

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
(健やか次世代育成総合研究事業)

**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 26 年度 総括・分担研究報告書
研究代表者 山口清次

平成 27 (2015) 年 3 月
(1 年目)

目 次

・ 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) ----- 3

・ 分担研究報告

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) ----- 15

1) 北海道地区のネットワークと症例収集

長尾雅悦 ----- 33

2) 東北地区のネットワークと症例収集

坂本 修 ----- 37

3) 関東地区の問題点とネットワークの構築

窪田 満 ----- 39

4) 愛知県におけるタンデムマス・スクリーニングの現状と問題点

伊藤哲哉 ----- 43

5) 広島県地域ネットワークの問題点および重要症例

但馬 剛 ----- 45

6) 九州・沖縄地域ネットワークの課題と症例提示

中村公俊 ----- 49

7) 2次対象疾患 CPT2 欠損症の突然死、見逃し症例の収集

高柳正樹 ----- 51

8) コンサルテーション体制確立に関する取り組みと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 ----- 53

9) 対象疾患の遺伝子診断体制

深尾敏幸 ----- 57

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) ----- 61

1) LC-MS による二次検査法開発

中島英規 ----- 67

2) 平成 25 年度タンデムマス検査実施状況調査報告について

- 内部精度管理の充実に向けた取り組み -

花井潤師、福士 勝、石毛信之、田崎隆二 ----- 71

3) タンデムマス・スクリーニング発見患者調査について

石毛信之、花井潤師、福士 勝、田崎隆二 ----- 76

4) 新生児マススクリーニングの標準化 -海外の動向と我が国の現状-

福士 勝 ----- 80

3 . 外部精度管理体制の確立に関する研究（分担：原田正平）	83
1) 質量分析装置によるマススクリーニングの精度管理のための精度試験用検体（QC 検体） 作製及び測定後のデータ処理について 中島英規、渡辺倫子、鈴木恵美子	87
2) 新しい外部精度管理のためのブラインド検体導入とその問題点 鈴木恵美子、渡辺倫子、中島英規	91
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）	95
1) 日本人ゲノム参照パネルを用いた先天代謝異常症の頻度予測 呉 繁夫	98
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）	101
1) 諸外国における特殊ミルクに関する経済的支援制度の比較研究 森臨太郎、大西香世	104
. 研究成果の刊行に関する一覧	109
. 研究成果の刊行物・別刷	113

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

タンデムマス (TMS) スクリーニングが2014年度から全国に導入された。「新生児マススクリーニング (NBS) が小児の障害予防、国民の福祉向上に役立っているのか、国民の福祉により効率よく貢献するためには何が必要か」をテーマとして研究を行った。今年度、以下の成果があった。

(1) 稀少疾患に対するコンサルテーション体制 : TMSスクリーニングは超稀少疾患が多く陽性者が出ると現場では戸惑うこともある。これを緩和するために東京にコンサルテーション窓口を設置して、必要に応じて専門家にアクセスできる体制が作られた。回答をブラッシュアップし、また自治体等を対象にした (タンデムマス通信) という情報誌も定期的に刊行する体制を作った。

(2) 患者登録コホート体制 : 自治体から厚労省に1年間に発見された疾患と患者数が報告されてきた。さらに研究班から患者の生年月日、診断した医療機関名等を調査した。次いで2次調査として診断した医療機関を対象に診断した方法と治療法について調査する体制を作った。1年目の現時点では参加自治体は41/47都道府県 (87%) の参加率であった。

(3) 新しい診断指標の開発 : 突然死する乳児が多いCPT2欠損症は偽陰性偽陽性が多いために、2次疾患となっている。今回CPT2欠損症の効率の良い診断指標を開発した。本症は1次疾患にして障害発生の予防をすべき疾患である。

(4) スクリーニング向上のための2次検査法の開発 : 血液ろ紙を検体としてマルチモードクロマトグラフィーを用いて、代謝疾患マーカーを分離・定量分析する系を開発した。通常の系では判別が難しいアミノ酸類やアシルカルニチン類の異性体判別が可能であった。さらに有機酸やそのグリシン抱合体の分析も可能であった。この方法は質量分析装置に「カラム」を接続するのみで、診断の迅速化につながると期待される。

(5) TMSスクリーニングのための精度管理体制の確立 : 技能試験 (PT) と、精度試験 (QC) のための検体を作成した。年3回のPT試験、年1回のQC試験を行った。これにより全国検査機関の標準化と、自己チェックに役立つと思われる。

(6) 次世代のNBSの在り方 : これまでNBSでは診断指標を量として測定してきた。測定できないものはどんなに重要な疾患でもスクリーニングができなかった。今後原発性免疫不全症のスクリーニングにはろ紙から抽出したDNAが使われるようになっている。また例えばウィルソン病や突然死を起こす不整脈 (QT延長症候群) などの障害を予防するために遺伝子スクリーニングも考慮すべきである。

(7) 次世代シーケンサ (NGS) の応用 : NBSにNGS導入も考慮すべき時期に来ているかもしれない。確定診断を簡便に行う方法としてNGSでわかる情報の中から「新生児マススクリーニング疾患パネル」(約50種類の遺伝子) をセットしておき、NBSで陽性を示した患者を

検査して簡便な確定診断が可能になる。また病型や予後判定にも役立つ情報が得られるかもしれない。NGSを用いた研究として1,070名分のゲノム参照パネルを用い、変異予測ソフトによる保因者数から患者頻度を予測できることが示された。NGSからPKUの頻度を推定したところ、4.5万人に1人、実際のパイロットスタディーでは5.3万人に1人で、ほぼ近い値が得られた。同じ手法でNGSから予想される頻度と実際のスクリーニングで発見される頻度に大きな乖離がある場合は、見逃し例の多い疾患と推定できる。この方法は、我が国の遺伝性希少難病の患者数を把握する有効な一手段となる可能性がある。

(8)治療用特殊ミルクの安定供給に関する研究：諸外国の状況、わが国の状況を調査した。TMSによって対象疾患が拡大し、またNBSで発見された小児が成人して社会参加し始めているなどの要因も加わり、特殊ミルクの安定供給体制、成人後も含めた医療費支援体制も検討すべき時期に来ている。欧州では多くの国で特殊ミルクは公費負担か償還制度がとられている。さらに特殊ミルクの法的整備、成分の再検討、災害時等の危機管理体制も整備すべきである。

研究協力者

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）

成人し社会参加しつつあり、治療用特殊ミルクの安定的な供給体制が不可欠となっている。

そこで 稀少疾患のコンサルテーション体制、患者登録・コホート体制、スクリーニング診断精度の技術向上、タンデムマス精度管理体制、次世代を見据えた新技術の開発、および治療用特殊ミルクの安定的供給体制の確立について検討した。

A．研究目的

2014年度から、全国の新生児マススクリーニング（NBS）にタンデムマス（TMS）が導入された。タンデムマスを導入した新生児マススクリーニング（TMS スクリーニング）によって対象疾患が拡大し、より多くの小児が障害防止の恩恵を受けることが期待される。一方 TMS スクリーニング対象疾患は超稀少疾患であり、専門家も少なく、異常が発見されたとき現場では小児科医といえども不安を持つ可能性がある。全国どこからでも専門家のネットワークにアクセスできる体制があるとそれが解消される。

また TMS スクリーニングでは、新たな精度管理体制が必要となり、さらに新しい診断指標の開発や精密検査法の開発等による診断精度の向上が求められる。TMS スクリーニングと同時に将来の NBS の在り方を検討することも必要である。またわが国の NBS が開始されて 37 年が経過し患者は

B．研究方法

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：タンデムマスで陽性が出た時、全国のどこからでもアクセスできるコンサルテーション窓口（コンサルセンター）が 2014 年 4 月から設置された。コンサルタントは日本マススクリーニング学会から推薦された医師 11 名と検査技師 4 名でスタートした。コンサルテーション活動を通じて効率的な体制のあり方を検討した。

2) 各地区の連携体制の調査：パイロットスタディーを早期から参加していた地域を中心に各地区の連携体制について調査した。

3) 患者コホート体制：タンデムマスで発見された患者登録の枠組みを作り、調査項目等を検討

した。

4) タンデムマス対象疾患の急性発症例検討：自験例と文献から症例を収集した。

5) 確定診断技術の検討：確定診断のための次世代シーケンサ (NGS) の応用の在り方を検討した。

2. マ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)

1) 検査施設の分析方法と検査値、及びスクリーニング精度の調査

各検査施設の 2013 年度の TMS スクリーニング初回検査結果から集計一覧表を作成後、技術部会で別途作成した EXCEL ワークシート「集計・解析シート」により解析した。また TMS スクリーニング実施状況として、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。

2) 検査施設のスクリーニング実績とカットオフ値の調査

2012 年度、2013 年度における全精査例について、精査依頼年度、疑われた疾患名、精査結果、確定診断名、初回検査データを調査した。

3) 新しいスクリーニング指標の開発 これまでのスクリーニング指標では発見が困難であった患者のデータを基に、適切なスクリーニング指標を開発し、有用性をシミュレーションした。

4) LC-MS/MS 法による二次検査法の開発：偽陽性率の高い対象疾患を対象に、初回濾紙血を用いることにより対象疾患の化学診断情報が得られる二次検査法として、新開発の LC カラムを用いて分析条件を検討し、患者検体を用いて有用性を確認した。

5) 新生児マスクリーニングの標準化：欧米における検査施設基準、精度保証システム、NBS システムの評価方法、検査法の標準化の動向を国際学会報告や関連ホームページから収集し、我が国の現状を調査し比較検討した。

3. 外部精度管理体制の確立に関する研究 (研究分担者 原田正平)

1) 外部精度管理検体の組成：化合物の種類、量を検討し改良する。

2) 精度向上と地域差の是正：検査の質の維持、地域格差の是正を目的として精度管理検体の検査実施状況を検討した。

4. 次世代のマススクリーニングの在り方に関する研究 (研究分担者 松原洋一)

1) 国内外の新しいマススクリーニング法や網羅的遺伝子解析法に関する情報を収集した。

2) 検討すべき新しい対象疾患についての情報を、文献、関連研究者および関連学会を通じて収集し解析した。

5. 治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究 (研究分担者 大浦敏博)

「治療用特殊ミルク」を効率的かつ安定的に運用することを目的として、運用上の問題点を検討し、その解決のための方法について検討した。

(倫理面への配慮)

患者コホート研究については、島根大学医の倫理委員会で承認されたものである (第 1622 号)。データ管理は当面島根大学 (研究代表者の所属機関) でオフラインのパソコンに情報を蓄積する。調査する患者情報は連結可能匿名化として、事務局では個人名を取り扱わない。

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

1) コンサルテーション体制：2014 年 12 月 20 日までの実績でコンサルテーションセンターには 77 件の問い合わせが寄せられた。質問者は小児科医師が最多で 45 件、次に検査機関からの 18 件と続いた。自治体からの問い合わせも 8 件あった一方で産科関連からは併せて 6 件と少なかった (表 1)。

表 1. コンサルセンターへの相談者の内訳

小児科医	45
検査機関	18
行政担当部署	8
産科施設	6
計	77

(2014年12月20日時点)

2) 各地区の連携体制の調査

各地区の主な課題と現状について、以下のような点があげられた。

地理的な要因から精査機関が広域に分散せざるを得ない地域がある。

メール等による連携体制が構築されつつある。

精査機関の偏りのある地域がある。

特定の医療機関に特定の偽陽性例多発するケースがあった。例えば、ピボキシル基含有抗菌

薬がルチンに投与されている機関や、厳格な母乳主義のために異化亢進と思われる所見のみられるケースがあった。

カットオフ値設定の問題点が残っているために、他の検査機関に比べ偽陽性率が高いケースがあった。

広域の地域で先天代謝異常フォーラム、またはマススクリーニングフォーラムを定期的開催して、セミナーや情報交換を通じて、質の維持向上を図っている地域があった。

3) 患者コホート体制：タンデムマスで発見された患者登録の枠組みを作り、調査項目等を検討した。

調査方法の確立

表 2 に示す調査内容、形式とした。

表 2. 患者登録・コホートのための調査内容

種類	1次調査	2次調査
調査対象部署	自治体	診断した医療機関
調査項目	疾患名 患者 ID (匿名化) 生年月日 診断医療機関名	診断方法 発見時の状況 治療方針 その他の特記事項

原則として調査票は、悉皆性を優先するために選択形式(チェック)とし、回答しやすいよう配慮した。

患者コホートに自治体参加率

2014年12月時点で、47都道府県のうち41の自治体が参加している。2013年度に発見された患者について調査したが、約80%の自治体からの回答では49例の患者が発見された。頻度の高い疾患は、フェニルケトン尿症(PKU):4万人に1人、プロピオン酸血症:6.7万人に1人、極長鎖アシル-CoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症:10万人に1人、の順であった。

4) タンデムマス対象疾患の急性発症例検討：私信を中心にして5例の発症症例を収集した。5

例はともにカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-(CPT2)欠損症であった。発症時期は生後7か月、8か月(2例)、9か月、および1才1か月であった。全例発熱を契機に急性脳症で発症し、4例が突然死、1例が重症心身障害児となった。

5) 確定診断技術の検討：確定診断のための遺伝子解析をNGSで行うために、新生児マススクリーニング対象疾患遺伝子パネル(50種類)を提言した(表3)。

表3. 新生児マススクリーニング対象疾患遺伝子パネル(50種類)

ALT, GALK, GALE, PCCA, PCCB, MUT, MMAA, MMAB, MMACHC, MMACHD, LMBRD1, ABCD4, HCFC1 IVD, MCCA, MCCB HMGCL, HLCS, BD, SLC5A6, GCDH, ACADVL, ACADM, HADHA, HADHB, CPT1A, SLC25A20, CPT2, OCTN2, ETFA, ETFB, ETFDH, SLC25A13, ACAT1, HSD17B10, PAH, GCH1, PTS, SPR, QDPR, PCBD 1, BCKDHA, BCKDHB, DBT, DLD, CBS, MTR, MTRR, MTHFR, MAT1A, ASL, ASS1

2. マススクリーニング検査精度向上に関する研究

1) 検査施設の分析方法と検査値、及びスクリーニング精度の調査

2013年度の各施設のタンデムマス(TMS)検査の正常値分布およびTMS実施状況の調査を行った。その結果、Leu+Ileu、C3、C3/C2、C5-DCのカットオフ値と99%値との関係から、カットオフ値の設定が適正ではない施設があることが確認された。また、C8/C10、C14:1/C2比において、ばらつきが大きい施設が確認された。再採血率は87万あまりの検体で0.39%、即精査率(0.018%)、再採血後精査率0.029%、総精査率0.047%であった。また、検査機関を対象としたアンケートでは、発見患者数は54例で発見頻度1:16,150であった

2) 検査施設の発見患者データの調査

2013年度34検査機関(総検査数85.4万)からの回答によると、患者84名(頻度1:10,200)で

あった。

3) 新しいスクリーニング指標の開発

CPT2欠損症の従来の診断指標は、図1に示すように、C16(cut-off 6.2)とC18:1(cut-off 3.0)であったが、これでは見逃し例が相当数あった。このため本症は1次対象疾患にできなかった。今回(C16+C18:1)/C2の診断指標を開発し、同時にC16のcut-offを3.0に下げたところ、偽陽性偽陰性を著しく減らすことができることが明らかになった。メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症で濾紙血中メチルマロン酸・3ヒドロキシプロピオン酸濃度測定を組み合わせたカットオフ値を開発した。C3/C2のカットオフ値も活用する必要があることが明らかになった。また、ホモシスチン尿症を伴うB12反応型メチルマロン酸血症については、C3/メチオニン比が鋭敏な指標となることを示した。

(次ページへ続く)

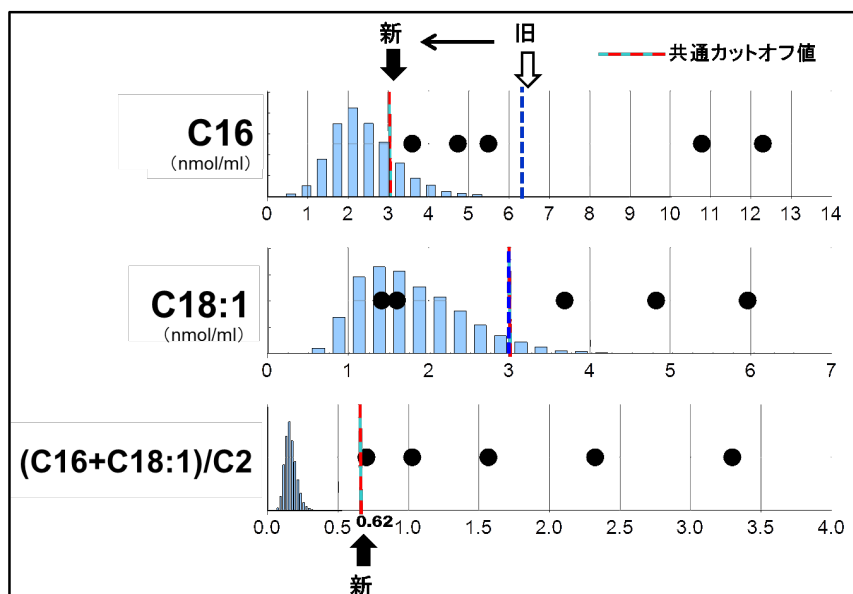


図1. CPT2欠損症の診断指標の検討

従来の指標は C16 (cut-off 6.2) と C18:1 (3.0) では見逃し例が多かった。今回新しい診断指標として (C16+C18:1) /C2 (0.62) と C16 (3.0) に設定することにより偽陽性偽陰性を著しく減らすことができることが分かった。

4) LC-MS/MS 法による二次検査法の開発

以下の対象疾患について LC-MS/MS 法による二次検査法を確立した。メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症では、濾紙血サンプル分析で GC/MS 法と同等の精度で診断が可能であることを確認した。グルタル酸血症 型 (GA-1): 新生児期の 3-ヒドロキシグルタル酸とグルタル酸の濃度を同時に高感度で測定出来る分析条件を決定した。メープルシロップ尿症: アロイソロイシンが精度よく定量できることが明らかになった。イソ吉草酸血症: 抗生剤投与で増加するピバロイルカルニチンとイソバレリツカルニチンなどの異性体との分別定量が可能となった。

5) 新生児マススクリーニングの標準化

検査施設の要件として、欧米では一定の基準をクリアした認証検査施設のみが NBS を実施できる。一方、日本では一般的な検査のできる検査施設ならどこでも検査受託が可能で、自治体によっては年度ごとに一般競争入札が行われている。

わが国では、臨床検査技師等に関する法律により規定された登録衛生検査所の認定を受けている施設は 43%であった。また、日本マススクリ

ーニング学会の示した NBS 検査施設基準・TMS スクリーニング検査施設基準があるが、検査機関が基準をどの程度クリアしているは不明である。

スクリーニングシステムの機能評価として、採血 (日齢、適切な濾紙採血状況)、検体送付 (採血から検体送付・検査機関受付までの所要日数)、アメリカでは州レベルのデータを全国レベルで評価できるシステムが法律に基づき連邦政府の支援を受けて行われている。我が国ではシステムティックなデータ収集・解析を行っている自治体は極めて少ない。

検査施設間測定値のハーモナイゼーションを図るため、NBS 対象疾患の濾紙血液リファレンス検体を作成して各国の外部精度管理機関や試薬メーカーへ提供しており、NBS 検査では標準濾紙血液を用いることが標準となっている。

米国 R4S プロジェクトは TMS スクリーニングの大規模データベースを利用して、偽陽性率の低減と陽性的中率の改善を図る目的で構築されたシステムである。我が国でも一部の検査機関が R4S に参加しているが、すべての検査施設が参加してアクティブなユーザーとなるには英語への

リテラシーの課題がある。さらに、採血は海外では生後 24 時間から 72 時間以内がほとんどであり、我が国の 96 時間から 144 時間採血と異なっているため測定データの乖離も指摘されている。

3. 外部精度管理体制の確立に関する研究

1) タンデムマス精度管理体制の構築

精度管理体制を整えた。図 2 に示すように、その窓口は NPO 法人タンデムマス (TMS) 普及協会である。TMS 普及協会から精度管理センター (成育医療センター研究所 MS 研) に委託し、MS 研では技能試験 proficiency test (PT) を年 3 回以上、精度管理試験 (quality control test, QC) を年 1 回以上行う。

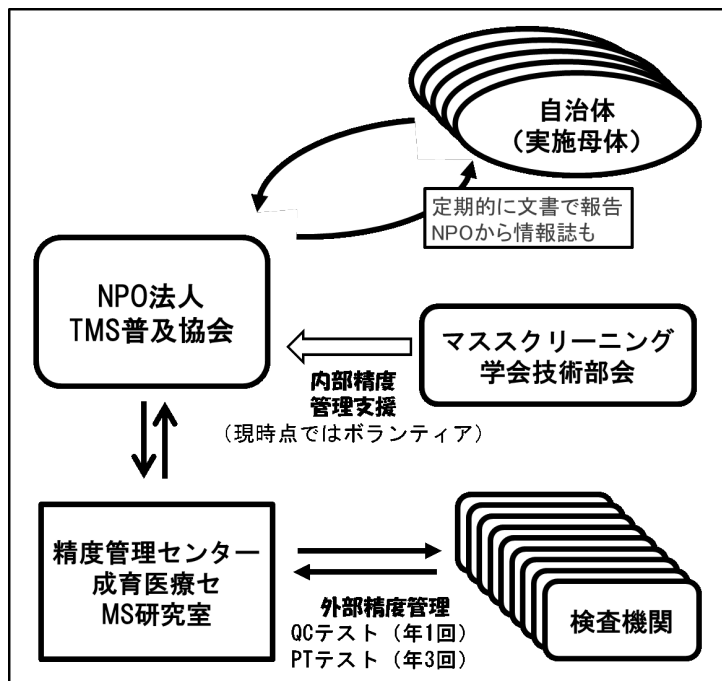


図 2. TMS スクリーニングの精度管理体制

精度管理センターでは、全国 41 の検査機関に対して PT テストと QC テストを定期的に行う (外部精度管理)。また日本マススクリーニング学会技術部会がボランティア参加して、全国の検査機関で内部精度管理を行っている。内部精度管理では、各検査機関の測定値を集めて各測定項目の正常範囲、カットオフ値を一覧表にして、検査機関の位置を示す。発見された患者の測定値などを収集、蓄積して、カットオフ値の設定等について相談・指導を行っている。

2) PT 検体の作成

PT 検体は、先天性甲状腺機能低下症、先天性副腎過形成症及びガラクトース血症を対象とした診断指標成分を添加したものと作成した。今回新たに TMS スクリーニング用 PT 検体を作成した。今年度は C3、C5、C8、C5-OH、C14:1 を添加した血液を作成した。上記の診断指標を人工的に添加

しないものを正常検体とした。2014 年 6 月、9 月、2015 年 2 月に (年 3 回) 全国 38 指定検査機関に正常・異常検体 10 枚 1 組として送付して PT 試験を行った。

3) QC 検体の作成

QC 検体は、対象疾患の検出に必要なアミノ酸、フリーカルニチン及びアシルカルニチン (以下、

アミノ酸等)を含んだ溶液を保存血液(以下、無添加血液)に規定の濃度となるように添加した。血中濃度を参考にして、低・中・高濃度の検体とし、無添加血液とあわせて4濃度を1組とした。外部精度管理実施に必要なスポット数のQC検体(4濃度1組)を平成27年1月、冷凍状態で指定検査機関に送付した。指定検査機関では1日1回測定で連続した10日間行うことを依頼した。

測定対象項目がアミノ酸10種類、アシルカルニチン21種類となり、その4濃度、計20測定分(濃度データとして1施設2,480件)となるため、TMS装置に内蔵されたデータ出力機能を活用し、一定の様式に従った電子ファイルとしてMS研に送付を依頼した。

4. 次世代のマススクリーニングの在り方に関する研究

国内外の新しいマススクリーニング法や網羅的遺伝子解析法：乾燥濾紙血からDNA抽出をおこなって遺伝子解析を行う遺伝性疾患として以下のような疾患がある。

1) 原発性免疫不全症は米国の一部の州ですで行われている。わが国でも検討対象疾患の候補である。

2) NGSを基盤とするのう胞線維症、PKU、或いはガラクトース血症などのスクリーニングが行

われている国もある。

3) NGSを応用して、住民コホート1,070名分のゲノム参照パネルを用い、変異予測ソフトによるPKU保因者数を算定したところ、疾患頻度が4.5万人に1人と計算された。パイロット研究のPKU頻度5.3万人に1人に近い頻度と推定された。我が国の遺伝性希少難病の患者数を把握する有効な一手段となる可能性がある。

5. 治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究

わが国の治療用特殊ミルクは、表4のように分類されている。医薬品(保険収載)、登録品(公費とメーカーの負担)、登録外(メーカー負担)、および市販品(患者が購入)である。

1) 治療用特殊ミルクの提供体制の外国との比較

欧州ではPKUの頻度が高く、また治療の歴史も長い。表5に示すように治療用特殊ミルクの提供体制が整備されている。多くの国で年齢にかかわらず公費負担、または償還のところが多く、また障害者雇用、障害者税控除なども進んでいる。

表4. わが国の特殊ミルクの種類と費用負担

	医薬品目 (薬価収載品)	登録品目	登録外品目	市販品目の 4種類
分類	医療用医薬品(医師の処方箋が必要)	特殊ミルク共同安全開発委員会により、検討された品目	乳業会社の負担により開発	乳業会社により販売
費用	健康保険適用。 小児慢性特定疾患治療研究事業により医療費の一部を公費負担(20歳未満)	公費、乳業会社負担により無料(20歳未満)	乳業会社の負担により無料	有料
入手方法	医師の処方により薬局で入手	医師が特殊ミルク事務局宛てに申請	医師が特殊ミルク事務局宛てに申請	乳牛会社に問い合わせ
適応条件	適応疾患	先天性代謝異常症	(原則として)先天性代謝異常症	適応疾患に使用
品目の例 (対象疾患)	PKU、MSUD	ガラクトース血症、アミノ酸血症、有機酸血症、GLUT-1欠損症	電解質代謝異常(心、腎、副腎)、ケトンフォーミュラ	乳糖不耐症、アレルギー、MCTミルク

表 5 . 欧州のフェニルケトン尿症に対する公費負担

	低タンパク質	PKUミルク
英国	完全償還	障害者手当
ドイツ	特別なケースに限って完全償還	障害者税控除
イタリア	完全償還	障害者認定（優遇雇用）
オランダ	公的負担なし完全償還	特になし
日本	登録ミルク（公費とメーカーで俯瞰）	保険適用+小児慢性公費負担（20歳まで）

2) 治療用特殊ミルクの問題点

(1)法規上の課題：「特殊ミルク」が「食品衛生法」に準じて供給されるが、「病用」や「医師の指示のもとに・・・」などの表示は問題があると考えられる。今後は病名を含む表示を中心に見直していくことが望ましい。

(2)組成上の課題：従来欠乏が懸念されていた「ピオチン」の使用基準が2014年6月改正され、添加可能となり、順次添加することとなった。しかし、使用基準改正は「調製粉乳および母乳代替食品」についてのみであり、品目によっては添加できない可能性がある。また、セレンやヨウ素など未解決の微量成分も課題が残っている。

(3)改良・新規開発上の課題：TMSスクリーニングの開始とともに、特殊ミルクの改良・新規開

発が望まれている。しかし、研究開発に人的・経済的負担が大きいことが問題となる。

(4)ミルク品目の統合：稀少疾患のため出荷量も少ないので、効率的な供給を目的として、表6に示すように、同種品を統合して登録品25種類を22種類に減らした（表6）。

(5)危機管理：災害や突発的事故への対応を目的として各社ミルクの在庫を2ヶ月以上に積み上げることにした。異物混入などの対応について対応フロー案を作成した。

(6)供給対象年齢の課題：特殊ミルクの対象年齢は、これまでのところ20歳未満に限られている。行政担当部署の枠組みを超えた取り組みが必要である。

表 6. 特殊ミルクの統合

特殊ミルク	統合前のミルク	統合後
乳糖除去粉乳	「MC-2」	110
メチルマロン酸血症 プロピオン酸血症	S-10	S-22
低リン粉乳	720	MM-5
種類数（登録ミルク）	（25種類）	（22種類）

D. 考察

今年度から全国的にTMSスクリーニングが開始された。これによって対象疾患が著しく拡大する。

新技術導入が、小児の障害予防福祉向上に貢献するためには、適切な体制を構築して進めてゆく必要がある。本研究班では、稀少疾患に対するコンサルテーション体制、患者登録コホート体制

の確立、スクリーニング精度向上のための診断指標の開発及び2次検査法の確立、TMSスクリーニングのための精度管理体制の確立、次世代のNBSの在り方、およびNBS拡大に伴う治療用特殊ミルクの安定供給体制について研究した。

患者コホート体制は、小児科医のみならず検査機関、自治体、産科機関などからもアクセスされるようになって機能してきたと思われる。全国的に認知されてないところもあるので広報活動も必要である。さらに各地区の連携体制と中央コンサルセンターが連携して事業の質を上げることを目的として、自治体、医療機関、検査機関を対象として「タンデムマス通信」を定期的に刊行し始めた。

患者登録コホート体制は、患者の個人情報の取り扱いに注意を要するため倫理委員会で十分な審議と指導を受けて、実質的に2014年11月から作業を開始した。匿名化して個人情報を扱うが、稀少疾患の治療法開発向上、事業評価、および稀少疾患の情報のフィードバックなど社会的貢献と患者家族の利益がはるかに大きいと判断して、患者の同意は省略した疫学研究とした。今年度患者コホート参加自治体は47都道府県中41で新生児数は80%余りであるが、来年度以降は悉皆性(100%)のある研究としたい。

TMS対象疾患の中には、特に脂肪酸代謝異常症で、安定している時は正常と変わらないが感染などを契機に急性発症して後遺症を残したり突然死する症例が知られている。急性発症した症例を収集したところ、私信の範囲であったが5例収集したところ、5例ともにCPT2欠損症であった。従来の診断指標では見逃しや偽陽性例が多かったために2次対象疾患に入っているが、是非1次疾患に格上げしてCPT2欠損症による障害予防をはかるべきである。本研究によって新しく制度の良い診断指標が開発された。さらに確定診断のために次世代シーケンサを応用した「新生児代謝異常マススクリーニング疾患パネル」が提言された(50種類の遺伝子)。解析にかかる経費も年々下がっており、応用が期待される。

TMSが導入されて新しい精度管理体制も確立した。精度管理は一度で合格というものではないので検査の質を向上させるためには、定期的・継続的に行い、必要に応じて相談、指導を行う体制が望ましい。さらに精度管理のデータは自治体にもフィードバックし、検査機関相互の情報交換のできる体制、継続的な研修体制も必要である。

小児疾患領域では予防医学が重要である。TMSスクリーニングが開始されたが、さらに次世代のNBSの在り方を研究する必要がある。例えば、血液ろ紙から抽出したDNAを用いて免疫不全症のスクリーニングが行われている。またリソソーム病の一部がNBSされている国、地域もある。さらにNGSという画期的な機器が著しい勢いで医学の各分野に普及しつつある。NBS領域でも従来の方法ではスクリーニングできない疾患で発症前診断の重要な疾患、例えば、ウィルソン病、QT延長症候群(突然死の危険)などへの応用も考えてよい。

代謝異常症の治療には特殊ミルクが不可欠な疾患がある。これまでわが国では、特殊ミルクの供給は乳業メーカーのボランティアに頼るところが大きかった。対象疾患が増え、患者も成人になり始め必要量が増え、成人後の医療費支援の体制が不完全なままであった。早急に安定供給体制を検討すべきであり、そのためには、特殊ミルクの種類を整理したり、無駄遣いをしないようなフォローアップ体制、或いは特殊ミルクの効果をエビデンスとして出す必要がある。これまで特殊ミルクを供給した後のフォローアップが最近10年以上行われていなかった。さらに特殊ミルクのための資金や家族の負担等について諸外国の状況も調査する必要がある。

E. 結論

TMSスクリーニングが今年度から全国に導入された。本研究班は、「NBSが国民の福祉向上に役立っているのか、国民の福祉により効率よく貢献するためには何が必要か」をテーマとしている。この目的で本研究班では、以下の成果があった。

稀少疾患に対するコンサルテーション体制を構築した。患者登録コホート体制の確立を目指しているが1年目の現時点では参加自治体は41/47都道府県(87%)の参加率である。次年度は100%をめざし悉皆性のあるコホート体制を作る。突然死する乳児が多いCPT2欠損症の診断指標を開発した。是非1次疾患にして障害発生防止の目的を達成すべきである。TMSスクリーニングのための精度管理体制の確立を目指し、PT検体、QC検体を作成して全国の検査機関を対象に動き始めた。さらに内部精度管理体制も構築中である。

次世代のNBSの在り方として遺伝子検査、次世代シーケンサ導入も考慮すべき時期に来ている。

NBS拡大に伴う治療用特殊ミルクの安定供給体制の確立を目指して、諸外国の状況、わが国の状況を調査した。

F．健康危険情報

特になし

G．研究発表

分担研究報告書に記載

H．知的財産権の出願・登録状況

1．特許取得

特になし

2．実用新案登録

特になし

3．その他

なし

分担研究課題

マスキングのコホート・コンサルテーション体制に関する研究

研究分担者 山口清次 (島根大学医学部 教授)

研究要旨

わが国では 2014 年度から全国にタンデムマス法を導入した新生児マスキング (TMS スクリーニング) が開始された。これにより対象疾患が拡大するが、これを機に新生児マスキング (NBS) が国民の福祉に貢献するためにいくつかの課題を検討する必要がある。そこで、患者登録・コホート体制構築と、稀少疾患コンサルテーション・センターの構築について研究した。以下の成果が得られた。

(1) コンサルテーション・センター : TMS スクリーニング対象疾患は稀少疾患であり、専門家は多くない。地域によってはこの領域の専門家がないところもある。実施母体の自治体関係者、産科・小児科医療機関、あるいは検査機関を対象とした相談窓口 TMS コンサルテーション・センター (TMS コンサルセンター : TMS 普及協会東京オフィス ; <TEL> 03-3376-2550) が、2014 年 4 月に設置された。コンサルセンター窓口で電話を受け、必要に応じて日本マスキング学会から推薦されたコンサル医師 11 名、コンサル技師 4 名を中心にしたネットワークにアクセスして回答する体制とした。開設約 9 カ月間に 77 件の相談があり対応したが、これまでのところ稀少疾患の窓口として一定の評価を受けた。

(2) コーディネート機能 : コンサルセンターでは相談窓口以外に、TMS 精度管理の結果報告、情報誌「タンデムマス通信」などを通じて、定期的に自治体等との連携をとる機能を果たした。しかし現時点でこのコンサルセンターが全国に十分に知られていないように思われる。

(3) TMS スクリーニングに関する全国各地のネットワーク体制の現状 : 比較的早期から TMS スクリーニングパイロット研究に参加し連携体制のできている地域を中心に現状を調査した。精査機関の偏りの問題、特定の産科施設等で偽陽性例の多発するところのあることなどがあげられた。地域内での連携体制、定期的な検討会や、研修参加が望ましい。

(4) 突然死を起こす症例の収集 : TMS スクリーニング対象疾患には、感染などを契機に急性脳症や突然死で発症する症例のあることが知られている。今年度 5 例を収集したが、5 例ともに CPT2 欠損症であった。CPT2 欠損症は、これまで見逃し例や偽陽性例が多すぎるために「2 次対象疾患」に位置付けられているが、1 次対象疾患にすべきである。

(5) 確定診断としての遺伝子解析の検討 : TMS スクリーニングで発見される疾患の確定診断、および genotype/phenotype 関連性を明らかにしてより適切な診療を行う必要がある。次世代シーケンサー (NGS) 応用した TMS スクリーニングに関連した遺伝子 (約 50 種類) のパネルが提案された。

(6) 患者コホート体制の構築 : 稀少疾患の治療法向上、多くの患者家族への情報のフィードバック、行政レベルからは事業評価、地域格差の是正、および NBS の貢献を社会にアピールするために、患者コホートが必須である。しかしこれまで個人情報保護の問題などによって不十分であった。個人情報の扱いに十分に配慮する体制をとりながら進める。

(7)発見された患者数：従来の厚労省のアンケートで上がってくる患者数と、本研究のアンケートによる患者数は必ずしも一致しないことが分かった。自治体や検査機関と医療機関との連携が不十分な面がある。患者コホートのないNBSは不完全と言わざるを得ない。

研究協力者

長尾雅悦(国立病院機構北海道医療センター・統括診療部長)

坂本 修(東北大学医学系研究科小児病態学・准教授)

窪田 満(埼玉県立小児医療センター総合診療科・副部長)

伊藤哲也(藤田保健衛生大学医学部小児科・教授)

但馬 剛(広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学・講師)

中村公俊(熊本大学大学院生命科学研究部小児科学分野・准教授)

高柳正樹(千葉県こども病院副院長)

小林弘典(島根大学医学部小児科・助教)

深尾敏幸(岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学・教授)

A．研究目的

2014年度から全国で新生児マススクリーニング(NBS)に従来のガスリー法に代わるタンデムマス(TMS)が導入された。これによって、従来ガスリー法で検査されていたアミノ酸血症3疾患を含む16疾患がタンデムマス法によって1回の検査でスクリーニングされることになった。新たに加わった対象疾患は、尿素回路異常症2疾患、有機酸血症7疾患、および脂肪酸代謝異常症(酸化異常症)4疾患で、計16疾患となった。しかしガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症(CH)、および先天性副腎過形成症(CAH)の3疾患は従来の方法で行われる。

タンデムマス法によるスクリーニング(TMSスクリーニング)で発見される疾患は、種類が多い

にもかかわらず稀少疾患のために、一般小児科医にとってなじみのない疾患も多い。またこれらの稀少疾患の専門家も全国的に限られている。専門家が近くにいなくて戸惑うという不安を持つ自治体もある。そこで、新しいTMSスクリーニングに関連した相談を受け付ける窓口を設けて、必要に応じて専門家につなぐためのコンサルテーションセンター(以下コンサル・センター)が設置された。このセンターが効率的に貢献することを目的として、各地区の実態と課題の調査、この1年間に寄せられた相談内容、および対応の体制と内容を検討した。

