

乾燥ろ紙血を用いた原発性免疫不全症の新生児マススクリーニング臨床研究

研究分担者 小野寺雅史 国立成育医療研究センター 成育遺伝研究部 部長
研究協力者 河合 利尚 国立成育医療研究センター 成育遺伝研究部 室長

(研究要旨) 原発性免疫不全症(PID)の早期診断は、生命予後に影響する。そこで、新生児の乾燥ろ紙血を用いて、新生児PIDマススクリーニングのパイロット研究を開始した。当院で出生した正期産の新生児を対象に、日齢5にろ紙血を採取し、DNAを抽出してTREC値を測定した。

これまで、303例についてスクリーニングを実施し2例が異常値を示したが、PIDは否定的だった。結果は生後平均23.7±5.3日目に郵送で送付され、異常値を示した症例については速やかに電話連絡がなされ専門医による診療を受けた。本研究では、同意説明・取得から測定、結果送付、検査異常者への対応まで一連のシステムを単施設で構築した。今後、他施設の検体受入および外部施設への検査委託など、国内大規模スクリーニングを視野に入れた実施体制について検討を進める。

A. 研究目的

原発性免疫不全症(PID)は、病原体に対して易感染性を示す疾患群である。このうち、重症複合免疫不全症(SCID)は診断に急を要し、1歳までに根治的治療を行わないと生存率は極端に低下する。

また、昨今では生後6週から生ワクチンの接種が行われるようになり、未診断患児が病原性感染症を発症する可能性がある。安全な予防接種の在り方を考えたときこの問題は重大である。このように重症PID患者を感染症罹患前(新生児早期)に診断することで、重症感染症の無い状態で根治的治療を行うことができ、患者の生命予後の改善が期待される。そこで、本研究ではPID患者の早期診断を可能にする新生児スクリーニング法の確立を目指し、当センターで出生した新生児から得られた乾燥ろ紙血による微量サンプルを用いて新生児PIDマススクリーニング実

施体制を検証した。

B. 研究方法

当センター倫理委員会で承認された実施計画『乾燥ろ紙血を用いた免疫不全症のスクリーニング法の開発』を遵守し研究を行った。国立成育医療研究センター病院で『血液ろ紙を用いた微量サンプルによるポンペ病診断の開発』臨床研究のスクリーニングに参加し、本研究について保護者のインフォームドコンセントを取得した新生児を対象とした。被験者は、在胎37週以降、2500g以上で出生した児(新生児集中治療室の新生児を除く)で、乾燥ろ紙血からDNAを抽出し、定量PCR(Roche LightCycler 480システム)にてTRECとアクチンのコピー数を測定した。なお、ろ紙血は、『血液ろ紙を用いた微量サンプルによるポンペ病診断の開発』臨床研究のために採取された乾燥ろ紙血の残検体を用いた。

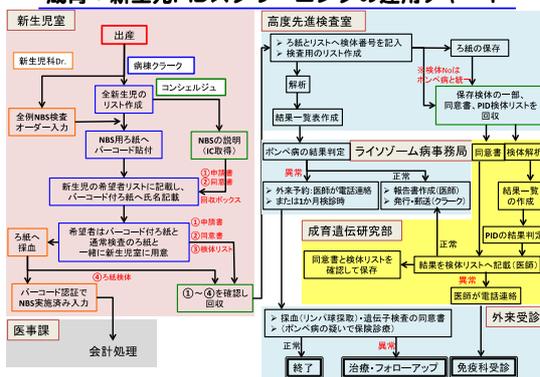
結果報告書を全例に郵送し、異常値を示した症例は当センター免疫科を受診するよう電話連絡を行った。

C. 研究結果

1. 実施体制の構築

新生児PIDマスキングの実施にあたり、新生児科と産科の医師、病棟事務職、高度先進検査室スタッフと連携し、下図の運用チャートに従って体制を整備した。両親への説明は女性コンシェルジュ3名が担当し、大きな混乱はなかった。定量PCR解析は、技術者1名が行い、医師が測定結果を判定した。

