

分担研究課題名：新生児マススクリーニング(NBS)の全国標準化に関する研究

カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ2 (CPT2) 欠損症マススクリーニングの 全国実施を契機とする検査の標準化と患者追跡体制構築の試み

研究分担者： 但馬 剛（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・室長）

研究要旨

2017 度の研究成果を受けて、乳幼児の急死・重度障害の原因となる CPT2 欠損症新生児マススクリーニングが全国で開始された。マススクリーニングによる発見患者の診断数は、2014～2017 年度の 4 年間 3 例（*試験研究期から継続実施していた自治体による）に対して、2018 年度は 5 例となっており、全国実施の効果が看取された。全国での発見総数は、連携研究班で自治体ごとに選定を要請した「中核医師」を介する調査によって把握する仕組みが機能し始めており、今年度の CPT2 欠損症発見数は来年度の調査で確認し、当研究班への集約率を評価する方針である。

研究協力者

原 圭一

国立病院機構呉医療センター小児科・医長

香川 礼子

広島大学病院小児科・医科診療医

岡田 賢

広島大学大学院医歯薬保健学研究科

小児科学・講師

津村 弥来

広島大学大学院医歯薬保健学研究科

小児科学・研究員

重松 陽介

福井大学医学部小児科・客員教授

畑 郁江

福井大学医学部小児科・准教授

湯浅 光織

福井大学医学部小児科・大学院生

山田 健治

島根大学医学部小児科・助教

坊 亮輔

神戸大学大学院医学研究科小児科学・助教

A. 研究目的

新生児マススクリーニング(以下 NBS)は、多数の稀少な先天代謝異常症を対象としており、これを真に有用な事業とするには、実施主体である自治体の枠を超えて、検査の標準化や発見患者情報の集約などを実現することが不可欠である。その足掛かりとして、疾患を限定してモデルケースとなる仕組みを構築する。

欧米では大半が骨格筋症状にとどまる CPT2 欠損症は、日本では低血糖を伴う急性発症による乳幼児の死亡例が少なからず確認されている。しかしながら、2014 年度から全国実施された「タンデムマス法」による新生児マススクリーニングの導入に際しては、指標の感度不足から対象外となっていた。

試験研究段階での発見患者データの検討から、新指標 (C16 + C18:1)/C2 and C14/C3 (カットオフ 99.9 パーセントイル) を昨年度提案し、これを受けて今年度から CPT2 欠損症のスクリーニングが全自治体で開始された。陽性例の診断・病型予測などに関する情報集積と、発見された患者の把握・

追跡が求められる。

B. 研究方法

成育医療研究センター・広島大学・福井大学・呉医療センターの共同研究として、脂肪酸代謝異常症 3 疾患（CPT2 欠損症・VLCAD 欠損症・MCAD 欠損症）の確定診断と重症度・病型予測に必要な一連の検査（血清アシルカルニチン分析・酵素活性測定・脂肪酸代謝能測定・遺伝子解析）提供と症例情報の共有体制を構築した。CPT2 欠損症については、各自自治体の新生児マススクリーニング検査機関を通じて、精査医療機関に当研究班への確定検査集約への協力を要請した。

2017 年度に NBS で発見された 3 疾患の全数については、連携研究である日本公衆衛生協会地域保健総合推進事業「自治体と協力した新生児スクリーニングの全国ネットワーク化の推進に関する研究」（分担事業者：山口清次）を通じて、各自自治体の「中核医師」にスクリーニング結果の把握・提供を要請した。

（倫理面への配慮）

酵素・遺伝子診断については、国立成育医療研究センター・広島大学・福井大学・国立病院機構呉医療センターで、共同研究としての倫理承認を取得している。

C. 研究結果

平成 29～30 年度のマススクリーニングで発見され、我々が診断に関わった脂肪酸代謝異常症 3 疾患の患者数は、CPT2 欠損症（2017：1→2018：5）、VLCAD 欠損症（13→10）、MCAD 欠損症（9→6）となっている（図 1～3）。一方、2017 年度に全国で発見された患者数は、中核医師へのアンケート調査結果から、CPT2 欠損症（2）、VLCAD 欠損症（16）、MCAD 欠損症（18）となり、半数以上を我々が診断していることが判明した。

我々が診断した上記の CPT2 欠損症 6 例中 5 例が、複数の日本人急死例で既報の変異 p. E174K, p. F383Y のいずれか（あるいは両方）を保有していた（表 1: 症例 N-9～13）。

マススクリーニング発見患者の医療管理における細心の注意を喚起するため、連携

研究班（厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業「先天代謝異常症の生涯にわたる診療支援を目指したガイドラインの作成・改訂および診療体制の整備に向けた調査研究」研究代表者：中村公俊）で改訂を進めている診療ガイドラインの内容に準拠する形で、担当医用リーフレットを作成し、全国の主な精査医療機関とマススクリーニング検査機関へ配布した。

一方、2017～2018 年度にかけて、骨格筋型の症状を発症して精査となった 4 例を本疾患と診断したが（表 2：症例 S-2～5）、これらは試験研究期のマススクリーニングで正常とされていた。2018 年度からの新指標を後方視的に適用したところ、やはり陽性基準未満と判定された（図 4）。

D. 考察

タンデムマス法によるスクリーニングが全自治体で導入された 2014 年度から 2017 年度までの 4 年間、CPT2 欠損症を対象疾患として扱うか否かは、自治体ごとに対応が異なる状況にあった。この期間に我々が診断したマススクリーニング陽性の CPT2 欠損症罹患児は 3 例だったのに対し、今年度だけで 5 例が新たに診断されており、正規対象疾患化の効果が看取される。

これら 5 例以外に全国で発見・診断された患者の有無・数については、中核医師を対象とする来年度のアンケート調査で把握する予定である。また、発見患者の登録については、連携研究班（AMED 難治性疾患実用化研究事業「新生児マススクリーニング対象疾患等の診療に直結するエビデンス創出研究」研究開発代表者：深尾敏幸）が「難病プラットフォーム」を活用して構築する予定のレジストリに協力する方針である。

迅速な診断確定にはリンパ球 CPT2 活性測定が適しているが、重症度評価・病型予測には、精査時の血清アシルカルニチン分析（C16-アシルカルニチン、C18:1-アシルカルニチン濃度：図 5）と脂肪酸代謝能測定が有用であり、マススクリーニング発見患者に最適な医療管理を提供できるよう、データ蓄積を続けていく必要がある。

その一方で、現在の新指標でも一部の患

者の発見は困難と言わざるを得ない発症例が確認されたが、それらはいずれも低血糖を伴わない骨格筋型のケースであった。共通変異 p. S113L に起因する骨格筋型患者が大半を占める欧米諸国からは、このタイプの患者を新生児マススクリーニングで発見することは困難であることが報告されている。わが国のマススクリーニングでも同様の限界が示唆される結果であるが、骨格筋型患者は発症しても特段の障害を残さず診断に至るのが通例であり、低血糖型患者が相対的に多いわが国での本疾患マススクリーニング実施が否定されるものではないと考える。

E. 結論

VLCAD欠損症・MCAD欠損症については、我々が提供している確定検査を通じて、新生児マススクリーニング発見患者の過半数の情報を集約できていることが判明した。CPT2欠損症で全数把握ができていないかについては、来年度の調査で評価する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tajima G, Hara K, Yuasa M: Carnitine palmitoyltransferase II deficiency with a focus on newborn screening. *J Hum Genet* 64: 87-98, 2019.
- 2) Yuasa M, Hata I, Sugihara K, Isozaki Y, Ohshima Y, Hara K, Tajima G, Shigematsu Y: Evaluation of metabolic defects in fatty acid oxidation using peripheral blood mononuclear cells loaded with deuterium-labeled fatty acids. *Dis Markers*. 2019 Feb 7. (<https://doi.org/10.1155/2019/298474>)
- 3) 李知子, 山本和宏, 起塚庸, 山田健治, 小林弘典, 湯浅光織, 重松陽介, 原圭一, 但馬剛, 竹島泰弘: 新生児スクリーニングで異常を認めず、横紋筋融解症を機にカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 2 (CPT2) 欠損症と診断された幼児例. *日スクリーニング会誌*, 28: 253-260, 2018.

2. 学会発表

- 1) 但馬剛, 原圭一, 香川礼子, 津村弥来, 岡田賢, 湯浅光織, 畑郁江, 重松陽介, 山口清次: CPT2 欠損症スクリーニング新指標の有用性: 最近の診断例を加えた検討. 第45回日本マススクリーニング学会, さいたま市, 2018年8月17-18日.
- 2) 李知子, 起塚庸, 山田健治, 長谷川有紀, 重松陽介, 但馬剛, 竹島泰弘: 新生児タンデムマススクリーニングで異常指摘されず、横紋筋融解症を機に CPT2 欠損症と診断された幼児例. 第45回日本マススクリーニング学会, さいたま市, 2018年8月17-18日.
- 3) Tajima G, Hara K, Tsumura M, Kagawa R, Okada S, Yuasa M, Hata I, Shigematsu Y, Yamaguchi S. Newborn screening for carnitine palmitoyltransferase II deficiency in Japan using (C16 + C18:1)/C2 and C14/C3. *Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SSIEM) Annual Symposium 2018, Athens, 2018.9.4-7*
- 4) Hara K, Tajima G, Kagawa R, Okada S. Newborn screening for VLCAD deficiency: risk assessment of positive subjects by genetic and enzymatic study. *Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SSIEM) Annual Symposium 2018, Athens, 2018.9.4-7*
- 5) Yuasa M, Hata I, Sugihara K, Isozaki Y, Shigematsu Y, Ohshima Y, Tsumura M, Kagawa R, Okada S, Hara K, Tajima G. Investigation of the beta-oxidation process in MCAD-deficient patients with normal enzyme activity. *Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SSIEM) Annual Symposium 2018, Athens, 2018.9.4-7*

- 6) 但馬剛, 原圭一, 香川礼子, 津村弥来, 岡田賢, 湯浅光織, 畑郁江, 重松陽介, 山口清次: 全国実施が実現した CPT2 欠損症マスキングの新指標に関する検討. 第 63 回日本人類遺伝学会, 横浜市, 2018 年 10 月 11-13 日.
- 7) 但馬剛, 原圭一, 津村弥来, 香川礼子, 岡田賢, 湯浅光織, 畑郁江, 重松陽介, 山口清次: 新指標 (C16+C18:1)/C2&C14/C3 による CPT2 欠損症の新生児マスキング. 第 60 回日本先天代謝異常学会, 岐阜市, 2018 年 11 月 8-10 日.
- 8) 麻田智子, 宇藤山麻衣子, 松山美静代, 盛武浩, 澤田浩武, 原圭一, 但馬剛: 横紋筋融解を契機に判明した CPT2 欠損症の兄弟例. 第 60 回日本先天代謝異常学会, 岐阜市, 2018 年 11 月 8-10 日.
- 9) 橋本芽久美, 橋田一輝, 大津成之, 先崎秀明, 原圭一, 但馬剛: 乳幼児期発症重症型と思春期に発症した筋型の CPT2 欠損症同胞例. 第 60 回日本先天代謝異常学会, 岐阜市, 2018 年 11 月 8-10 日.
- 10) 李知子, 山本和宏, 起塚庸, 山田健治, 小林弘典, 湯浅光織, 重松陽介, 原圭一, 但馬剛, 竹島泰弘: 新生児タンデムマスキングで異常を認めず、横紋筋融解症を機に CPT2 欠損症と診断された幼児例. 第 60 回日本先天代謝異常学会, 岐阜市, 2018 年 11 月 8-10 日.

F. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
該当案件なし。

図1. CPT2 欠損症：診断症例数の推移

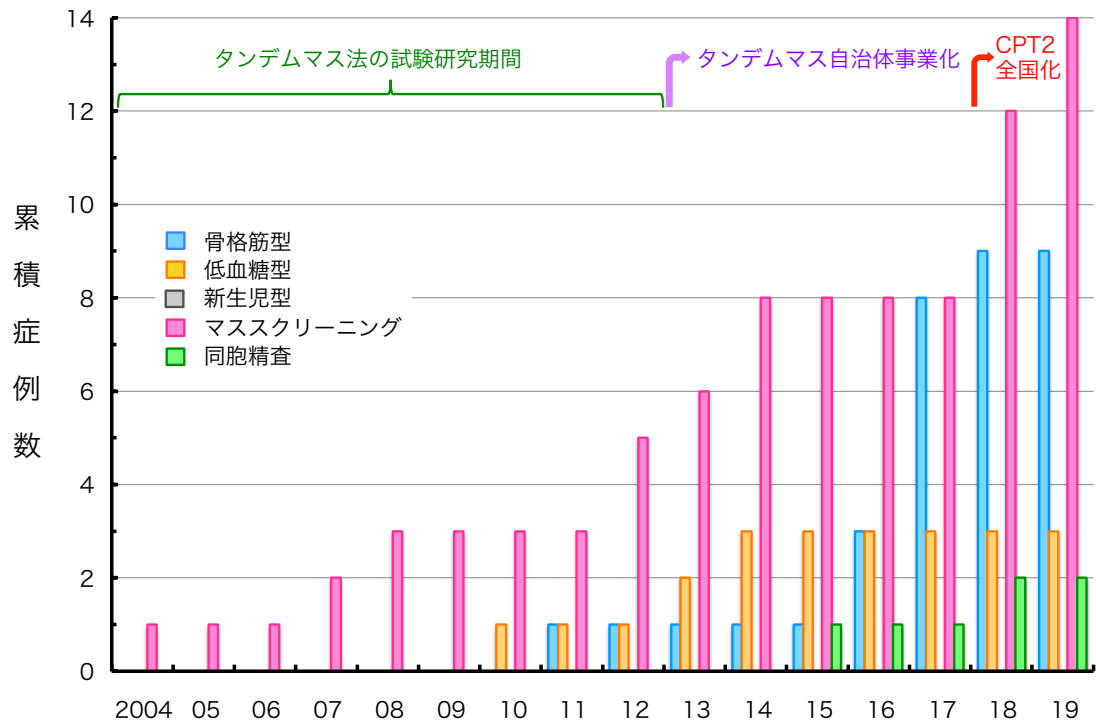


図2. VLCAD 欠損症：酵素診断症例数の推移

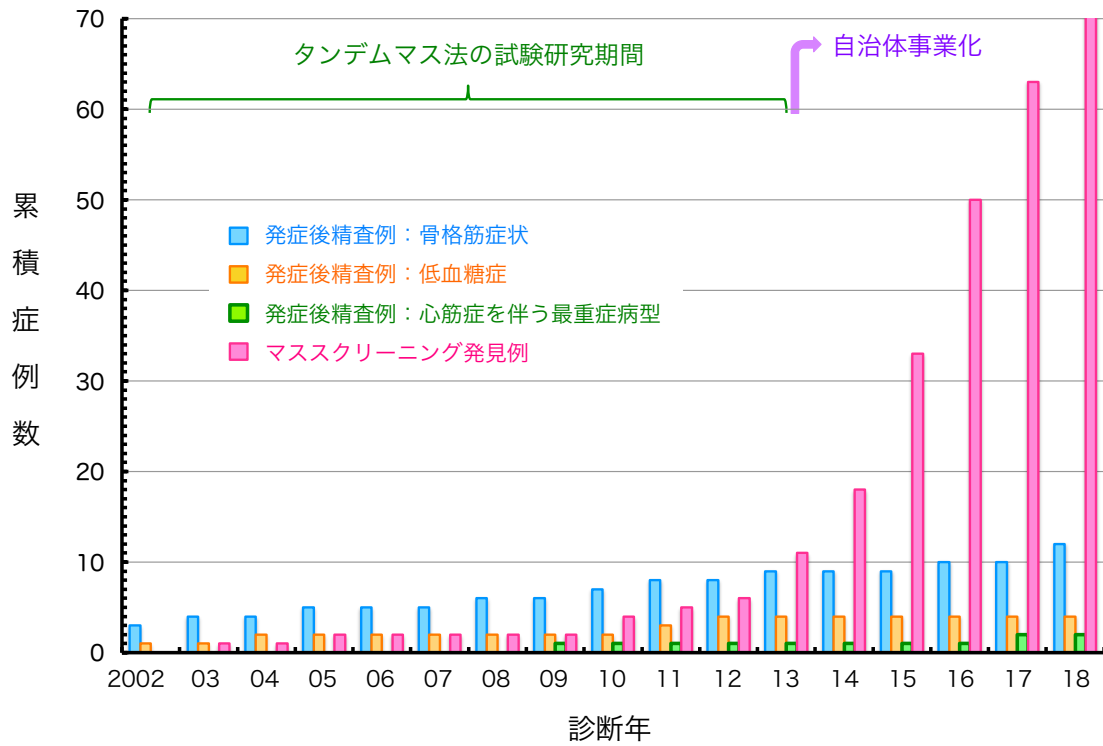


図3. MCAD 欠損症：診断症例数の推移

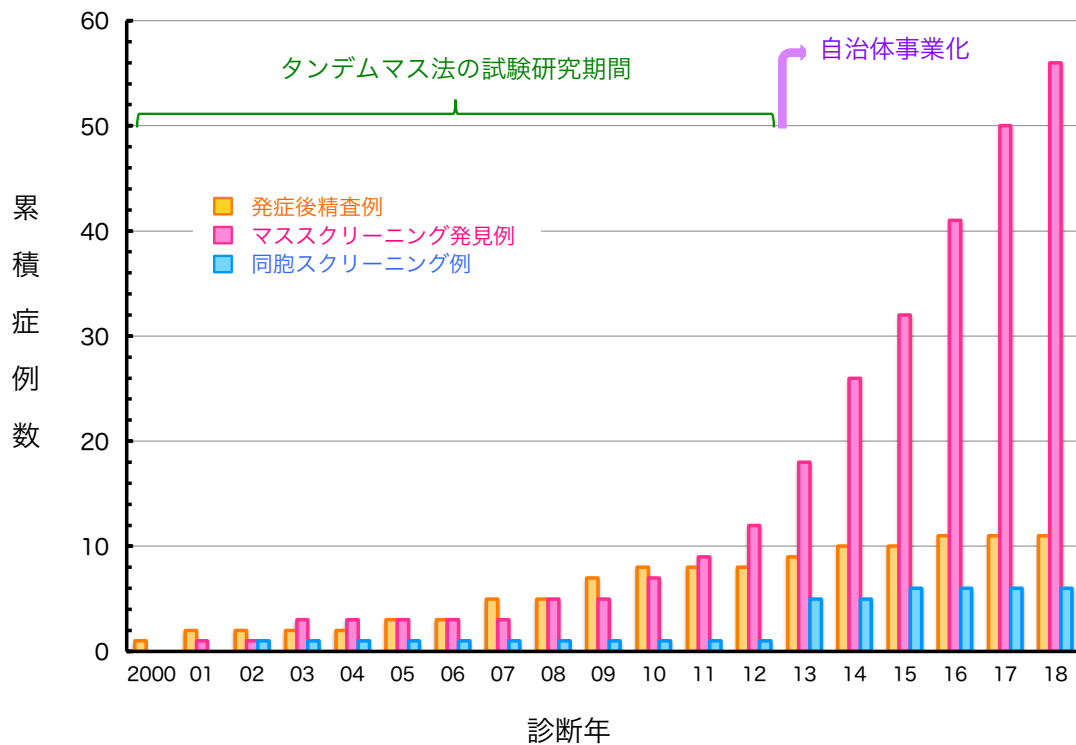


表1. CPT2 欠損症マススクリーニング陽性例の診断結果
(平成30年度の発見患者：N-9～13)

NBS 陽性例 (A～E：次図での区分)	CPT2 活性 (%)	脂肪酸代謝能 (%)		CPT2 遺伝子解析		
		d ₁ C2/d ₃₁ C16	d ₂₇ C14/d ₃₁ C16	アレル1	アレル2	
(A) 罹患者 N-1	死亡	未検	4.4	4.8	p.R151W	p.F383Y
(A) 罹患者 N-2	CK↑	12.1		未検	p.F383Y	p.F383Y
(A) 罹患者 N-3	筋症状	未検	2.1	3.3	p.E174K	p.F383Y
(A) 罹患者 N-4	死亡	7.8		未検	p.W374*	p.F383Y
(A) 罹患者 N-5	筋症状	未検	7.7	4.4	p.F383Y	p.R477W
(A) 罹患者 N-6	低血糖	未検	2.7	3.3	p.E174K	p.F383Y
(A) 罹患者 N-7	筋症状	未検	8.3	4.4	p.P504L	p.V605L
(A) 罹患者 N-8	無症状	27.9	6.5	6.2	p.E174K	p.V605L
(A) 罹患者 N-9	無症状	4.1		未検	p.E174K	p.R219Q
(A) 罹患者 N-10	無症状	6.4		未検	c.214_215delTT	p.R631C
(A) 罹患者 N-11	無症状	14.2	1.4	2.4	p.E174K	c.1747delC
(A) 罹患者 N-12	無症状	7.5		未検	p.E174K	p.F383Y
(A) 罹患者 N-13	無症状	16.5		未検	p.F383Y	p.F383Y
(C) 保因者 N-14	31.8	26.0	21.2	p.T509A	変異なし	
(C) 保因者 N-15	70.8		未検	p.E545A	変異なし	
(C) 保因者相当 (n = 8)	37.7 – 59.1 (n = 6)	46.0, 47.8 (n = 2)	52.0, 67.4 (n = 2)	CPT2 変異なし (n = 4) CACT 変異なし (n = 3)		
(D, E) 偽陽性 (n = 17)	51.5 – 156.6 (n = 12)	67.0 – 174.9 (n = 7)	93.2 – 195.6 (n = 7)	CPT2 変異なし (n = 4) CACT 変異なし (n = 4)		

表2. 発症後に CPT2 欠損症が疑われた症例の診断結果

NBS 正常の発症患者 (A～E：次図での区分)	CPT2 活性 (%)	脂肪酸代謝能 (%)		CPT2 遺伝子解析		
		d ₁ C2/d ₃₁ C16	d ₂₇ C14/d ₃₁ C16	アレル1	アレル2	
(A) 低血糖型 S-1	13.6	4.1	4.0	p.R161W	p.F383Y	
(B) 骨格筋型 S-2	16.2		未検	p.F383Y	p.R560W	
(B) 骨格筋型 S-3	9.5		未検	p.R560W	p.V605L	
(B) 骨格筋型 S-4	15.5		未検	p.R560W	p.V605L	
(B) 骨格筋型 S-5	8.1	41.9	33.3	p.S113L	p.E645*	
NBS 未検の発症患者						
低血糖型 S-6	6.6		未検	p.R151W	p.R151W	
低血糖型 S-7	未検			p.F383Y	p.Q449*	
骨格筋型 S-8	17.3	9.4	未検	4.4	p.Q105*	p.R631C
骨格筋型 S-9	2.8		未検	p.F383Y	p.E527K	
骨格筋型 S-10	18.4		未検	p.S113L	p.M214T	
骨格筋型 S-11	14.7		未検	p.S122F	p.P504L	
保因者？						
(C) 急性脳症 S-12	45.2		未検	p.S122F	変異なし	
CK 著増 S-13	50.5		未検	p.S122F	変異なし	
(C) CK 著増 S-14	48.7		未検	p.S122F	変異なし	
CK 著増 S-15	63.1		未検	p.L191P	p.E527K	

図4. 新旧スクリーニング指標値の分布

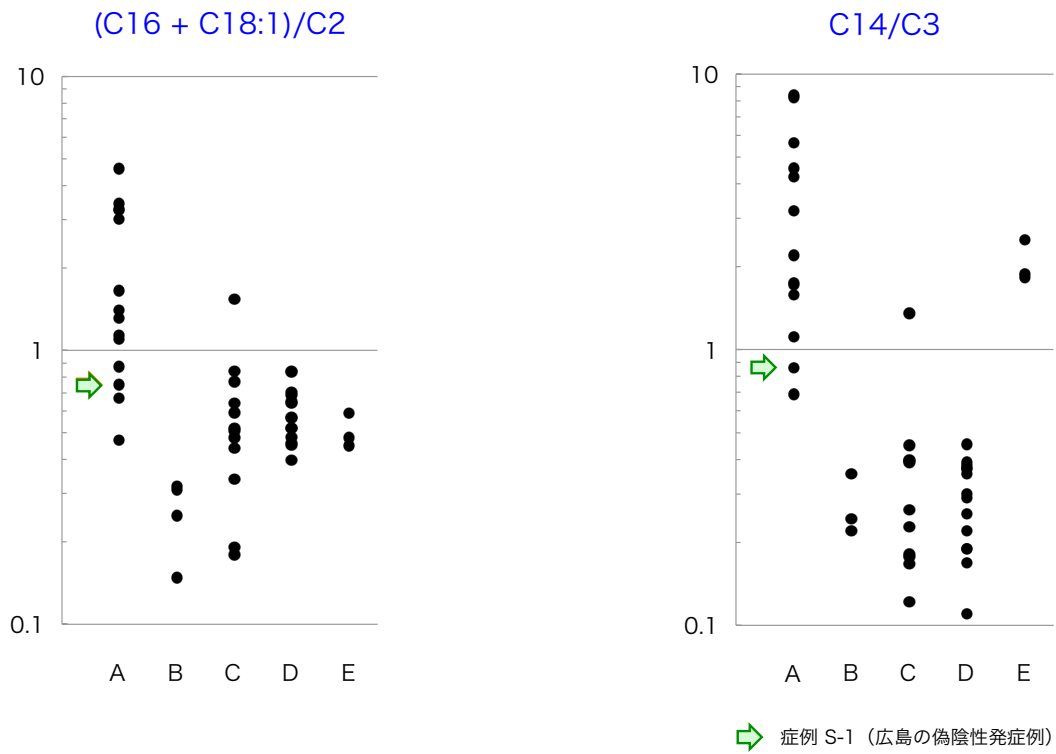


図5. スクリーニング陽性後初回精査時の血清指標値