さらに、TMSスクリーニングで発見された患者について、匿名化された形の患者登録、コホート体制の構築を検討した。

B．研究方法

1)各地区のタンデムマス・スクリーニング実施状況と課題の調査

北海道地区、東北地区、関東地区、愛知県、広島県、九州地区の状況を調査した。

2)急性発症した脂肪酸代謝異常症の症例の検討
TMSスクリーニング対象疾患には、ふだん安定しているときは無症状で過ごしているが、感染などのストレスを契機に急性発症して、突然死したり後遺症を残すことがあるといわれている。実態を明らかにするために症例を収集した。

3)TMSコンサルテーション・センターの効率化の検討

2014年度から開設されたコンサルテーション・センター(コンサル・センター)の活動状況と課題について検討した。コンサル・センターはNPO法人タンデムマス・スクリーニング普及協会(TMS普及協会)に自治体から委託を受けて東京

(TMS 普及協会東京オフィス) に開設された (03-3376-2550) TMS コンサルセンターでは、全国からの TMS 関連の相談事業、TMS 精度管理業務の委託 (成育医療センター研究所マススクリーニング研究室、MS 研) および情報誌 (タンデムマス通信) の発刊 (年 2 回) である。

コンサルタントは、TMS 対象疾患の確定診断の

ための特殊検査を提供している施設 (図 1) を中心に、日本マススクリーニング学会から推薦された医師 11 名、と検査技師 4 名とした。受け付ける対象は、行政スタッフ、医療機関、および検査施設とし、患者家族や一般市民からの相談に関しては、地域の医療機関や行政部署を介して質問していただく方針とし原則としては対象外とした。

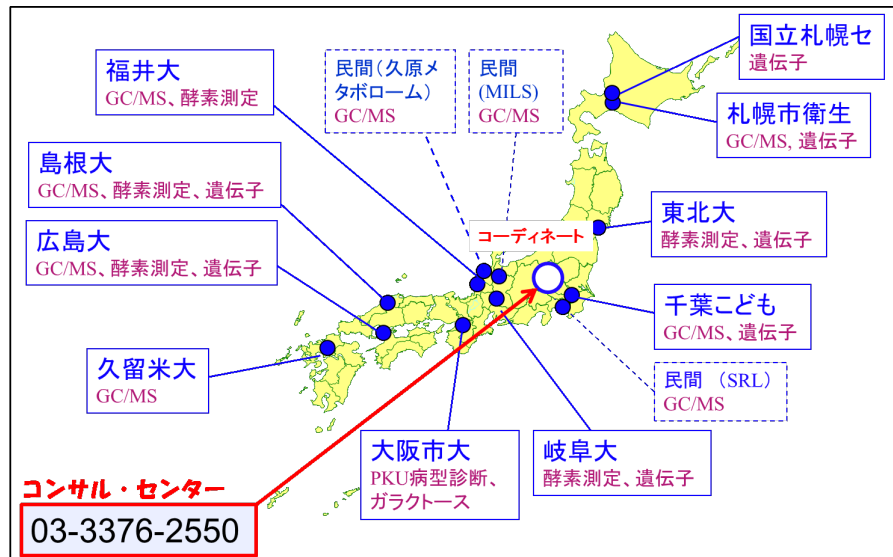


図 1. コンサルテーションセンターと特殊検査提供施設

4) 確定診断体制の検討

TMS スクリーニングで異常値が発見された場合、確定診断のために、アミノ酸分析、有機酸分析、あるいは酵素活性測定などが行われる。確定診断は生涯にわたる問題なので、遺伝子診断による確認が必要なことも少なくない。次世代シーケンサ (NGS) が普及しつつある。NGS を組み込んだスクリーニング体制の在り方について検討した。

5) 患者登録・コホート体制の構築

従来新生児マススクリーニング (NBS) の結果は、実施母体である自治体から厚労省 (母子保健課) に年 1 回疾患名と患者数が報告され、恩賜財団母子愛育会から発刊される「特殊ミルク情報」等に公表されていた。本研究で、患者個人情報は匿名化した形で、TMS スクリーニング関連の患者に絞って、自治体の NBS 担当部署を対象に 疾患名、患者の生年月日と性別、診断した医療機関名をアンケート調査した。

さらに次の段階の 2 次調査として、診断した医療機関を対象に、疾患名と病型 (特殊な病型の場合)、出生体重、確定診断の方法、診断時の患者の状況 (症状の有無)、治療方針、その他の事項 (特別な検査値や症状、家族歴など) を調査する。さらに TMS スクリーニングの検査精度向上を目的として、必要に応じて TMS スクリーニング測定値等についても調査する。さらに 2 年目以降には、診療している医療機関を対象に年 1 回、患者の発達状況、治療効果、生活上の課題等についてアンケート調査する。

(倫理面への配慮)

患者コホート研究については、島根大学医の倫理委員会で承認されたものである (第 1622 号)、データ管理は当面島根大学 (研究分担者の所属機関) でオフラインのパソコンに情報を蓄積する。調査する患者情報は連結可能匿名化として、事務局では個人名を取り扱わない。

C. 研究結果

1) 各地区のタンデムマス・スクリーニング実施状況と課題の調査

TMS スクリーニングはパイロット研究を経て、

2014 年度から全国で開始された。地域によって先駆的にパイロット研究から公的事業として始まっていた。厚生労働省研究班の始まった 2004 年以降に TMS スクリーニングを受けた新生児の割合の年次変化を図 2 に示している。

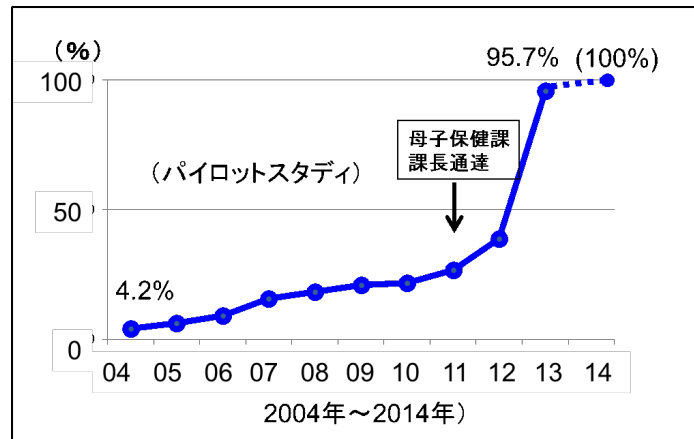


図 2 . TMS スクリーニング受験率の年次変化
出生数に対するスクリーニングを受けた割合

比較的早期からパイロット研究に参加した地域、北海道地区、東北地区、関東地区、愛知県、広島県、九州地区を中心に、TMS スクリーニングの状況を調査した。その結果を参考資料(別表 1)にサマライズしている。

(1)北海道地区

TMS 機器は札幌市と、北海道に設置されている。札幌市は最も早くから TMS スクリーニングに参加した自治体であり、札幌市のみならず北海道も全般的にノウハウが確立している。北海道の場合、地理的な要因から精査機関が広域に分散せざるを得ないが、メール等での連携体制が構築されつつある。

(2)東北地区

TMS 機器は岩手県、宮城県、福島県に設置されている。検査は、青森県、宮城県、山形県が宮城県の検査機関に委託し、岩手県と秋田県が岩手県の検査機関、福島県は単独で検査機関を持っている。そして精査、コンサルテーションは青森県、宮城県、山

形県、福島県が東北大学病院に委託し、岩手県、秋田県はそれぞれの自治体で対応する体制を取っている。精査機関の偏りがある。

(3)関東地区

最も人口が多い地域であるが、栃木県、茨城県、群馬県、埼玉県、東京都、神奈川県行政職、検査技師、医師らが一堂に集まって、第 1 回関東タンデムマス・スクリーニング・フォーラムを開催した。このフォーラムで、各自治体の状況と課題が出された。主な課題として以下のような事柄があげられた。

特定の医療機関に多発する偽陽性例：ある特定の産科医療機関でピボキシル基含有抗菌薬が投与されているために、特定の偽陽性が出た。

カットオフ値設定の問題点：グルタル酸血症 型疑い症例 (C5-DC) が多発し、カットオフを変更したところ、再採血率が

0.71 0.08%に減少した。

検査閾値の問題による高い偽陽性率：開始して検査件数が少ないために意識的に閾値を下げた結果、全身性カルニチン欠乏症疑い(C0 低値例)、グルタル酸血症 型疑い(C5-DC 高値例)の例が多い自治体があった。

その他：Leu+Ile の上昇例や、C3 上昇例が比較的が多い地域があった。この要因について検討する必要がある。

(4)愛知県

陽性者が愛知医大に集中する体制ができつつあり、地域の連携体制が全体として構築されつつある。患者登録等の活動に関して、個人情報の問題に慎重になるあまり、自治体と医療機関、検査機関の間でまだ十分なコンセンサスが取れていない。今後の課題である。

(5)広島県

パイロット研究に早期から参加して体制づくりに努められおり、陽性者は広島大学に集中する体制ができている。脂肪酸代謝異常の診断指標の高い症例が特定の産科機関に集中する傾向があった。厳格な母乳主義をとっており、哺乳の確立が遅延した新生

児では異化が亢進したものと思われる。

(6)九州・沖縄地区

熊本県は早期からパイロット研究に参加してきたために、コンサルテーション体制が構築されている。他県も含めた九州先天代謝異常フォーラムを立ち上げ、定期的開催することにより体制の構築が進んでいる。

2) 急性発症した脂肪酸代謝異常症の症例の検討

TMS スクリーニング対象疾患の自然歴を検討するために、乳幼児期に急性発症した症例を収集した。内訳は千葉県3例と西日本の症例2例である。5症例ともにCPT2 欠損症であった。表1に示すように、発症年齢は生後7か月~1才1か月で、発症の契機は発熱であった。

2例(症例1と2)はTMS スクリーニングで見漏れであった。症例2は初回に脂肪酸代謝異常症(TFP 欠損症)の疑いであったが、生後15日に行われた再検査で「異常なし」という判定でそれ以後フォローされなかった。症例3はTMS スクリーニングが始まっていたが、CPT2 欠損症は2次対象疾患のため、診断対象から除外されていた。症例4と5では、TMS 導入前の自治体で発生した事例であった。

表1. 乳児期に急性発症した脂肪酸代謝異常症症例

新生児 NBS	発症時期	初期症状	転帰	最終診断	備考
1)正常判定	7 か月	発熱 急性脳症	重症心身 障害児	CPT2 欠損症	NBS すり抜け症例
2)正常判定 (15dの再検)	8 か月	発熱	突然死	CPT2 欠損症	初回 TFP 欠損症疑い
3)精査せず	8 か月	発熱 意識障害	突然死	CPT2 欠損症	この自治体では、CPT2 欠損症は2次疾患のため精査対象から除外
4)開始前	9 か月	発熱、下痢、 意識障害	突然死	CPT2 欠損症	タンデムマス導入前
5)開始前	1 歳 1 か月	発熱 意識障害	突然死	CPT2 欠損症	タンデムマス導入前

NBS：新生児マススクリーニング、CPT2：カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ、TFP：ミトコンドリア三頭酵素。(研究協力者、高柳のデータ)

3) TMS コンサルテーション・センターの効率化の検討

2014年4月から12月の期間に相談が来たのは表2に示すように77件であった。情報誌「タンデムマス通信」を2回発刊した(10月と3月)。タンデムマス通信の内容は、厚労省、学会関係者、検査機関、および患者会から投稿を受けた。このほか、TMS検査の精度管理(PT検査年間3回、QC試験年間1回)の結果を自治体と検査機関に逐次報告した。

表2. コンサルセンターにあった相談内容と件数
(2014年4月~12月)

相談内容	件数
数値データの解釈	9
検査内容	14
分析依頼方法	12
診断・治療方針	8
検体採取法	4
再採血・再検査	7
検体搬送方法	3
検査費用	10
その他	8
計	77

4) 確定診断体制の検討

次世代シーケンサ(NGS)を導入した遺伝子診断体制が提言された。NGSエクソーム解析によってTMSスクリーニングの1次対象疾患のみならず

2次対象疾患やガラクトース血症などを含めて52遺伝子のパネル(表3)を作成すれば疾患遺伝子がカバーされると推定された。

表3. 新生児マススクリーニング対象疾患遺伝子パネルの提言(50種類)

GALT, GALK, GALE, PCCA, PCCB, MUT, MMAA, MMAB, MMACHC, MMACHD, LMBRD1, ABCD4, HCFC1, IVD, MCCA, MCCB, HMGCL, HLCS, BD, SLC5A6, GCDH, ACADVL, ACADM, HADHA, HADHB, CPT1A, SLC25A20, CPT2, OCTN2, ETFA, ETFB, ETFDH, SLC25A13, ACAT1, HSD17B10, PAH, GCH1, PTS, SPR, QDPR, PCBD1, BCKDHA, BCKDHB, DBT, DLD, CBS, MTR, MTRR, MTHFR, MAT1A, ASL, ASS1

5) 患者登録・コホート体制の構築

従来、NBSの結果は、実施母体である自治体から厚生労働省(母子保健課)に年1回疾患名と患者数が報告されていた。本研究では、自治体と診断した医療機関を対象に図3のような悉皆性のある調査を進める体制を作った。患者の個人情報は「連結可能匿名化」とし、また発見された患者の同意は必要としない疫学研究として、島根大学医の倫理委員会で承認された。調査用紙を参考資料

(別表2)に示している。すなわち、自治体用(別表2A)、医療機関初回用(別表2B)、医療機関2年目以降用(別表2C)である。

インフォームドコンセント(IC)の簡略化、または免除できる疫学研究として以下の点をクリヤーした(文部科学省・厚生労働省「疫学に関する倫理指針」平成14年6月、平成25年4月改正)。

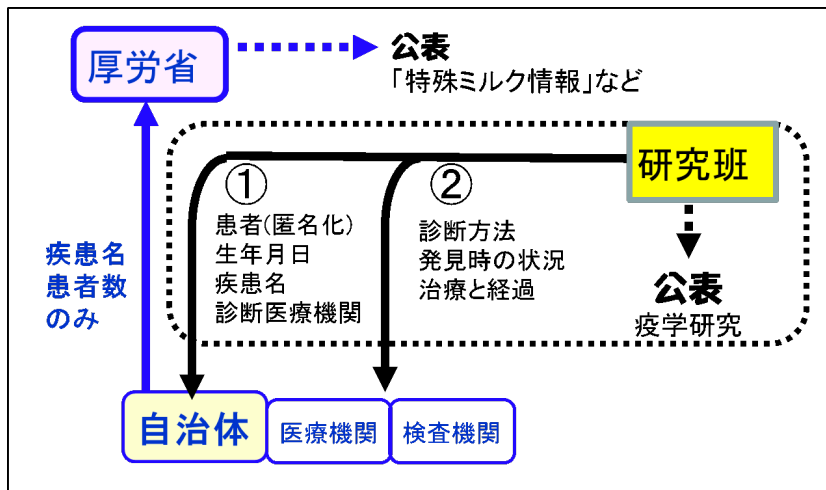


図3. 患者登録・コホート体制構築の試験研究

点線で囲んだ部分が研究班で進めている作業。 は自治体を対象とした1次調査、 は診断した医療機関等を対象とした2次調査。調査項目は悉皆性を優先して最小限度としている。(別表2参照)

表4. 疫学指針と本研究(患者コホート)の手続き

倫理指針にある細則	本研究
研究対象者に対して最小限の危険を超える危険を含まないこと	既存の資料を用いる観察研究 研究対象者に新たな侵襲はない
研究対象者の不利益とならないこと	基本的にならない(倫理委員会の判断) 匿名化したデータをあつかう扱う
当該方法によらなければ、實際上、当該疫学研究を実施できず、又は当該疫学研究の価値を著しく損ねること	悉皆性が重要な研究である
研究対象者が含まれる集団に対し、資料の収集・利用の目的及び内容を、その方法も含めて広報すること	報告書、ホームページ等で公表 ・当該研究の意義、目的、方法 ・研究機関名 ・問い合わせ、苦情等の連絡先情報
当該疫学研究が社会的に重要性が高いと認められるものであること	稀少疾患の治療法向上に重要 患者家族にとってより多くの情報が必須 事業評価としても不可欠

6) 2013年度分患者登録状況

(1) 患者登録調査進行状況

研究班の患者登録の調査は、倫理委員会の承認を得た後、2014年11月下旬より開始した。2014

年12月時点でこの調査に参加している自治体は、図4に示すように47都道府県のうち41である。

(2) 診断された患者数

2014年12月時点で、自治体を対象とした調査

と、厚労省経由で母子愛育会発行の「特殊ミルク情報」(2013年度)の患者数を表4に示している。2013年度はTMSスクリーニングが全自治体で行わ

れていなかったため、一部はガスリー法で発見された患者数も含まれている。

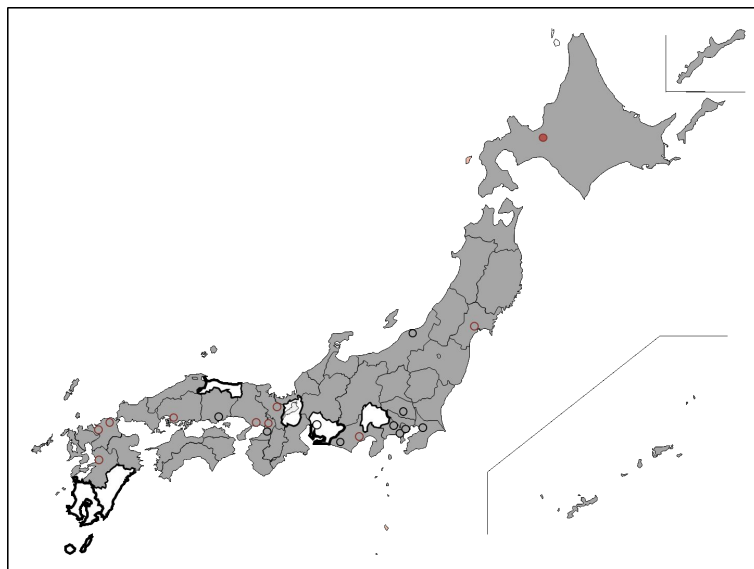


図4. 患者登録・コホート研究に参加している自治体
2014年12月時点で47都道府県のうち42が参加。

表4. 2013年度TMSスクリーニング対象疾患の発見数(自治体レベルの数字)

疾患名 (1次対象疾患のみ)	平成25年度				1997-2012
	「特殊ミルク情報」で公表		本研究(約80万人)		パイロットの結果
	人	頻度(1:)	人	頻度(1:)	頻度(1:)
PKU	25*	44 K*	20	40 K	1: 53 K
メープルシロップ尿症	3*	364 K*	1	800 K	1: 1,950 K
ホモシスチン尿症	4*	273 K*	3	267 K	1: 650 K
シトルリン血症 I 型	2	493 K	1	800 K	1: 330 K
アルギニノコハク酸尿症	1	986 K	1	800 K	1: 980 K
メチルマロン酸血症	6	164 K	1	800 K	1:110K
プロピオン酸血症	15	66 K	12	67 K	1:45 K
イソ吉草酸血症	1	986 K	2	400 K	1:650 K
MCC欠損症	3	323 K	1	800 K	1:150 K
HMGL欠損症	0	—	0	—	—
MCD	0	—	0	—	1:650 K
グルタル酸血症 I 型	3	323 K	3	267 K	1:280 K
MCAD欠損症	4	247 K	2	400 K	1: 390 K
VLCAD欠損症	9	110 K	8	100 K	1: 160 K
TFP欠損症	1	986 K	1	800 K	1: 110 K
CPT1欠損症	1	986 K	2	400 K	1: 980 K
患者数	78		49		217/195万

*印は、ガスリー法による発見例も含んだ数字である

D. 考察

わが国では 2014 年度から全国自治体で行われる新生児マススクリーニング (NBS) にタンデムマス法が導入された。これにより対象疾患が拡大し、障害予防の恩恵を受ける小児の数も増える。わが国の NBS が始まって 37 年が経過しているが大きな変更である。本研究において、TMS スクリーニング導入に伴う 稀少疾患のコンサルテーション体制と、患者登録・コホート体制の構築に関する研究を行った。

1) コンサルテーションセンター :

TMS スクリーニング対象疾患は非常に稀少疾患であり、専門家は多くない。地域によってはこの領域の専門家がいなくてところもある。また実施母体の自治体関係者、産科小児科医療機関、あるいは検査機関を対象とした TMS コンサルテーション・センター (TMS コンサルセンター) が、2014 年 4 月に設置された。NPO 法人タンデムマス・スクリーニング普及協会 TMS コンサルセンター (TEL : 03-3376-2550) である。TMS コンサルセンターの機能向上を目指して、開設初年度である 2014 年度の現状を調査した。

TMS コンサルセンターのコンサルタントとしては、これまで確定診断のために特殊検査を提供してきた施設を中心に医師 11 名、技師 4 名を日本マススクリーニング学会から指名を受けた。開設約 9 カ月間に 77 件の相談があり対応した。この他にも NBS に関わる問題について相談窓口として機能した。しかし、このコンサルセンターのことが現在でも全国に十分に知られていないように思われる。情報誌を年 2 回発行して自治体、検査機関、医療機関などとの連携を進めている。

TMS スクリーニングに関する全国各地のネットワーク体制の現状を調査した。比較的早期から TMS スクリーニングパイロット研究に参加していた地域であり、比較的連携体制のできている地域である。主な課題として以下のような点があげられた。精査機関の広域化、偏りの問題があるが、

E メール等による連携、定期的な検討会や、研修参加が望ましい。さらに特定の医療機関 (特に産科機関) に偽陽性の集中するところがある。この理由は、厳格な母乳主義をとっているために新生児の異化が亢進していると思われる症例があった。さらに特定の抗菌薬をルチンに投与しているために TMS スクリーニングで偽陽性を示すこともある。技術的な問題として、カットオフ値の設定が不適切なために偽陽性が増えた事例もあった。継続的な研修会等でこれらの事実を周知する必要がある。

2) 突然死を起こす症例の収集 :

TMS スクリーニング対象疾患には、ふだんは正常と変わらぬ生活をしていながら、感染などを契機に急性発症することが知られている。今年度 5 例を収集したが、5 例ともに CPT2 欠損症であった。CPT2 欠損症は、これまで見逃し例や偽陽性例が多すぎるために「2 次対象疾患」に位置付けられているが、高精度な診断指標を検討して一刻も早く 1 次対象疾患にして全国でルチンにスクリーニングすべきである。

3) 確定診断としての遺伝子解析の検討 :

TMS スクリーニングで発見される疾患の重症度はばらつきが大きい。多くの場合遺伝子型 (genotype) によることが多い。アミノ酸分析、有機酸分析、酵素診断等の手法で確定診断されることが多いが、紛らわしい場合にはその子の生涯に関わる問題であるので、遺伝子診断が重要なことも多い。さらに genotype を明らかにすることによって、その重症度や臨床的特徴と結びつけることができればテイラーメイドの診療に役立つ。

さらに最近の NGS の急速な進歩により、検査費用も安価になりつつある。従来のように対応する一つずつの遺伝子解析をするのではなく、TMS スクリーニングに関連した遺伝子 (約 50 種類) のパネルが提案された。今後積極的に検討すべき時期に来ている。

4) 患者コホート体制の構築 :

従来の NBS でおろそかになっていた点である。

主治医や自治体のレベルでは患者の個人情報
を保護する必要があるためである。しかし方、
新生児マススクリーニングにおける患者コホ
ートの意義として以下のことがあげられよう。
すなわち、 稀少疾患の治療法を向上するた
めには患者コホートが不可欠であること、
多くの患者家族は個人情報の問題よりも疾
患に関する新しい知見やコホートに関連す
る情報を欲していること、
行政レベルからは事業評価が必要なこと、
および NBS の貢献を社会にアピールするた
めには必須であること、などである。本研
究は、個人情報の扱いに十分に配慮する体
制をとりながら進める。

5) 発見された患者数：

従来の厚労省のアンケートで上がってくる
患者数と、本研究のアンケートによる患者
数は必ずしも一致しないことが分かった。
この要因として、医療現場では個人情報
保護を重視するあまり、自治体や検査機
関との情報交換が必ずしもうまくない
可能性がある。また NBS で陽性となっ
ても確定診断に至っていない症例も相
当数あるものと思われる。患者コホ
ートがなかったり、または不正確な患
者情報しか得られない NBS は不完全
と言わざるを得ない。

E . 結論

TMSスクリーニングが2014年度から全
国で始まった。これを機に NBS 体制を
立て直すために、患者登録・コホ
ート体制の構築と、稀少疾患の
コンサルテーション体制の構築に
関する研究を行った。初年度である
が、種々の課題が見えてきた。
新生児 NBS が地域格差なく広く
国民の福祉に貢献する事業とする
ために、患者コホート、コンサル
センター体制が、継続的に NBS
事業に組み込まれてゆくことが
重要である。

F . 健康危険情報

特になし

G . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Naiki M, Ochi N, Kato YS, Purevsuren J, Yamada K, Kimura R, Fukushi D, Hara S, Yamada Y, Kumagai T, Yamaguchi S, Wakamatsu N: Mutations in HADHB, which encodes the α -subunit of mitochondrial trifunctional protein, cause infantile onset hypoparathyroidism and peripheral polyneuropathy. *American Journal of Medical Genetics A* 164(5): 1180-1187, 2014 (May)
- 2) Yasuno T, Osafune K, Sakurai H, Asaka I, Tanaka A, Yamaguchi S, Yamada K, Hitomi H, Arai S, Kurose Y, Higaki Y, Sudo M, Ando S, Nakashima H, Saito T, Kaneoka H: Functional analysis of iPSC-derived myocytes from a patient with carnitine palmitoyltransferase β deficiency. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 448(2): 175-181, 2014 (May)
- 3) Tomatsu S, Shimada T, Mason RW, Montano AM, Kelly J, LaMarr WA, Kubaski F, Giugliani R, Guha A, Yasuda E, Mackenzie W, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii T: Establishment of Glycosaminoglycan Assays for Mucopolysaccharidoses . *Metabolites* 4(3): 655-679, 2014 (Aug)
- 4) Mine J, Taketani T, Yoshida K, Yokochi F, Kobayashi J, Maruyama K, Nanishi E, Ono M, Yokoyama A, Arai H, Tamaura S, Suzuki Y, Otsubo S, Hayashi T, Kimura M, Kishi K, Yamaguchi S: Clinical and genetic investigation of 17 Japanese patients with hyperekplexia. *Developmental Medicine & Child Neurology: Online*, 2014 (OCT)
- 5) Tomatsu S, Shimada T, Mason RW, Kelly J, LaMarr WA, Yasuda E, Shibata Y,

- Futatsumori H, Montano AM, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii T: Assay for glycosaminoglycans by tandem mass spectrometry and its applications. *Journal of Analytical Bioanalytical Techniques Special Issue 2: Online*, 2014 (February)
- 6) Shioya A, Takuma H, Yamaguchi S, Ishii A, Hiroki M, Fukuda T, Sugiee H, Shigematsu Y, Tamaoka A: Amelioration of acylcarnitine profile using bezafibrate and riboflavin in a case of adult-onset glutaric acidemia type 2 with novel mutations of the electron transfer flavoprotein dehydrogenase (ETFDH) gene. *Journal of The Neurological Sciences* 346(1-2): 350-352, 2014 (November)
- 7) Shimada T, Tomatsu S, Yasuda E, Mason RW, Mackenzie WG, Shibata Y, Kubaski F, Giugliani R, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii K, Orii T: Chondroitin 6-sulfate as a novel biomarker for mucopolysaccharidosis IVA and VII. *J Inher Metab Dis Rep* 16: 15-24, 2014
- 8) Shimada T, Tomatsu S, Mason RW, Yasuda E, Mackenzie WG, Hossain J, Shibata Y, Montañó AM, Kubaski F, Giugliani R, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii KE, Fukao T, Orii T: Di-sulfated keratan sulfate as a novel biomarker for mucopolysaccharidosis IVA. *J Inherit Metab Dis Reports*, inpress
- 9) Vatanavicharn N, Yamada K, Aoyama Y, Fukao T, Densupsoontorn N, Jirapinyoe P, Sathienkijkanchai A, Yamaguchi S, Wasant P: Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: two neonatal cases with common splicing mutation and in vitro bezafibrate response. *Brain and Development*, inpress
- 10) Sakai C, Yamaguchi S, Sasaki M, Miyamoto Y, Matsushima Y, Goto YI: ECHS1 mutations cause combined respiratory chain deficiency resulting in Leigh syndrome. *Human Mutation*, inpress
- 11) Kobayashi T, Minami S, Mitani A, Tanizaki Y, Booka M, Okutani T, Yamaguchi S, Ino K: Acute fatty liver of pregnancy associated with fetal mitochondrial trifunctional protein deficiency. *J Obstet Gynaecol Res*, in press (November)
- 12) 山口清次: タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの社会的意義と課題. *公衆衛生情報* 44(3): 5-8, 2014 (6月)
- 13) 坊岡美奈, 比嘉明日美, 津野嘉伸, 熊谷健, 奥谷貴弘, 吉川徳茂, 城道久, 太田菜美, 八木重孝, 南佐和子, 井籠一彦, 山田健治, 山口清次: 胎児心不全で発症したミトコンドリア三頭酵素欠損症の1例. *日本周産期・新生児医学学会雑誌* 50(3): 1015-1021, 2014 (9月)
- 14) 山口清次: 新しい新生児マススクリーニング: 周産期医療スタッフの役割. *日本周産期・新生児医学学会雑誌* 50(4): 1213-1216, 2015 (1月)
- 15) 山本幹枝, 安井建一, 渡辺保裕, 古和久典, 山口清次, 中嶋健二: ホモシスチン尿症をともなったメチルマロン酸尿症の1例. *臨床神経学* 55(1): 23-28, 2015 (1月)
- 16) 山口清次: ミトコンドリア脂肪酸酸化異常症. 編: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.29 神経症候群(第2版) -その他の神経疾患を含めて- - 先天代謝異常 -, 日本臨床社, 大阪, p627-631, 2014 (6月, 883)
- 17) 山口清次: 有機酸代謝異常. 編: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.29 神経症候群(第2版) -その他の神経疾患を含めて- - 先天代謝異常 -, 日本臨床社, 大阪, p622-626, 2014 (6月, 883)
- 18) 山口清次: 有機酸・脂肪酸代謝異常症. 編: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ

No.31 神経症候群(第2版) -その他の神経疾患を含めて- - てんかん症候群 全般てんかんおよび症候群 症候性特異症候群 先天代謝異常 -, 日本臨床社, 大阪, p205-211, 2014 (12月)

2. 学会発表

- 1) Yamaguchi S: Organic Acidaemias and emergency treatments. 1st Asia Pacific Inborn Errors of Metabolism Course 講演. Tokyo, January 2014
- 2) Yamaguchi S: Pediatric emergency and inborn metabolic disease. Seminar: Updates on Inborn Errors of Metabolism セミナー. Kubang Kerian Kelantan, Malaysia, April 2014
- 3) Yamaguchi S: Current topics in mass screening and collaboration studies with Asian countries. Seminar: Updates on Inborn Errors of Metabolism セミナー. Kubang Kerian Kelantan, Malaysia, April 2014
- 4) Yamaguchi S: Expanded newborn screening for inborn metabolic disease using tandem mass spectrometry (MS/MS) in Japan, and its beneficial effects. Pediatric Academic Societies and Asian Society For Pediatric Research Joint Meeting. Vancouver, Canada, May 2014
- 5) Yamaguchi S, Liu L, Furui M, Yamada K, Taketani T, Shibata N, Kobayashi H, Hasegawa Y, Fukuda S: Improvement of fatty acid oxidation capacity of cells from fatty acid oxidation defects at low temperature: evaluation by in vitro probe assay. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. Innsbruck, Austria, September 2014
- 6) Vatanavicharn N, Taketani T, Nabangchang C, Yamaguchi S: Isolated sulfite oxidase deficiency: A rare metabolic disorder with neuroimaging mimicking perinatal asphyxia. 第56回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014
- 7) 長谷川有紀, 小林弘典, 山田健治, 高橋知男, 新井真理, 室谷浩二, 山口清次: 尿中有機酸分析によりトルエン中毒が疑われた5ヵ月男児例: 虐待の疑いのあるALTE症例. 第20回日本SIDS・乳幼児突然死予防学会. さいたま市, 2014年3月
- 8) 小林弘典, 山田健治, 高橋知男, 長谷川有紀, 山口清次: ピボキシル基を含む抗菌薬内服後の二次性カルニチン欠乏症22例の検討. 第117回日本小児科学会. 名古屋, 2014年4月
- 9) 山口清次: タンデムマス導入を機に整備すべき新生児マススクリーニング体制. 第41回日本マス・スクリーニング学会 セミナー. 広島, 2014年8月
- 10) 山田健治, 高橋知男, 小林弘典, 坊亮輔, 長谷川有紀, 山口清次: L-カルニチン内服によるアシルカルニチンプロファイルの変化. 第41回日本マス・スクリーニング学会. 広島, 2014年8月
- 11) 坊亮輔, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: 管理に難渋しているCPT-2欠損症の4ヵ月女児例. 第93回山陰小児科学会. 米子, 2014年9月
- 12) 小林弘典, 山田健治, 高橋知男, 坊亮輔, 長谷川有紀, 山口清次: 脂肪酸代謝異常症の診断におけるろ紙血および血清アシルカルニチンプロファイルの差異に関する検討. 第56回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014年11月
- 13) 長谷川有紀, 小林弘典, 山田健治, 坊亮輔, 高橋知男, 山口清次: GC/MSを用いた尿中有機酸分析によるアジア各国の有機酸血症の特徴. 第56回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014年11月

- 14) 高橋知男, 坊亮輔, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: 解熱剤の脂肪酸酸化に対する影響: サリチル酸、ジクロフェナクナトリウム、アセトアミノフェンの評価. 第 56 回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014 年 11 月
- 15) 深澤元晶, 臼田信光, 厚沢季美江, 古居みどり, 橋本隆, 山口清次: ラット初代培養線維芽細胞におけるミトコンドリア脂肪酸酸化系酵素の局在と酸化能の評価. 第 56 回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014 年 11 月
- 16) 山田憲一郎, 内木美紗子, 星野伸, 北浦靖之, 近藤雄介, 下澤伸行, 山口清次, 下村吉治, 三浦清邦, 若松延昭: HIBCH 欠損症の同定と変異タンパク質の生化学的解析. 第 56 回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014 年 11 月
- 17) 山田健治, 小林弘典, 坊亮輔, 高橋知男, 長谷川有紀, 山口清次: VLCAD 欠損症でどうして C14:1 が上昇するのか?. 第 56 回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014 年 11 月
- 18) 李知子, 鶴田悟, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次, 飯島一誠, 竹島泰弘: 黄疸を契機に診断に至った全身性カルニチン欠乏症の一例. 第 56 回日本先天代謝異常学会. 仙台, 2014 年 11 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

参考資料

別表1. 各地区のタンデムマス・スクリーニング実施状況

1) 北海道

スクリーニング件数 (または出生数)	精密検査数		確定診断数	
		計	9	5
北海道 23,544 札幌市 16,360	アミノ酸	4	3	PTPS 欠損症 (1) MAT 欠損症 (1) シトリン欠損症 (1)
	アシルカルニチン	5	2	カルニチン欠乏症 (1) VLCAD 欠損症 (1)
地域の課題	1. 精査機関が広域に分散している。メール等によるコンサルテーションネットワークができていない 2. シトリン欠損症の効率的な診断体制を検討した			

2) 東北地方

年間検査件数 (または出生数)	精密検査数		確定診断数 (約2年間、H25、H26)	
		計		8
宮城・青森・山形 36,000 岩手県 16,000 福島県 14,000	アミノ酸		4	高 Phe 血症 (1) シトルリン血症 型 (1) シトリン欠損症 (2)
	アシルカルニチン		4	軽症プロピオン酸血症 (2) グルタル酸血症 型 (1) CPT1 欠損症 (1)
地域の課題	1. タンデムマス導入は3台(岩手、宮城、福島) 2. 精査する医療機関が偏っている			

3) 関東地区

活動	1. 第1回関東タンデムマス・スクリーニング・フォーラム開催(東京都、神奈川県、埼玉県、さいたま市、千葉県、栃木県、茨城県、群馬県): 医師、検査技師、行政職が参加
地域の課題	1. ある特定の産科医療機関でピボキシル基含有抗菌薬が投与されているために、イソ吉草酸血症疑い(C5上昇)の症例が集中していた。 2. C5上昇例は、全体的にも多い傾向があった。ピボキシル基含有抗菌薬投与が関係していると思われるものがほとんどである。 3. グルタル酸血症 型疑い症例(C5-DC)が多発し、カットオフを変更したところ、再採血率が0.71→0.08%に減少した 4. 全身性カルニチン欠乏症疑い(C0低値例)、グルタル酸血症 型疑い(C5-DC高値例)の例が多い自治体があった。検査症例の数が少ない時点だったため、閾値を意識的に下げていた可能性がある。

	5. その他、メープルシロップ尿症疑い (Leu+Ile 上昇例)、プロピオン酸血症/メチルマロン酸血症疑い (C3 上昇例) などが比較的が多い地域があった。
--	--

4) 愛知県

スクリーニング件数 (または出生数)	精密検査数		確定診断数	
	計			疾患内訳 (症例数)
愛知県 43,930 名古屋 21,064	計	38	15	疾患内訳 (症例数)
	アミノ酸	17	11	古典的 PKU (1) 軽症高 Phe 血症 (7) 古典的 MSUD (1) シトリン欠損症 (2)
	アシルカルニチン	21	4	メチルマロン酸血症 (2) 軽症プロピオン酸血症 (1) CPT1 欠損症 (1)
地域の課題	1. 地域の連携体制が全体として構築されつつある。患者登録等の活動に、個人情報心配して参加していない医療機関があり、今後の課題である。			

5) 広島県

スクリーニング件数 (または出生数)	精密検査数		確定診断数	
	計			疾患内訳 (症例数)
広島県 46,003 (2年間)	計	61	6	疾患内訳 (症例数)
	アミノ酸	10	3	軽症高 Phe 血症 (3)
	アシルカルニチン	51	3	軽症プロピオン酸血症 (2) イソ吉草酸血症 (1)
地域の課題	1. アシルカルニチン異常値を示したケースが 16 例あったが、16 例中 11 例は同じ産科施設からの症例であった。厳格な母乳主義をとっているしせつであった。 2. C0 低下でカルニチンクリアランスの高い症例 (カルニチン欠乏症疑い) が 2 例あった。			

6) 九州・沖縄

スクリーニング件数 (または出生数)	精密検査数		確定診断数	
	計			疾患内訳 (症例数)
地域の課題	1. 九州先天代謝異常症診療ネットワーク構築 2. 全体 (福岡、佐賀、長崎、熊本、大分、宮崎、鹿児島) 全出生数 132,000			

参考資料

別表2. 患者登録・コホート研究調査用紙

A. 自治体用

様式 A

2013 年度

自治体記入用

(2013.4~2014.3)

タンデムマス・スクリーニング発見患者調査票

自治体名	担当部署	記入者名	記入年月日	スクリーニング検査機関名

患者 有 無

#	疾患名	患者生年月日	性	出生機関 (電話番号)	診断機関 (電話番号)	主治医
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						

参考資料

別表2. 患者登録・コホート研究調査用紙

B. 医療機関用（初回）

様式 B

医療機関記入用

タンデムマス・スクリーニング患者登録票(初回)

生年月日・性別	西暦 年 月 日 男・女
疾患名	
出生機関	
診断した病院 (精密検査機関)	
記入年月日	西暦 年 月 日 (記入時年齢 才 カ月)
確定診断名(病型)	
診断手技 確定診断となった手技にレ印 (複数回答可)	タンデムマス 尿中有機酸分析(GC/MS) 遺伝子解析 酵素活性測定 その他()
フォローアップ機関 (診断した病院と同じ場合は 記入不要)	電話番号 ()
主治医名(複数可)	
自由記載 その他特記すべき事。検査異常 所見、合併症、入院回数、問題 となっている事など	

* 太枠の中の項目を記載してください。

2014～2016年度厚労省「マススクリーニング研究班」調査用紙

(研究班記載欄)

ケース No. _____

参考資料

別表2. 患者登録・コホート研究調査用紙

C. 医療機関用（2年以降）

医療機関記入用

様式 C

タンデムマス 患者フォローアップ調査票（2年目以降）

生年月日・性別	西暦 年 月 日 男・女
出生機関	
診断した病院（精密検査機関）	
確定診断名	
フォローアップ機関名	主治医
転院・主治医の変更 当てはまるものにレ印	変更なし 主治医変更（新主治医名 _____ 複数可） 転院（転院先: _____ TEL: _____ 転院先主治医: _____）
記入年月日	西暦 年 月 日 （記入時年齢 才 カ月）
身体発育 当てはまるものにレ印	正常範囲 その他（やせ・低身長・肥満）該当に 印 （ ）cm、（ ）kg（ 年 月 日測定） 死亡（ 才 カ月時、死因： ）
発達状況 当てはまるものにレ印	正常範囲 境界域 発達遅滞（軽度・中等度・重度） 備考参照 未評価
治療状況 行っているものにレ印	特殊ミルク使用（種類 _____） L-カルニチン 薬物療法 （ _____ ） その他：
自由記載 特記すべきこと。合併症、入院 回数、主な異常検査データ、生活 上困っていることなど記入	

* 太枠の中の項目を記載してください。

（備考） 発達遅滞基準 軽度：ADLは自立、中等度：ADL一部介助、重度：ADL全介助

2014～2016年度厚労省「マスキング研究班」調査用紙

（研究班記載欄）

ケース No. _____

分担研究課題

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

研究分担者 山口清次 (島根大学医学部 教授)

北海道地区のネットワークと症例収集

研究要旨

札幌市での新生児のタンデムマス・スクリーニング (TMSスクリーニング) は2005年度より研究事業として開始され、2013年度より北海道全域での母子保健事業となった。2013年度は先天代謝異常症に関して、北海道で8例、札幌市で5例が精密検査の対象となった。その結果、1次対象疾患以外の疾患も遺伝子検査等により確定診断されるようになり、臨床的な有用性の高さが示唆された。特に2次対象疾患としてシトリン欠損症をスクリーニングしていく際のカットオフ値の設定の検討により、偽陽性を減らし精密検査へ確実に繋げて行く方法論を提案した。

研究協力者

長尾雅悦 (国立病院機構北海道医療センター・
統括診療部長)

A . 研究目的

タンデム質量分析計 (TMS) を用いた新生児スクリーニングは、札幌市では 2005 年度より研究事業として導入した。研究成果が良好であったことから 2010 年 8 月より従来からの対象疾患に加え新たに 20 疾患を追加した 23 疾患を母子保健事業として継続している。2013 年度は北海道全体でこのシステムの実施が可能となったので、その成果と 2 次対象疾患への展開について検討した。

B . 研究方法

タンデム質量分析法による検査方法は既報の通りである。対象疾患はアミノ酸代謝異常症 6 疾患、有機酸代謝異常症 9 疾患、脂肪酸代謝異常 8 疾患の他に、従来法によるガラクトース血症を含む。

C . 研究結果

1) 受検者数

札幌市の 2013 年度の新生児マス・スクリーニング (NBS) 検査数は 16,360 件、また北海道では 23,544 件であった。北海道全体で年間約 4 万件の検査を実施している。

2) 検査結果

(1) 北海道の再検査・精密検査

表 1 に再検査数および精密検査数の内訳をしめした。その他の代謝異常症での再検査数が最も多く、TMS 導入により対象疾患が増加したためである。TMS の再検査項目 (図 1) では C3、C3/C2 が 24% と最も多く次いで C8、C10、C10/C2 であった。C5 が抗生剤投与により偽陽性となることが採血医療機関へ啓蒙されており、頻度は少なかった。精密検査となった 8 症例の概要を表 2 にまとめた。フェニルアラニン高値はビオプテリン代謝異常症である PTPS 欠損症、C0 低値はカルニチントランスポーター欠損症、C14:1/C2 と C10/C2 の高値は VLCAD 欠損症、シトルリンとガラクトースの同時上昇はシトリン欠損症と診断された。

ガラクトース単独上昇で精査となった 2 例はい

ずれも門脈大循環シャントに起因することが臨床的に診断された。これらの症例の確定診断には遺伝子検査が有用であり、精査医療機関より北海道医療センター臨床研究部・遺伝子解析研究室へ検査依頼をされた。北海道は広域に精査医療機関が分散しているが、メール等を利用したコンサルテーションシステムが確立しており、診断から治療までそれぞれの地域で円滑に行われている。

(2) 札幌市の再検査・精密検査

アミノ酸代謝異常の初回陽性数は 19 例でありシトルリン上昇が 11 例と最も多いが、精密検査となった例はなかった。有機酸代謝異常症では 17 例が初回陽性となったが、10 例が C5 の上昇でありほとんどで抗生剤の使用が確認され偽陽性と判明した。脂肪酸代謝異常症では 14 例で再検査となったが、すべて正常判定となった。

精密検査症例の概要と結果を表 3 にまとめた。NBS 対象疾患として診断された症例はなかったが、ホモシチン尿症疑いのメチオニン高値で即精査となりメチオニンアデノシルトランスフェラーゼ欠損症と診断するにいたった 1 例を含む。またガラクトース高値の症例は門脈大循環シャントと臨床的に診断されている。このような副次的に発見されるマススクリーニング関連疾患の診断治療に寄与できるように、ハイリスク症例の化学診断や遺伝子検査体制を継続することが大切である。

(3) シトルリン血症およびシトルリン欠損症のスクリーニング指標の検討

上述のようにシトルリン血症のスクリーニングにおいてカットオフ値 $40 \mu\text{M}$ に設定すると偽陽性が非常に多い。一方、シトルリン欠損症では新生児期にシトルリンは正常域にある事が多く、生後 1 ヶ月以降に上昇して新生児胆汁うっ滞 (NICCD) として臨床症状を発現する。シトルリン欠損症は新生児に低アミノ酸血症の状態をしばしば認めるが、シトルリンは相対的に高値である。そこで $\text{Cit}/\text{AA} > 0.025$ を新たな指標として導入した (AA は TMS で測定した各アミノ酸濃度の総和)。そして初回シトルリン高値で精密検査となった

症例、再検査にて精密検査となった症例、偽陽性症例、さらに札幌市と北海道でマススクリーニングを受検し後にシトルリン欠損症と診断された症例の 4 群に分けて、初回シトルリン値を二次元にプロットした (図 2)。これにより要精密検査例を見逃す事なく偽陽性例を減らす事ができた。

D. 考察

2 次対象疾患としてシトルリン欠損症をどのようにスクリーニングしていくかの課題が浮き彫りになった。現在のカットオフの設定では NBS をすり抜けが生じるため、1 ヶ月健診での NBS データを再度見直して、相対的シトルリン上昇となっていないかの見直しが現実的かつ最も効果がある。1 ヶ月健診時に胆汁うっ滞所見、栄養不良所見があった児に対して、脂肪肝や一般血液異常がないかどうか、また便カラーカードによる胆道閉鎖マススクリーニングも利用し、シトルリン欠損症が否定できない場合にはハイリスクスクリーニングを行い、多種アミノ酸血症やガラクトース血症の有無をチェックして、シトルリン発見していく手段が考えられる。必要があれば遺伝子診断を躊躇せずに行い鑑別診断することが重要である。

E. 結論

1) 2013 年度は北海道で 8 例、札幌市で 5 例の精査対象症例があった。

2) 検査実施機関、精査医療機関、コンサルタント医 (専門医療機関) の密な連携により、適切な診断と治療が実施された。

3) シトルリン血症の指標に $\text{Cit}/\text{AA} > 0.025$ を追加し偽陽性を減らす事ができた。

4) シトルリン欠損症は生後 1 ヶ月の時点で NBS の結果を参照し診断につなげる事ができる。

表 1. 2013 年度 再検査・精密検査内訳（北海道）

検査項目	再検査数 (%)	精密検査数 (%)
フェニルケトン尿症	1 (0.1)	1 (2.6)
メープルシロップ尿症	13 (1.3)	0 (0.0)
ホモシスチン尿症	0 (0.0)	0 (0.0)
その他の代謝異常症	278 (27.6)	5 (12.8)
ガラクトース血症	59 (5.9)	2 (5.1)
クレチン症	435 (43.2)	30 (76.9)
副腎過形成症	220 (21.9)	1 (2.6)
合計	1006	39

表 2. 精密検査症例と結果（2013 年度、北海道）

	地域	陽性項目	確定診断法	最終診断名
4月	N	C8, C10/C2	遺伝子	MCADD (ヘテロ保因者)
7月	C	Phe	負荷試験、遺伝子	PTPS 欠損症
9月	E	C0	遺伝子	カルニチン欠乏症
10月	M	Gal	臨床検査、画像	シャント
1月	S	C14:1/C2, C10/C2	遺伝子	VLCADD
2月	T	Cit	臨床検査、遺伝子	一過性
2月	H	Gal	臨床検査、画像	シャント
3月	N	Cit, Gal (1M)	遺伝子	シトリン欠損症

表 3. 精密検査症例と結果 (2013 年度、札幌市)

	出生体重	疑い疾患名	初回検査値	再検査値	診断名 (結果)
4 月	1790g	ガラクトース血症	総Gal (3.3mg/dl)	総Gal (16.5mg/dl) Gal-1P (1.1mg/dl)	18トリソミー (肝不全)
6 月	1870g	メチルマロン酸・ プロピオン酸血症	C3/C2 (0.11)	C3/C2 (0.30, 0.29)	一過性
10月	2258g	ホモシスチン尿症	Met (139.4μM)	(即精査)	MAT欠損症 (R264Hヘテロ)
3 月	474g	マルチプルカルボキシラー ゼ欠損症、メチルクロトニ ルグリシン尿症、3-OH-3-メ チルグルタル酸尿症、メチ ルグルタコン尿症	C5-OH (0.1μM)	C5-OH (0.3, 1.0, 2.2)	異常なし (一過性ビオチ ン欠乏)
7 月		ガラクトース血症シトリン 欠損症 シトルリン血症	総Gal (7.3mg/dl)	Cit (41.2, 76.0) Met (61.9) 総Gal (28.2mg/dl)	シャント (ASD併存)

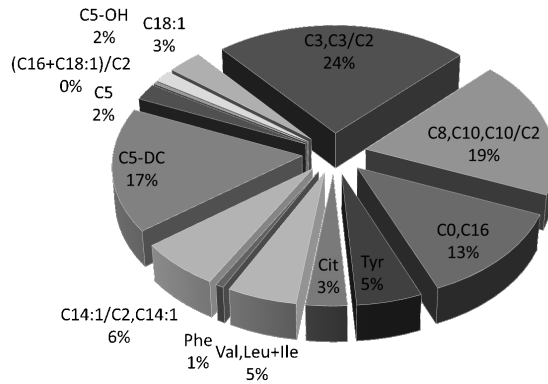


図 1. 2013 年度 タンデムマス再検査項目内訳 (北海道)

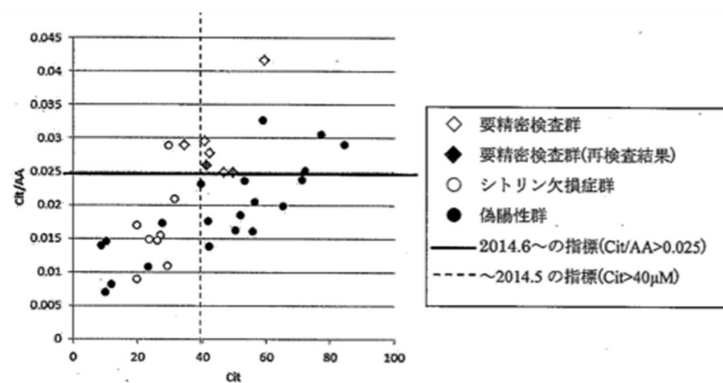


図 2. シトリン欠損症及びシトルリン血症の指標

2014 年度札幌市新生児マス・スクリーニング等連絡会議資料より抜粋

分担研究課題

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

研究分担者 山口清次 (島根大学医学部 教授)

東北地区のネットワークと症例収集

研究要旨

東北6県における新生児マススクリーニング (NBS) の実施・受注状況、連絡協議会設置状況を確認した。タンデムマスを含むNBS検査は岩手県、宮城県、福島県の3県の検査施設で実施され、秋田県は岩手に、青森県・山形県は宮城に依頼していた (福島は単独) 。連絡協議会が各県とも開催されており、先天代謝異常関係医師も参加していた。タンデムマス関連疾患の精査に関しては宮城県 (東北大学病院) が宮城県・仙台市・青森県・福島県の分を実施し、秋田、山形、岩手はそれぞれ自県で行われていた。

研究協力者

坂本 修 (東北大学医学系研究科小児病態学・
准教授)

クリーニング機関・関連医師への聞き取り調査を行った。

A . 研究目的

平成 23 年 3 月の厚生労働省母子保健課長通知「先天性代謝異常の新しい検査法 (タンデムマス法) について」以降、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) が広がった。東北地区でも平成 23 年 2 月から岩手県で開始され、今年度の山形県の参加で東北全域の新生児に拡大新生児マススクリーニング (NBS) を受けることが可能となった。

TMS スクリーニング検査の実施にあたっては「検査の効率的実施の観点から、検査対象人数とタンデムマス検査機器の処理能力を考慮して、各都道府県等間の連携・協力が行われることが望ましい」との留意事項の一つとしてあげられていた。

今回この点に関し、東北地区の NBS について検討した。

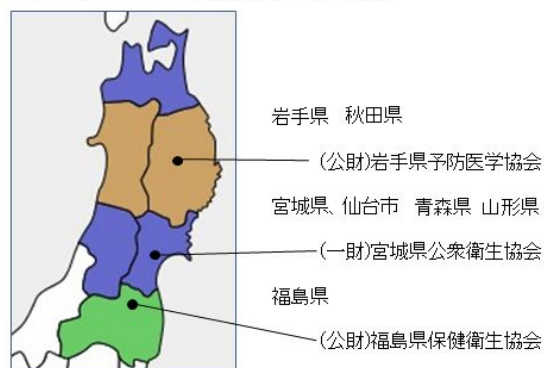
B . 研究方法

宮城県・仙台市・青森県・福島県の実施したス

C . 研究結果

NBS 検査は岩手県、宮城県、福島県の 3 県の検査施設 [それぞれ (公財) 岩手県予防医学協会、 (一財) 宮城県公衆衛生協会、 (公財) 福島県保健衛生協会] で実施され、秋田県は岩手県予防医学協会に、青森県・山形県は宮城県公衆衛生協会に依頼していた (福島は単独) 。

マススクリーニング実施機関と県の対応



平成 24 年の出生数を参考にすると岩手県予防医学協会では約 16,000 件、宮城県公衆衛生協会が約 36,000 件、福島県保健衛生協会が 14,000 件

を扱うこととなる。

連絡協議会は各県とも設置されており、すべてに先天代謝異常関係医師も参加していた。

精査機関が決まっているかにおいては、各県さまざまであった。従来スクリーニング疾患もタンデムマス関連疾患も自県で精査するところ(宮城県・仙台市、山形県、岩手県、秋田県)、従来スクリーニング疾患もタンデムマス関連疾患も他県で精査するところ(福島県)、従来スクリーニング疾患は自県で、タンデムマス関連疾患は他県で精査するところ(青森県)に分かれた。

特にタンデムマス関連疾患の精査に関しては東北大学病院が宮城県・仙台市、青森県、福島県(背景出生数約 42000)分を実施していた。以下に東北大学病院で精査したタンデムマス関連疾患のうちなんらかの診断名のついたもの(偽陽性以外)を列記する(H24年度は宮城県・仙台市のみ、H25年度からは福島県、青森県を含む)。

24年度	栄養性ビタミンB12欠乏	
	栄養性ビタミンB12欠乏	
	栄養性カルニチン欠乏	
	プロピオン酸血症(軽症)	
25年度	栄養性カルニチン欠乏	
	栄養性ビタミンB12欠乏	福島市・いわき市
	シトルリン欠損症	
	高フェニルアラニン血症	
	CPT欠損症	
26年度	シトルリン血症I型ヘテロ	青森県六ヶ所村
	プロピオン酸血症(最軽症)	青森県三沢市
	プロピオン酸血症(未発症遅発型)	福島市・福島市
	グルタル酸血症I型	
	高メチオニン血症	福島市・郡山市
	栄養性カルニチン欠乏	
	シトルリン血症I型ヘテロ?	
	シトルリン血症I型ヘテロ?	福島市・会津若松市
コバラミン代謝異常症	福島市・郡山市	
シトルリン欠損症	福島市・福島市	

二次対象疾患への対応は同一検査施設でも依頼自治体により対応が異なり、例として宮城県公衆衛生協会では宮城県・仙台市、青森県では二次対象疾患であっても検出できたものは「報告する(精査対象とする)」契約をしているが、山形県では二次対象疾患は検査しないという姿勢のもと「報告しない」契約となっている。

D. 考察

TMSスクリーニング試験研究時に、「東北地区で

はタンデムマスは2台が妥当」との試算がでていた。現時点では3施設の運用となっているものの、(各県での実施ではなく)連携・協力が行われるといえる。また、それを支える連絡協議会が各県で持たれていた。ただし精査施設が集中しているなど、ネットワーク化されているわけではなく、今後の課題と思われる。

E. 結論

東北6県においては、TMSスクリーニングの検査の実施は「検査対象人数とタンデムマス検査機器の処理能力を考慮して、各都道府県等間の連携・協力」のもとに行われており、県ごとの連絡協議会も設置させている。精査・フォローのネットワーク化は今後の課題である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Vatanavicharn N, Liammongkolkul S, Sakamoto O, et al.: Clinical characteristics and mutation analysis of propionic acidemia in Thailand. World Journal of Pediatrics 10:64-68, 2014
- 2) Kimura M, Wakayama Y, Sakamoto O, et al.: Successful treatment of cardiac failure due to cardiomyopathy in propionic acidemia by cardiac resynchronization therapy and hemodialysis in a young adult. Open Journal of Pediatrics. 4:79-83, 2014

2. 学会発表

- 1) 坂本修、市野井那津子、大浦敏博、呉繁夫: 新生児マス・スクリーニングで発見された未発症プロピオン酸血症 -最軽症例との比較 第56回先天代謝異常学会総会(仙台、2014年11月13-15日)

分担研究課題

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

研究分担者 山口清次 (島根大学医学部 教授)

関東地区の問題点とネットワークの構築

研究要旨

関東 1 都 6 県での新生児マススクリーニングの検査数は約 320,000 人/年であり、日本全体の約 1/3 を占める。その中で日本先天代謝異常学会の評議員がいるのは東京都、埼玉県、千葉県だけであるが、専門医がいればよいのかというと、それほど単純な問題ではない。関東 1 都 6 県でのタンデムマス・スクリーニングの普及に当たり、自治体毎に異なる問題点が明らかになってきた。それらの問題を解決する糸口とするために、第 1 回関東タンデムマス・スクリーニング・フォーラムを開催した。

研究協力者

窪田 満 (埼玉県立小児医療センター総合診療科・副部長)

A. 研究目的

関東のタンデムマス・スクリーニング (TMS スクリーニング) に関わるメンバー (医師、技師、行政職) が一同に集い、それぞれの状況を報告し、実際に悩んだ症例についての討論などを行う機会を設けることを目的とした。

B. 研究方法

2014 年 6 月 8 日 (日) 国立成育医療研究センター講堂にて、第 1 回関東タンデムマス・スクリーニング・フォーラムを開催した。
(倫理面への配慮)

個人情報に属するものは一切取り扱わず、症例はスクリーニング・データのみで検討した。

C. 研究結果

各自治体が、タンデムマス・スクリーニング開始後から昨年度末までの実績を報告し、問題点を提示した (図)。その結果、例えば、再採血率が高い理由 (神奈川県では新生児への抗菌薬の使用による C5 高値、群馬県ではカットオフ値の再検討を要する C5-DC 高値) などが明確になった。精査率が高いさいたま市は、検査対象人数が少ないので精査の閾値が下がる傾向にある可能性が示唆された。

ケースカンファレンスでは、再検か精検か迷った症例、行政対応に苦慮した症例、精査後の診断に迷った症例などに関して、出席者同士で意見を交換した。

D. 考察

新生児マススクリーニング検査センター、地域の相談医、行政機関の担当者が連絡協議会などを通じて密接な連携をとることが、本事業の成功の鍵になることは間違いない。それに加え、当該自治体に専門医がいない状況では、いかに当該自治体外の専門医が関わっていけるかが重要である。当該自治体外の専門医が自治体

の会議に参加することは容易ではないが、関東タンデムマス・スクリーニング・フォーラムの開催などで、face-to-face で本事業のサポートをしていくことが重要である。

E. 結論

face-to-face のネットワークは非常に重要であり、今後は甲信越地域などとも連携を構築していく予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 窪田 満：本当はやさしいタンデムマス・スクリーニング 序. 小児内科 46; 428-430, 2014

2) 窪田 満：本当はやさしいタンデムマス・スクリーニング タンデムマス・スクリーニングと今までのスクリーニングの違いは？ 小児内科 46; 431-436, 2014

2. 学会発表

1) 窪田 満：関東圏におけるタンデムマス・スクリーニング・ネットワークの構築. 第 41 回日本マススクリーニング学会, 広島, 2014.8.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含む)

1. 特許取得

なし

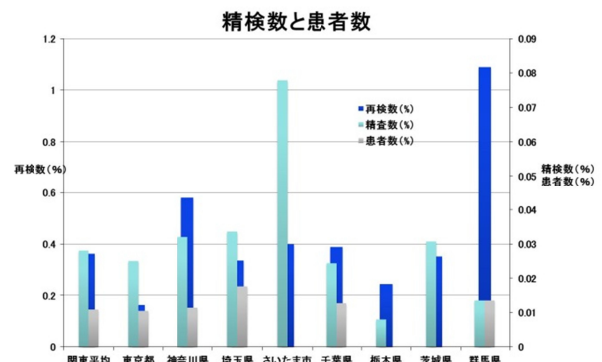
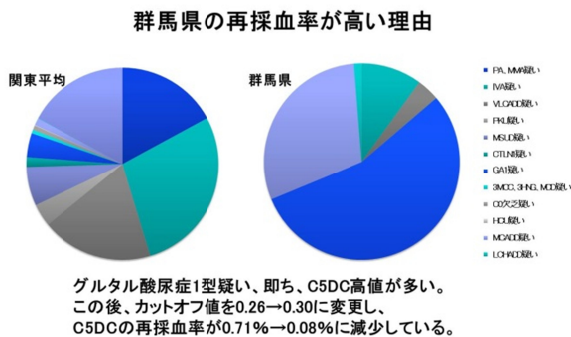
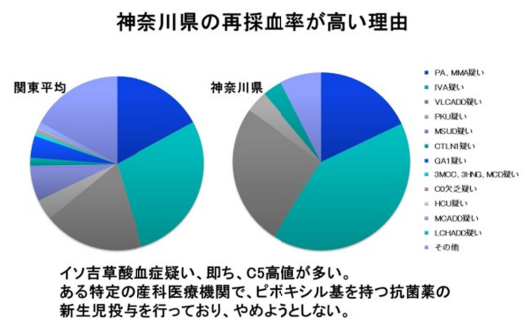
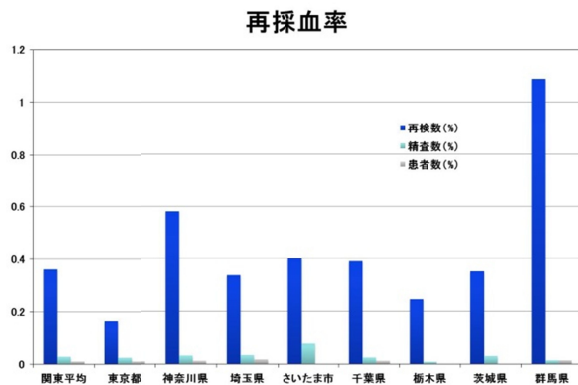
2. 実用新案登録

なし

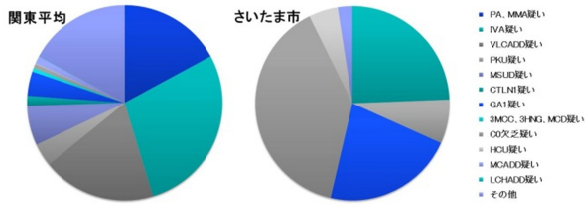
3. その他

なし

図. 関東地区のタンデムマス・スクリーニングの問題点 (資料)

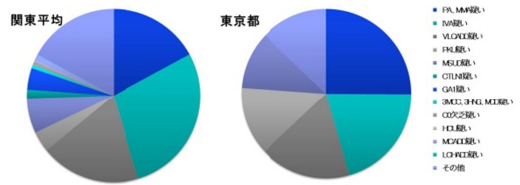


さいたま市の精検率が高い理由



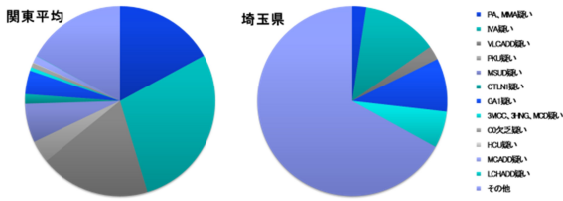
全身性カルニチン欠乏症疑い、即ち、C0低値が多い。
また、グルタル酸尿症1型疑い、即ち、C5DC高値が多い。
検査人数が少ないので精査の閾値が下がる傾向にあるかもしれない。

その他の地域の特徴



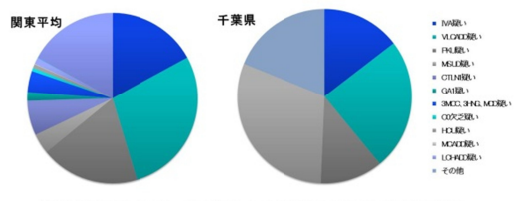
数が多いので、東京都の傾向が全体の平均に近くなっている。
ただ、C5高値は東京都で67例、関東全体で601例(再検例の3割)も存在し、
抗菌薬由来のものがほとんどと考えられるため、対策が必要である。

その他の地域の特徴



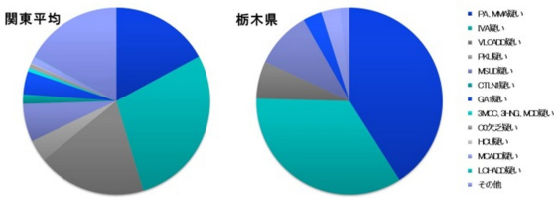
疾患の偏りのない再採血となっているため、「その他」が多い。

その他の地域の特徴



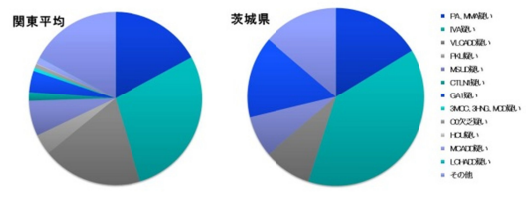
他の地域に比べてメーブルシロップ尿症疑いが多い理由は不明。
基本的には東京都と同様に関東平均に近い。

その他の地域の特徴



他の地域に比べてプロピオン酸血症/メチルロン酸血症疑いが多く、
C5高値もやや多い(理由は不明)。

その他の地域の特徴



ほぼ平均的だが、ややC5高値が多い。神奈川県によく似ており、
抗菌薬のためと思われる。

参考資料

マススクリーニングにおける再検査の時の家族への説明（例）

「先天性代謝異常等検査」の「再検査」に関して（保護者の皆様へ）

埼玉県立小児医療センター総合診療科 窪田 満

はじめに

先天性代謝異常等検査（以下、新生児マススクリーニング）は、赤ちゃん全員の「かかと」から少量の血液をいただき、それを特別な「ろ紙」に染みこませて送っていただく検査です。最近では、タンデム質量分析計（以下、タンデムマス）という器械を用いて色々な物質を測定できるようになり、全部で19の病気をみつけることができるようになったのは、以前に差し上げたパンフレットに記載してある通りです。でも、この方法で見つけて、即、病気の診断というわけではないのです。新生児マススクリーニングは、「ふるい分け」の検査です。通常の検査のように、「正常」と「疾患」にきれいに分けているのではなく、ある値を境にして、「まず正常だろう」という群と「疾患の可能性はある」という群とに分けているのです。「疾患の可能性はある」と分類された赤ちゃんから「再検査」という形でもう一度血液を頂くのですが、「再検査」になった赤ちゃんのうち、本当に疾患に罹患している児は、約50人に一人です。「疾患の可能性はある」とされても、実は正常だった赤ちゃんの方が多いのです。ですから、「再検査」になったからといって、慌てる必要はありません。でも、なるべく早く「再検査」を行っていただいて、より疑わしいかどうかを、はっきりさせた方がいいのは間違いありません。

では、以下に疾患の説明をさせていただきます。これらの新生児マススクリーニング対象疾患は、早期発見、早期治療によって、健やかに生きていくことが可能になる疾患が選ばれています。10,000人出生に一人程度、以下のいずれかの疾患をもった赤ちゃんが生まれてきます。

1. アミノ酸代謝異常症

アミノ酸代謝異常

フェニルケトン尿症
メープルシロップ尿症
ホモシスチン尿症
シトルリン血症1型
アルギニノコハク酸尿症

アミノ酸代謝異常症：フェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症は、30年前から新生児マススクリーニング対象疾患としていた疾患群です。フェニルアラニンなどの特定のアミノ酸を分解する「酵素」を、生まれつき持っていないため、そのアミノ酸が体に貯まってしまい、発達に障害をきたしてしまいます。しかし、早期に発見し、特殊ミルクなどで治療すれば、正常な発達が期待できます。

尿素回路異常症：シトルリン血症1型とアルギニノコハク酸尿症は「尿素サイクル異常症」の仲間です。たんぱく質は体内で分解されてアンモニアになり、「尿素サイクル」でアンモニアは害のない尿素に変わります。尿素サイクル異常症では、それが上手にできないため、有毒なアンモニアが全身にたまり、脳をはじめとする全身の臓器が障害されてしまいます。食事療法、様々な薬物療法の効果がありますが、重症の患者さんでは、血液透析や肝移植が行われることもあります。

2. 有機酸代謝異常症

有機酸代謝異常

メチルマロン酸血症
プロピオン酸血症
イソ吉草酸血症
メチルクロトニルグリシン尿症
ヒドロキシメチルグルタル酸血症
複合カルボキシルーゼ欠損症
グルタル酸血症1型

有機酸とは、前述のアミノ酸が分解されて、アミノ基という部分がはずれてきてくる物質です。この有機酸を、さらに分解する「酵素」が何種類もあるのですが、それが生まれつき存在しないのが、有機酸代謝異常症です。どの酵素の働きが悪いかによって、左のような様々な疾患にわかれます。どの疾患も、発見・治療が遅れると、脳などが障害されますし、風邪などをきっかけに、重い症状をきたすこともあります。食事療法や、有機酸を分解する時の助けになるビタミン類などを使って治療します。重症の患者さんの場合、十分な治療効果が得られない場合があり、アミノ酸代謝異常症と同様に、血液透析や肝移植が行われることもあります。

3. 脂肪酸代謝異常症

脂肪酸代謝異常

中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症
極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症
三頭酵素/長鎖 3-ヒドロキシアシル CoA
脱水素酵素欠損症
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ
-1
欠損症

絶食状態の時など、エネルギーが足りなくなったときに、脂肪からエネルギーを作り出すしくみを「脂肪酸酸化」といいます。この仕組みに関わる部分に生まれつき問題があると、緊急時にエネルギーが作り出せなくなり、乳児突然死症候群の原因になると言われています。「脂肪酸酸化」が障害される部位によって、上記の疾患にわけられます。また、年長になりますと、筋肉の働きが弱くなり、強い筋肉痛を来すことがあります。治療は哺乳や食事の間隔があきすぎないように気をつけ、絶食状態にならないようにすることが中心です。そして、それだけで重症化を抑えることができます。つまり、突然死が予防できることになり、タンデムマスによる新生児マススクリーニングの効果が一番大きい疾患群です。

分担研究課題

マスキングのコホート・コンサルテーション体制に関する研究

研究分担者 山口清次 (島根大学医学部 教授)

愛知県におけるタンデムマス・スクリーニングの現状と問題点

研究要旨

愛知県でも平成25年2月からタンデムマスを用いた新生児マススクリーニングが開始された。平成25年の愛知県の出生数はおよそ66,800人であったが、新生児マススクリーニングの検査数は約65,000人であった。これは里帰り分娩のため他府県で検査された例が多かったためと思われた。精査症例は38例でこのうち確定診断に至った例は15例であった。重症有機酸代謝異常症例も発見され、初年度から効果を挙げていることが示されたが、患者データの抽出には疫学調査でも患者家族の同意が必要であるという自治体の意向があり、集計には時間がかかることが予想された。

研究協力者

伊藤哲哉 (藤田保健衛生大学医学部小児科・
教授)

- 人口 愛知県全体 744万人
名古屋市 227万人
- 平成25年 出生数
愛知県全体 66825人
名古屋市 19492人
その他の愛知県 47333人
- 平成25年 新生児マススクリーニング検査数
愛知県全体 64994人
名古屋市 21064人
その他の愛知県 43930人

A . 研究目的

愛知県で導入されたタンデムマスによる新生児マススクリーニングの状況を解析し、その問題点を明らかにする。

B . 研究方法

平成 25 年の愛知県の新生児マススクリーニングの状況を集計しその精査例、診断例を集計、症例のフォロー体制などの解析を行った。

C . 研究結果

愛知県では愛知県健康づくり振興事業団が検査を行い、手挙げ方式でリストアップされた精査施設の中から地域と専門性を考慮して事業団が精査施設を紹介している。

平成 25 年度の精査件数は、有機酸代謝異常症関連では C5 高値 : 4 例、C5-OH 高値 : 8 例、C3、C3/C2 高値 : 5 例、脂肪酸代謝異常症関連では C14:1 高値 : 3 例、C0、C0/(C16+C18) 高値 : 1 例、アミノ酸代謝異常症関連では、Phe 高値 : 8 例、Leu+Ile 高値 : 2 例、Met 高値 : 1 例、Cit 高値 : 2 例、そのほか非特異的異常 4 例の計 : 38 例であった。これらを精査した結果は以下の通りであった (表 1)。

アミノ酸代謝異常症関連では Phe 高値 : 8 例 古典型 PKU1 例、軽症高 Phe 血症 7 例、Leu+Ile 高値 : 2 例 重症 MSUD1 例、一過性 1 例、Met 高値 : 1 例 一過性、Cit 高値 : 2 例 シトリン欠損症 2

例であった。

有機酸代謝異常症関連では、C5 高値：4 例 全例正常、C5-OH 高値：8 例 全例正常、C3、C3/C2 高値：5 例 MMA：2 例、PA(軽症)：1 例であった。

脂肪酸代謝異常症関連では、C14:1 高値：3 例 経過観察中、C0、と C0/(C16+C18)高値：1 例 CPT1 欠損症であった。

D. 考察

実際の運営に当たり問題と思われたのは、検査施設の選定について、今のところこれまでの実績で当検査施設が選ばれているが、自治体は次期更新時入札による選定も検討しており、この場合現在の検査の質が保障されるかが問題である。確定

診断に必要な尿中有機酸分析、遺伝子検査は現時点では保険診療が困難な病院が多く、病院や施設の研究費、患者負担などでまかなっていることが問題である。愛知県では疫学調査に対する患者情報の提出についても患者家族から書面による同意を得るよう要請しており、コホート研究には若干の支障を来すと思われた。

E. 結論

愛知県で開始されたタンデムマスによる新生児マススクリーニングでは、すでに有機酸代謝異常症などの症例が発見され成果を上げている。今後、当該疾患に対する保険診療の適応や疫学研究への参加についても検証を進める必要がある。

表1. タンデムマス検査の異常値と最終診断

	高値	例数	最終診断
アミノ酸 代謝異常関連	Phe	8	古典的 PKU (1) 軽症高 Phe 血症 (7)
	Leu+Ile	2	古典的 MSUD (1) 一過性高値 (1)
	Met	1	一過性高 Met 血症 (1)
	Cit	2	シトリン欠損症 (2)
有機酸 代謝異常関連	C3, C3/C2	5	メチルマロン酸血症 (2) 軽症プロピオン酸血症 (1)
	C5-OH	8	(全例異常なし)
脂肪酸 代謝異常関連	C0、C0/(C16+C18)	1	CPT1 欠損症
	C14:1	3	(全例経過観察中)

分担研究課題

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

研究分担者 山口清次 (島根大学医学部 教授)

広島県地域ネットワークの問題点および重要症例

研究要旨

広島県地域では、タンデムマス・スクリーニング試験研究中、新生児濾紙血正常判定で、乳幼児期に重篤な急性代謝不全を発症した2症例を経験したことから、自施設での酵素活性測定を中心とした迅速な確定・除外診断体制の下に、積極的な陽性判定・精査を行った。その結果、特に脂肪酸代謝異常症で、特定の産院から母乳不足による偽陽性例が多発したが、中には軽症罹患患者と判定されたケースもあり、発症リスク潜在例の捕捉向上につながると考えられる。

研究協力者

但馬 剛 (広島大学大学院医歯薬保健学研究院
小児科学・講師)

2012 年 2 月から 2014 年 11 月までの間に精査した新生児 46,008 人中 61 例 (0.13% , 内訳 : アミノ酸 10 , 有機酸 9 , 脂肪酸 42) を精査した。その結果、軽症高フェニルアラニン (Phe) 血症 3 例、イソ吉草酸血症 1 例、軽症型プロピオン酸血症 2 例と最終診断した (表 1, 2)。脂肪酸代謝異常症群では 42 例に異常値が検出されたが、最終的には 9 例が保因者ないし軽症患者と判断された (表 3)。

A . 研究目的

広島県地域では以前、新生児濾紙血正常判定の後に急性発症したビタミン B12 反応性メチルマロン酸血症およびカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ- (CPT-2) 欠損症を各 1 例経験したことから、同様の事例を防ぐべく、基準値の調整と積極的な陽性判定・精査を試みた。

B . 研究方法

自治体事業化後のスクリーニング施設である広島市医師会臨床検査センターと連携して、基準値の調整を随時実施。特に脂肪酸代謝異常症 3 疾患 (MCAD/VLCAD/CPT-2 欠損症) は初回陽性後直ちに精査とし、酵素・遺伝子診断を行った。

略字 : MCAD と VLCAD = それぞれ中鎖、極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素。CPT-2 は上記と同じ。

C . 研究結果

D . 考察

脂肪酸代謝異常症の精査件数が突出して多くなったのは、厳格な母乳主義を採る特定の産院で著しい哺乳不足状態に置かれた新生児に、異化亢進による血中長鎖アシルカルニチンの軽度上昇が多発したことに起因すると推測される。これらの大半はリンパ球酵素活性測定で翌日には除外して、保護者への負担を最小限に留めた。一方で保因者ないし軽症罹患患者と判断されるケースもあったことから、現在の方針は、ウイルス性胃腸炎などストレス時に急性発症しうるリスク潜在例の捕捉向上につながるものと考えられた。

E. 結論

脂肪酸代謝異常症を中心に、スクリーニングで正常判定後に急性発症する事例を防ぐには、迅速な確定検査法を備えた上で、積極的な陽性判定を行うことが有用である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 小野浩明, 但馬剛, 他: 新生児タンデムマス・スクリーニングで陽性とならず, 1歳時ノロウイルス感染を契機に発症したビタミン B12 反応性メチルマロン酸血症の1例. 日本マス・スクリーニング学会誌 24 (1): 43-47, 2014.
- 2) 松本裕子, 但馬剛, 他: 保健師における新生児マス・スクリーニングの認知度と陽性例への支援について. 日本マス・スクリーニング学会誌 24 (1): 57-66, 2014.
- 3) 原圭一, 但馬剛, 他: CPT-II 欠損症の新生児スクリーニング: 見逃し例経験後の指標変更の影響. 日本マ

ス・スクリーニング学会誌 24 (3): 261-266, 2014.