成育：新生児PIDスクリーニングの運用チャート



2. 新生児PIDスクリーニングに対する両親の関心

当センターでは、通常、出生後5日目に退院となるため、出産後5日以内に本研究の説明を母親あるいは父親へ行った。

今回、本研究の参加予定者は331名だったが、体調不良、不在、授乳中などの理由で本研究の説明を十分に受けられず、28名が不参加となった。303名(91.5%)が本研究へ参加し、不参加の症例を含めて、検査に対して否定的な意見はなかった。

3. 解析結果

これまでの報告を参考に、TRECのカットオフ値を40 copies/spotとした。同時に アクチ

ンを測定し、DNA抽出のコントロールとして用いた。その結果、TREC低値を示した検体は、303検体中2検体(0.6%)であった。この2症例は、免疫科外来で再検査とリンパ球サブセット解析を行い、SCIDを含む重症PIDは否定的であることが明らかとなった。

本研究ではPIDの早期診断を目的とすることから、出生日から解析結果送付までの期間について検討したところ、 23.7 ± 5.3 日(平均日数 \pm SD)であった。

4. 新生児PIDスクリーニング異常者の検討

本研究では、TRECの異常値が検出された場合、以下の手順で再検査を実施した。

- 1) 初回の定量PCRで異常値が検出された場合、初回パンチで抽出した残存DNAを用いて、再度、定量PCR解析。
- 2) 1)で異常値が検出された場合、保存ろ紙血を再パンチし、DNAを抽出して定量PCR解析。

今回、上記の1)、2)の再検査で異常値を示した症例は2例であった。このうち、1例は定量PCRのDuplication sampleの片方のみが検出感度以下であった。別の1例は、Duplication sampleの両方ともカットオフ値を下回っていた。この2例について、免疫科受診の際、再度、ろ紙血を採取しTRECを測定したところ、正常レベルであり、リンパ球サブセット解析や臨床症状の異常は認めなかった。

D. 考察

新生児マスキングの対象疾患の条件として、「発病前に見つかる病気であること」、「新生児の負担にならない検査であること」、「制度の高い検査方法であること」などが提唱されている。そのため、今後も医学

の進歩に伴い対象疾患の増加が推測される。重症PIDであるSCIDは、感染症に罹患せず早期診断されることで、根治療法の治療成績は飛躍的に改善する。さらに、本研究班をはじめとする専門医療機関がPID診療の拠点病院として全国で機能しており、診断後の医療体制も整備されている。また、本研究の調査から、本マススクリーニングは家族からも要望されていることが明らかとなった。そのため、新生児PIDマススクリーニングは、医学的、社会的に必要性の高い検査と考える。

本スクリーニングでは、TREC値のカットオフを40 copies/spotと設定した。Jet van der Spekらの報告 (J Clin Immunol. 2015) によると、13論文で新生児315万人のシステマティックレビューから、典型的なSCID患者では、TRECカットオフ値25 copies/ulで100%の診断率であった。しかし、毛細血管拡張性運動失調症やDiGeorge症候群、ADA欠損症など、他のT細胞減少症の疾患も網羅するために、TRECカットオフ値を100 copies/ulとした報告もあった。また、本研究では早産児や先天性疾患を合併した新生児を除外している。そのため、今後、全ての新生児に対してPIDマススクリーニングを実施するためには、さらなる解析アルゴリズムの検討が必要と考える。

E. 結論

本研究では、同意説明・取得から測定、結果送付、検査異常者への対応まで一連の新生児PIDマススクリーニング/診療システムを単施設で構築した。本マススクリーニングは、重症PIDスクリーニング検査として医学的に有用であり、社会的に要望の高い検査である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nakazawa Y, Kawai T, Uchiyama T, et al.: Effects of Enzyme Replacement Therapy on Immune Function in ADA Deficiency Patient. Clin Immunol. 2015 Dec;161(2):391-3.

2. 学会発表

Kawai T, Goto F, Nakazawa Y, et al.: A Gene Therapy Clinical Study of a Patient with Chronic Granulomatous Disease, JSGCT, 2015, Osaka

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし