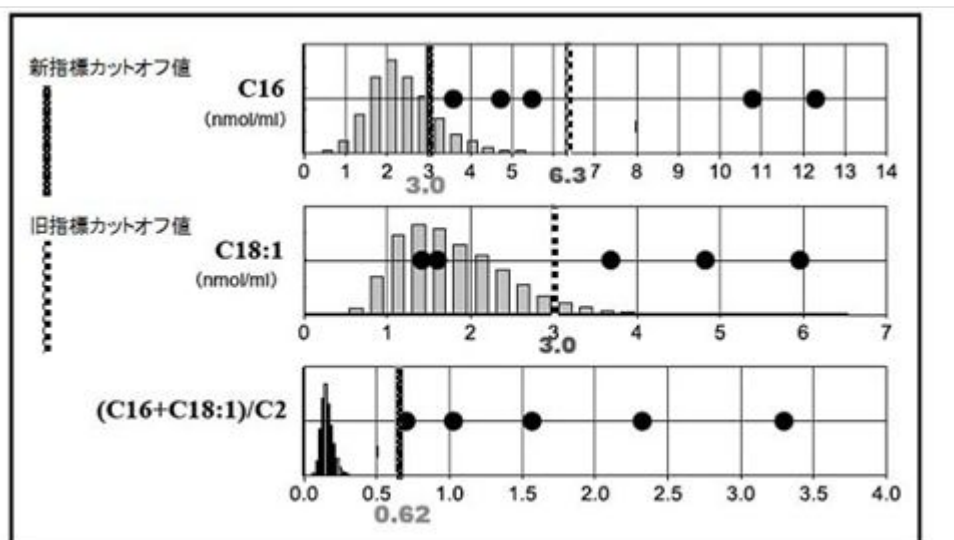
また、この調査期間中に診断された CPT2 欠損症患者のうち初回濾紙血のデータが入手可能だった例の測定値を、新旧指標値カットオフ値とともに表 3 に示した。旧指標では 3 例が見逃しとなるが、新指標では陽性判定と出来ていた。

新指標での陽性例は即精密検査となり、血清アシルカルニチン分析結果を踏まえ酵素活性測定・遺伝子解析で診断が確定されるが、2015 年度 12 月時点で血清アシルカルニチン分析は NPO 法人 TMS スクリーニング普及協会に外注検査として実施されており、酵素活性測定及び遺伝子解析は広島大学小児科と岐阜大学小児科で実施されていた。

表 2. CPT2 欠損症のスクリーニング精度

	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

表 3. CPT2 欠損症の患者データと新旧スクリーニング指標カットオフ値 (福井大学など)



D. 考察

学会技術者部会が中心となって取り組んで行った今回の検査実施状況調査結果及び外部精度管理の調査によって以下のことが明らかになった。全国の指定検査施設でのスクリーニングにより着実に対象疾患患児が発見されている一方、施設間での測定値の偏位のためカットオフ値が必ずしも適切でないことや、不適切な検査委託費のため施設基準を満たすことが困難であることなどが判明した。また、検査用試薬についても純度に問題があり、適切に調整された指標物質溶液を用いた測定機器の調整が必要であることも明らかとなった。これらを踏まえ、今後、指定検査施設での測定法の標準化を行っていく必要がある。

母乳栄養の推進により、母乳不足事例で異化亢進を背景とした対象疾患偽陽性例の増加が今回の調査でも明らかになっている。このような事例に対処するには、陽性例での初回濾紙血をLC-MS/MSで分析し（二次検査）偽陽性例を最小化することが望ましい。今後、分析法を標準化し測定用キットを作成するなど対応が望まれる。このような二次検査の実施は委託検査料が適正化されて初めて可能になる。適正な価格設定を行わない無謀な入札による検査委託がなくなることが期待される。

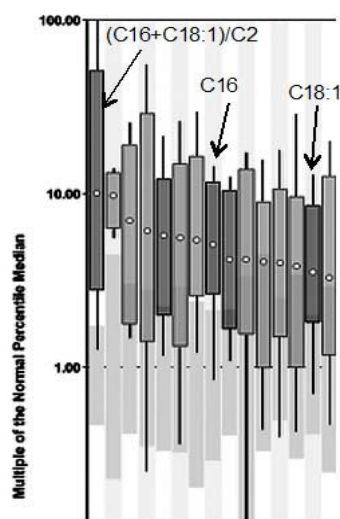
今年度は、これまで乳幼児期突然死例の多いことに気づかれていたCPT2欠損症を（高柳研究協力者報告書参照）一次対象疾患とすることの妥当性について検討した。従来CPT2欠損症は、古典的なスクリーニング指標（C16やC18:1）では非患者での測定値と患者値の間に適切なカットオフ値が設定できない（偽陰性や過大な偽陽性率が生じる）ことや、簡便な精密検査法が得られにくいことなどから二次対象疾患とされてきた経緯がある。

旧来の指標・カットオフ値では陽性であるにもかかわらず見逃されるという事態も生じた。広島県で発生した比較的軽症型本症患者の急性発症は多くの関係者に衝撃を与え、新しい検査指標と

カットオフ値を開発したところ、多くの検査施設でこれに基づくスクリーニングに取り組んでいただき、一次対象疾患としてスクリーニングすることが妥当であることを示すデータを得ることが出来た。

なお、新指標(C16+C18:1)/C2が非患者測定値との分離の点で最も秀逸な指標であることは、米国Region4プロジェクトの調査でも明示されている（参考図）。

【参考図】 米国Region4で開示されている指標の良否を判断するためのデータ表示（部分）



（箱ひげ図の下方の灰色の棒グラフが非患者測定値）

広島県での最近の新指標でのCPT2欠損症スクリーニングでは若干陽性率が増加しており（但馬研究協力者報告書参照）、分析値の検査施設差を背景としたカットオフ値設定に関する課題である。これについては、今回中島報告書で示された標準化を実施すれば、容易に精度の高いスクリーニングになると考えられた。

また、CPT2欠損症のスクリーニングでは、新指標で陽性となった場合は即精密検査とし、血清でのアシルカルニチン分析でC16とC18:1の増加（それぞれ0.15 nmol/ml以上）で陽性判定を行い、陽性例について酵素活性測定（あるいは遺伝子解析）で診断を確定することが指針として示されている。調査結果で示したとおり、これらの精密検査は既に全国的に実施可能であり、一次対象

疾患とすることが妥当な根拠である。

E. 結論

TMSスクリーニングが全国の自治体で事業化されたが、検査精度に関して不十分な点があり、分析法の改良や実施方法向上のための研修が実施されていることが調査で明らかになった。一方で、指定検査施設での実施基準遵守率がいまだ低く、その背景として検査委託費が不十分である実態も明らかとなった。新生児マススクリーニングの目的である早期発見による障害発生防止や突然死回避を実現するために、今回 CPT2 欠損症の一次対象疾患化が妥当であることを示すデータを提示した。更にスクリーニング指標等の改良を通じて、この目的を更に達成できるように、スクリーニング指標の開発や精度管理を進化させる必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hitomi T, Matsuura N, Shigematsu Y, Okano Y, Shinozaki E, Kawai M, Kobayashi H, Harada KH, Koizumi A: Importance of molecular diagnosis in the accurate diagnosis of systemic carnitine deficiency. *J Genet.* 94(1):147-50, 2015.
- 2) Yamamoto H, Tachibana D, Tajima G, Shigematsu Y, Hamasaki T, Tanaka A, Koyama M: Successful management of pregnancy with very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. *J Obstet Gynaecol Res.* 2015 Feb 6. [Epub ahead of print]
- 3) 林泰平、岩井和之、津田英夫、重松陽介：母親の慢性萎縮性胃炎が原因となったビタミン B12 欠乏症の乳児例．日本小児科学会雑誌．119(3)：589-594，2015．

5) 重松陽介，畑 郁江：アシルカルニチンプロファイ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．日本マス・スクリーニング学会誌．2(1)；67-73，2015．

6) 但馬剛，津村 弥来，香川 礼子，岡田 賢，原圭一，松本 裕子，栢田 紗季，森岡 千代美，吉井 千代子，佐倉 伸夫，畑 郁江，重松 陽介：タンデムマス新生児スクリーニング in 広島-自治体事業化後の現状．日本マス・スクリーニング学会誌．2(1)；75-82，2015

7) 花井潤師，福士 勝，石毛 信之，田崎 隆二，山口 清次，重松 陽介：タンデムマス・スクリーニングにおける精度管理の現状と今後の課題-内部精度管理の充実に向けた取組み．日本マス・スクリーニング学会誌 .25(1)；57-66，2015．

8) Kenji Yamada, Hironori Kobayashi, Ryosuke Bo, Tomoo Takahashi, Yuki Hasegawa, Makoto Nakamura, Nobuyuki Ishige, Seiji Yamaguchi: Elevation of pivaloylcarnitine by sivelestat sodium in two children. *Mol. Genet. Metab.* 116, 192-194, 2015.

2. 学会発表

- 1) Shigematsu Y, Hata I, Nakajima H: A low-birth-weight baby with 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: markers for newborn screening. The 4th Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. 2015.3. Taipei, Taiwan.
- 2) Shigematsu Y, Hata I, Nakajima H, Tajima G, Bijarnia-Mahay S, Puri RD, Saxena R, Verma J, Verma IC: Second-tier LC-MS/MS analysis using dried blood spots of C5-OH-acylcarnitine-positive cases in newborn screening and high-risk screening. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. 2015.9. Lyon, France.