2. 学会発表

- 1) 但馬剛, 津村弥来, 他: 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. 第41回 日本マス・スクリーニング学会, 広島市, 2014年8月22-23日.
- 2) 原圭一, 但馬剛, 他: 日本人初と考えられるメチルマロン酸血症 cblD 型の1歳男児. 第56回 日本先天代謝異常学会, 仙台市, 2014年11月13-15日.
- 3) Tajima G, Tsumura M, et al: Heterozygous carriers of VLCAD deficiency detected by newborn screening may have latent risk of symptomatic hypoglycemia. Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SSIEM) Annual Symposium 2014. Innsbruck, Austria, Sep 2-5, 2014.

表【まとめ】. タンデムマス検査で検出された異常と最終診断

	異常検出数	最終診断
アミノ酸 代謝異常関連	10	軽症高 Phe 血症 (3)
有機酸 代謝異常関連	9	イソ吉草酸血症 (1) 軽症プロピオン酸血症 (2)
脂肪酸 代謝異常関連	42	カルニチン欠乏症疑い(1) 軽症型 CPT-2 欠損症疑い(1) VLCAD 欠損症保因者疑い(3)

表1. 自治体事業化後の成績：アミノ酸代謝異常症

指標項目	精査	罹患	
フェニルアラニン	3	(3)	初回 Phe = 115 ~ 160 3例とも軽症例として無治療で経過観察中
分枝鎖アミノ酸	3	0	初回 Leu + Ile = 360 ~ 380 Val = 250 ~ 270 2例は酵素活性正常 (1例は未検)
メチオニン	2	?	初回 Met = 70 ~ 75 再検・精査時も同程度の値が持続 ホモシステイン正常 → AD型 MAT欠損症?
シトルリン	2	?	1) 初回 Gal 6.6, G1P 3.3 → 再検 Cit 37.52, 一過性 D.Bil 軽度上昇 (1.3) 濾紙血アルギニノコハク酸 (ASA) 増加なし, シトルリン遺伝子の高頻度変異なし 診断: 門脈閉鎖症 2) 初回 Cit 60.9, Gal 1.7, G1P 13.3 一過性 D.Bil 軽度上昇 (2.1), 一過性トランスアミナーゼ上昇 (200台) 濾紙血 ASA 増加なし, シトルリン高頻度変異なし シトルリン血症1型軽症例? (遺伝子解析予定)

表2. 自治体事業化後の成績：有機酸代謝異常症

指標項目	精査	罹患	
C3	3	2	2例: 最軽症型プロピオン酸血症 (変異同定済み) 1例: 偽陽性と判断 初回 C3 = 4.26, C3/C2 = 0.21 再検正常 発熱時の血清・尿でも異常を認めず
C5	1	1	初回 C5 = 12.1 有機酸分析・酵素活性にてイソ吉草酸血症と確定 カルニチン補充を開始 → 症状なし, 発育経過良好
C5-OH	4	?	初回 C5-OH = 1.0 ~ 1.1 濾紙血では同程度の値が持続 血清では正常範囲 有機酸分析: 2例 異常なし 2例 3-OH-IVA 軽度増加 → ビオチン欠乏?
C5-DC	1	0	初回 C5-DC = 1.0 濾紙血では同程度の値が持続 血清でも軽度高値 (0.26) を認めたが 有機酸分析では特異的所見なし

表 3. 自治体事業化後の成績：脂肪酸代謝異常症

指標項目	精査	罹患	
C0↓	14	(2)	<p>初回 C0 = 5 ~ 10 8例：精査時血清 C0 正常レベル ※ 1例は CPT-2 保因者ないし軽症罹患者と判明</p> <p>4例：NICU 管理中（罹患確定例なし）</p> <p>2例：尿中カルニチン排泄率 軽度増加（約5%） 経過中 血清 C0 = 10 前後への低下を認め 1例は L-カルニチン内服を継続中</p>
C8	1	0	<p>初回 C8 = 0.30 (C8/C10 = 2.26) 酵素活性正常</p>
C8 ~ C16	2	0	<p>初回 C8 = 0.34, C10 = 0.76, C12 = 0.61, C14:1 = 0.45, C16 = 2.64, C5-DC = 0.38 有機酸分析では特異的所見なし</p>
C14:1	16	0	<p>初回 C14:1 = 0.28 ~ 0.48 (13例が 0.30 ~ 0.35) C14:1/C2 = 0.009 ~ 0.022 13例：初回濾紙血採取時まで体重増加不良 うち11例が母乳主義を採る同一の産科で出生</p> <p>全例に酵素活性測定を実施 3例：ヘテロ保因者相当 うち1例で1アレルに既報の変異を同定 (1例は変異なし, 1例は未解析)</p>
C16 C18:1	9	1 (?)	<p>初回 (C16 + C18:1)/C2 = 0.41 ~ 0.49 C16 = 3.0 ~ 4.4</p> <p>7例に脂肪酸代謝能測定を実施 4例：軽度低下 うち1例で1アレルに既報の変異を同定 1例は変異なし (2例は未解析)</p>

分担研究課題

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

研究分担者 山口清次 (島根大学医学部 教授)

九州・沖縄地域ネットワークの課題と症例提示

研究要旨

九州・沖縄地区は研究会や地区学会などで交流が盛んな地域の一つである。タンデムマススクリーニングを導入するには多くの困難が予想された。それを克服するために全国で様々な試みが行われている。九州・沖縄地域においても、地域の特性を理解している専門医師、検査施設や自治体関係者と連絡を取ることができる連絡会議が必要であり、その連携の構築を進めている。

研究協力者

中村公俊 (熊本大学大学院生命科学研究部小児
科学分野・准教授)

A . 研究目的

タンデムマススクリーニング (TMS スクリーニング) を導入する際に予想される困難を克服するために、地域の特性を生かした連携が必要である。九州沖縄地域において、専門医師、検査施設や自治体関係者との連携を構築し、活用する際の課題について検討した。

B . 研究方法

現在九州沖縄地域において先天代謝異常症の症例検討や連携確立のために行われている、九州先天代謝異常研究会や、九州先天代謝異常症診療ネットワーク会議において、専門医師、検査施設や自治体関係者の連携の現状と課題について検討した。

C . 研究結果

九州・沖縄地区は研究会や地区学会などで交流が盛んな地域の一つである。年間出生数は約 132,000 人 (2013 年) と全国の約 13% に相当する。

TMS スクリーニングの対象疾患である先天代謝異常症の分野では、2004 年から年 1 回の「九州先天代謝異常研究会」を開催し、様々な症例の勉強や情報交換を行っている。2004 年から導入された、TMS スクリーニングのパイロットスタディ (厚生労働科学研究費補助金「わが国の 21 世紀における新生児マススクリーニングの在り方に関する研究」主任研究者 山口清次教授) では、福岡、佐賀、熊本、宮崎の各地域に協力をいただき、14 万人余りの新生児の検査を行い、10 名の患者が診断された。TMS スクリーニングへの公費負担導入前には有償のスクリーニングを行った時期があり、2013 年からほぼすべての地域で公費負担による検査が可能になった (図 1)。

	パイロット	有料	公費負担
福岡県	'07.4-'10.3		'13.4-
福岡市	'07.4-'10.3	'12.2-'13.3	'13.4-
北九州市	'07.4-'10.3		'13.4-
佐賀県	'08.4-'10.3		'13.4-
長崎県			'13.4-
大分県			'14.4-
熊本県	'06.8-'10.3	'10.4-'13.3	'13.4-
熊本市	'06.8-'10.3	'10.4-'13.3	'13.4-
宮崎県	'06.10-'10.3		'13.4-
鹿児島県			'12.10-
沖縄県			'14.4-

図 1.九州地区の TMS スクリーニング実施時期

このタンデムマススクリーニングを九州・沖縄地区の全ての地域に導入するには多くの困難が予想された。たとえば、代謝救急の初期対応は各地域の基幹病院で行うことが必要であること、確定診断には専門施設における検査が必要であり、尿有機酸分析、酵素診断、遺伝子解析など保険診療外の特殊検査を施行する症例が少なくないこと、身近に相談できる専門医師が少ないことがあること、長期の支援のためには、医療機関と行政、検査施設、専門施設などとの連携が必要となること、などである。これらの困難を克服するために全国で様々な試みが行われている。そのために、地域の特性を理解している専門医師、検査施設や自治体関係者と連絡を取ることができる連絡会議が必要である。

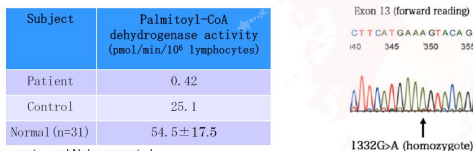
TMS スクリーニングの結果報告前に発症した VLCAD 欠損症の男児 (図 2) と、タンデムマススクリーニングによって発見された VLCAD 欠損症の男児 (図 3) の症例を示す。

Case 1

VLCAD deficiency in a patient who recovered from ventricular fibrillation, but died suddenly of a respiratory syncytial virus infection

Akiko Yamamoto,¹ Kimihiro Nakamura,¹ Shinou Matsumoto,¹ Masanori Iwai,¹ Yosuke Shigematsu,² Go Tajima,³ Miyuki Tamura,⁴ Satoshi Okada,⁵ Hiroshi Mitsunishi,¹ and Fumio Endo¹
¹Department of Pediatrics, Graduate School of Medical Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, ²Department of Health Science, University of Fukui, Fukui and ³Department of Pediatrics, Hiroshima University Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima, Japan

酵素活性の測定と、acyl-CoA dehydrogenase, very long-chain (ACADVL) 遺伝子の解析によって、VLCAD (極長鎖アシル-CoA脱水素酵素欠損症) であることが確定した。L-カルニチンとMCT (medium-chain triglyceride) ミルクを用いた治療を開始した。



Yamamoto and Nakamura et al. *Pediatr Int.* 55, 775–778 (2013)

図 2. TMS 結果判明前に発症した VLCAD 欠損症児

Case 2

出生後のタンデムマス検査で異常を指摘された29生日の男児

有機酸・脂質代謝異常症	測定値	Cutoff値	判定	項目	測定値	Cutoff値	判定
C0	34.42	<10.00		C14	0.20		
C2	23.05			C14:1	0.42	≥0.40	*
C3	1.59	≥3.50		C16	1.08	≥3.00	
C3/C2	0.07	≥0.25		短C16	0.01	≥0.05	
C4	0.18			C18	1.15		
C5	0.19	≥1.00		短C18	0.02	≥0.05	
C5/C2	0.07	≥0.25		C18:1	1.89		
C6	0.07	≥0.25		C18:1	0.015	≥0.025	
短-C5	0.38	≥0.60		[(C16+C18:1)/C2]	0.13	≥0.62	
C6	0.05			C14:1/C2	0.018	≥0.013	*
C8	0.97	≥0.30		C10/C2	0.005	≥0.014	
C8/C10	0.54	≥1.00					
C9	0.12	≥0.40					
C12	0.16						

検査者	VLCAD 活性 (pmol/min/10 ⁶ cells)	MCAD 活性 (pmol/min/10 ⁶ cells)	活性比 (VLCAD/MCAD)
真料虚例 (14041P)	9.5	34.8	0.272
真料対照 (14041C)	73.5	73.8	0.996
正常対照群	54.4 ± 17.3 (n=67)	47.5 ± 13.2 (n=34)	

酵素活性測定にて VLCAD 活性の低下を認めた
 広島大学 但馬剛先生

図 3. TMS で発見された VLCAD 欠損症児

これらの症例からも、上記 ~ の課題を解決していくことが重要であると考えられた。

D. 考察

2012 年から九州・沖縄地区の新生児スクリーニングに関わる医療施設、検査施設、自治体などの参加を得て開催している「九州先天代謝異常症診療ネットワーク会議」は、お互いに顔が見える関係の中で、マススクリーニング対象疾患の診断と治療の相談やスクリーニング体制の支援を行う活動として有用であると考えられた (図 4)。そして、診療ネットワーク会議の連絡体制を構築する、定期的な研究会・連絡会を開催する、地域ごとのスクリーニング連絡協議会の開催等によって医療機関、検査機関、行政の連携を支援する、などの活動が重要であると考えられる。

新規スクリーニングの支援体制

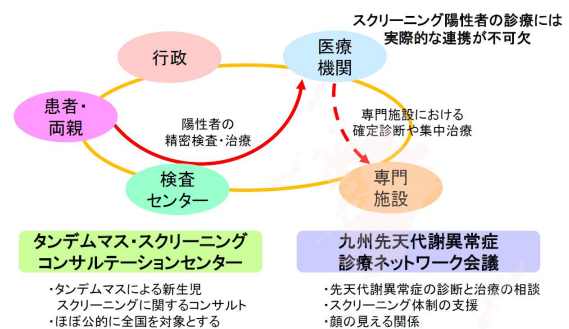


図 4. 新規スクリーニング支援体制

E. 結論

「九州先天代謝異常症診療ネットワーク会議」を中心とした、地域の特性に基づく連携は、医療機関、検査機関、行政の連携の支援活動として重要である。

分担研究課題

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

研究分担者 山口清次 (島根大学医学部 教授)

2 次対象疾患 CPT2 欠損症の突然死、見逃し症例の収集

研究要旨

カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ- (CPT-2) 欠損症の突然死例 3 例、スクリーニング見逃し例 1 例、スクリーニングすり抜け例 1 例を収集したので報告する。スクリーニング見逃し例を経験したことより、CPT-2 欠損症のスクリーニング指標の検討が行われた。すり抜け例を経験したことより、再検時には紙とともに血清のアシルカルニチンプロファイル分析を行う事が必要と考えられた。CPT-2 欠損症スクリーニング未施行地域での突然死の発生は、CPT2 欠損症の新生児マススクリーニングの有用性を強く示すものである。

研究協力者

高柳正樹 (千葉県こども病院・副院長)

A . 研究目的

カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ- (CPT2) 欠損症は現在 2 次対象疾患という事で、日本で新生児スクリーニングが行われている地域は少ない。CPT2 欠損症の突然死例、スクリーニング見逃し例、スクリーニングすり抜け例を収集したので報告する。

B . 研究方法

医学中央雑誌にて CPT2 欠損症の検索語にて検索を行い、症例を収集した。自験 2 例もこれに追加して、検討を行った。

特に新生児スクリーニング時のタンデムマスの検査結果や紙血と血清とのアシルカルニチンプロファイルの差異に注目した。

スクリーニング指標の有効性なども検討した。
(倫理面への配慮)

患者の個人情報公表しない。

C . 研究結果

関東地方で 2 症例の CPT2 欠損症による突然死が報告されている。内 1 名は兄弟に突然死が見られている。

兵庫県でも 1 症例の CPT2 欠損症による突然死が報告されている。この症例の兄弟にも突然死が認められている。

中四国地方で 1 例のスクリーニング見逃し症例とスクリーニングすり抜け症例が認められた。すり抜けとはスクリーニングで TFP 欠損症の疑いとして見出されたが、CPT2 欠損症の診断に至らなかったものである。

これら 5 症例をまとめものを表 1 にあらわし示した。

D . 考察

スクリーニング見逃し例を経験したことより、CPT2 欠損症のスクリーニング指標を検討し、これまで発見されている CPT2 欠損症患者の新生児期の血液濾紙のタンデムマススクリーニングで false negative は出ないように設定した。すり抜け例を経験したことより、再検時には紙とともに血清のアシルカルニチンプロファイル分析を

行う事が必要と考えられた。

CPT2 欠損症スクリーニング未施行地域での突然死の発生は、CPT2 欠損症の新生児マススクリーニングの有用性を強く示すものである。

E. 結論

CPT2 欠損症は1次スクリーニング疾患として、日本全国での実施が望まれる。スクリーニングにあたってはスクリーニング指標の更なる検討、血清検体の測定などスクリーニング手順の見直しが必要である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 高柳正樹：代謝救急とタンデムマス検査．小児内科 46: 523-526, 2014

2) 高柳正樹：乳児用特殊医療用調整粉乳（特殊ミルク）の適応と問題点．小児内科 46: 1063-1066, 2014

2. 学会発表

1) 金澤正樹 他：一過性の高トリグリセライド血症を呈したカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 欠損症の1例．第51回日本先天代謝異常学会．東京，2009

2) 真山義民 他：初めての高熱を契機として急速に病状が進行し死亡したカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ（CPT2）欠損症の8か月男児例．日本小児科学会千葉地方会．千葉市，2014年2月

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

なし

表 1. タンデムマス検査対象疾患で乳児期に急性発症した症例の収集

	新生児マススクリーニング	発症経過	転帰	最終診断	施設
1	TFP 欠損症の疑い	(日齢 15) 正常	(生後 8 カ月) 突然死	CPT2 欠損症	中四国地方
2	異常なし	(生後 7 カ月) 発熱後急性脳症	重症心身障害児	CPT2 欠損症	中四国地方
3	開始前	(生後 9 カ月) 発熱、胃腸症状、意識障害	翌日突然死	CPT2 欠損症	関東地方
4	異常なし (CPT2 対象外)	(生後 8 カ月) 発熱、ぐったり、意識障害	突然死	CPT2 欠損症	関東地方
5	開始前	(1 歳 1 カ月) 発熱、感冒症状、意識障害	突然死	CPT2 欠損症	関西地方

分担研究課題

マスキングのコホート・コンサルテーション体制に関する研究

研究分担者 山口清次（島根大学医学部 教授）

コンサルテーション体制確立に関する取り組みと患者コホート体制確立に関する
枠組みづくり

研究要旨

2014 年度から全国実施となったタンデムマス・スクリーニングの質的向上を目的としてあらたに設立されたコンサルテーションセンター(コンサル・センター)の稼働状況等について検討した。また、これまではスクリーニング事業を評価・改善するために必須である継続的な患者コホート調査が行われていなかった。本研究では、タンデムマスで発見された疾患の正確な頻度、自然歴、臨床的効果を明らかにするために、疫学研究としてのコホート体制の構築を目指した。コンサル・センターへの問い合わせ元は、小児科医と検査施設が多く、スクリーニングの検査や診療の現場における「困り感」が反映されていると考えられる。一方、問い合わせ件数は地域による差があり、今後も情報提供を行いながらコンサル・センターの周知を続ける必要があると思われる。患者コホート体制については、研究班では個人情報入手せずに研究を行うデザインとした。調査は自治体の部署と該当医療機関を対象に行い、研究事務局で各症例に対して任意に割り振った識別番号を元に当該施設において照会し、匿名化された疫学情報のみを提出依頼する事とした。現時点では自治体からの回答を得た時点での評価となるが、これまで考えられていた患者数や疾患名が実際の状況を十分に反映出来ていない可能性が示された。

研究協力者

小林弘典(島根大学小児科・助教)

A. 研究目的

1) コンサルテーション体制等の整備に関する研究

2014 年度から新生児マススクリーニング(NBS)にタンデムマスが導入された。しかしながら、タンデムマス検査の対象疾患はいずれも稀少疾患であり、地域間、施設間での検査結果の解釈や診断・治療のレベルに差異が生じる事が危惧されている。加えて、タンデムマス法による検査を新規に開始した施設が多く、分析手技や結果の判定に不安を抱える施設も少なくない。これまで、これらの問題解決を支援するための全国的ネットワ

ークの必要性が提起されており、昨年平成 25 年度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）における分担研究課題「新生児マススクリーニング対象疾患の診療コンサルテーション体制の構築」(分担研究者：山口清次)ではコンサルテーションセンター(コンサル・センター)の整備および情報提供を目的とするホームページの作成が行われた。上記システムは地方自治体からの委託金によって運営されるが、本研究では今年度における実績および今後の課題等について評価を行い、タンデムマス・スクリーニング(TMS センター)の質向上のための体制を整備する事を目的とする。

2) タンデムマス・スクリーニング発見患者のコホート体制整備に関する研究

タンデムマス法で発見される疾患の頻度は、国内のパイロット研究によると、個々の疾患は数万ないし200万出生に1人以下の頻度で、全体としては約9千人に1人と推定されている。いずれも超稀少疾患であり、その自然歴や最適な治療法、治療効果、およびタンデムマス導入による臨床的、医療経済的効果について不明な点が多い。

また新生児期に急性発症して早期に死亡する症例の存在も知られ、マススクリーニングの恩恵を受けることのできない児がいると思われる。NBSが公的事業である以上、それが小児の障がい発生防止に効率的に貢献しているかどうかの評価が必要であり、そのためには発見された小児の患者コホートが必要であるが、これまでは、全国レベルでの継続的なコホート体制は構築されていなかった。本研究では、タンデムマスで発見された疾患の正確な頻度、自然歴、臨床的效果を明らかにするために、疫学研究としてのコホート体制の構築を目指す。

B. 研究方法

1) コンサルテーション体制等の整備に関する研究

コンサルテーションセンターについては図1のように自治体、医師、検査機関、産科等医療機関を対象として質問を受け付ける事とした。あらかじめ用意した一次受付センターマニュアルで即答出来ない質問については、専用のフォーマットを通して質問を受け付け、メーリングリストで議論センターを通じて文章で回答する事とした。原則として48時間以内の回答を行った。

2) タンデムマス・スクリーニング発見患者のコホート体制整備に関する研究

図1に示すように、本研究に賛同が得られた自治体において、TMSスクリーニングによって発見された患者の疫学調査を行うこととした。

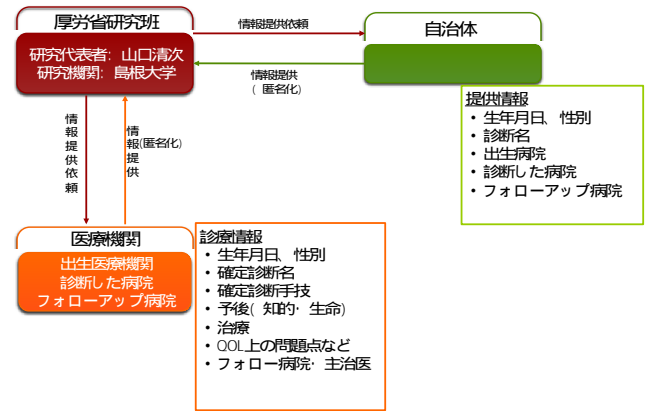


図1. 疫学情報の入手情報および調査項目

(1)自治体の新生児マススクリーニング担当部署を対象にして、1年間に発見された患者について以下の項目の調査を行う（1年目）。

- 診断名
- 患者生年月日および性別
- 出生医療機関
- 診断した病院
- フォローアップ病院、主治医

(2)診断した病院（主治医）を対象に以下の項目の調査を行う（初回登録時）。

- 確定診断名（病型）
- 患者の出生体重
- 確定診断した方法
- 診断時の症状の有無
- その他（自由記載、特記すべき臨床所見）

(3)診断された翌年（2年目）以降に、フォローアップしている病院を対象に以下の項目を調査する。

- 身体発育状況（体重や身長状況）
- 発達状況（正常範囲か、軽度遅滞、中等度遅滞、重度遅滞）
- 治療状況（方法と効果）
- その他（自由記載、特記すべき検査異常やQOL上の問題点等）

以上の調査を、研究事務局から、自治体の部署と該当医療機関を対象に調査する。研究事務局で

は、各症例に対して任意に割り振った識別番号を付して情報を管理し、該当する症例の疫学データの提出を依頼する事として、個人情報を入力せずに研究を行うデザインとした。

(倫理面への配慮)

本研究は島根大学医学部、医の倫理委員会による承認(通知番号 1622 号)を受けて行った。また、本研究の意義を周知するために、研究班ホームページを開設し、本研究の目的、意義、収集する疫学情報の内容、本研究によって来される効果、などを公表することとした。

C. 研究結果

1) コンサルテーション体制等の整備に関する研究

2014年4月から12月20日までの実績でコンサルテーションセンターには表2に示すように、77件の問い合わせが寄せられた。質問者は小児科医師が最多で45件、次に検査機関からの18件と続いた。自治体からの問い合わせも8件あった一方で産科関連からは併せて6件と少なかった。質問の内容については検査値や精密検査、治療に対する質問が上位を占めた。

表2. コンサルテーションセンターへの問合せの内訳

ジャンル	件数	カテゴリー	数
数値データについて	9	小児科医師	45
検査について	14	産婦人科医師	4
分析依頼	12	検査機関	18
診断・治療方針	8	自治体	8
検体採取	4	助産師	2
再採血・再検査	7	計	77
検体輸送	3		
検査費用	10		
その他	8		
計	77		

北海道	0	東京都	7	滋賀県	0	香川県	0
青森県	0	神奈川県	2	京都府	1	愛媛県	1
岩手県	0	新潟県	1	大阪府	6	高知県	1
宮城県	0	富山県	1	兵庫県	4	福岡県	2
秋田県	0	石川県	2	奈良県	1	佐賀県	0
山形県	1	福井県	0	和歌山県	2	長崎県	0
福島県	0	山梨県	2	鳥取県	0	熊本県	0
茨城県	2	長野県	2	島根県	0	大分県	7
栃木県	6	岐阜県	2	岡山県	5	宮崎県	0
群馬県	5	静岡県	5	広島県	0	鹿児島県	1
埼玉県	0	愛知県	1	山口県	0	沖縄県	2
千葉県	2	三重県	2	徳島県	0		

※実績0は19道県

コンサルテーションセンターに問い合わせ元を自治体毎に見てみると、北海道、東北、中四国、九州の一部では問い合わせがゼロであり、地域により受付の件数に大きな差がある事が明らかになった。

2) タンデムマス・スクリーニング発見患者のコホート体制整備に関する研究

マススクリーニングの実施主体である67の自治体に対して2013年度分の発見患者についてアンケートによる調査を実施した。54自治体(80.6%)より回答を得た(図2)。得られた回答を元に、各施設への初回登録調査を行う予定である。

回答が得られなかった自治体

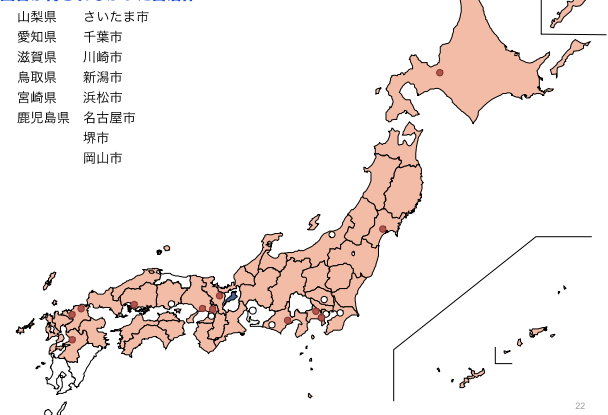


図2. 自治体の回答状況(2014年12月時点)

今回の調査により回答を得た地域のおおよその出生数合計は80万人であり、それを母数として患者発見頻度を算出し、これを先行したパイロット研究のデータと比較した。今回の比較からはホモシスチン尿症やメチルマロン酸血症、MCAD欠損症などのようにこれまでの結果から予測される頻度と比して明らかに差があるものが見られた。また、一部の自治体からの回答では精密検査以降の確定診断等についての情報を追跡できていない現状が明らかになった(表3)。

表 3. 2013 年度の患者発見頻度とパイロット研究の比較

	本研究(母数80万人)	発見頻度	パイロット研究(197万人)
PKU(高Phe血症)	14 (6)	1.4万	1.5.3万
MSUD	1	1.80万	1.195万
ホモシスチン尿症	3	1.26.7万	1.65万
シトルリン血症1型	1	1.80万	1.33万
アルギニコハク酸尿症	1	1.80万	1.98万
メチルマロン酸血症	1	1.80万	1.11万
プロピオン酸血症	12	1.6.7万	1.4.5万
メチルクロトニルグリシン血症	2	1.40万	1.15万
イソ吉相酸血症	1	1.80万	1.65万
グルタル酸血症1型	3	1.26.7万	1.28万
MCAD欠損症	2	1.40万	1.10万
VLCAD欠損症	8	1.10万	1.16万
TFP欠損症	1	1.80万	-
CPT1欠損症	2	1.40万	1.31万
シリン欠損症	4	1.20万	1.33万
ケトチオラーゼ欠損症	1	1.80万	-
CPT2欠損症	2	1.40万	1.26万
全身性カルニチン欠乏症	3	1.28万	1.26万
その他	9		
合計	68		

D. 考察

1) コンサルテーション体制等の整備に関する研究
 問い合わせの内容からは、精密検査を行う小児科医における「困り感」が最も強く、初期対応における情報の少なさがその要因と推測される。その他にも検査施設からの質問も多く、経験の少ない施設のサポートも今後の重要な課題である。

コンサル・センターへの問い合わせ数が地域によりかなりの差がある事については、主に以下の二つの原因が考えられた。(1) コンサル・センターが現場医師へ十分認識されていない可能性、(2) すでに先天代謝異常症の専門医師を中心に独自のコンサル体制や地域における紹介体制が整備されている場合、である。

今後はコンサル・センターに寄せられた質問を参照できる様に整備やホームページの改善、さらにはコンサル・センターの利用方法などを積極的に周知する事が重要と思われた。

2) タンデムマス・スクリーニング発見患者のコホート体制整備に関する研究

今回得られた結果は自治体からの回答部分のみであるが、自治体が把握する患者数や診断名は、

真の患者数や診断名との解離がある事が強く推測された。今回の調査における患者数は 68 例であり、これは受検者の母数 80 万人から予想される人数よりも少ない。中には予想されるよりもかなり低頻度になっている疾患もあり、これらの見逃し例などがないか、注意を払う必要がある。これまでの NBS 事業評価は主として自治体から得られた患者数などに基づいて行われている。本研究では今後、患者フォロー施設に対して診断の確認等を行う予定であり、真の患者像を明らかにして、これまでの数との違いを評価する必要がある。

また、今回の調査で自治体によっては正確な患者発生状況を把握出来ていない場合があった。NBS 事業の質的向上を目指す上でも、本研究で得られた情報や現状を各自治体にフィードバックし、より正確な情報収集を強調する必要がある。今回強力が得られなかった自治体における状況は明らかではないが、引き続き協力を要請していく必要がある。

E. 結論

タンデムマス・スクリーニングの全国普及にあわせて設置した、自治体、医師、検査機関、産科等医療機関を対象としたコンサルテーションセンターは特に精密検査を行う小児科医や NBS 検査施設のサポートが必要とされているが、今後はさらに認知度を高めてより使いやすいシステムにする必要がある。

患者コホートについては自治体からの回答を得た時点での評価となるが、これまで考えられていた患者数や疾患名が実際の状況を十分に反映出来ていない可能性が示され、今後の検討が必要である。

分担研究課題

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

研究分担者 山口清次 (島根大学医学部 教授)

対象疾患の遺伝子診断体制

研究要旨

新生児マススクリーニング 1 次対象疾患は、遺伝学的検査の保険点数がついているが実際には請け負う検査会社はなく、遺伝子変異を明らかにすることなく診断フォローされているか、この疾患をこれまで研究してきた研究者が研究費を用いて遺伝子変異をサービスで提供しているのが実情である。対象疾患でありながら研究者においても遺伝子解析を行っていない疾患もある。このような遺伝子型が不明な状況でコホートを行っても、質の高いコホート研究、質の高い医療は難しいため、現在遺伝子パネルを用いた対象疾患遺伝子診断を検討中である。

研究協力者

深尾敏幸 (岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学・教授)

A . 研究目的

新生児マススクリーニング 1 次対象疾患は、遺伝学的検査の保険点数がついており、保険請求が出来るが、実際にはその金額で遺伝子検査を請け負う検査会社はなく、遺伝子変異を明らかにすることなく診断フォローされているか、ここの疾患をこれまで研究してきた研究者 (多くは小児科医) が研究費を用いて個々の時間を削って遺伝子変異をサービスで提供しているのが実情である。対象疾患でありながら研究者においても遺伝子解析を行っていない疾患もある。このような遺伝子型が不明な状況でコホートを行っても、質の高いコホート研究、質の高い医療は難しいといえる。

B . 研究方法

厚生労働省科学研究委託費「新生児タンデムマススクリーニング対象疾患の診療ガイドライン改訂、診療の質を高めるための研究」(深尾班)

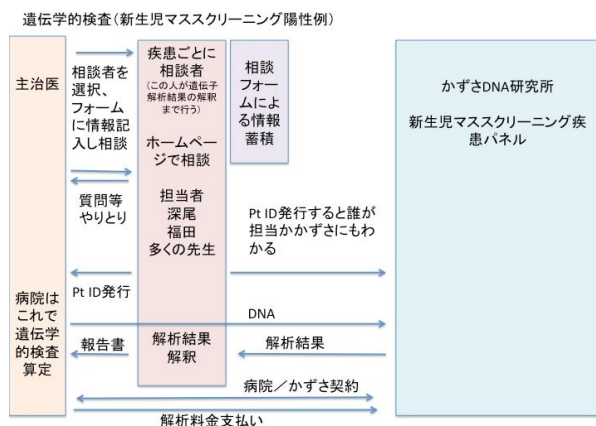
において、1 つの柱として、新生児マススクリーニング対象疾患の遺伝子診断を次世代シーケンサーを用いた遺伝子パネルにより行い、将来的に研究費に頼らず、保険診療として遺伝子診断が可能なシステムの構築を考えている。

(倫理面への配慮)

本研究は岐阜大学医学研究等倫理審査委員会、かずさ DNA 研究所の倫理委員会を経てパイロット研究を行う。

C . 研究結果

新生児マススクリーニングの 1 次対象疾患のみでなく、2 次対象疾患を含めて考えると 52 遺伝子のパネル作成により疾患遺伝子がカバーされることがわかり、現在厚生労働省科学研究委託費「新生児タンデムマススクリーニング対象疾患の診療ガイドライン改訂、診療の質を高めるための研究」(深尾班) のほうで、遺伝子パネルによる遺伝子診断のシステム構築中である (以下は、現在検討中のシステムで、まだ決定されたものではない)。



D. 考察

遺伝子型を決めてフォローすることは今後遺伝型と臨床像の関係を明らかにして、今後のマススクリーニング診断患者の診療に役立てるためにも重要である。本研究班のコホートと遺伝子診断をリンクさせることが今後重要であると考え

E. 結論

遺伝子パネルによるマススクリーニング対象疾患の遺伝子診断を構築中である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Hori T, Yamaguchi S, Shintaku H, Horikawa R, Shigematsu Y, Hakayanagi M, **Fukao T**: Inborn errors of ketone body utilization. *Pediatr Int* in press (査読有り)

- Vatanavicharn N, Yamada K, Aoyama Y, **Fukao T**, Densupsoontorn N, Jirapinyo P, Sathienkijkanchai A, Yamaguchi S, Wasant P: Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: two neonatal cases with common splicing mutation and in vitro bezafibrate response. *Brain Dev* in press. (査読有り)
- Fukao T**, Akiba K, Goto M, Kuwayama N, Morita M, Hori T, Aoyama Y, Venkatesan R, Wierenga R, Moriyama Y, Hashimoto T, Usuda N, Murayama K, Ohtake A, Hasegawa Y, Shigematsu Y, Hasegawa Y. The first case in Asia of 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase deficiency (HSD10 disease) with atypical presentation. *J Hum Genet* 59:609-14, 2014 (査読有り)
- Patel P, Suzuki Y, Tanaka A, Yabe H, Kato S, Shimada T, Mason RW, Orii KE, **Fukao T**, Orii T, Tomatsu S. Impact of Enzyme Replacement Therapy and Hematopoietic Stem Cell Therapy on Growth in Patients with Hunter Syndrome. *Mol Genet Metab Rep.* 2014;1:184-196. (査読有り)
- Shimada T, Kelly J, LaMarr WA, van Vlies N, Yasuda E, Mason RW, Mackenzie W, Kubaski F, Giugliani R, Chinen Y, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii KE, **Fukao T**, Orii T, Tomatsu S. Novel heparan sulfate assay by using automated high-throughput mass spectrometry: Application to monitoring and screening for mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab.* 2014 Sep-Oct;113(1-2):92-99 (査読有り)
- Kiema TR, Harijan RK, Strozyk M, Fukao T, Alexson SE, Wierenga RK: The crystal structure of human mitochondrial 3-ketoacyl-CoA thiolase (T1): insight into the reaction mechanism of its thiolase and thioesterase activities. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 70:3212-25, 2014 (査

読有り)

2. 学会発表

- 1) Akiba K, Fukao T, Goto M, Kuwayama N, Morita M, Hori T, Aoyama Y, Venkatesan R, Wierenga R, Moriyama Y, Hashimoto T, Usuda N, Murayama K, Ohtake T, Hasegawa Y, Shigematsu Y, Hasegawa Y: The first case in Asia of 2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase deficiency (HSD10 disease) without intellectual disability. Annual symposium of the society for the study of inborn errors of metabolism, 2-5 September, Innsbruck, 2014
- 2) Fukao T, Hori T, Sasai H, Ohtsuka H, Kimura T, Aoyama Y: Alu elements insertions into intron 9 affect exon 10 recognition with a suboptimal splice acceptor site in human ACAT1 gene. Annual symposium of the society for the study of inborn errors of metabolism, 2-5 September, Innsbruck, 2014
- 3) 赤川翔平、保坂泰介、石井紘介、寺口正之、村上貴孝、園府寺美、木野稔、深尾敏幸、青山友佳、重松陽介：ケトン性低血糖発作を契機に診断した HSD10 病の 4 歳男児。第 56 回日本先天代謝異常学会。11 月 12-15 日、仙台、2014
- 4) 折居建治、森本将敬、笹井英雄、松井永子、村上圭、大竹明、深尾敏幸：新生児期発症ミトコンドリア呼吸鎖複合体 IV 型異常症の姉弟例の検討。第 56 回日本先天代謝異常学会。11 月 12-15 日、仙台、2014
- 5) 小林正久、深尾敏幸、重松陽介、長谷川有紀、村山圭、井田博幸：本邦初の乳児期発症の HSD10 病症例。第 56 回日本先天代謝異常学会。11 月 12-15 日、仙台、2014
- 6) 青山友佳、山本俊至、坂口直美、石毛美夏、田中藤樹、市原朋子、大原克明、深尾敏幸：HMG-CoA リアーゼ (HMGCL) 遺伝子の MLPA 法確立と HMGCL 欠損症 1 症例における Uniparental disomy の同定。第 56 回日本先天代謝異常学会。11 月 12-15 日、仙台、2014
- 7) 笹井英雄、北澤徹三、木村豪、川本典生、川本美奈子、深尾敏幸、下澤伸行、山本崇裕：経過中に大脳白質病変を呈したホモシスチン尿症の 1 例。第 56 回日本先天代謝異常学会。11 月 12-15 日、仙台、2014
- 8) 伊藤哲哉、中島葉子、加藤沙耶香、深尾敏幸：ミトコンドリア HMG-CoA 合成酵素欠損症の急性期症状。第 56 回日本先天代謝異常学会。11 月 12-15 日、仙台、2014
- 9) 深尾敏幸、堀友博、笹井英雄、大塚博樹、青山友佳：ACAT1 遺伝子のイントロン 9 への Alu 挿入はエクソン 10 の認識に影響を与える。第 56 回日本先天代謝異常学会。11 月 12-15 日、仙台、2014

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
3. その他
なし

分担研究課題

マスキ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・スクリーニングが全国の自治体で事業化されて間もない状況であり、検査施設の検査精度はまだ充分ではない。日本マスキング学会技術部会が開発した「内部精度管理ツール」を用いて行われた調査では、カットオフ値の設定が適切でなく再採血率の高い検査施設もみられた。スクリーニングで発見された患者調査においては、患者情報が不十分であるため適切なカットオフ値の検討に利用出来ない事例もみられた。本研究で新たなスクリーニング指標が追加でき、再採血率を最小化し診断精度を高めるための二次検査法も開発できた。さらに倫理面に配慮した患者情報の収集に取り組み、検査施設から収集したデータと対応させてカットオフ値を再検討し、二次検査法の導入を進めていくことで、全国の検査施設においてスクリーニング精度を保証していくことが可能であると考えられた。

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)

る情報を収集する一方、それらの検査施設で有効利用出来るスクリーニング精度保証技術を開発することを目的とした。

B . 研究方法

研究協力者と以下の点について調査、及び分析法の開発を行った。調査にあたっては、可能な限り発見患者の個人情報収集しないように配慮した。

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キング (TMS スクリーニング) が全国の自治体事業として実施される一方で、新規参入検査施設の分析技術や対象疾患を理解した対応については、試験研究を担った先行検査施設や日本マスキング学会技術者部会 (学会技術者部会と略) からの支援が必要な状況である。特に検査精度の保証に関して、学会技術者部会や成育医療研究センター・マスキング研究室 (成育 MS 研) が中心となって取り組みが続けられている。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

1) 査施設の分析方法と検査値、及びスクリーニング精度の調査

花井らの報告書「平成 25 年度タンデムマス検査実施状況調査報告について - 内部精度管理の充実に向けた取り組み - 」に詳述

2) 検査施設のスクリーニング実績とカットオフ値に関連づけた発見患者データの調査

石毛らの報告書「タンデムマス・スクリーニング発見患者調査について」に詳述

3) 新しいスクリーニング指標の開発 (重松担当)
これまでのスクリーニング指標では発見が困難であった患者のデータを基に、適切なスクリー

ニング指標を開発し、有用性をシミュレーションした。

4) LC-MS/MS 法による二次検査法の開発(中島、重松担当)

偽陽性率の高い対象疾患を対象に、初回濾紙血を用いることにより対象疾患の化学診断情報が得られる二次検査法として、新開発の LC カラムを用いて分析条件を検討し、患者検体を用いて有用性を確認した。

C. 研究結果

1) 検査施設の分析方法と検査値、及びスクリーニング精度の調査

学会技術者部会が中心となって開発した「内部精度管理ツール」を用いて全国の 41 検査施設のうち 34 施設からデータを回収した。結果の詳細は該当報告書を参照されたい。重要な点としては、“いくつかの指標において、カットオフ値の設定が適正でない施設やばらつきの多い施設が複数存在”していたこと、“再採血率や総精査率が高い施設が散見”されたことであり、当該報告書では“適性”と記述されている平均的な再採血率も“家族の不安”を最小にするという点では不当に高率であった。

2) 検査施設のスクリーニング実績とカットオフ値に関連づけた発見患者データの調査

全国の 41 検査施設のうち 34 施設からデータを回収した。2012 年度と 2013 年度に 1,337,911 名の新生児を検査して 129 例の患者が発見されていた。ただ、確定診断の根拠については確実性が不足している施設もあった。患者や偽陽性例の初回濾紙血分析データを用いたカットオフ値の検討も行われたが、必ずしも適切なカットオフ値となっていない場合がみられた。

3) 新しいスクリーニング指標の開発

カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT-2) 欠損症

厚生労働省母子保健課長通知(雇児母発 0331 第 1 号「先天性代謝異常の新しい検査法(タンデ

ムマス法)について)」で 1 次対象疾患に含められなかった CPT-2 欠損症の乳幼児期突然死例が無視出来ない程度に学会などで報告されている。また、スクリーニング指標が適切でなかったため偽陰性となり後に急性脳症で急性発症した患者も経験した。これらのデータを収集し、偽陽性率を勘案した上で適切なスクリーニング指標として、(C16+C18:1)/C2 を開発し、福井大学の分析値を用いたカットオフ値も設定した。広島県でのスクリーニングでこの指標の精度が検証された³⁾。

メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症

ビタミン B12 反応型メチルマロン酸の見逃し例や B12 欠乏症例のデータを収集し、濾紙血中メチルマロン酸・3 ヒドロキシプロピオン酸濃度測定と組み合わせたスクリーニング指標とカットオフ値を開発した。軽症例を見逃さないためにはプロピオニルカルニチン(C3)のカットオフ値を出来るだけ低くし、また二次性カルニチン欠乏状態などによる C3 の低下をカバーするためにアセチルカルニチン(C2)との比 C3/C2 のカットオフ値も活用する必要があることが判明した。また、ホモシスチン尿症を伴う B12 反応型メチルマロン酸血症については、C3/メチオニン比が鋭敏な指標となることを示した⁵⁾。

4) LC-MS/MS 法による二次検査法の開発

分析方法と分析対象物の詳細については、研究協力者中島の報告書を参照されたい。患者検体を含む分析により、以下の対象疾患について LC-MS/MS 法による二次検査法を確立出来た。

メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症(図 1)

分析サンプル調整条件の検討を行い、GC/MS 法と同等の高い精度で濾紙血サンプル分析が可能であることを確認した。

グルタル酸血症 型(GA-1)(図 2)

新生児期の 3-ヒドロキシグルタル酸とグルタル酸の濃度を同時に高感度で測定出来る分析条件を決定した。患者の化学診断が可能であった。

メープルシロップ尿症(図 3)

アロイソロイシンを精度よく定量出来た。患者の化学診断が可能であった。

イソ吉草酸血症（図4）

抗生剤投与で増加するピバロイルカルニチンとイソバレリツカルニチンなどの異性体との分別定量が可能であった。

D. 考察

学会技術者部会が中心となって取り組んだ今回の調査により、全国の検査施設の検査体制には不十分な点が多々あることが判明した。これまで指摘されてきたとおり、使用されている分析機器や試薬、サンプル調製法が各施設で同一でないこともあり、施設毎に分析値がばらつくという現実がある。また、それぞれの施設の分析担当者が学会技術者部会主導の十分な研修とトレーニングを経て、本スクリーニング事業が開始されたわけではないという事情もある。

このような状況においては、権威ある精度保証機関が、調査情報を共有しつつ教育的な取り組みを行う必要があると考えられる。

この点で、学会技術者部会が開発した「内部精度管理ツール」は各検査施設での内部精度管理ツールとしても極めて有用である。今後とも全国全ての検査施設で使用され、また、精度管理センターとしての育成 MS 研での管理ツールとしても有効活用されるべきである。

また、各検査施設で採用されているスクリーニング指標とカットオフ値については、上記ツールでのデータを基礎とし、患者データの更なる収集を進め、適切で精度の高いものとする必要がある。また、患者の重症度によっても指標値の値が変化し、軽症型患者ではカットオフ値に近い値をとるのが一般的である。このため、患者の確定診断に関する情報が必要であるが、検査施設への情報収集だけではこのような情報を得るのは困難である。このように、倫理面での配慮を行いながら、患者情報を収集する研究体制にする必要性も明らかとなったので、次年度の研究に活かしたい。

今回の調査の回収率が必ずしも十分ではなかった一方、検査施設の担当者に積極的に検査の質

の向上へ取り組もうとする姿勢の感じられる調査でもあった。今回開発した新たなスクリーニング指標や二次検査法をこのような検査施設に導入してもらえる体制作りも必要であると考えられた。

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ばかりの状況では、いまだ検査体制や精度に不十分な点が多々ある。学会技術者部会やマススクリーニング研究室を中心とした調査及び支援活動を行うことによってスクリーニング精度を保証していくことが必要であり、本研究事業では倫理面に配慮して患者データを収集し患者データに基づいたスクリーニング指標やカットオフ値の開発を更に深化させていくことも重要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 重松陽介：血清および尿のアシルカルニチン分析．小児内科．46(4)；506-509，2014．

2) Hayashi H, Tokuriki S, Okuno T, Shigematsu Y, Yasushi A, Matsuyama G, Sawada K, Ohshima Y：Biotin and carnitine deficiency due to hypoallergenic formula nutrition in infants with milk allergy. *Pediatr Int.* 56(2)；286-288，2014．

3) 原圭一、但馬剛、小野浩明、津村弥来、岡田賢、佐倉伸夫、畑郁江、重松陽介：CPT II 欠損症の新生児スクリーニング．見逃し例経験後の指標変更の影響．*日本マス・スクリーニング学会誌*．24(3)；261-266，2014．

4) 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．(印刷中)

5) 重松陽介，畑 郁江，林 泰平，小野浩明，但馬 剛：二次検査法と組み合わせる実施するメチルマロン酸血症・プロピオン酸血症のタンデムマス・スクリーニング指標の検討．日本マス・スクリーニング学会誌．24(1);49-56，2014．

6) 畑 郁江，重松陽介：新生児期に特徴的なけいれん性疾患．先天代謝異常症．小児科．55(8);1175-1182，2014．

7) 重松陽介，畑 郁江：ピンポイント小児医療 タンデムマス・スクリーニングの二次検査 血清および尿のアシルカルニチン分析．小児内科．46(4);506-509，2014．

8) 小野浩明，但馬 剛，重松陽介，畑 郁江，原圭一，佐倉伸夫，吉井千代子，森岡千代美，阪本直美：新生児タンデムマス・スクリーニングで陽性とならず、1歳時ノロウイルス感染を契機に発症したビタミンB12反応性メチルマロン酸血症の1例．日本マス・スクリーニング学会誌．24(1);43-47，2014．

9) 西山将広，田中 司，藤田杏子，丸山あずさ，永瀬裕朗，竹田洋樹，上谷良行，重松陽介：ピボキシル基含有抗菌薬3日間投与によるカルニチン欠乏が関与した急性脳症の1例．日本小児科学会雑誌．118(5);812-818，2014．

2．学会発表

1) 稲岡一考，藤田 宏，中村しのぶ，竹島清美，笠原敏喜，竹内 真，和田芳直，小椋哲雄，藤峰慶徳，関根和人，原田正平，重松陽介：LC/MS/MSを用いた先天性副腎過形成症スクリーニングの確認検査．第39回医用マススペクトル学会．千葉市．2014.10．

2) 中島英規，石毛信之，穴澤 昭，奥山虎之，藤本純一郎，重松陽介，山口清次，原田正平．タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの現状と課題 タンデムマススクリーニングにおけるsecond tier testの開発．第39回医用マススペクトル学会．千葉市．2014.10．

3) 重松陽介，畑郁江：タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの現状と課題 タンデムマス・スクリーニングの診断精度の向上．第39回医用マススペクトル学会．千葉市．2014.10．

4) 重松陽介：小児の疾患とカルニチン．第51回日本小児アレルギー学会．四日市市．2014.11．

5) 田代恭子，石井宏美，木下幸恵，鈴谷由吏，柳内千尋，井上かおり，稲場美佐，青木久美子，但馬 剛，依藤 亨，重松陽介，猪口 隆洋，松石豊次郎，渡邊順子．当施設で診断した軽症型プロピオン酸血症7症例の検討．第41回日本マス・スクリーニング学会．広島市．2014.8．

6) 畑 郁江，西島節子，石上 毅，但馬 剛，重松陽介：タンデムマス・スクリーニングで発見されたイソ吉草酸血症女児の臨床経過．第41回日本マス・スクリーニング学会．広島市．2014.8．

7) 中島英規，前田堂子，鈴木恵美子，渡辺倫子，小須賀基通，奥山虎之，重松陽介，原田正平：二次検査応用に向けたLC-MSによる疾患マーカー分子分離分析系確立．第41回日本マス・スクリーニング学会．広島市．2014.8．

8) 重松陽介，畑 郁江：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．第41回日本マス・スクリーニング学会．広島市．2014.8．

9) 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．第41回日本マス・スクリーニング学会．広島市．2014.8．

10) 藤澤大輔，中村公俊，三淵浩，大浦敏博，重松陽介，依藤亨，笠原群生，堀川玲子，遠藤文夫：日本における有機酸血症の臨床的特徴と管理の現状．第117回日本小児科学会学術集会．名古屋市．2014.4．

11) 重松陽介：タンデムマス・スクリーニング全国導入の現状と早期診断・治療への期待．第56回日本先天代謝異常学会．仙台市．2014.11．

12) 石毛信之、渡辺和宏、長谷川智美、世良保美、石毛美夏、大和田操、北川照男：東京都のタンデムマス・スクリーニングにおけるイソ吉草酸家偽陽性例について .第 56 回日本先天代謝異常学会 . 仙台市 . 2014.11.

13) 中島英規、原田正平、石毛信之、穴澤昭、小須賀基通、藤本純一郎、山口清次、重松陽介、奥山虎之：新生児マススクリーニングにおける LC-MS による二次検査法開発 .第 56 回日本先天代謝異常学会 . 仙台市 . 2014.11.

14) 原圭一、但馬剛、小野浩明、岡田賢、佐倉伸夫、畑郁江、重松陽介：日本人初と考えられるメチルマロン酸血症 cbID 型の 1 歳男児 . 第 56 回日本先天代謝異常学会 . 仙台市 . 2014.11.

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
- 3 . その他 なし

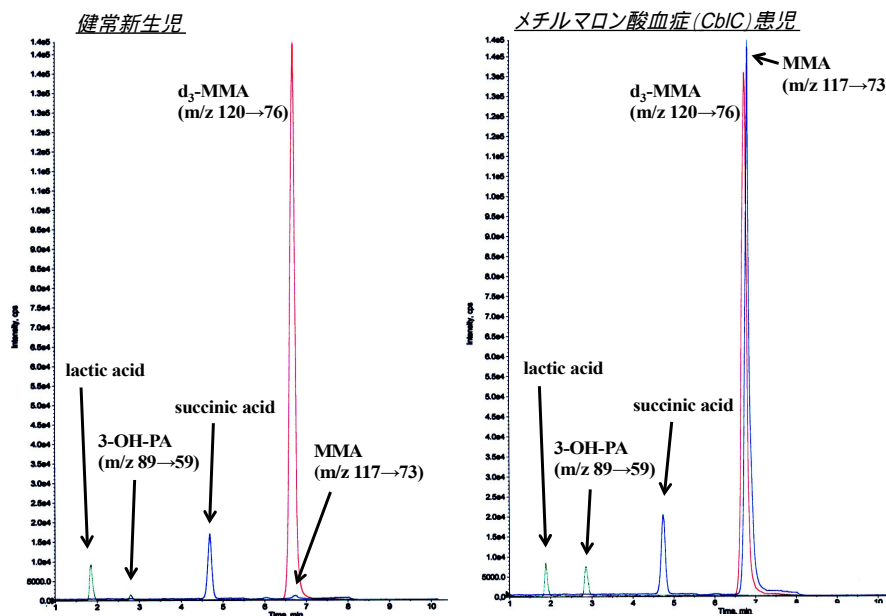


図1 LC-MS/MS (MRM) による濾紙血メチルマロン酸(MMA)と3-ヒドロキシプロピオン酸(3-OH-PA)の測定

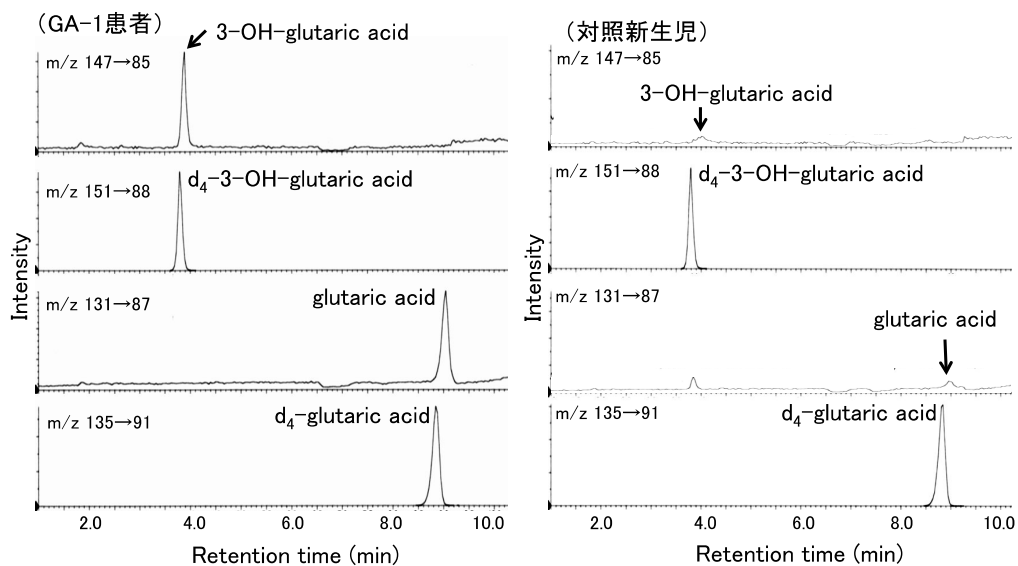


図2 GA-1患者のLC-MS/MS (MRM分析)による化学診断(濾紙血)

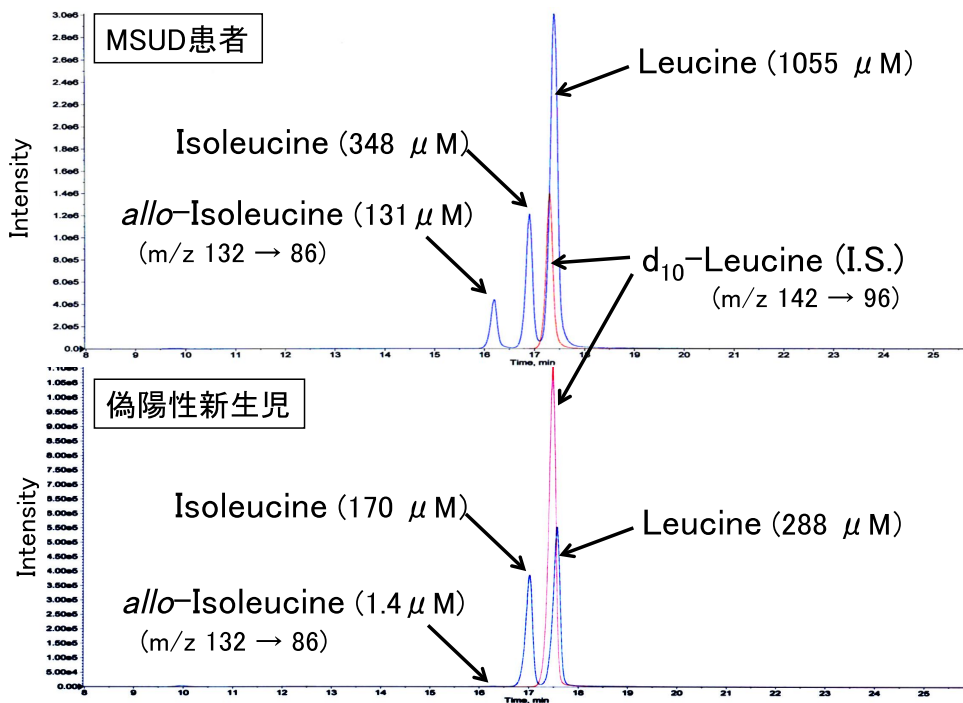


図3: MSUD患者のLC-MS/MS (MRM分析)による化学診断(濾紙血)

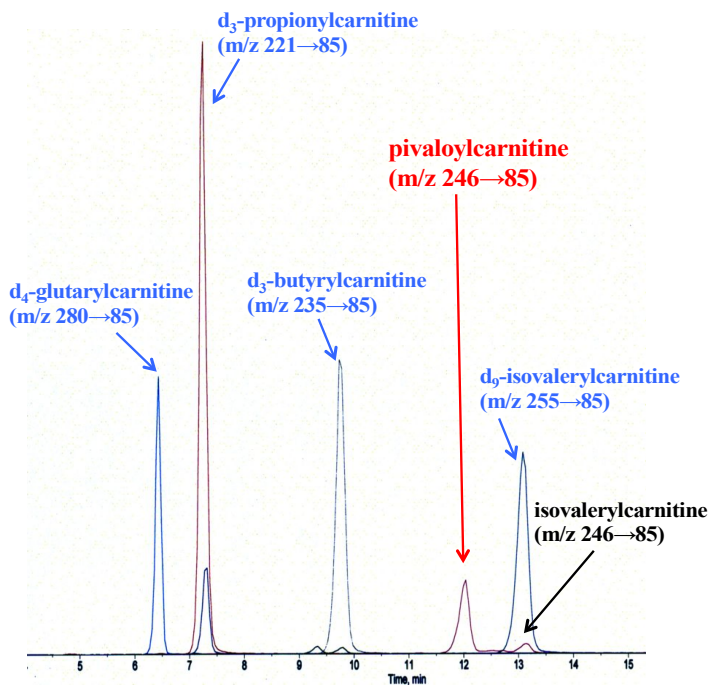


図4: LC-MS/MS (MRM分析) による抗生剤投与新生児濾紙血アシルカルニチン測定

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)

LC-MS による二次検査法開発

研究要旨

本邦では近年、新生児マススクリーニングにおいて質量分析装置の導入が進んだ。このスクリーニングで陽性となった場合、再採血や採尿を行った後、遺伝子検査を行ったり、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) を使った分析などが行われたりしているが、このような検査は全ての施設で行うことは困難であり、診断の迅速化を妨げる原因となっている。このことから精度の高い二次検査法の開発が望まれている。本研究では、全国で用いられている質量分析装置でも導入可能な二次検査法として、本邦で新開発され市販化に成功したマルチモードクロマトグラフィーを用いて、代謝疾患マーカーを分離・定量分析する系の開発を行った。この系では一般の検査施設での一次検査では判別が難しいアミノ酸類やアシルカルニチン類の異性体判別が可能であったことに加え、従来のクロマトグラフィーでは分離困難だった有機酸やそのグリシン抱合体の分析も可能であった。この方法は一般検査施設で導入されている質量分析装置に「カラム」を接続するのみで行うことが可能であることから、診断の迅速化につながるのではないかと期待される。

研究協力者

中島英規 (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・研究員)

A . 研究目的

本邦において新生児マススクリーニング (NBS) 検査施設で使用されている質量分析装置は、カラムによる分離を行うことが可能な高速液体クロマトグラフィー (HPLC: LC) と三連四重極型質量分析装置 (QqQ-MS) が組み合わされた LC-MS が用いられている。しかしながら検査施設では多数の全新生児検体を測定する必要性から、スループット性を上げるためカラム分離を行わず、フローインジェクションという方法で一次検査が行われている。本研究は、診断の迅速化を目指すために

二次検査法としてこれまで GC/MS を用いた分析や、誘導体化しなければ高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分離分析が困難だったアミノ酸、有機酸などの代謝疾患マーカー分子をマルチモードクロマトグラフィーを用いて LC-MS による分離分析系を国内では初めて開発・市販化に成功した。

B . 研究方法

一般に HPLC カラムの充填剤にはシリカゲルやポリマーを担体として表面修飾を行ったものが使用される。最も汎用されるのはシリカゲル表面のシリル基をオクタデシルシリル基 (ODS) として修飾された逆相クロマトグラフィーである。このクロマトグラフィーは非常に優秀で、食品、環

境分野ばかりか薬物分析等にも使用される。

現在質量分析装置による NBS では、アミノ酸代謝異常症、尿素サイクル代謝異常、有機酸代謝異常、脂肪酸代謝異常などが対象疾患であるが、これらの疾患マーカーはその代謝に関わる分子である。逆相クロマトグラフィーはその性質上、脂溶性の高い分子に対しては非常に有効であるが、質量分析装置によるマススクリーニングの対象疾患マーカーは水溶性のものが多く、一般に逆相クロマトグラフィーでは分離分析が困難であり、そのため煩雑な誘導体化方やガスクロマトグラフィーを用いた分析が行われてきた。本研究では Imtakt 社より市販化に成功したマルチモードクロマトグラフィーのカラムを用いた。このカラムはカラム充填剤担体表面を ODS による修飾を行うと同時に、陽イオン交換基、陰イオン交換基で「等価」に修飾したものが充填されている（図 1）。

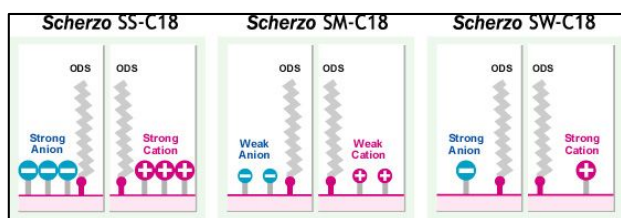


図 1 マルチモード担体表面構造

これまで海外メーカーからは陽イオン交換基あるいは陰イオン交換基いずれかで修飾されたものは市販化されていたが、「等価」に修飾することが非常に困難であり、Imtakt 社によって初めて市販化が成功した。この担体では、逆相クロマトグラフィーの性質と同時にイオン交換クロマトグラフィーの性質を持つことから、逆相クロマトグラフィーでは分離が困難だった様々な代謝疾患マーカーが分離分析することが可能となった。本研究における分離カラムは Imtakt 社製マルチモードカラム Scherzo SS-C18 (3.0 X 150 mm) を用い、グラディエント分離を行った。移動相には A pump: 0.5%ギ酸、B pump: (0.5 M ギ酸アンモニウム/0.5 M アンモニア = 9 : 1)/メタノール = 1 : 9 を用いた。つまり移動相 B へ移行するに従い、有機溶媒濃度を上げて ODS と相互作用する分

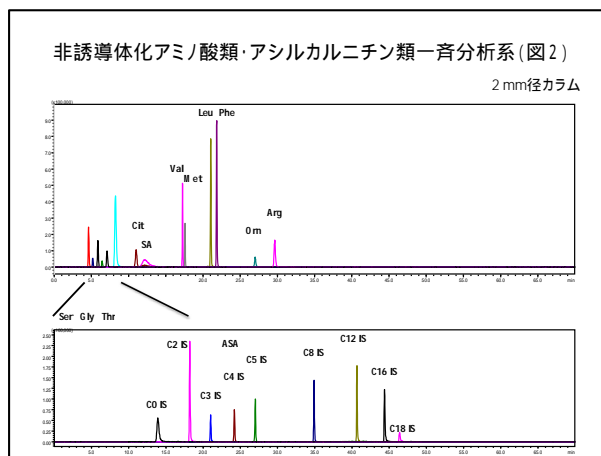
子を分離しつつ、イオン強度を上げてイオン交換基と相互作用する水溶性物質を分離するという方法である。測定対象分子によってグラディエント分析条件は変更した。流速は 0.4 mL/min、カラム温度は 37 °C とした。検出には島津 LCMS-8030 を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究では主に試薬として市販されている代謝疾患マーカー化合物を分析に用いたため、倫理面への配慮は特段必要ないと判断した。また市販されていない化合物については当研究室内で自己有機合成するか、株式会社ナード研究所から提供を受けた。実際の患者乾燥ろ紙血を用いた分析結果については、東京都予防医学協会石毛信之氏、福井大学医学部健康科学重松陽介教授より提供・実証いただいた。

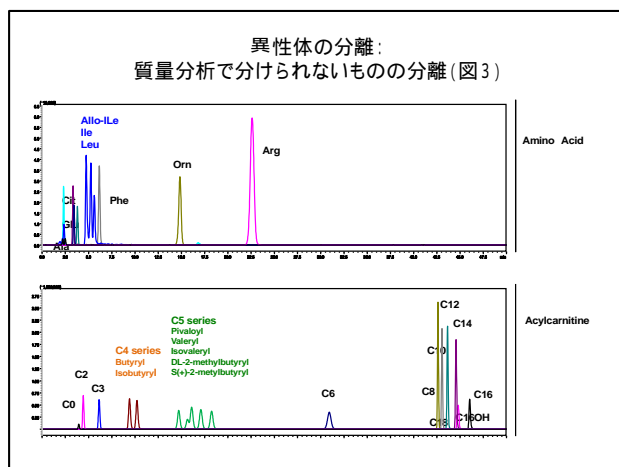
C. 研究結果

一般的な NBS において測定対象となるアミノ酸類・アシルカルニチン類は全て分離可能であった（図 2）。



またこの分離系では、メープルシロップ尿症のマーカー分子で一般の一次検査で行われるカラムを介さないフローインジェクションによる分析では判別が不可能な、アロイソロイシンの分離判別が可能であった。同様な例抗生剤投与時に高値となることで知られるイソバレリルカルニチンの異性体、特にピボシルカルニチンの分離判別

もが可能であった (図 3)



同様な例としてメチルマロン酸血症では、メチルマロン酸が血中で検出されるが、これは TCA サイクルの構成分子であるコハク酸と分子量が同一であるため質量分析装置のみでは判別不可能であるが、このクロマトグラフィーと併用することで分離分析が可能であった (data not shown)。この系では、これら分子ばかりでなく有機酸代謝異常症や脂肪酸代謝異常症とともに異常値を示すグリシン抱合体など他の疾患マーカーも分離分析及び判別定量が可能であった。例えば、プロピオン酸血症のマーカーである Propionylglycine、イソ吉草酸血症のマーカーである Isovalerylglycine、中鎖アシル - CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症のマーカーである Hexanoylglycine、ケトチオラーゼ欠損症、メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症のマーカーである Tiglylglycine、これと同一分子量の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のマーカーである 3-Methylcrotonylglycine など分離分析可能であったことから判別可能となったと考えられる。

D. 考察

これまでアミノ酸代謝異常症や尿素サイクル代謝異常症で異常値を示すアミノ酸の分析にはアミノ酸に特異な吸光吸収がないため、特異吸光や異性体分離を用意とするため、煩雑で測定値の

不確かさを増大させる要因になる誘導体化法による分析が行われてきた。

本研究によって、この測定値の不確かさ増大要因が極力少なくなる非誘導体化法で既に検査施設に導入されている質量分析装置を用いてアミノ酸の判別が可能となった。特にメープルシロップ尿症で判別が重要なアロイソロイシンに加え、ロイシン、イソロイシンの分離分析が可能になったことは非常に有益であると思われる。マルチモードクロマトグラフィーでは、逆相クロマトグラフィーによるカラム担体との相互作用要因の多様性がこのようなことを可能にしたと考えられる。

同様に検査施設で問題となっているピボキシル含有抗生剤投与時の C5 アシルカルニチン高値とイソ吉草酸血症の C5 アシルカルニチン高値について、その分別判定が可能となったことは再採血率低下に非常に有用と考えられる。

またこれまで有機酸、脂肪酸の分析には誘導体化して GC/MS 分析することが必須であったが、マルチモードクロマトグラフィーによって測定可能なものが増えてくるとと思われる。

また、今回条件決定した移動相、A pump: 0.5% ギ酸、B pump: (0.5 M ギ酸アンモニウム/0.5 M アンモニウム = 9 : 1)/メタノール = 1 : 9 を用いれば HPLC の条件変更をするのみでカラム交換等行わずに様々な代謝疾患マーカーの分離・定量分析が可能になるとと思われる。検査施設の負担を減らす意味でも有用と考えられる。加えて、初回乾燥ろ紙血検体を用いて分析できる点は有利な点であり発展の可能性が高い。

今後、実際の患者検体を用いた実証試験、判定値の決定等必要になって来るとと思われる。また実際に検査施設で二次検査が行われるなら、精度管理体制の構築も必要になって来ると考えられる。

E. 結論

今回開発した方法を用いれば、一次検査で陽性となった検体、つまりこれまでは新生児家族に依

頼して再採血あるいは採尿して遺伝子検査や GC/MS によって診断しなければならなかったような症例でも、初回採取した乾燥ろ紙血検体で LC を併用した LC-MS によって高精度な二次検査法が可能になると考えられる。初回乾燥ろ紙血検体で判定可能になるということは、再採血あるいは採尿時に新生児家族の同意、説明が不要になるので、家族の負担軽減にも役立つ。初回乾燥ろ紙血検体を同一施設内で分析できるので診断の迅速化にもつながることが期待される。

F．健康危険情報

該当事項なし

G．研究発表

1．論文発表

なし

2．学会発表

1) 日本マス・スクリーニング学会 第 41 回日本マス・スクリーニング学会学術集会、広島県、広島大学広仁会館、平成 26 年 8 月 22 日、23 日

2) 日本医用マススペクトル学会 第 39 回年会シ

ンポジウム、千葉県三井ガーデンホテル千葉、平成 26 年 10 月 16 日、17 日

3) 日本先天代謝異常学会 第 56 回日本先天代謝異常学会総会 第 12 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、宮城県、江陽グランドホテル、平成 26 年 11 月 13 日～15 日

H．知的財産権の出願・登録状況

1．特許取得

該当なし

2．実用新案登録

該当なし

3．その他

株式会社積水メディカルより本成果の一部を応用した新生児マススクリーニングキット “アミノ酸・アシルカルニチン測定用内部標準液セット” NeoSMAAT™ ” 2015 年 2 月より上市予定

分担研究課題

マスキリ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)

平成 25 年度タンデムマス検査実施状況調査報告について

- 内部精度管理の充実に向けた取組み -

研究要旨

日本マスキリング学会技術部会が中心となって、タンデムマス (TMS) による新生児マスキリング (TMSスクリーニング) の内部精度管理を充実するため、内部精度管理ツールを配布し、平成25年度の各施設の正常値分布およびTMS実施状況の調査を行った。その結果、内部精度管理ツールにより得られたTMSの指標ごと、施設ごとの正常値の分布とカットオフ値の比較や再採血率と精査率などのTMS実施状況の比較により、それぞれの特徴や問題点などが明らかとなり、各施設での適正なカットオフ値の設定に向けて、有用な情報提供が可能となった。今後も継続的に各施設の正常値分布調査を実施するためにはデータベースの構築と解析システムの整備が喫緊の課題である。

研究協力者

花井潤師 (札幌市衛生研究所・母子スクリーニング担当課長)

福士 勝 (札幌イムノダイアグノスティックラボラトリー・所長)

石毛信之 (東京都予防医学協会・主査)

田崎隆二 (化学及血清療法研究所・検査総轄)

B . 研究方法

正常値分布の作成には、ヒストグラム作成シート¹⁾を改良し、1回の処理で、26項目の測定指標について、ヒストグラムとともに基礎統計量および集計一覧表を出力することが可能な EXCEL のワークシート「一括ヒストグラム作成シート」を作成し、各検査施設に配布した。また、各検査施設から、平成 25 年度の TMS スクリーニング初回検査結果について、集計一覧表を作成後、技術部会で回収し、別途作成した EXCEL ワークシート「集計・解析シート」により解析を行った。さらに、平成 25 年度 TMS スクリーニング実施状況として、初回検査件数、再採血数、精査数、発見患者数などの調査を行った。また、月別の測定値分布の確認のための「月別集計シート」を配布した(図 1)。

A . 研究目的

タンデムマス・スクリーニング (TMS スクリーニング) では、検査する指標が多種類であるとともに、タンデムマス検査機器の影響により測定値が変動しやすいことから、各検査施設における内部精度管理が極めて重要である。日本マスキリング学会技術部会では、各施設の内部精度管理の充実に向けて、内部精度管理ツールを配布するとともに、平成 25 年度の各施設の正常値分布および TMS スクリーニングの実施状況の調査を行い、現状と課題について検討した。

C . 研究結果

1) 正常値分布調査

41 施設中 34 施設 (83%) から回答があった。

正常値分布調査では、各施設から、各指標の 1, 10, 50, 90, 99 パーセンタイル(%)値を集計一覧表を用いて回収した。集計結果は、「集計・解析シート」を用いて、各指標の箱ひげ図として表した(図2)。また、タンデム機器、内標・キットなどの測定条件、カットオフ値、99%値により、ソートすることで、指標ごとの特徴を把握することが可能であった。

解析の結果、Leu+Ileu、C3、C3/C2、C5-DC において、カットオフ値と 99%値との関係から、カットオフ値の設定が適正ではない施設があることが確認された。また、C8/C10、C14:1/C2 比において、ばらつきが大きい施設が確認された。

2) TMS 検査実施状況調査

(1) 一次疾患全体の集計結果

41 施設中 33 施設 (80%) から回答があった。

初回検査件数は、全施設合計で 872,085 件であった。一次疾患の全施設合計は、再採血数 3,386 件 (0.39%)、即精査数 155 件 (0.018%)、再採血後精査数 253 件 (0.029%)、総精査数 408 件 (0.047%) であった。また、発見患者数は 54 例で発見頻度 1:16,150 であった(図3)。また、二次疾患群での全施設合計は、再採血数 939 件 (0.13%)、即精査数 23 件 (0.003%)、再採血後精査数 49 件 (0.006%)、総精査数 72 件 (0.008%) であった。また、発見患者数は 14 例で発見頻度 1:62,292 であった(図4)。

各施設ごとの集計結果(図5)において、再採血率が0.6%を上回ったのは8施設であった。また、総精査率が0.1%を上回ったのは4施設であった。

(2) 一次疾患検査指標の施設別結果

C5:一部の施設で即精査率が高い。

C5-OH:再採血から精査になる割合が高い。

C14:1:総精査率が高い施設は、再採血せずに即精査としている施設である。

C0/(C16+C18):総精査率が高い施設で、カットオフ値が低い傾向がある。

D. 考察

「集計・解析シート」を用いて、各指標の正常値の分布について、箱ひげ図を用いて比較することにより、タンデムマス検査における以下の解析が可能となった。

カットオフ値と 99%値との関係の比較によるカットオフ値の適正さの確認

箱ひげ図の分布の幅の比較による測定値のばらつきの度合い(精密度)の確認

中央値の比較により、測定値の正しさ(正確度)の確認

これらの解析により、いくつかの指標において、カットオフ値の設定が適正でない施設やばらつきの多い施設が複数存在することが確認された。現時点では、TMS スクリーニングを開始したばかりの施設も含まれており、検査の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。今回行った調査を、毎年継続的に行うことにより、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、毎日、毎月、半年ごとなど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ことが確認された。

TMS 検査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、厚労省研究班で作成したタンデムマス Q&A²⁾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 PPV から推定される適正な精査率 0.05%の範囲³⁾となっていた。しかしながら、施設ごとの集計結果では再採血率や総精査率が高い施設が散見されており、各施設で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、その原因を推定する必要性が確認された。

一次疾患検査指標の施設別の結果からは、タンデムマス検査やカットオフ値設定が原因と推定

された再採血率等の高値の他に、検査以外が原因と推定される再採血等の高値が確認された指標があった（ピボキシル基含有薬剤による C5 偽陽性、低体重児による C5-OH 高値の遷延など）。

E. 結論

TMS スクリーニングは、これまでのスクリーニングと比べ、各施設での内部精度管理が重要となる。各施設では、今回配布した内部精度管理ツールを利用して、定期的な検査データの確認を行うとともに、全国集計結果との比較を行うなど、自施設の現状を詳細に分析することにより、各施設におけるカットオフ値の適正さの確認が可能となった。今後も継続的に各施設の正常値分布調査を実施するためにはデータベースの構築と解析システムの整備が喫緊の課題である。

G. 研究発表

1. 学会発表

1) 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り組み - .日本マススクリーニング学会, 広島県広島市, 2014/8/22-23.

引用文献

- 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.

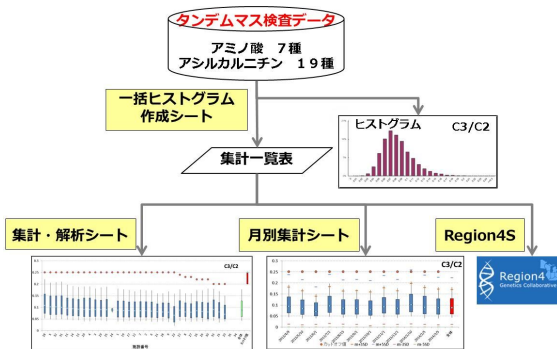


図1 タンデムマス検査用 内部精度管理ツールの関連性

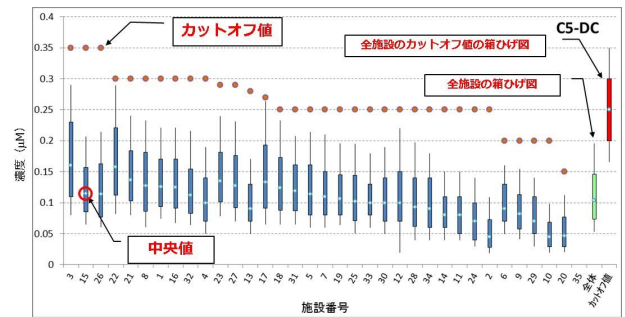
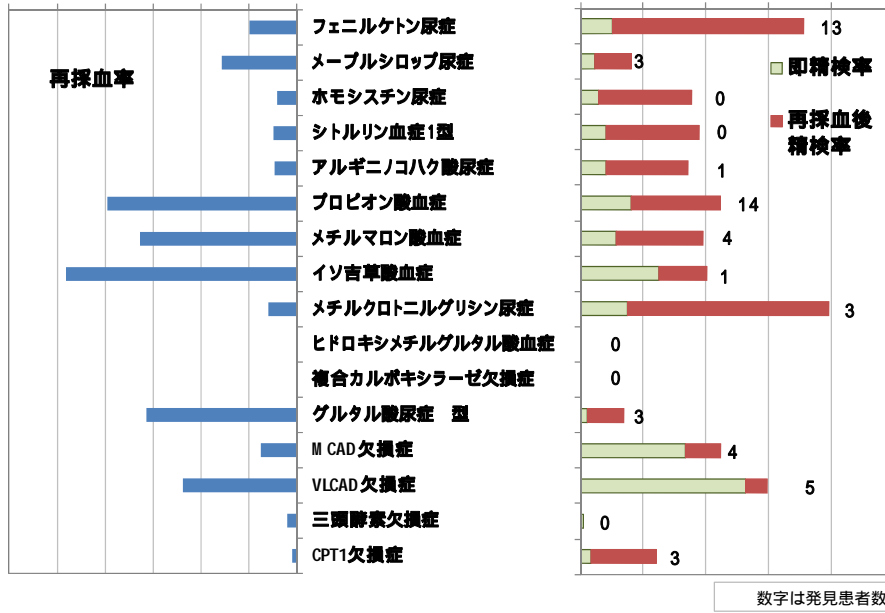


図2 正常値分布調査 集計チャート出力例 (C5-DC, カットオフ値ソート結果)

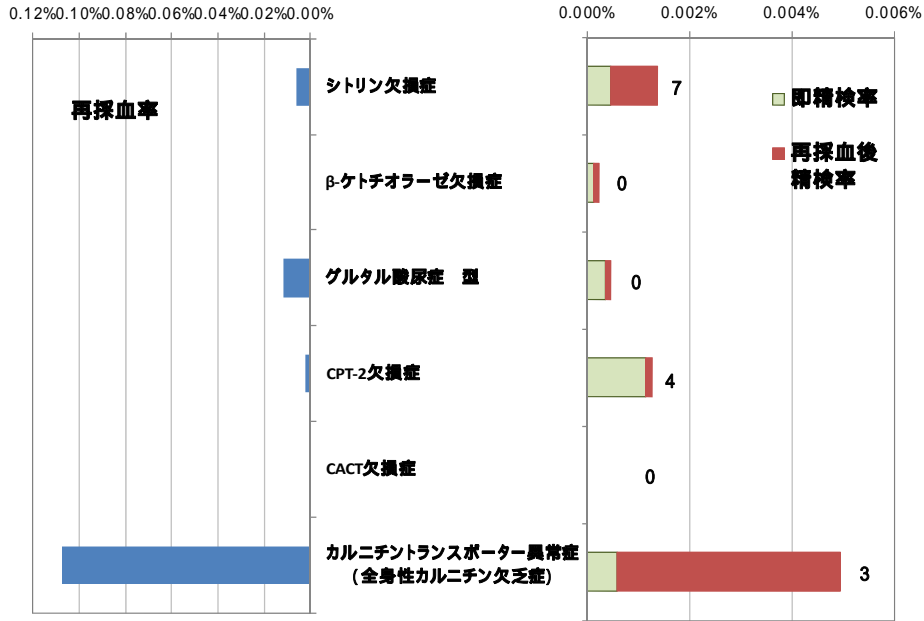
0.12% 0.10% 0.08% 0.06% 0.04% 0.02% 0.00%

0.000% 0.002% 0.004% 0.006% 0.008% 0.010%



項目	カットオフ値	初回検査		陽性数	再探血数	即精検数	再探血後精検数	総精検数	発見患者数	陽性率	再探血率	即精検率	再探血後精検率	総精査率	発見頻度	PPV
		初回検査	即精査													
フェニルケトン尿症	Phe	138.64	476.87	241	172	9	53	62	13	0.03%	0.020%	0.001%	0.006%	0.007%	1:67,083	20.97%
メーブルシロップ尿症	Leu+Ile	345.61	532.87	1,785	274	4	10	14	3	0.20%	0.031%	0.000%	0.001%	0.002%	1:290,695	21.43%
ホモシスチン尿症	Met	68.64	178.37	103	73	5	26	31	0	0.01%	0.008%	0.001%	0.003%	0.004%	-	-
シトルリン血症1型	Cit	77.30	260.91	148	87	7	26	33	0	0.02%	0.010%	0.001%	0.003%	0.004%	-	-
アルギニコハク酸血症	Cit	76.91	259.50	136	80	7	23	30	1	0.02%	0.009%	0.001%	0.003%	0.003%	1:872,085	3.33%
プロピオン酸血症	C3	3.82	7.27	10,515	691	14	25	39	14	1.21%	0.079%	0.002%	0.003%	0.004%	1:62,292	35.90%
メチルマロン酸血症	C3/C2	0.24	0.23	622	570	10	24	34	4	0.07%	0.065%	0.001%	0.003%	0.004%	1:218,021	11.76%
イソ吉草酸血症	C5	1.00	4.27	880	841	22	13	35	1	0.10%	0.096%	0.003%	0.001%	0.004%	1:872,085	2.86%
メチルクロニルグリシン尿症	C5-OH	0.98	1.88	123	105	13	56	69	3	0.01%	0.012%	0.001%	0.006%	0.008%	1:290,695	4.35%
ヒドロキシメチルグルタル酸血症		0.96	1.50	119	0	0	0	0	0	0.01%	0.000%	0.000%	0.000%	0.000%	-	-
複合カルボキシルーゼ欠損症		0.96	2.00	118	0	0	0	0	0	0.01%	0.000%	0.000%	0.000%	0.000%	-	-
グルタル酸血症 型	C5-DC	0.27	0.13	1,172	547	2	10	12	3	0.13%	0.063%	0.000%	0.001%	0.001%	1:290,695	25.00%
MCAD欠損症	C8	0.29	0.48	383	131	29	10	39	4	0.04%	0.015%	0.003%	0.001%	0.004%	1:218,021	10.26%
VLCAD欠損症	C14:1	0.36	0.75	531	413	46	6	52	5	0.06%	0.047%	0.005%	0.001%	0.006%	1:174,417	9.62%
三頭酵素欠損症	C16-OH	0.07	0.22	212	34	1	0	1	0	0.02%	0.004%	0.000%	-	0.000%	-	-
CPT1欠損症	C0/(C16+C18)	79.10	25.00	30	18	3	18	21	3	0.00%	0.002%	0.000%	0.002%	0.002%	1:290,695	14.29%
全体	2013年度検体数	872,085		36,117	3,386	155	253	408	54	4.14%	0.39%	0.018%	0.029%	0.047%	1:16,150	13.24%

図3. タンデムマス検査 平成25年度 疾患別集計結果 (一次疾患)



数字は発見患者数

項目	初回検査	カットオフ値		陽性数	再探血数	即精検査数	再探血後精検査数	総精検査数	発見患者数	陽性率	再探血率	即精検査率	再探血後精検査率	総精査率	発見頻度	PPV
		初回検査	即精検査													
シトリン欠損症	Cit	65.36		178	51	4	8	12	7	0.02%	0.006%	0.000%	0.001%	0.001%	1:124,584	58.33%
β-ケトオラーゼ欠損症	C5-OH	0.92		132	6	1	1	2	0	0.02%	-	-	-	-	-	-
グルタル酸尿症 型	C8	0.29		323	104	3	1	4	0	0.04%	0.012%	0.000%	0.000%	0.000%	-	-
CPT-2欠損症	(C16+C18:1)/C2	0.47	0.81	121	21	10	1	11	4	0.01%	0.002%	0.001%	0.000%	0.001%	1:218,021	36.36%
CACT欠損症	C16	3.11	6.67	85,883	0	0	0	0	0	9.85%	-	-	-	-	-	-
カルニチントランスポーター異常症 (全身性カルニチン欠乏症)	C0	7.72	3.33	2,569	939	5	38	43	3	0.29%	0.108%	0.001%	0.004%	0.005%	1:290,695	6.98%
全体	2013年度検体数	872,085		90,160	1,121	23	49	72	14	10.34%	0.13%	0.003%	0.006%	0.008%	1:62,292	19.44%

図4. タンデムマス検査 平成25年度 疾患別集計結果 (二次疾患)

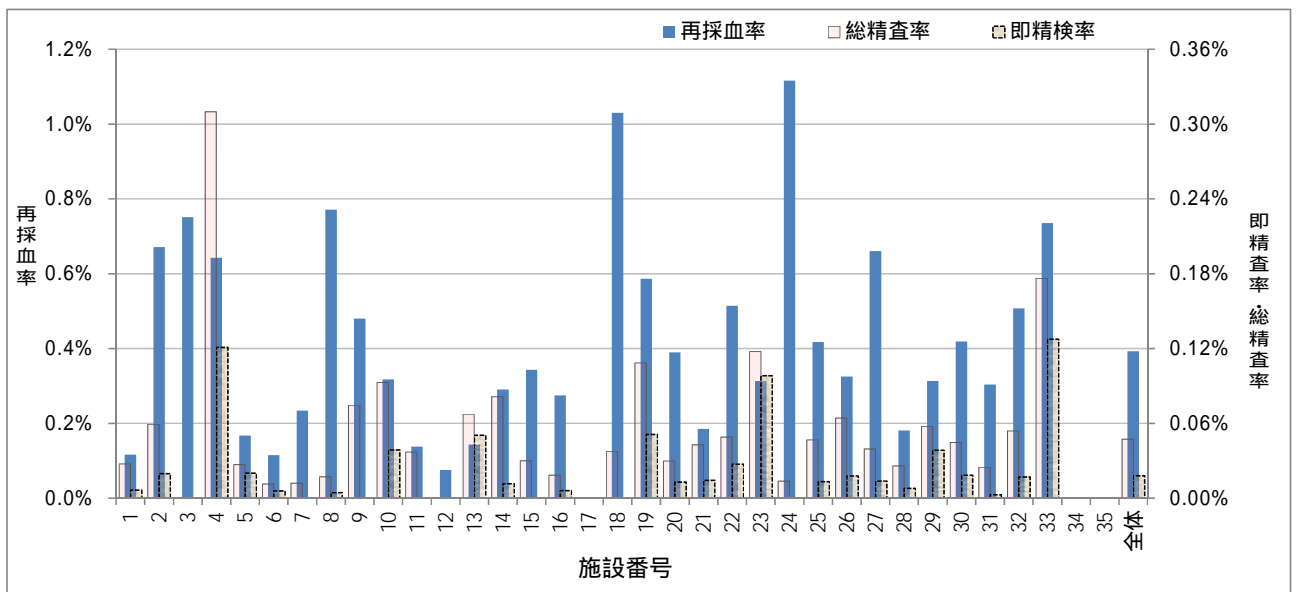


図5. タンデムマス検査 平成25年度 施設別集計結果 (一次疾患)

分担研究課題

マスキ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)

タンデムマス・スクリーニング発見患者調査について

研究要旨

日本マスキング学会技術部会と連携して、2012年度と2013年度のタンデムマス (TMS) スクリーニング精査例について、全国のTMSスクリーニング検査施設41施設と対象に精査例の調査を行った。その結果、34施設 (82.9%) から回答があり、二年間で総検査数1,337,911名の新生児を検査して129例の患者が発見されたことが判明した。また、今回初めて、これらの患者ならびに偽陽性例の初回検査データが集約された。国内患者の初回検査データを欧米諸国のデータと比較すると、各疾患の指標の分布やカットオフ値は必ずしも一致しないことが明らかになった。したがって、本スクリーニングの判定基準の適正化による検査精度向上を試みるには、日本国内の患者および偽陽性例の検査データについて、継続的な集約体制とデータベースの構築、ならびにその解析手法の確立が必須であることが示された。

研究協力者

石毛信之 (東京都予防医学協会・主査)
花井潤師 (札幌市衛生研究所・課長)
福士 勝 (札幌イムノダイアグノスティックラ
ボラトリー・所長)
田崎隆二 (化学及血清療法研究所・検査総轄)

度、疑われた疾患名、精査結果、確定診断名、初回検査データの調査を行った。記入フォームは e-mail で送付し、分担研究者宛に返信することを依頼した。

C . 研究結果

A . 研究目的

わが国のタンデムマス・スクリーニング (TMS スクリーニング) の精度向上を目的として、日本マスキング学会技術部会と連携し、全国のTMS検査機関を対象に2012と2013年度の発見患者調査を行った。

B . 研究方法

全国のスクリーニング検査施設 41 施設にデータの記入フォームを送付し、2012 年度と 2013 年度における本法の全精査例について、精査依頼年

41 施設中 34 施設 (82.9%) から回答があり、二年間で総検査数 1,337,911 名の新生児を検査して 129 例の患者が発見された (発見頻度 : 1/10,400) ことが判明した (表 1)。2012 年度 ~ 2013 年度に発見された疾患の発見頻度は、発見患者数が多かった疾患では以前に行われたパイロットスタディで得られた頻度とほぼ同様であった (表 2)。

次に、発見患者の初回検査データと偽陽性例のデータを、日本マスキング学会技術部会で 2013 年度に実施した正常値分布調査の集計チャートにプロットした (図 1、添付資料)。患者と偽陽性例の初回検査データを比較すると、カットオフ値付近で同等の値を示す例が多い疾患もあ

った。プロピオン酸血症・メチルマロン酸血症では、指標が比較的高値であっても偽陽性と診断されている例も少なくなかった。低出生体重児のC5-OH 高値遷延例など検査精度以外の要因で指標が高値を呈する例が多い疾患ではカットオフ値のみで患者と偽陽性例を区別することは困難であった。

一方、今回集約したデータと欧米諸国の集約データベース (Region 4 Stork、<http://www.clir-r4s.org/>) における各疾患の指標の分布ならびに適正カットオフ値範囲 (Target Range) を比較すると、いずれの指標においても、国内の現状と必ずしも一致しないことが明らかとなった (図2)。

D. 考察

わが国と欧米では人種的な差異に加えて、採血日齢の差もあるので、初回検査データには差が生じうると考えられる。TMS スクリーニングの判定基準の適正化による検査精度向上のためには、日本国内の患者・偽陽性例の検査データを詳細に解析する必要がある。

E. 結論

わが国のタンデムマス・スクリーニングの検査

精度向上のためには、日本国内の患者・偽陽性例の検査データを集約するデータベースならびに解析システムの構築と、継続的なデータ集約体制の構築が必須であることが示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 新生児乾燥ろ紙血 C5 高値例の LC-MS/MS 法による 2 次検査法の検討. 日本マススクリーニング学会, 広島県広島市, 2014/8/22-23.

2) Newborn screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry on over 300,000 babies in Tokyo, Japan. Innsbruck, Tyrol, Austria, 2014/9/2-5.

3) 東京都のタンデムマス・スクリーニングにおけるイソ吉草酸血症偽陽性例について. 日本先天代謝異常学会, 宮城県仙台市, 2014/11/13-15.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

表 1. タンデムマス・スクリーニング実施成績 (2012 年度～2013 年度)

年度	検査施設数*	検査数**	発見患者数***	頻度
2012	17	484,000	45	1/10,800
2013	34	853,911	84	1/10,200
計		1,337,911	129	1/10,400
一次対象疾患(16疾患)のみ			105	1/12,800

*: 回答があった検査施設数 **: 回答があった施設の検査数の合計 ***: 診断が確定した患者数(経過観察等は含まない)

表 2. 発見された患者数とその発生頻度ならびに偽陽性数

アミノ酸代謝異常症	発見患者数 (偽陽性数)						発見頻度 (2012+2013)	有機酸代謝異常症	発見患者数 (偽陽性数)						発見頻度 (2012+2013)
	2012	2013		2012+2013		2012			2013		2012+2013				
PKU	8	(7)	19	(6)	27	(13)	1/49,600	PA	9	(11)	14	(13)	23	(24)	1/58,200
MSUD	0	(3)	4	(3)	4	(6)	1/334,500	MMA	3	(11)	5	(13)	8	(24)	1/167,300
HCU	1	(3)	1	(2)	2	(5)	1/669,000	IVA	0	(5)	1	(11)	1	(16)	1/1,338,000
Cit1	0	(3)	2	(12)	2	(15)	1/669,000	MCD	0	(11)	1	(41)	1	(52)	1/1,338,000
Citrin	4	(3)	7	(12)	11	(15)	1/121,700	MCC	2	(11)	4	(41)	6	(52)	1/223,000
ASA	0	(0)	1	(0)	1	(0)	1/1,338,000	GA1	0	(5)	3	(4)	3	(9)	1/446,000
Tyr1	0	(0)	0	(1)	0	(1)	-	計	14	(32)	28	(69)	42	(101)	1/31,900
計	13	(16)	34	(24)	47	(40)	1/28,500								

脂肪酸代謝異常症	発見患者数 (偽陽性数)						発見頻度 (2012+2013)
	2012	2013		2012+2013			
MCADD	9	(2)	5	(9)	14	(11)	1/95,600
VLCADD	3	(9)	5	(33)	8	(42)	1/167,300
TFP	2	(0)	0	(0)	2	(0)	1/669,000
CPT1	0	(3)	3	(13)	3	(16)	1/446,000
CPT2	1	(2)	5	(9)	6	(11)	1/223,000
CTD	1	(3)	2	(26)	3	(29)	1/446,000
GA2	1	(1)	0	(5)	1	(6)	-
計	17	(20)	20	(95)	37	(115)	1/36,200
その他							
3MGCA1	1		0		1		
PCD	0		1		1		
HSD10	0		1		1		

PKU: フェニルケトン尿症, MSUD:メーブルシロップ尿症, HCU: ホモシスチン尿症, Cit1: シトルリン血症 1 型, Citrin: シトリン欠損症, ASA: アルギニノコハク酸尿症, Tyr1: チロジン血症 1 型, PA: プロピオン酸血症, MMA: メチルマロン酸血症, IVA: イソ吉草酸血症, MCD: 複合カルボキシラーゼ欠損症, MCC: メチルクロトニルグリシン尿症, GA1: グルタル酸血症 1 型, MCADD: 中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症, VLCADD: 極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症, TFP: 三頭酵素欠損症, CPT1: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 1 欠損症, CPT2: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 2 欠損症, CTD: カルニチントランスポーター欠損症, GA2: グルタル酸血症 2 型, 3MGCA1: 3-メチルグルタコン酸尿症ヒドラーゼ欠損症, PCD: ビルビン酸カルボキシラーゼ欠損症, HSD10: 2-メチル-3-ヒドロキシブチリル CoA 脱水素酵素欠損症

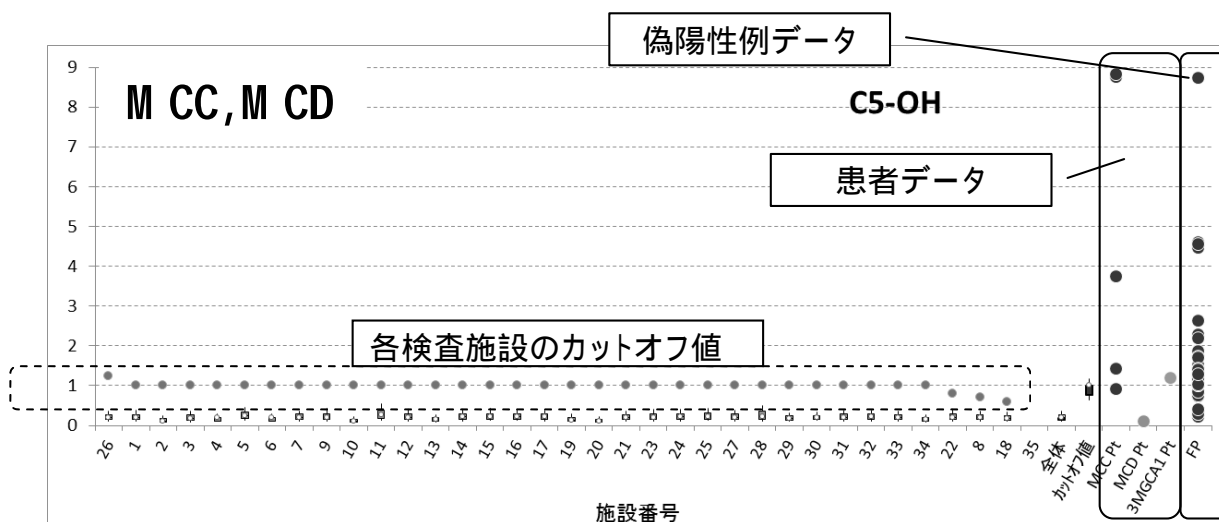
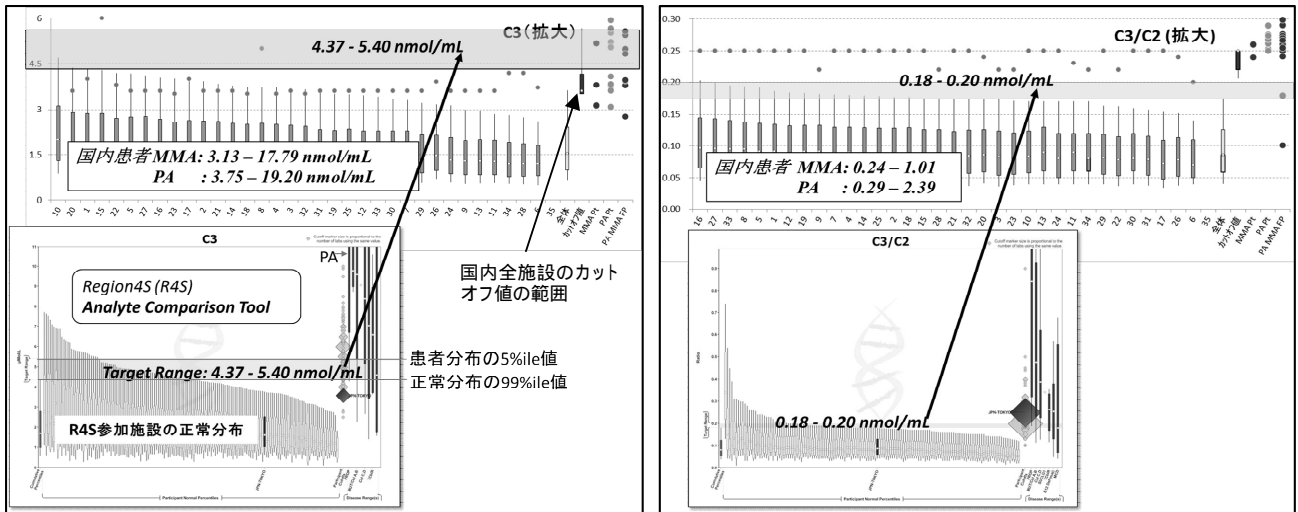


図 1 正常値分布調査の集計チャートにプロットした患者および偽陽性例データ (例: MCC, MCD)

a) プロピオン酸血症/メチルマロン酸血症 :



b) 極長鎖アシル - CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症 :

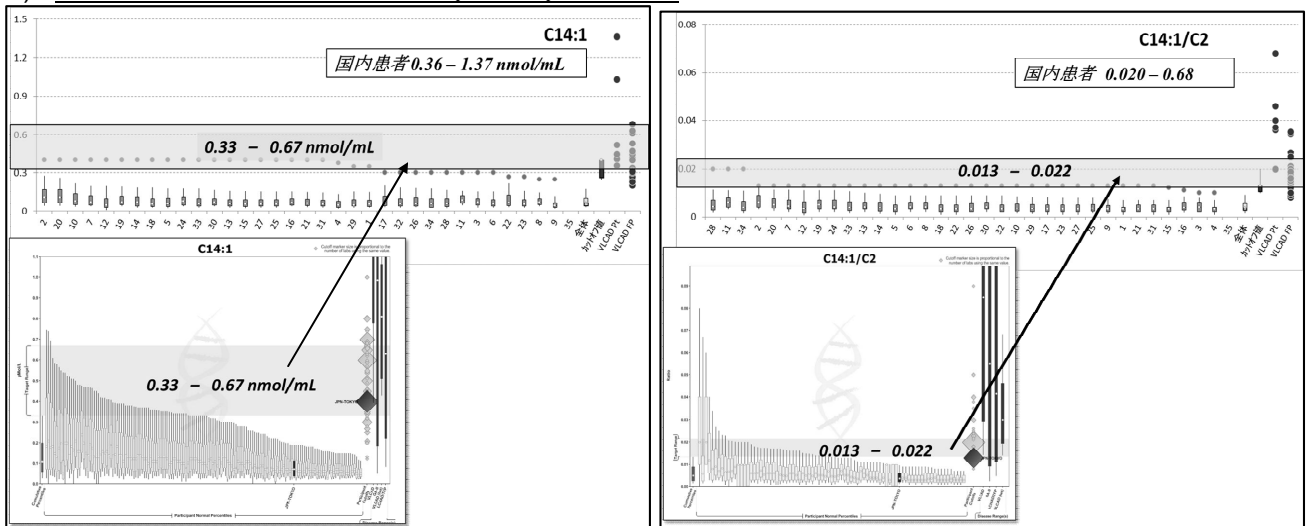


図 2 Region 4S との比較

- PA/MMA : 国内 PA 患者では C3 欧米よりも低値の群が存在している。C3, C3/C2 とともに国内施設のカットオフ値は R4S の Target Range とは異なっている。
- VLCADD: 国内 VLCADD 患者の C14:1 は欧米の患者よりも低値の症例が多く認められる。C14:1、C14:1/C2 比とともにカットオフ値は R4S の Target Range の下限に相当している。

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）

新生児マススクリーニングの標準化 -海外の動向と我が国の現状-

研究要旨

新生児マススクリーニング（NBS）の検査施設、精度保証システム、NBSシステムの評価および検査法などの標準化に関する海外の動向とわが国の現状を調査し、今後のNBSの検査精度の向上に必要な事項を検討した。わが国の課題として、検査施設では一定レベル以上の質の確保、NBSシステムの評価では実施主体の明確化、タンデムマス・スクリーニング検査法の標準化では標準濾紙血液による施設間差の低減とRegion 4 Storkプロジェクトの手法を用いた検査精度の向上などが明らかになった。

研究協力者

福士 勝（札幌 IDL・所長）
石毛信之（東京都予防医学協会・主査）
田崎隆二（化学及血清療法研究所・検査総轄）
花井潤師（札幌市衛生研究所・課長）

A．研究目的

検査施設、精度保証システム、スクリーニングシステムの評価方法、検査法の標準化における海外の動向と我が国の現状を調査することにより、新生児マススクリーニング（NBS）検査施設の精度向上のための方策を検討する。

B．研究方法

欧米における検査施設基準、精度保証システム、NBS システムの評価方法、検査法の標準化の動向を国際学会報告や関連ホームページから収集するとともに、我が国の現状はNBS 検査施設へアンケート調査により行った。タンデムマス・スクリーニング（TMS スクリーニング）検査の標準化の検討では標準濾紙血液を作成し、協力が得られた検査施設のデータからその有効性を検討した。

C．研究結果

1）新生児マススクリーニング検査施設

アメリカではClinical Laboratory Improvement Amendments:1988（CLIA；臨床検査改善修正条項）が規定する基準をクリアした認証検査施設のみがNBSを実施できる。ヨーロッパの検査施設も国内法令に基づきISO15189；2012（Medical laboratories Requirements for quality and competence；臨床検査室 品質と能力に関する要求事項）をクリアし認証されることが必須となっている。一方、我が国では一般的な検査が実施できる検査施設であればどこでも検査受託が可能な状況にあり、自治体によっては年度ごとに一般競争入札が行われて検査受託施設が年度ごとに変更されている。臨床検査技師等に関する法律により規定されている通常の臨床検査受託に必須な登録衛生検査所の認定を受けている施設は43%であった。また、日本マススクリーニング学会のガイドライン；NBS 検査施設基準・TMS スクリーニング検査施設基準があるものの法的な規制ではないため検査受託施設が基準をどの程度クリアしているは不明である。

2）スクリーニングシステムの機能評価

検査受託施設における NBS システムの評価と改善には、採血（日齢、適切な濾紙採血状況）、検体送付（採血から検体送付・検査機関受付までの所要日数）、検査（検査法の感度・特異度、陽性・陰性的中率等）、判定・報告（検体受付から判定報告までの所要日数）、精査受診（スクリーニング陽性判定から受診までの所要日数）、診断・治療（診断日齢、治療開始日齢）、長期フォローアップ（患者の予後）に関連するデータの収集と解析が必須である。アメリカでは Program Evaluation and Assessment Scheme (PEAS) 及び Newborn Screening Technical assistance and Evaluation Program (NewSTEPS) により州レベルのデータを全国レベルで評価できるシステムが "Newborn Screening Saves Lives Act of 2008" (Newborn Screening Saves Lives Reauthorization Act of 2014 に改定) に基づき連邦政府の支援を受けて行われている。我が国ではシステマティックなデータ収集・解析を行っている自治体は極めて少ない。日本マス・スクリーニング学会技術部会が検査機関を対象として調査を行っているがボランティアのため全施設の協力が得られないという課題もある。

3) 検査法 -標準濾紙血液-

国際新生児スクリーニング学会は検査施設間測定値のハーモナイゼーションを図るため、NBS 対象疾患の濾紙血液リファレンス検体を作成して各国の外部精度管理機関や試薬メーカーへ提供しており、NBS 検査では標準濾紙血液を用いることが標準となっている。また、Region 4 Stork (R4S) プロジェクトに参加する TMS スクリーニング検査施設でも標準溶液または濾紙血液キャリアプレートを使用する施設が 50% 以上となっている。標準濾紙血液の有用性を検討した結果、標準物質を含む濾紙血液で作成した検量線から求めた測定値は従来法の安定同位体標識物質濃度から求めた測定値よりも新生児検体の中央値や 90 パーセンタイル値の施設間変動を低減できることが確認できた(図 1)。

4) R4S プロジェクト

R4S プロジェクトは TMS スクリーニングの大規模データベースを利用してデザインされた Post Analytical Interpretive Tools を用いることにより偽陽性率の低減と陽性的中率の改善を図ることが可能な、検査精度の向上のために構築されたシステムである。海外のタンデムマス・スクリーニングでは精度向上に有用な R4S プロジェクトの Post Analytical Interpretive Tools による解析が行われ偽陽性率の低減、患者、保因者、偽陽性の鑑別などの有効性が報告されている。我が国でも一部の検査機関が R4S に参加しているが、すべての検査施設が参加してアクティブなユーザーとなるには英語へのリテラシーの課題がある。さらに、採血は海外では生後 24 時間から 72 時間以内がほとんどであり、我が国の 96 時間から 144 時間採血と異なっていたため測定データの乖離も指摘されている。