- 3) Bijarnia-Mahay S, Deswal S, Hara K, Shigematsu Y, Verma IC: Systemic primary carnitine deficiency - early treatment with a good outcome in first case from India. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. 2015.9. Lyon, France.
- 4) Watanabe Y, Tashiro K, Aoki K, Inaba M, Yanagiuchi C, Suzutani Y, Ishii H, Kinoshita Y, Tajima G, Yorifuji T, Shigematsu Y, Maeda Y, Nakajima Y, Inokuchi T, Matsuishi T: A long term follow-up study of 8 individuals with asymptomatic propionic acidemia. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. 2015.9. Lyon, France.
- 5) Shigematsu Y, Hata I, Tajima G, Nakajima H: Strategy for newborn screening of methylmalonic/ propionic acidemias using MS/MS and LC-MS/MS. The 9th Asia-Pacific Regional Meeting of the International Society for Neonatal Screening 2015. 2015.12. Penang, Malaysia.
- 6) 重松陽介, 畑郁江, 中島英規: タンデム質量分析法による代謝異常症スクリーニングとその問題点. ワークショップ「MS 技術の医療応用とその社会貢献」. 第 63 回質量分析総合討論会. つくば市. 2015.6.
- 7) 重松陽介: LC-MS/MS による二次検査法の開発. シンポジウム「全国自治体で事業化されたタンデムマス・スクリーニングへの対応」. 第 40 回医用マススペクトル学会. 浜松市. 2015.9.
- 8) 花井潤師: 正常検体と患者データ情報収集によるタンデムマス・スクリーニングの精度管理. シンポジウム「全国自治体で事業化されたタンデムマス・スクリーニングへの対応」. 第 40 回医用マススペクトル学会. 浜松市. 2015.9.
- 9) 九曜 雅子, 高森 亮輔, 西永 真理, 上出 功, 角 園子, 五十嵐 登, 重松 陽介: タンデムマススクリーニングにおける複数の指標設定の効果. 第 42 回日本マス・スクリーニング学会 学術集会, 東京, 2015.8.
- 10) 中島英規, 前田堂子, 後藤温子, 品田京子, 志村明子, 相崎潤子, 小澤仁子, 渡辺倫子, 鈴木恵美子, 松原洋一, 原田正平: SI トレーサブルなマススクリーニング測定対象化合物検定法の確立. 第 42 回日本マス・スクリーニング学会学術集会, 東京, 2015.8.
- 11) 中島英規, 前田堂子, 後藤温子, 品田京子, 志村明子, 相崎潤子, 小澤仁子, 渡辺倫子, 鈴木恵美子, 松原洋一, 原田正平: 平成 26 年度 Quality control 外部精度管理結果について. 第 42 回日本マス・スクリーニング学会学術集会, 東京, 2015.8.
- 12) 中島英規, 前田堂子, 後藤温子, 品田京子, 志村明子, 相崎潤子, 小澤仁子, 渡辺倫子, 鈴木恵美子, 松原洋一, 原田正平: マススクリーニング外部精度管理 Web データ授受システムの構築. 第 42 回日本マス・スクリーニング学会学術集会, 東京, 2015.8.
- 13) 中島英規, 鈴木恵美子, 渡辺倫子, 原田正平: 質量分析装置による新生児マススクリーニング外部精度管理結果. 第 55 回日本臨床化学会 年次学術集会, 大阪, 2015.10.
- 14) 中島英規, 渡辺倫子, 鈴木恵美子, 原田正平: 定量 NMR を応用した SI トレーサブルな新生児マススクリーニング測定対象化合物検定法の確立. 第 55 回日本臨床化学会 年次学術集会, 大阪, 2015.10.
- 15) 石毛信之, 渡辺和宏, 長谷川智美, 他: 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. 第 57 回日本先天代謝異常学会. 大阪市. 2015.11.
- 16) 重松陽介, 湯浅光織, 磯崎由宇子, 他: 濾紙血 C5-OH アシルカルニチン上昇例の濾紙血 LC-MS/MS 分析による鑑別診断. 第 57 回日本先天代謝異常学会. 大阪市. 2015.11.
- 17) 但馬剛, 原圭一, 津村弥来, 他: CPT-2 欠損症のマススクリーニング: 一次対象疾患化へ

向けた課題．第 57 回日本先天代謝異常学会．
大阪市．2015.11．

- 18) 原圭一、香川礼子、但馬剛、他：VLCAD 欠損症確定検査から得られた知見-新たなスクリーニング指標の有用性と新規好発変異．第 57 回日本先天代謝異常学会．大阪市．2015.11．
- 19) 湯浅光織、畑郁江、河北亜希子、他：重篤なケトアシドーシスの治療中に眼球運動障害を呈した -ケトチオラーゼ欠損症の 1 例 .第 57 回日本先天代謝異常学会．大阪市．2015.11．

H．知的財産権の出願・登録状況

- 1．特許取得
なし
- 2．実用新案登録
なし