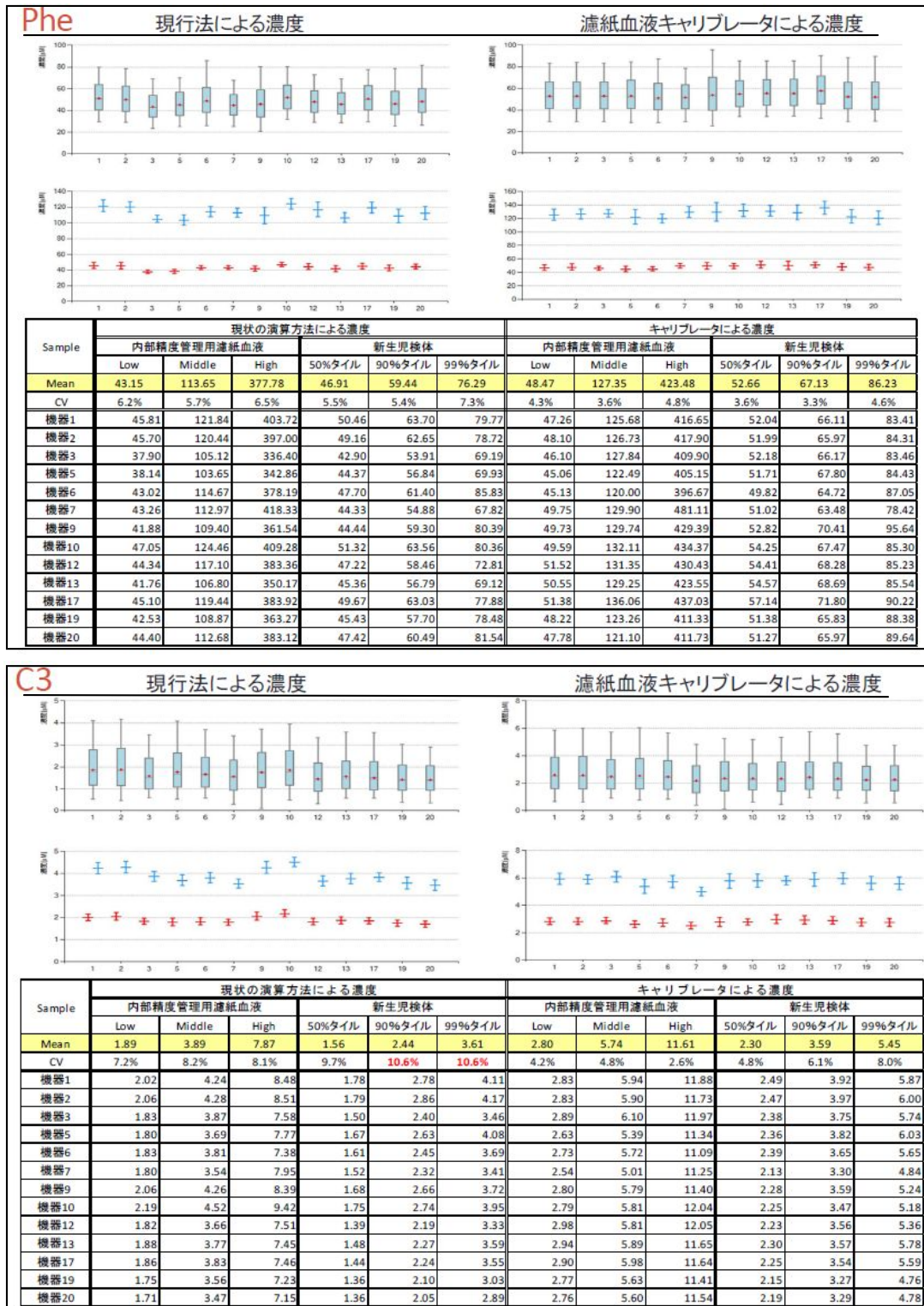
D. 考察

わが国でも全ての検査施設が NBS に要求される検査施設基準や検査実施基準をクリアし、外部機関による検証と認定を受けた検査施設が検査を受託できる体制を構築することで、全国どこで生まれても同じレベルの精度の高いスクリーニングを受けることが可能となる。

NBS システムの改善に必須となる採血から検査、報告、精査診断、長期フォローアップまで評価が適切に行われていない自治体が多いことから、自治体が実施すべきことを明確化し、そのデータの収集・解析方法と有効的な活用方法を示す必要がある。

TMS スクリーニングでは、測定値の検査施設間差の低減に標準濾紙血液を使用する測定法が有効であり、Region 4 S プロジェクトの手法を用いることにより検査結果の判定精度の向上が可能であることから、今後のさらなる検討が必要と考えられた。

図1 タンデムマス・スクリーニングにおける標準濾紙血液による測定値の施設間変動の低減



E. 結論

- 1) わが国のNBS検査施設基準を国際標準レベルと同等にするべきである。
- 2) NBSシステムの改善のため、自治体を実施すべきことを明確化し、データ収集・解析方法と適切な活用方法を標準化すべきである。

3) TMSスクリーニングでは検査精度の向上のため、標準濾紙血液を使用する測定法とR4SのPost Analytical Interpretive Toolsを用いて判定精度の向上が可能であり、日本版R4Sプログラムを構築して検査施設レベルでルーチン検査に利用できるようにすることが今後の課題である。

分担研究課題

外部精度管理体制の確立に関する研究

研究分担者 原田正平 (独立行政法人国立成育医療研究センター
研究所マスキリーニング研究室長)

研究要旨

平成 26 年度中にタンデムマスを導入した新生児スクリーニング (TMS スクリーニング) が全国で実施されることとなったため、TMS を含んだ新しい新生児マスキリーニング精度管理体制の確立を図った。日本マスキリーニング学会精度管理システム委員会及び同学会技術部会とも連携して、平成 26 年度は技能試験 (Proficiency testing : PT) 検体 3 回、精度試験 (Quality control : QC) 検体 1 回を送付する体制を確立し、実行可能であった。従来と同じ仕組みである PT 検体の測定、判断において、記入の誤りによる見逃し、事務的な誤りが平成 25 年度以前に比し多発した。新しい手順の確認がおろそかになったものと考えられ、精度管理の重要性が改めて示された。QC 検体による精度管理は、仕組みとして問題なく実行されることが実証された。検査精度の評価を行い、平成 27 年度以降の改善につなげる予定である。

研究協力者

中島英規 (独立行政法人国立成育医療研究センター
研究所マスキリーニング研究室・研究員)
鈴木恵美子 (同上・非常勤研究員)
渡辺倫子 (同上・非常勤研究員)

A . 研究目的

我が国の新生児マスキリーニング (以下、NBS) の精度管理は、昭和 52 年 (1977 年) の先天代謝異常症 5 疾患の全国スクリーニング実施と同時に、当時の厚生省母子衛生課の支援を受けて公的なシステムとして開始された。開始当時は、Bacterial inhibition assay (BIA 法) という半定量法による NBS であり、現在の臨床検査等における精度管理が求める「測定精度」を問うものではなく、対象疾患患児の検体に相当する異常検体 (カットオフ値を超えた測定対象物質濃度の検体) を、多くの正常検体の中から適切に検出できるかという方式が考案され、実施された。

その後、NBS 対象疾患に先天性甲状腺機能低下

症、先天性副腎過形成が加えられ、それぞれの測定対象物質の測定法が Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA 法) と高感度化されても、精度管理の原理は同様であった。

この間、精度管理業務は、日本公衆衛生協会を窓口とする体制から始まり、幾度かの変遷を経た後、平成 16 年度からは再び窓口が同協会となり、平成 19 年度からは実務が、国立成育医療センター (現在は国立成育医療研究センター) 内で行われてきた。

精度管理業務の経費負担は、当初の厚生省補助金 (研究費) から実施母体である都道府県・指定都市の事業費及び国庫補助金となり、平成 16 年度以降は都道府県・指定都市の単独事業となって平成 25 年度に至った。

この間、新しい NBS として、タンデムマス・スクリーニング (以下、TMS) が平成 23 年度以降急速に全国展開されたことから、TMS の精度管理を含んだ新しい精度管理体制の確立が求められ、平成 26 年度以降、NPO 法人タンデムマス・スクリーニング普及協会 (以下、TMS 普及協会) が窓口と

なった体制が開始された。

TMS では、測定に使用されるタンデム質量分析装置（以下、TMS 装置）、内部標準試薬がそれぞれ複数あるなど、従来の「対象疾患患児の検体に相当する異常検体（カットオフ値を超えた測定対象物質濃度の検体）を、多くの正常検体の中から適切に検出できるかという方式」だけでは、適切な精度管理が行えないと考えられたことから、海外で主流となっている「測定精度」もあわせて行う体制の確立を目的として研究を行った。

B．研究方法

1) 精度管理方法

精度管理の実務は、独立行政法人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（以下、MS 研）が行うこととした。

日本マススクリーニング学会精度管理システム委員会及び同学会技術部会（以下、委員会等）の専門家と協議を行い、従来の「対象疾患患児の検体に相当する異常検体（カットオフ値を超えた測定対象物質濃度の検体）を、多くの正常検体の中から適切に検出できるかという方式」を技能試験（Proficiency testing: PT）、TMS の「測定精度」を問う方式を精度試験（Quality control: QC）とし、両者による新しい精度管理体制の確立を図ることとした。

2) PT 検体

PT 検体は、TMS 以外の対象疾患である先天性甲状腺機能低下症、先天性副腎過形成症及びガラクトース血症については、それぞれ甲状腺刺激ホルモン（TSH）、17 水酸化プロゲステロン（17-OHP）、ガラクトースを含んだ血液を新生児マススクリーニング用の新型ろ紙（バーコード付き）に滴下して作成した。物質濃度は、各スクリーニング指定検査機関で用いられているカットオフ値をやや超える濃度とした。

TMS 対象疾患に対する PT 検体は、対象疾患の発見頻度や物質の安定性、購入価格などから、平成

26 年度は C3、C5、C8、C5-OH、C5-DC、C14:1 とした。

対象物質を添加しない血液を新型ろ紙に滴下し、正常検体とした。

平成 26 年 6 月、9 月、27 年 2 月に全国 38 指定検査機関に正常・異常検体 10 枚 1 組として、一般新生児検体が採血医療機関から指定検査機関に送付されるのと同様な条件で、指定検査機関に対し送付した。

指定検査機関は、PT 検体受領後、一般新生児ろ紙血の測定と同時に、当該測定項目に適切な測定方法により各濃度をすみやかに測定し、それぞれの指定検査機関で定めたカットオフ値により「正常・異常」判定を行い、原則として PT 検体受領後 7 日以内に、測定結果、判定結果とともに検体受領日、測定開始日、最終判定日、返送日を、電子メールへのファイル添付等により、MS 研に報告するよう依頼した。

3) QC 検体

QC 検体は、対象疾患の検出に必要なアミノ酸、フリーカルニチン及びアシルカルニチン（以下、アミノ酸等）を含んだ溶液を、各化合物が十分低値となるよう洗浄等の前処置を行った保存血液（以下、無添加血液）に規定の濃度となるように添加、混和して、新型ろ紙に滴下し作成した。

規定の濃度は、委員会等との協議により、一般新生児、カットオフ値、対象疾患患児の血中濃度を参考として、低・中・高濃度をそれぞれの化合物について決定し、無添加血液とあわせて 4 濃度とした。

外部精度管理実施に必要なスポット数の QC 検体（4 濃度 1 組）を平成 27 年 1 月、冷凍状態が担保された輸送手段で指定検査機関に送付した。指定検査機関には、QC 検体受領後、ルーチンの TMS 検査に追加して同じ条件で測定する、一般新生児ろ紙血の前後に配置した二重測定とし、1 日 1 回測定で連続した 10 日間行うことを依頼した。

測定対象項目がアミノ酸 10 種類、アシルカルニチン 21 種類となり、その 4 濃度、計 20 測定分

(濃度データとして1施設2,480件)となるため、TMS装置内蔵されたデータ出力機能を活用し、一定の様式に従った電子ファイルとしてMS研に送付を依頼した。

MS研で新規開発した統計解析プログラムで集計、分析を行うこととした。

(倫理面への配慮)

本研究に用いた血液については、「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」に基づく公募において承認を受け、日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センターから譲渡(平成27年度からは購入)された血液材料を用いていることから、倫理面への配慮に問題はない。

また、一般新生児、対象疾患患児等の個人情報 は取得していない。

C. 研究結果

1) PT 検体

(1) 返送日数

平成26年6月時は、返送日の記入を求めなかったため、検体受領後7日以内の返送が評価できなかった。そこで9月以降の検体については、最終判定日、返送日の記入を求めたところ、図1に示すごとく、大部分の検査機関が7日以内に返送可能であった。

検査機関内で決裁を要したり、検査回数が週に2回などの場合、返送に8日以上要した。

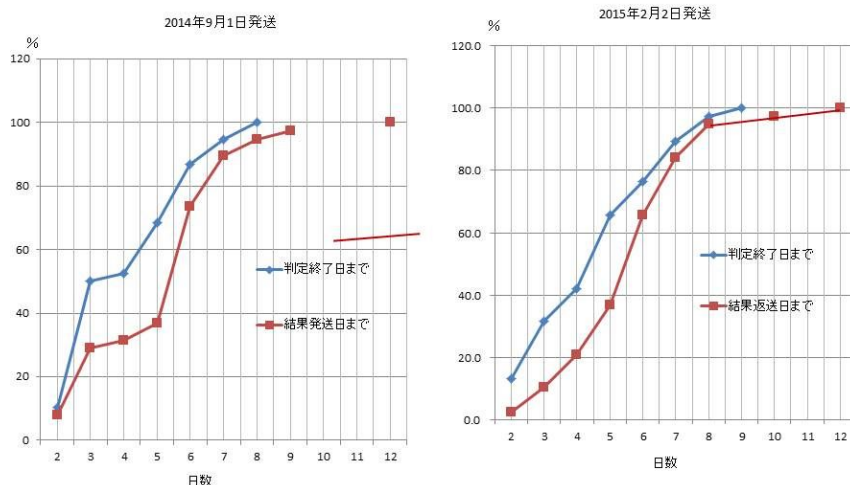


図1 PT検体受領からの日数

(2) 測定の見逃し

測定の見逃しはなかった。

(3) 記入の見逃し

6月PT検体において、フェニルアラニンの異常値は測定されていたにもかかわらず、測定者2名のダブルチェックにもかかわらず、異常値として報告されなかった1機関があった。

同じく6月PT検体において、添加物質以外の

アミノ酸が当該施設のカットオフ値に近かったため、明らかな異常値を示した添加物質を報告しなかった1機関があった。

9月PT検体では、アシルカルニチンの異常値を認識したにもかかわらず、報告対象ではないと誤解して報告しなかった1機関があった。

(4) 事務的な誤り

正常検体の判定を報告用紙に「正常」と記入し

ない機関が、6月は10機関(20検体)、9月は2機関(3検体)、27年2月は2機関(4検体)あった。

2) QC 検体

測定結果返送にあたり、TMS 装置からの出力方法の習得、QC 試験検体の測定と出力を平成 26 年 12 月に行い、全指定検査機関で対応可能なことを確認した。

平成 27 年 1 月に本番用の QC 検体を、全指定検査機関に送付し、2 月末までに結果の返送を受けた。現在、統計解析プログラムで集計、分析中である。

D. 考察

平成 26 年 10 月に沖縄県で開始となったことで、TMS が全国で実施されることとなった。そのため、平成 26 年度より、TMS を含んだ新しい新生児マススクリーニング精度管理体制の確立を図った。

平成 25 年度までは、日本公衆衛生協会が窓口となり、精度管理業務は昭和 52 年以来、「対象疾患患児の検体に相当する異常検体(カットオフ値を超えた測定対象物質濃度の検体)を、多くの正常検体の中から適切に検出できるかという方式」だけで行われてきたが、TMS では機器や試薬が統一されていないため、「検査精度」も問うことが求められた。

日本マススクリーニング学会精度管理システム委員会及び同学会技術部会とも連携して、平成 26 年度は PT 検体 3 回、QC 検体 1 回を送付する体制を確立し、実行可能であった。

従来と同じ仕組みである PT 検体の測定、判断において、記入の誤りによる見逃し、事務的な誤りが平成 25 年度以前に比し多発した。

長年、精度管理への対応そのものが習慣的に行われ、新しい手順の確認がおろそかになったものと考えられ、精度管理の重要性が改めて示された。

新しい TMS に対する QC 検体による精度管理は、仕組みとして問題なく実行されることが実証さ

れた。現在、分析中の測定値などの解析により、新しく TMS を始めた機関での検査精度を評価できるものと期待される。

E. 結論

平成 26 年度からの TMS 全国実施に対応した、新しい精度管理体制を構築し、年に PT 検体 3 回、QC 検体 1 回送付が可能であることが実証された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 小澤仁子、他；乾燥濾紙血液中の GAL および G1P への保存温度の影響に関する検討．第 41 回日本マス・スクリーニング学会学術集会、広島市、平成 26 年 8 月
- 2) 原田正平、他：子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)時に採取された乾燥血液ろ紙(ろ紙血)の品質及び標準的採血手順の周知に関する検討．同上
- 3) 渡辺倫子、他：新しい外部精度管理検体による新生児マススクリーニング精度管理の報告．同上

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究課題

外部精度管理体制の確立に関する研究

研究分担者 原田正平（独立行政法人国立成育医療研究センター
研究所マスキリーニング研究室長）

質量分析装置によるマスキリーニングの精度管理のための
精度試験用検体（QC 検体）作製及び測定後のデータ処理について

研究要旨

本邦における質量分析装置によるマスキリーニング（タンデムマス・スクリーニング：TMS）の精度管理に使用する精度試験用検体（Quality Control：QC 検体）作製のため、日本赤十字社より提供された濃厚赤血球、凍結血漿中のアミノ酸、アシルカルニチン量を低減する技術を構築した。処理後の赤血球および血漿に、測定対象のアミノ酸、アシルカルニチンを添加して、Base（無添加）、Low、Mid、Highの4濃度の乾燥ろ紙血を作成し、QC検体とした。全国の指定検査機関に対して、平成26年12月に練習用のQC検体、27年1月に本番用のQC検体を配布し測定を依頼した。

QC検体配布に先行して、多数の測定項目に伴う入力項目の省力化を図るため、どのメーカーの質量分析装置データ解析ソフトウェアにも共通して用意されている、csv形式ファイル出力機能を用いたデータエクスポートの仕組みを構築した。この仕組みを利用し、アシルカルニチン及びその内部標準物質を含む測定項目の、三連四重極型質量分析装置による測定強度と濃度計算値提出を依頼したところ、27年1月20日時点で、全国38検査機関のうち36機関から指定の様式で回答が得られた。今後、本番用QC検体の測定値の評価のため、分布、平均値との差や日内・日間変動といった併行精度・室内精度等を評価プログラムにより分析し、各施設に対して情報提供する予定である。また来年度は、国立成育医療研究センター情報管理部と共同で、Web baseのID・パスワードで管理された、セキュリティの高いデータ受領・精度管理情報提供サーバーの構築を進める予定である。

研究協力者

中島英規（国立成育医療研究センター研究所マスキリーニング研究室・研究員）

渡辺倫子（同上）

鈴木恵美子（同上）

A．研究目的

これまで本邦における新生児マスキリーニングの外部精度管理では、患者検体に相当する異

常値検体の見逃しが無いかに主眼点が置かれてきた。近年、質量分析装置によるマスキリーニング（TMS）が開始され、従来の外部精度管理の方式に加えて、精度試験用検体（Quality Control：QC 検体）を用いた、検査機関間の項目（測定対象化合物）ごとの測定値の分布、一機関における併行精度・室内精度等の評価が求められる。これまで、米国疾病予防管理センター（Centers for Disease Control and Prevention: CDC）による外部精度管理システム

が、米国以外の検査機関により費用負担なく利用されてきた。日本国内の複数の検査機関も利用してきた経緯があるが、日本の検査機関全てが利用するとした場合、米国の連邦政府予算で行われているシステムであることに問題が生じる。

さらに、英語のインターフェースが難しいことに加え、情報提供が CDC から一方的に行われるため、検査機関の希望する情報が得られない、個々の検査機関の問題点が指導されない等の難点がある。更に TMS では測定対象化合物が多いことから、CDC への回答用紙の入力箇所が数百カ所に上り、入力に 1 日以上もかかってしまう事例があるなど、限られた人員で日常業務を行っている日本の検査機関担当者にとっては、継続的な参加が困難なシステムといえる。

そこで本研究では、日本独自の精度試験用検体 (Quality Control : QC 検体) の作製を行うと同時に、QC 検体測定後のデータ処理の迅速化、簡素化を図るため、日本で用いられている質量分析装置メーカーの、データ解析ソフトウェアに共通するファイル出力機能を用いた、csv 形式のデータ提出によるデータ入力の手間の低減と、将来的な Web 上のデータ授受システムへの対応の可否を検討した。

B . 研究方法

1) 血漿・血球処理法

QC 検体作成に用いる血液には、各測定対象化合物が様々な濃度で含まれているため、血漿については、チャコールカラム等による処理によって、各種の低分子化合物含量を低減させた。血球については、生理食塩水あるいはリン酸緩衝液含有生理食塩水で洗浄操作を繰り返し行い、アミノ酸、アシルカルニチン含有量を低減させた。

前処理後の血漿、血球を用いて Base (無添加) の QC 検体用血液を作製し、それにアミノ酸・アシルカルニチンを高濃度で調製したマスター溶液を添加し、ヘマトクリット値が最終的に 55% となるよう調製した上で、採血用ろ紙へ滴下して各

種濃度の QC 検体とした。

添加するアミノ酸・アシルカルニチンマスター溶液の濃度を変えることで、乾燥ろ紙血中のアミノ酸・アシルカルニチン濃度が、最終的に Low、Mid、High の 3 段階となるよう調製した。

2) データ授受及びデータ処理

(1) データ授受の実証実験

全国の検査機関に対しては、実際の QC 外部精度管理試験を確実に実行するため、本番の外部精度管理に向けて次の 3 段階でファイル出力等の試行を求めた。

質量分析装置データ処理プログラムによる測定データファイルの出力法習得

練習用検体受領とその測定及び出力データの返送

Quality Control [外部精度管理試験実施]

(2) データ処理の効率化

データ処理サーバーの構築を株式会社スタージェンに依頼し、ハードウェアは国立成育医療研究センター情報管理部の管理下の、オペレータールームに設置した。

データ処理システムとして、併行精度、室内精度等の評価を目的とし、散布図および表、 $X-R$ 管理図、 Z -スコア等の表示が可能なプログラムを開発し、それが動作するサーバーの構築を行う。

(倫理面への配慮)

本研究においては、患者の個人情報などを取り扱わないため、特段の倫理的配慮は必要としない。

また、本研究で用いた血液材料は、「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」に基づく公募において承認を受け、日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センターから譲渡 (来年度からは購入) されたものであり、倫理面で問題ないと判断された。

C . 研究結果

1) 血漿・血球処理法

テスト段階で数十 ml 程度の血漿・濃厚赤血球の処理では、理想的な測定値を示す QC 用乾燥ろ紙血を作成することができた。

しかし、多数検体作製のために、リットルオーダーまでスケールアップしたところ、溶血が起こる等のトラブルが生じた。

2) データ授受及びデータ処理

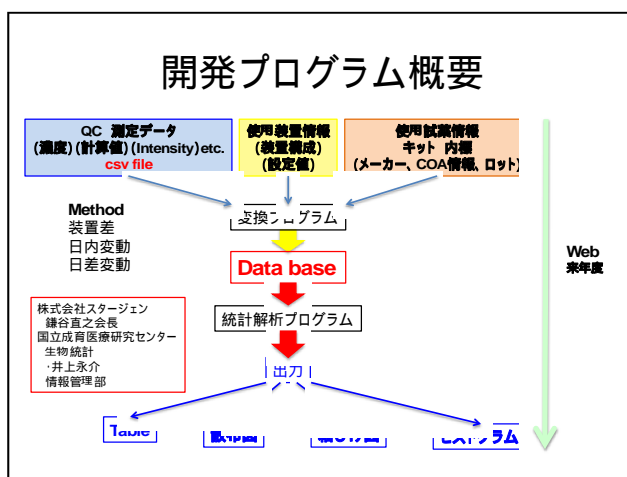
(1) データ授受の実証実験

平成 26 年 11 月 27 日に「MS 装置データ処理プログラムによる測定データファイルの出力法習得」を検査機関に依頼し(12月10日締め切り)、「練習用検体受領とその測定及び出力データの返送」については、12月8日に練習用検体を送付、12月26日締め切りとした。

平成 27 年 1 月 20 日時点で、出力データの返送は、全 38 機関中 36 機関が正しい形でのファイルで行うことが可能となった。残りの 2 機関については、質量分析装置およびソフトウェアメーカー側共同でサポート中である。

(2) データ処理の効率化

データ処理サーバー内の動作を図に示した。サーバー内では、検査機関より収集したデータが「変換プログラム」によってデータベースに蓄積され、次いで「統計解析プログラム」によって、散布図および表、 $X-R$ 管理図、 Z -スコア、ヒストグラム等の理解しやすい形式に「出力」される(図)。



各質量分析装置メーカーのソフトウェアより

出力されるファイルはおおよそ同様なレイアウトをとっているが、若干のデザインの相違がある。そのため、データベースへの測定データ取り込みをスムーズに行うため、質量分析装置メーカー各社デザインに対応した変換プログラムを作成した。

変換プログラムをスムーズに動作させるため、このファイル提出に先行して測定項目名略号の統一を各検査施設に依頼したが、施設側の様々な事情により変更・統一は困難であった。そのため、各施設から収集したデータを元に各施設が使用している測定項目略号をデータベースに蓄積させるためのプログラムを構築した。

本プログラムでは、検査施設より受領した csv file を直接読み込む形を目指しているが、各質量分析装置メーカーの csv 出力ファイル形式にデザインの違いが認められた。そこで、この違いに関しても、変換プログラムでうまくデータベースに取り込まれるようにした。

平成 27 年 1 月 20 日時点で、第 2 段階までに各検査施設より提出された csv file は取り込むことはできたが、練習用検体 1 日分の測定結果のみの受領であるため、このプログラムの最終動作確認は、本番として行われる QC 検体 10 日間連続測定結果の取り込みで検証する予定である。

現時点で、データベース上にダミーデータを置いた形で統計解析および出力プログラムをテストしたところ、CDC が提供している散布図や Table は出力できる状態までプログラムは完成した。今年度中には $X-R$ 管理図、 Z -スコア等の表示が可能になるので、検査施設、自治体へはこれらの情報を提供する予定である。

D. 考察

日本赤十字社より無償供与された血液を用いた QC 検体作製は、少量であれば定量性が担保されたが、大量を用いた場合、溶血などが生じた。来年度はより緩徐な条件で処理するなどして、効率よい QC 検体作製の検討を進める。

検査機関からは、質量分析装置データ処理プログラムによる測定データファイルの出力による各測定対象化合物（測定項目）の「濃度計算値（concentration: conc.）」と「シグナル強度（Intensity）」に加え、「装置構成情報」「使用している試薬或いはキットの情報」「質量分析装置の設定情報」などの情報も提供をうけた。

これら付随情報も入手することで、QC データがある施設で異常値を示したり、バラツキが大きかったりなどの問題点があった場合には、異常値の原因を絞ることも可能であると考えている。

E. 結論

平成 26 年度に開始された新しい精度管理体制の中で、QC 検体のデータ処理については、メールアドレスでデータ授受を行うための変換プログラムを含む、データベース用サーバーおよび統計解析サーバーはほぼ構築された。今後指定検査機関とより連携を深めて、解析結果の報告様式に加え、インターフェースがより容易で検査施設担当者を煩わすことのない、Web base のサーバー・プログラムの構築を来年度は行う。

なお、精度管理用検体の作成に使用する添加物質については、トレーサビリティの取れた Certificated Reference Material (CRM) が用意されている物質（アミノ酸等）については、それらを標準物質とする。CRM が用意されていない物質（アシルカルニチン）については、日本薬局方でも認知され、トレーサビリティが取れると保証されている qNMR によって、純度検定された標準物質を用いて値付けし、情報提供する系を構築する予定である。

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 中島英規, 前田堂子, 鈴木恵美子, 渡辺倫子, 小須賀基径, 奥山虎之, 重松陽介, 原田正平: 二次検査応用に向けた LC-MS による疾患マーカー分子分離分析系確立. 第 41 回日本マス・スクリーニング学会学術集会、広島、2014 年 8 月
- 2) 中島英規, 石毛信之, 穴澤昭, 奥山虎之, 藤本純一郎, 重松陽介, 山口清次, 原田正平: タンデムマススクリーニングにおける second tier test の開発. 日本医用マススペクトル学会 第 39 回年会シンポジウム、千葉、2014 年 10 月
- 3) 中島英規, 原田正平, 石毛信之, 穴澤昭, 小須賀基径, 藤本純一郎, 山口清次, 重松陽介, 奥山虎之: 新生児マススクリーニングにおける LC-MS による二次検査法開発. 第 56 回日本先天代謝異常学会総会 / 第 12 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、宮城、2014 年 11 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

株式会社積水メディカルより本成果の一部を応用した新生児マススクリーニングキット “アミノ酸・アシルカルニチン測定用内部標準液セット NeoSMAAT™” 2015 年 2 月より上市予定

分担研究課題

外部精度管理体制の確立に関する研究

研究分担者 原田正平 (独立行政法人国立成育医療研究センター
研究所マスキング研究室長)

新しい外部精度管理のためのブラインド検体導入とその問題点

研究要旨

平成 26 年度からの、タンデムマス・スクリーニングに対応した、技能試験用検体 (Proficiency Test 検体 : PT 検体) を用いた精度試験が年 3 回の実施予定となり、従来の外部精度管理検体送付回数の 4 分の 1 となることから、ブラインドサンプル (Blind Sample、BLS) を用いた外部精度管理を加えることで、送付回数の減少を補うことができるかについて検討を行った。平成 26 年度は全国 37 の検査機関のうち 10、自治体 3、連絡協議会他 2 及び地域医療機関と協力して検討を行った。平成 17 年度から今まで BLS を 180 検体送付し (異常 86、正常 94) 見逃しは平成 19 年度 1 件のみであるが、測定値の乖離、結果報告日までの日数、再採血時の電話連絡時の問題、採血についての問題点が見られた。また平成 26 年度に送付した TSH 含有 BLS の測定結果で、2 種類の検査試薬間に乖離が見られ、試薬の品質管理体制の再構築の必要性も示唆された。

研究協力者

鈴木恵美子、渡辺倫子、中島英規
(国立成育医療研究センター)

加えることで、送付回数の減少を補うことができるかについて検討を行った。

B . 研究方法

A . 研究目的

平成 26 年度に全ての自治体において、タンデムマス・スクリーニング (TMS) が導入されることになり、「新生児マスキング事業の新しい精度管理体制」が構築され、従来の 6 疾患を対象とした外部精度管理システム (旧システム) とほぼ同様の仕組みで、19 疾患を対象とした技能試験用検体 (Proficiency Test 検体 : PT 検体) を用いた精度試験が開始された。旧システムでは、外部精度管理検体は毎月 1 回、合計年 12 回送られていたのに対し、PT 検体は年 3 回送付することが予定されたことから、ブラインドサンプル (Blind Sample、BLS) を用いた外部精度管理を

一般新生児検体に似せて作製した血液ろ紙 (日本赤十字社からの血液供与により当施設で作製) に仮の母氏名等を記入して、BLS とした。BLS は従来の 6 疾患を検出するための、TSH、170HP、ガラクトース、フェニルアラニン、メチオニン、イソロイシンから 1 種類、対象指定検査施設のカットオフ値を超える濃度に調整して添加した「異常検体」と、無添加の「正常検体」を作製した。

この BLS を、協力医療機関から 1 年に 2 回不定期に、その地域の指定検査機関に送り、その施設のカットオフ値を基準として、「正常」「異常」判定を求めた。

それに加えて、測定値、結果報告までの日数、

検査機関と関係機関との連携状況の聞き取り等により、実際のスクリーニング状況の把握の参考とした。

C. 結果

1) 協力体制

平成 26 年度は、37 検査機関中 10 機関が自主的に参加した。TMS の開始に伴い、自治体が検査を別の検査機関に委託したため、平成 24 年度と比べ 3 機関減となった。逆に BLS 参加検査機関に新たに 1 自治体から委託があった。

地域の協力医療機関は 42(医師 41 名)であった。自治体 3 か所と連絡協議会等 2 か所は自ら医療機関を選定し更新していた。

TMS 開始に伴い連絡協議会等が設置され、自治体や協議会の直接的関与が無い場合でも、実施結果を報告していた。BLS 参加の 10 検査機関で合計 21 自治体分、年間約 30 万人のスクリーニングを実施したことになる(表 1)。

2) 送付した BLS

平成 17 年 9 月から今までに 180 検体の BLS(異常 86、正常 94)を送付した。判定の誤りはなかった。

3) 第 29 回 BLS 検体送付結果(図 1)

平成 26 年 7 月に TSH を加えた BLS を送付したところ、A 社試薬を用いた 7 検査機関では、異常と判定された。

一方、B 社試薬を用いた 3 検査機関では、検査機関のカットオフ値以下となる事態が生じたため、確認のため返送された BLS を当施設(MS 研)で保管の BLS と共に測定した。

その結果、測定値が各検査機関で設定したカットオフ値より低値であったため、判定通り「異常なし」とした。3 検査機関に BLS を送付頂いた医療機関と検査機関には「正常という回答が正しい」旨を当方から電話で行い、判定の間違ひでは無いことを伝えた。その後、当方にて対応に多くの時

間を要し、文章による報告書提出が遅延した。

4) 検体受領から結果報告までの日数

BLS 異常検体においては、67%の検査機関から 5 日までに報告があった。外部精度管理検体では、5 日で 38%、7 日で 73%から報告があり、現行法と BLS では、差がみられた(図 2)。

5) 再採血の電話連絡時の問題

自治体との契約で、医療機関への再採血依頼を電話と書面にて行うことになっていた検査機関において、電話の内容が担当医に伝わらず、電話口で「それはブラインド」という説明がなされなかった。後日郵送された書類で、担当医が電話連絡が伝わらなかったことを確認した。医療機関は未熟児に対する再採血依頼の多い病院であった。

6) 採血の標準化への取り組み

届いた検体の採血状態が医療機関と異なっており、検査機関では BLS ではないかと疑った。

A 県の場合 検査機関は、採血の基準化のため病院に採血の説明を行うと共に、正しい採血の方法の動画をホームページに掲載した。自治体は平成 26 年 2、3 月に全分娩施設に対して正しい採血のパンフレットを送付した。

B 県の場合 検査機関は、病院に採血の説明をしたが、まだ十分な効果が得られていない。他病院で、採血の基準化のために、踵専用安全機能付きランセットを採用したところがあった。

D. 考察

参加可能な 10 検査機関施設では、合計 21 自治体(30 万人)の検査を行っており、次回は、11 施設合計 22 自治体(36 万人)の予定である。自治体、連絡協議会、コンサルタント医との連携が深まってきている。

TSH のカットオフ値は、検査機関毎に異なっており(7.5~12 μ U/ml)、外部精度管理の結果では、測定値のばらつきや、使用試薬により測定値

に乖離が見られること、試薬のロット差の存在が知られている。

第 29 回 BLS において、当施設での BLS 送付前とその後の測定値に差が見られた原因については、送付前に使用したロットと同じものが無く、新しいロットになったため、ロット差か測定間差によるものか特定できなかった。

平成 25 年度まで実施した試薬の品質管理を、新しい精度管理体制に組み入れることができないため、現在休止状態であるが、市場の試薬の動きを把握することは重要であり、試薬会社との連携を改めて検討中である。

BLS 送付にあたり、確実に異常になる検体を作製し、BLS を安全確実にを行うため実施要項の整備が必要である。

文書による報告が遅延した医療機関には、電話及び文書の説明報告を行うことで、誤解が生じないように努めた。

検体受付から結果報告までの日数は、外部精度管理の結果と BLS では差が見られた。平成 25 年度と比較すると平成 26 年度は改善されている。

再採血時の電話連絡が担当医に伝わらないことがある点については、再採血依頼が頻繁にある病院では、受け取る側の慣れの問題も考えられる。精密検査では、すぐに伝達されていたことを確認したが、連絡体制の確認を担当医と検査機関に依頼した。定期的な点検が必要である。

BLS の実施のために、検査機関は、自治体、連絡協議会、コンサルタント医師と連携を強化してきた。BLS 実施により明らかになった採血状態の改善のために、関係機関での連携が見られる。

E．結論

外部精度管理としての BLS 導入は、精度が高く

効果的な方法の 1 つとして有用性が明かである。全国実施が最終目的であるが、自治体や検査機関のシステム整備、TMS スクリーニングの新しい精度管理システムが整備されるまではパイロットスタディにより、地域のシステムの再点検を実施し、現行の精度管理では把握できない問題点を明らかにし、スクリーニングの質的向上を継続的に図ってゆく。多くの検査機関、自治体の参加を期待したい。

謝辞

これまでに、ご協力頂いた検査施設の皆様、協力医療機関の先生方、医療機関の推薦・紹介をして頂いた先生方に感謝致します。

検査施設:

愛知県健康づくり振興事業団、秋田県健康環境センター、石川県予防医学協会、岩手県予防医学協会、大分市医師会立アルメイダ病院、化学及血清療法研究所、神奈川県予防医学協会、岐阜県公衆衛生検査センター、埼玉県立小児医療センター、さいたま市健康科学研究センター、鳥根県立中央病院、ちば県民保健予防財団、富山県衛生研究所、広島市医師会臨床検査センター、福島県保健衛生協会(現在は10施設にて実施)

協力医療機関:

42医療機関41名の先生方(ブラインドで実施のためお名前掲載は控えました)

医療機関の推薦と紹介:

猪股弘明先生、石原 理先生、小林 高先生、佐倉伸夫先生、山口清次先生(現在、協力医療機関の所属になっている先生のお名前掲載は控えました)

F．健康危険情報

なし

G．研究発表

1．論文発表

なし

2．学会発表

新しい外部精度管理システム(新システム)へのブラインド導入の検討 鈴木恵美子、渡辺倫子、中島英規、原田正平、第 41 回日本マス・スクリーニング学会学術集会 広島 平成 26 年 8 月 22 ~ 23 日

H．知的財産権の出願・登録状況

なし

表1. 協力体制

体制 検査施設数10(全施設37)、自治体数21、年間出生時数30万人、協力医療機関42

検査施設	自治体数	新生児出生数/年	報告書提出先		協力医療機関の推薦者	その他
			検査施設と医療機関	自治体		
1	1	1万>	その都度		その他	次年度から、県の検討会と連携
2	1	1万>	その都度	2回/年	自治体	医療機関の採血状態不良。検査施設が標準的採血法ビデオを作成。自治体がタムデン開始前に医療機関に採血の手順書を送付
3	1	1万>	その都度		自治体	協議会にて報告
4	1	2万>	その都度	1回/年	自治体	協議会にて報告
5	2	2万>	その都度		産婦人科医会	協議会にて報告、自治体宛文書の要求は無
6	2	4万>	その都度		その他	協議会にて報告
7	3	4万>	その都度		その他	検査施設の判断で実施中。スクリーニング事業ではないため、協議会での報告は無
8	2	7万>	その都度		連絡協議会	協議会にて報告
9	2	7万>	その都度		その他	自治体、県の精度管理委員会と連携、委員会にて報告
10	6	7万>	その都度		その他	2つの自治体から、申込書兼同意書の使用の承諾を得て実施。

30万人

H25年度までにBLS参加施設が3施設減。自治体のスクリーニングが別施設に委託。1自治体分はBLS実施施設に委託された。その他2施設が施設の事情にて休止中

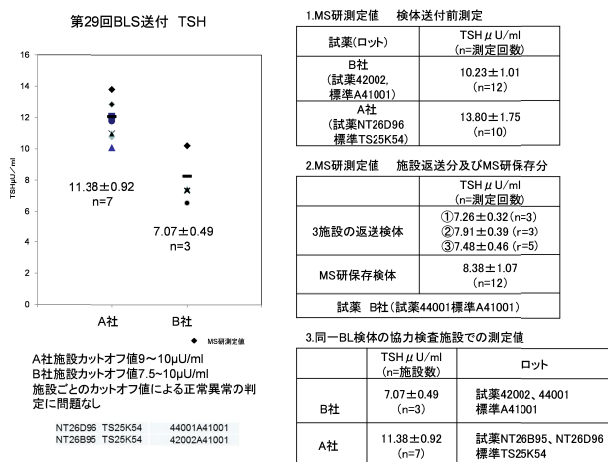


図1. 第29回BLS送付 TSH

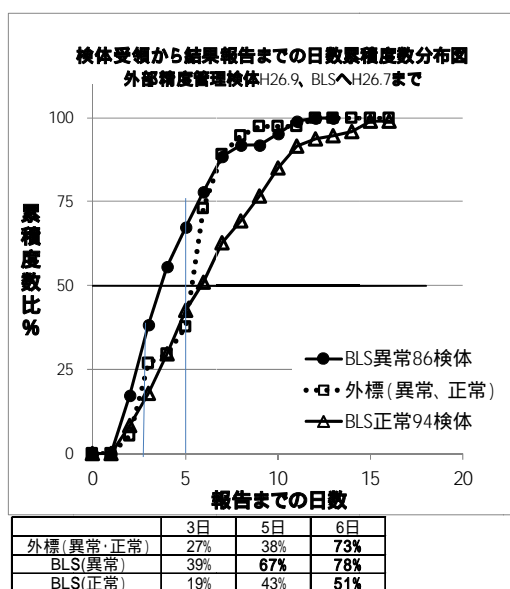


図2. 検体受領から結果報告までの日数

分担研究課題

次世代のマススクリーニングの在り方に関する研究

研究分担者 松原洋一 (国立成育医療研究センター 研究所長)

研究要旨

新生児マススクリーニングの対象疾患の拡大にあたり、遺伝子解析および次世代遺伝子解析装置を用いたスクリーニングについて検討を行った。今後の課題は、対象疾患の選定、手法、精度、費用、検出感度 / 陽性率、倫理的諸問題、遺伝カウンセリングなどと考えられる。

研究協力者

呉 繁夫 (東北大学大学院医学系研究科・教授)

A . 研究目的

時代とともに開発される新しい技術を取り入れ、小児の障害予防の対象疾患を拡大していくことは、新生児マススクリーニング (NBS) に課せられた重要な使命の一つである。1960 年代に枯草菌を用いたフェニルケトン尿症のスクリーニングから始まった NBS は、その後甲状腺機能低下症、メープルシロップ尿症、ガラクトース血症などにも応用されるようになった。1990 年代に導入されたタンデムマススペクトロメトリー (TMS) は、各種のアミノ酸とアシルカルニチンを網羅的に分析することによりスクリーニング対象疾患の数を一気に拡大することになった。このことによって、多くの脂肪酸代謝異常症や有機酸代謝異常症の発症を未然に防止することができるようになった。

本分担研究は、近年技術革新が著しい遺伝子解析の手法を中心に、NBS への応用の可能性を検討することが目的である。

B . 研究方法

国内外の新しいマススクリーニング法や網羅的遺伝子解析法に関する情報、また検討すべき新しい対象疾患についての情報を、文献、関連研究者および関連学会を通じて収集し、分析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、実際に患者情報を扱ったり、新たな遺伝子解析を実施しないため、特段の倫理面への配慮は不要と考えられた。

C . 研究結果

1) 新生児マススクリーニング対象疾患の満たすべき要件と制約

研究代表者の山口清次によれば、マススクリーニング対象疾患の満たすべき要件は以下のとおりである (参考文献 : 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」研究班作成、新しい新生児マススクリーニング : タンデムマス Q&A 2012、平成 24 年 3 月発行)

発症する前に見つかる病気

放置すると重大な障害を起こす病気

治療法のある病気

赤ちゃんに負担にならない検査

精度の高い検査

安価な検査費用

好ましい費用対効果

発見された時の適切な医療機関

上記のうち、技術革新とともに変化する 、 、 をひとまず除外して考えると、 ~ およびの要件を満たす疾患は、現行の先天性代謝異常症や内分泌疾患に限らず多くの遺伝性疾患が該当

すると考えられる。

一方、現行のNBSは新生児期に採取した乾燥濾紙血を基本に行われており、この枠を外れたスクリーニングとして実施されている（あるいはされていた）対象疾患は、以下の3種である。

- ・ 神経芽細胞腫～尿検体、乳児期の検体採取
- ・ 聴覚スクリーニング～生理学的検査
- ・ 胆道閉鎖症～便色カラーカード

新生児への侵襲度、家族への負担、コストを考慮すると、新生児期に採取した乾燥濾紙血を検体として用いる手法を基本として検討すべきと考えられる。乾燥濾紙血からDNA抽出をおこなって遺伝子解析を行うことはすでに広く実施されており、このことから数多くの遺伝性疾患が潜在的な検討対象疾患となる。

2) 遺伝子解析を用いた原発性免疫不全症の新生児スクリーニング（米国での事例）

米国ウィスコンシン州では、TREC測定によって重症複合型免疫不全症を引き起こすT細胞欠損症のスクリーニングが実施されている。TREC (T-cell receptor excision circle)は、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。これまでに、71,000人中5例の患者が同定されており、造血幹細胞移植、遺伝子治療による治療が可能となった。すでに米国内のその他の州や台湾、英国、スウェーデンでもスクリーニングの試みが開始されている（野々山恵章「先天性免疫不全と新生児マススクリーニング」ラジオNIKKEI小児科診療Up-to-Date 2014.2.19）

同様に、KREC測定によるB細胞欠損症のNBSも計画されている。KREC (kappa-deleting recombination excision circles)はB細胞レセプターの鎖から生成される環状DNAでB細胞新生能のマーカーである。患者に対して、定期的なガンマグロブリン補充療法による治療が可能である。

3) 次世代遺伝子解析装置によるNBSの可能性
近年開発された次世代シーケンサーは遺伝

子塩基配列決定のコストを等比級数的に低下させるとともにヒト遺伝子の網羅的な一斉解析を可能とした。理論的には、ほぼすべての遺伝性疾患を一挙に検出することが可能である。

米国の国立衛生研究所(NIH)では、2013年に25億円の研究費を次世代シーケンサーを用いたNBSの研究に支出し検討を開始している。また米国G2P社では、BabySeq Projectとしてゲノムシーケンスを基盤とする新生児疾病スクリーニングの研究を発表している。ロシアのセコイア・ジェネティクス社は、脾のう胞性線維症、フェニルケトン尿症、ガラクトース血症に対して、次世代シーケンサーを用いたNBSの臨床試験を開始したと表明している。

3) 倫理的課題

網羅的遺伝子解析は、必然的に治療法が存在しない予後不良な疾患も検出することから、大きな倫理的課題を包含している。このことについては、米国の臨床遺伝専門医学会であるAmerican College of Medical Geneticsによる提言(ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing, *Genetics in Medicine*, 2013)を踏まえた慎重な検討が必要と考えられる。

D. 考察

遺伝子解析法を用いたNBS法としては、1st tierとしての遺伝子診断と、確定診断のための2nd tierとしての遺伝子診断が考えられる。

1st tier 遺伝子診断は、飛躍的な機器の進歩と大幅なコスト低減が進んでいく現状を鑑みると、将来的には次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析に収束していく可能性も否定できない。その際、対象疾患の選定、手法、精度、費用、検出感度/陽性率、倫理的諸問題、遺伝カウンセリングなどが検討課題となってくるであろう。

2nd tierとしての遺伝子診断は、すでに一部でキャピラリーシーケンサーによる遺伝子毎の解析が実施されているが、今後は次世代シーケ

ンサーによる疾患パネルの一斉解析に移行していくと考えられる。こちらでは、手法、精度、費用、検出感度/陽性率について検討することが必要と考えられる。

E . 結論

次世代遺伝子解析が将来的に新生児マススクリーニングに導入され、対象疾患を飛躍的に拡大させていくと予測される。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Ogata T, Niihori T, Tanaka N, Kawai M, Nagashima T, Funayama R, Nakayama K, Nakashima S, Kato F, Fukami M, Aoki Y, Matsubara Y. TBX1 mutation identified by exome sequencing in a Japanese family with 22q11.2 deletion syndrome-like craniofacial features and hypocalcemia. *PLoS One*. 9(3):e91598, 2014.
- 2) Dragneva S, Szyszka-Niagolov M, Ivanova A, Mateva L, Izumi R, Aoki Y, Matsubara Y. Seven Novel Mutations in Bulgarian Patients with Acute Hepatic Porphyrias (AHP). *JIMD Rep*. 16:57-64, 2014.
- 3) Inoue SI, Moriya M, Watanabe Y, Miyagawa-Tomita S, Niihori T, Oba D, Ono M, Kure S, Ogura T, Matsubara Y, Aoki Y. New BRAF knockin mice provide a pathogenetic mechanism of developmental defects and a therapeutic approach in cardio-facio-cutaneous syndrome. *Hum Mol Genet*. 23(24):6553-66, 2014.
- 3) Izumi R, Niihori T, Suzuki N, Sasahara Y, Rikiishi T, Nishiyama A, Nishiyama S, Endo K, Kato M, Warita H, Konno H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Nakayama

K, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y, Aoki M. GNE myopathy associated with congenital thrombocytopenia: A report of two siblings. *Neuromuscul Disord*. 24(12):1068-72, 2014

4) Nakano E, Masamune A, Niihori T, Kume K, Hamada S, Aoki Y, Matsubara Y, Shimosegawa T. Targeted Next-Generation Sequencing Effectively Analyzed the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene in Pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2014 Dec 10. [Epub ahead of print]

5) Nishi E, Mizuno S, Nanjo Y, Niihori T, Fukushima Y, Matsubara Y, Aoki Y, Kosho T. A novel heterozygous MAP2K1 mutation in a patient with Noonan syndrome with multiple lentigines. *Am J Med Genet A*. 2014 Nov 25. doi: 10.1002/ajmg.a.36842. [Epub ahead of print]

6) Kon M, Suzuki E, Dung VC, Hasegawa Y, Mitsui T, Muroya K, Ueoka K, Igarashi N, Nagasaki K, Oto Y, Hamajima T, Yoshino K, Igarashi M, Kato-Fukui Y, Nakabayashi K, Hayashi K, Hata K, Matsubara Y, Moriya K, Ogata T, Nonomura K, Fukami M. Molecular basis of non-syndromic hypospadias: systematic mutation screening and genome-wide copy-number analysis of 62 patients. *Hum Reprod*. 2015 Jan 20. pii: deu364. [Epub ahead of print]

7) Fujiwara I, Murakami Y, Niihori T, Kannno J, Hakoda A, Sakamoto O, Okamoto N, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Kinoshita K, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y. Mutations in *PIGL* in a patient with hyperphosphatasia mental retardation syndrome. *Am J Med Genet A* (in press)

2 . 学会発表

なし

H . 知的財産権の出願・登録状況 なし

担研究課題

次世代のマススクリーニングの在り方に関する研究

研究分担者 松原洋一 (国立成育医療研究センター 研究所長)

日本人ゲノム参照パネルを用いた先天代謝異常症の頻度予測

研究要旨

先天代謝異常症のような希少難病の場合、患者数把握が重要な課題の一つとなる。医療機関へのアンケート調査では未受診者が把握できず限界がある。私共は次世代シークエンスの応用として、常染色体劣性先天代謝異常症の保因者頻度の推定を試みている。東北メディカル・メガバンク事業で実施されている住民コフォート 1,070 名分のゲノム参照パネルを用い、変異予測ソフトによる保因者数を算定している。フェニルケトン尿症 (PKU) などのスクリーニング対象疾患で推定し、スクリーニング結果と照合する方法で有効性を検証している。この方法は、我が国の遺伝性希少難病の患者数を把握する有効な一手段となる可能性がある。

研究協力者

呉 繁夫(東北大学大学院医学系研究科・教授)

A . 研究目的

先天代謝異常症を含む希少難病の診療体制の整備で、初めに問題となるのが患者数把握である。整備すべき診療リソースは、患者数に依存するからである。これまで、患者数の推定には、病院などの診療機関を対象としたアンケート調査が用いられてきた。しかしながら、この方法はアンケート回収率、未受診者が把握できない、などの限界がある。先天代謝異常症においては新生児スクリーニング (NBS) 対象疾患であれば確度の高い患者数を求められるが、非対象疾患では患者数把握は困難である。先天代謝異常症の多くは常染色体劣性遺伝であるため、その保因者頻度が分かる Hardy-Weinberg 法則より罹患者頻度を推定できる。

本研究では、日本人ゲノム参照パネルを利用し、先天代謝異常症の病因となっている遺伝子中に、

病的と考えられる変異の各頻度を *in silico* で求める。ここでは病的変異と遺伝子多型との区別が重要であるが、現在一般に利用されている変異効果予測ソフトの作動条件を検討する。本研究は、この検索結果を新生児スクリーニングの結果と比較することで、保因者頻度推定の至適化を目的とする。

B . 研究方法

1) 日本人のゲノム・シークエンス・データ
東北メディカル・メガバンク機構で決定した日本人ボランティア 1070 人の全ゲノム配列は、ゲノム参照パネルが整備されている。平均深度が x30 を超えているため、ヘテロ接合体保因者の検出用に十分な質を有する。

2) 遺伝子変異の効果予測ソフト
PolyPhen2、SIFT、Mutation Taster など加え、最近発表された、CADD (Combined Annotation Dependent Depletion) ソフトウェアを用い、種々のパラメーターで予測し、変異リストを出力する。

3) 有用性評価

新生児スクリーニングの対象疾患の保因者頻度の予測を行ない、実際の頻度との比較により評価する。

(倫理面への配慮)

東北大学医学部倫理委員会での審査を経て実施。

C. 研究結果

フェニルケトン尿症の責任遺伝子である PAH について試行したところ、推定疾患頻度は約 4 万 5 千人に 1 人であった。一方、我が国の NBS におけるフェニルケトン尿症の頻度は 5 万 3 千人に 1 人と報告されている(山口班報告書による)。

D. 考察

フェニルケトン尿症の責任遺伝子である PAH 遺伝子の変異は殆どが点変異であり、今回の方法で予測しやすい疾患と考えられる。本法の問題点として、変異の効果予測ソフトの解析結果の信頼性、

遺伝子コピー数異常が考慮されていない、稀な疾患の保因者頻度予測では 1000 人程度のデータベースでは不十分、などが挙げられる。

E. 結論

今後の十分な条件検討が必要であるが、ゲノム参照パネルによる疾患頻度予測は有用と考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究課題
治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究

研究分担者 大浦敏博 (東北大学小児科非常勤講師・仙台市立病院)

研究要旨

先天代謝異常症に対して使用される「特殊ミルク」の問題点を 法規上、組成上、改良・新規開発上、製造・供給上、供給対象年齢の5項目にまとめた。今後も安定的に供給していくためには、様々な点を改良していく必要がある。本研究では、「特殊ミルク」の効率的運用に関して、現状の問題点を整理するとともに、解決策の検討を行なった。

研究協力者

武田安弘 (森永乳業 栄養科学研究所・所長)
和泉裕久 (森永乳業 栄養科学研究所栄養機能研
究部・副主任研究員)
藤田 孝 (雪印メグミルク ミルクサイエンス研
究所・副所長)
伊賀由則 (雪印メグミルク ミルクサイエンス研
究所・主幹)
金子哲夫 (明治 研究本部食機能科学研究所・参
与)
大島幸裕 (明治 研究本部小田原工場・参与)

補助金・厚生労働科学特別研究事業 (研究代表者
大浦敏博 : 参考文献参照) で整理した「特殊ミル
ク供給上の課題」に対する取り組みの進捗状況に
ついて、特殊ミルクの製造・供給を行っている乳
業メーカー3 社の担当者へ分担研究者の大浦がメ
ールで質問し、その回答を取りまとめ、解決策の
検討を行なった。
(倫理面への配慮)
該当なし

A . 研究目的

現在、先天代謝異常症等の治療に用いられる特
殊ミルクとして医薬品、国庫補助のある登録特殊
ミルクと乳業メーカーの全負担による登録外特
殊ミルクが存在する。このうち、登録特殊ミルク
および登録外特殊ミルクは、特殊ミルク事務局を
通して主治医に供給されている。これら「特殊ミ
ルク」について、運用上の問題点を洗い出し、効
率的かつ安定的に運用するための方法を確立す
る。

B . 研究方法

文献調査及び平成 24 年度厚生労働科学研究費

C . 研究結果

問題点を集約したところ、法規上、組成上、
改良・新規開発上、製造・供給上、供給対
象年齢の5 項目に課題があると考えられた。

法規上の課題 : 「特殊ミルク」が「食品衛生
法」に準じて供給される以上、現行表示にある「
病用」や「医師の指示のもとに・・・」などの
表示は問題となる可能性がある。特殊ミルクを包
括的に管理する新たな枠組みが必要であると考え
られるが、現段階では現行のままとしつつ、特
殊ミルク安全開発委員会を中心に見直して行く
ことが望ましい。

組成上の課題 : 従来欠乏が懸念されていた
「ビオチン」の使用基準が平成 26 年 6 月改正さ
れ、添加可能となったことから、品目によって順
次添加することとなった。しかし、使用基準改正

は「調製粉乳および母乳代替食品」についてのみであり、低フェニルアラニンペプチド粉末（MP-11）など上記解釈が成り立たない品目には添加できない可能性がある。また、セレンやヨウ素など未解決の微量成分も存在する。

改良・新規開発上の課題：タンデムマス（TMS）スクリーニングの開始による対象疾患の増加や乳児栄養学の進歩に基づく特殊ミルクの改良・新規開発が望まれている。しかし、研究試作に人的・経済的負担が大きいことに加え、市販品でない為開発費用を製造原価に組み入れることが出来ない現状がある。特に医薬品については「改良」が有効成分の変更にあたる可能性がある。

製造・供給上の課題：効率的な供給に向け、ミルク品目の統合を検討してきた。その結果、乳糖除去粉乳である「MC-2」を「110」へ、メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症患児用の「S-10」を「S-22」へ、低リン粉乳である「720」を「MM-5」へ、それぞれ統合することが出来た。登録特殊ミルクを25品目から22品目へ減少させることができ、一定の成果が見られた。危機管理については、各社ミルクの在庫を2ヶ月以上に積み上げることで、災害や突発的事故への対応を行なうこととし、異物混入などの対応については、特殊ミルク事務局安全開発委員会で対応フロー案が作成された（図1）。

供給対象年齢の課題：国庫補助事業である特殊ミルクの対象年齢は、児童の健全育成を目的とすることから20歳未満に限られている。現行の行政担当部署の枠組みを超えた取り組みが必要であり、今後も引き続き検討が必要である。

D. 考察

「ビオチン」の添加、「登録特殊ミルク品目の整理・統合」、「危機管理対応」など一部で進展が見られたものの、課題の多くは解決していない。本項では特に喫緊の問題である、製造・供給上の課題について考察する。

特殊ミルクは意図的に特定の成分を除去した、

栄養学的には不完全な食品である。それ故、医師・管理栄養士の指示のもとで使用されなくてはならず、市販品として流通させることは避けるべきである。また、対象患者数が極めて少数であり、その製造単価が高額となるため公的補助が不可欠となる。現在は国庫補助と乳業メーカーの援助により無償で供給されているが、新たな仕組みが求められている。

1) 医薬品化

欧米では通常メディカル・フード（病者用食品）として扱われ、入手には医師の処方箋が必要となる。患者の費用負担に関しては、メディカル・フードとして定義された場合、医薬品と同様に保険適応となる。先進国では種々の公的扶助（償還制度、医療保険等）があり、患者家族の負担軽減策がなされている。本邦では2005年の薬事法改正によりGMP（Good Manufacturing Practice）など各種管理規制が強化されたため、特殊ミルクの医薬品化は極めて困難な現状である。

2) 特別用途食品

乳児用調製粉乳は健康増進法において特別用途食品として規定され、市販されているが、先天代謝異常症用特殊ミルクは適応となる対象患者数が少ないためビジネスとして成り立たず、開発は困難であろう。製品化されても350g缶が6,000円～10,000円と高額になることが予想され、公的補助制度がない現状では市販は不可能と言える。また、直接患者が購入することで、間違った使用をされる危険性があり、この点からも不相当である。

3) 登録外特殊ミルク

登録外特殊ミルクは全額乳業メーカーの負担で供給している。現在13品目であるが、中でも小児慢性腎疾患用ミルク（8806、低カリウム・中リンフォーミュラ）と難治性てんかん用ミルク（817-B、ケトンフォーミュラ）は使用量が増加し、併せて約6,300kg出荷されており、これは登録品の約1/3の出荷量にあたる。患者の治療に必要な特殊ミルクが100%企業の負担で供給されていることは極めて異例である。安定供給の点から

も問題があり、早急に改善すべきである。8806、817-Bの2種類の特特殊ミルクに関しては対象患者数、治療上のエビデンス等を収集し、その効果が明らかにされれば登録品化を目指すのがふさわしいと考えられる。その他の登録外品目についても、治療上のエビデンスを再検討し、効果が明らかでない品目は整理すべきであろう。

4) 登録特殊ミルク

登録品は22品目であり、国庫と乳業メーカーが補助している。特殊ミルク事務局を通して主治医に供給されている。このシステムは患者の負担はなく、医師が介在することで誤使用を防ぐことが出来る良い方法である。供給量は増加傾向にあるが、補助は概ね製造原価半額を目安にしている。しかし、実際の製造原価は15~40円/gと品目により幅があり、補助の目安を大幅に上回る品目も存在する。また、20歳以上に対して供給した場合は補助対象外となり、全額乳業メーカーが負担せざるを得ない。20歳以上に対する供給量は登録特殊ミルク全体の13%に上っている。

現状、増大する特殊ミルク供給量と補助金総額の乖離が徐々に広がりつつあり、安定供給上の課題となっている。また、特殊ミルクの新規開

発・改良研究に必要な経費も加味するべきであろう。国庫補助額を現状に見合う様、適正化することが望まれる。

今後とも行政・特殊ミルク安全開発委員会・乳業各社が協力し、「特殊ミルク供給体制」そのものを改善していく必要があると考えられた。

E. 結論

対象疾患や年齢にかかわらず、安定的に「特殊ミルク」を供給する新しい枠組みが必要と考えられた。

[参考文献]

- ・大浦敏博：先天代謝異常症等の治療のために特殊調合した調製粉乳（特殊ミルク）の効果的な使用に関する研究．平成24年度厚生労働科学研究費補助金 厚生労働科学特別研究事業．総括・分担研究報告書．1~15頁、平成25(2013)年3月
- ・日本小児連絡協議会栄養委員会治療用ミルク安定供給ワーキンググループ委員会報告：特殊ミルク安定供給のためのワークショップ．日本小児科学会雑誌 117巻5号、941~952頁、2013

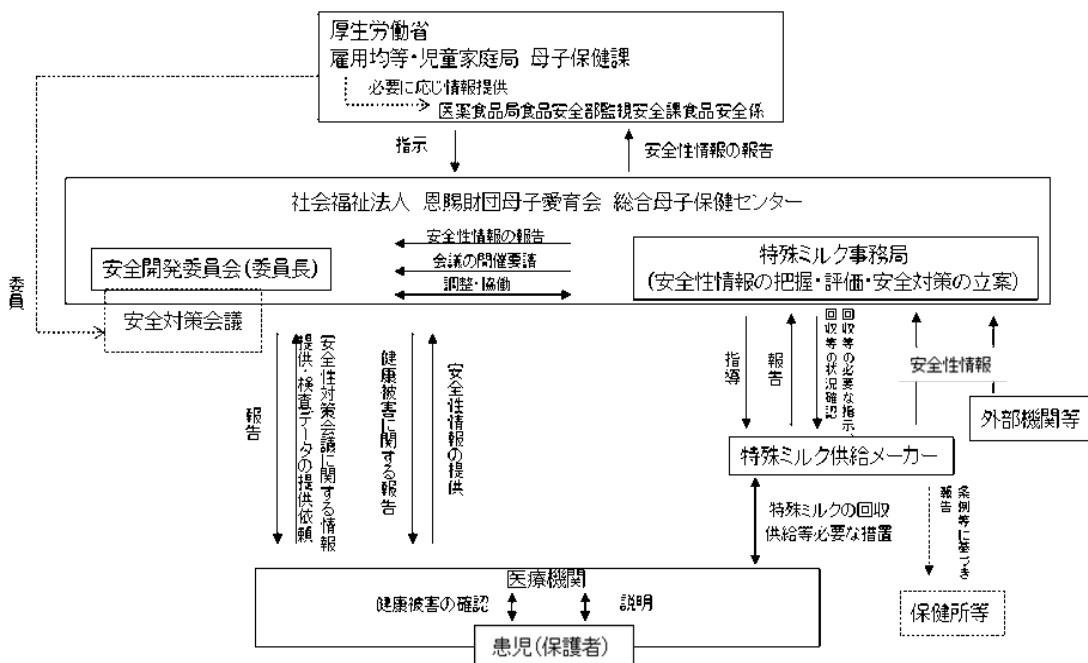


図1：異物混入等への対応フロー案（危機管理体制）

分担研究課題
治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究

研究分担者 大浦敏博 (東北大学小児科非常勤講師・仙台市立病院)

諸外国における特殊ミルクに関する経済的支援制度の比較研究

研究要旨

本研究は、タンデムマス・スクリーニング (TMSスクリーニング) 対象疾患の治療に必要な特殊ミルクの安定的供給について政策的観点から分析し政策提言をすべく、諸外国との制度比較を行った。スクリーニングの対象疾患の治療に必要な食品は、米国や欧州でそれぞれ「稀少疾患用医療食品」の一部であるメディカル・フード (病者用食品) や特定栄養補助食 (Foods for Particular Nutritional Use: PARNUT) と呼ばれる栄養補助食品のサブ・カテゴリーに該当する特殊医療用食品 (Foods for Special Medical Purpose: FSMP) として食品で扱われている。一方で、日本では従来から指摘されている通り、TMSスクリーニング対象疾患の治療に必要な特殊ミルクは、薬価収載品2品目を除いては、その開発費用が民間企業の負担となっている問題が続いている。

研究協力者

森臨太郎 (国立成育医療研究センター政策科学部
部長)

大西香世 (同・研究員)

A . 研究目的

タンデムマス・スクリーニング (以下 TMS スクリーニング) 対象疾患の治療に必要な特殊ミルクをどのように安定的に供給するのかを諸外国の状況を政策的観点から分析し、政策提言に資する比較研究を行う。

B . 研究方法

諸外国とわが国の特殊ミルク提供の状況について二次資料による文献調査を行った。

(倫理面への配慮)

該当なし

C . 研究結果

1) 米国における医薬品の認可と経済的支援制度

米国における医薬品の認可と医療費負担の取り組みについて述べる。米国において、メディカル・フード (Medical Food ; 病者用食品) というカテゴリーがある。メディカル・フードとは「医師の監視下において経腸的に摂取あるいは投与されるように処方され、科学的に明らかにされた原則に基づき、栄養状態の改善の必要性があることが医学的評価により立証された疾患や病状に対して特別な栄養管理を行うための食品」と定義される[1]。

メディカル・フードは米国食品医薬品局 (FDA ; Food and Drug Administration) による製造販売レビューや承認 (pre-market review/approval) を必要としない。メディカル・フードの種類には、(1) 経口脱水補充の製品、(2) 代謝異常症用の製品、(3) 単一栄養素製品、(4) 総合栄養製品 (汎用タイプ、病態別タイプ) の 4 種類がある[1]。米国に

おけるメディカル・フードの起源は、1941年にFDAが栄養素の強化食品を区別するために設置した「特別用途食品 Foods for Special Dietary Use (FSDU)」の制度化に遡る。

メディカル・フードは1972年以前には「薬品 (drug)」として位置付けられていたが、その食品開発を促進させるために1972年に一度「特別用途食品」として定義づけられることになった。フェニルケトン尿症の治療のためのLofenalacも同年1972年に、その希少性と有用性からFDAによってメディカル・フードと定義された。1983年には、希少疾病を治療する薬品の開発・商品化を促進させる目的で「希少疾病医薬品法 (Orphan Drug Act)」が制定された。これは、少数の患者しか存在しない希少疾病を治療するため、製薬企業に一定期間の排他的販売権付与と研究開発に対する税制優遇措置を実施し、経済的な誘因を発生させることによって希少医薬品開発を促すものである。

試験研究費は、最大50%の税額控除およびPDUFA (Prescription Drug User Fee Act)の免除もある[3]。1988年に希少医薬品法は改正され、メディカル・フード(病者用食品)は「特別用途食品」ではなく、正式に上記の定義が採用され、「稀少疾患用医療食品」の一部として扱われるようになった。1990年の栄養表示教育法 (Nutrition Labeling and Education Act)においては、メディカル・フードはその表示義務が免除されている。

患者の費用負担に関しては、メディカル・フードに定義された場合、メディカル・フード自体は多くの州において医薬品と同様に保険適応とはなっている。例えば、PKUに関しては全米の39州において何等かのかたちにおいて保険適用とされている。それ以外では、低所得層向けのメディケイド (Medicaid)あるいは児童医療保険プログラム (Children's Health Insurance Program: CHIP)によってカバーされている[2]。しかしながら、メディケイドは21歳以上の成人患者に対しては保険適応されないなどの問題もあり、現在

アメリカにおいては5,000人の成人患者が推奨される治療を受けていない[2]。

また、保険によってカバーされない治療の自己負担額 (out-of pocket expense) も存在する [3]。そのため、2011年にはオバマ政権による医療保険制度改革の一環である「患者保護並びに医療費負担適正化法 (the Patient Protection and Affordable Care Act)」のInsurance Exchangesなどを通して連邦政府が児童医療保険プログラム (CHIP)、トライケア (Tricare)、メディケイド (Medicaid)、メディケア (Medicare)、連邦公務員医療給付 (Federal Employee Health Benefit Plans) などによってマス・スクリーニングにより発見された疾患の治療の費用の負担を義務付けるMedical Food Equity Actが制定された。これに対応して、例えばPKU患者団体は、子どもと成人患者両方に対する治療の負担を求めるロビー活動を引き続き継続中である。

2) 欧州における医薬食品の審査制度と経済的支援制度

欧州において、特殊医療用食品 (Foods for Special Medical Purpose: FSMP) は特定栄養補助食 (Foods for Particular Nutritional Use: PARNUT) と呼ばれる栄養補助食品のサブ・カテゴリーに該当する。PARNUTSのサブ・カテゴリーの特殊医療用食品は委員会の1999年の指令 (Commission Directive 1999/21/EC of 25 March 1999 on dietary foods for special medical purposes) を遵守することになっている。

また、医薬品の監視および評価は欧州医薬品庁 (European Medicines Agency) の欧州医薬品評価委員会 (Committee for Medicinal Products for Human Use) が規制を行っており、欧州の市場における医薬品の「中央承認審査方式 (centralized procedure)」(欧州加盟国全てに同時に承認を与えること) による許可申請に対する科学的評価に関して責務がある。

中央承認審査方式では、企業はある国における医薬品の単一の許可をEMAに対し提出し、欧州委

員会で許可を得ると、全ての EU・欧州自由貿易連合 (EFTA) において同時に許可されるようなメカニズムになっている。一方、欧州における希少疾病医薬品は、2000 年に採択された欧州希少医薬品規制 (Orphan Medicinal Product Regulation) によって規制されて以来、希少医薬品の承認が進んでいる。欧州医薬品庁の希少疾病医薬品委員 (Committee for Orphan Medicinal Products: COMP) が審査を行い、承認勧告 (positive opinion) を与える責務があり、欧州希少医薬品規制が採択されて以来、欧州では 850 以上が COMP の承認勧告が与えられ、60 以上が欧州における販売承認 (marketing authorization) を受けている [4]。

希少医薬品の研究開発は、欧州 においては欧州連合および加盟国レベルでの研究助成が行われ、プロトコル作成支援料や認可前審査の全額免除、販売承認審査手数料の 50% の免除などの優遇措置が行われている [5]。欧州医薬品庁で申請審査を経た後は、各国のプロセスを経る。

次に、イギリスを例に挙げて欧州の加盟国レベルの医薬食品の規制について述べる。イギリスにおいては、保健省のもとにある医薬品・医療製品規制庁 (Medicines and Healthcare Regulatory Agency: MHRA) の下部組織である諮問委員会 (Advisory Committee on Borderline Substances) が、欧州の医薬品に関する指令 (Directive 2001/83/EC) とイギリス国内法によって、医薬品 (medicinal products) の承認審査の責務を負う規制機関と定められている。MHRA が製品を医薬品と承認した場合、イギリス国内の医薬品規制 (Human Medicines Regulations 2012 [SI 2012/1916]) に従わなければならない。イギリス国内の市場で販売される場合は、医薬品は必ず Human Medicine Regulations の市販承認あるいは登録を得なければならない。

MHRA は医薬品か食品かを判別する責務も負っており、食品とされた場合は、イギリス国内法の食品安全法 (Food Safety Act of 1999) に従うことになる [6]。特殊医療用食品 (Foods for

Special Medical Purpose) はイギリス国内法ではメディカル・フードとして The Medical Food (England) Regulations 2000 (SI 2000 No. 845) (as amended), Foods for Special Medical Purposes (Scotland) Regulations (SI 2000 No. 130) (as amended), the Medical Food (Wales) Regulations 2000 (SI 2000 No. 1866 (W125)) (as amended) and the Medical Food Regulations (Northern Ireland) 2000 (SI 2000 No. 187) (as amended) によって規制されている。イギリスではメディカル・フードとして承認された場合は、公費負担となる。

3) 日本におけるタンデムマス対象疾患の医療費

日本におけるタンデムマス対象疾患は、従来のアミノ酸代謝異常症に加え、尿素回路異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症が新たな対象疾患として加わった。これらの疾患の治療に用いられる特殊ミルクの入手方法・費用負担はその分類によって異なることが従来から指摘されている。

【薬価収載品2品】アミノ酸代謝異常症の疾患であるフェニルケトン尿症 (PKU)・メープルシロップ尿症 (MSUD) の特殊ミルクは、2つの薬価収載品 (それぞれフェニルアラニン除去ミルク配合散「雪印」、ロイシン・イソロイシン・バリン除去ミルク配合散「雪印」) がある。これらは、保険適応となり医師の処方箋をもとに入手することができる。義務教育就学前の乳幼児に対しては、乳幼児医療費助成制度 (通称・マル乳医療証、義務教育就学前の児童が医療機関等で受診する際の医療費の自己負担の一部あるいは全部を市区町村が助成する制度) によって市区町村が公費負担する。この制度に関しては所得制限や入院および通院医療費に対する年齢制限も存在するなど、助成額や助成の方法は自治体によって多様である。義務教育就学後の小児に対しては、「小児慢性特定疾患の医療費助成」(18歳未満、場合により20歳未満)による公費負担となり、患者の自己負担は2割となるが、やはり所得に応じた上限額

がある。なお、乳幼児医療費助成と小児慢性特定疾患の医療費助成双方から助成可能な患者の場合は、小児慢性特定疾患の助成が優先して負担することが多い。成人以後も続けて治療を行う場合、薬価収載品として保険適用ではあるが、成人であるために3割自己負担となる。

【登録品22品目】登録品22品目は、開発経費は国が50%、乳業会社が50%を負担しており、20歳未満は無料となる。20歳以上の患者に提供されたミルク経費は全額乳業会社負担になる。登録品22品目に該当するものは、糖質代謝異常のガラクトース血症・原発性乳糖不耐症には明治ガラクトース除去フォーミュラ（可溶性多糖類・ブドウ糖含有）および森永無乳糖乳（可溶性多糖類・グルコース含有）肝型糖原病には明治糖原病用フォーミュラ（乳たんぱく質・昼間用/夜間用）明治糖原病用フォーミュラ（大豆たんぱく質・昼間用/夜間用）蛋白質・アミノ酸代謝異常のフェニルケトン尿症には雪印フェニルアラニン無添加総合アミノ酸粉末（A-1）・森永低フェニルアラニンペプチド（MP-11）ホモシスチン尿症・高メチオニン血症には雪印メチオニン除去粉乳（S-26）チロジン血症には雪印フェニルアラニン・チロシン除去粉乳（S-1）高アンモニア血症・シトルリン血症、アルギニノコハク酸尿症、高オルニチン血症には、雪印蛋白除去粉乳（S-23）明治高アンモニア血症・シトルリン血症フォーミュラがある。

【登録外13品目】登録特殊ミルクから外れた品目である登録外品目13品目は、乳業会社の全面的な負担によって、患者の自己負担費用は無料となる。該当するものとしてアルギニン血症用フォーミュラなどがあるが、乳業メーカーによる全額負担によって供給されているため、乳業会社の負担は増大しつつある。

【市販品】

乳業会社によって市販されるものであり、有料であるため患者の自己負担となる[7][8]。

D. 考察

スクリーニングの対象疾患の治療に必要な食品は、米国や欧州でそれぞれ「稀少疾患用医療食品」の一部であるメディカル・フード（病者用食品）や特定栄養補助食（Foods for Particular Nutritional Use: PARNUT）と呼ばれる栄養補助食品のサブ・カテゴリーに該当する特殊医療用食品（Foods for Special Medical Purpose: FSMP）として医療用食品として扱われている。一方で、日本では従来から指摘されている通り、タンデムマス対象疾患の治療に必要な特殊ミルクは薬価収載品2品目を除いては、その開発費用が民間企業の負担となっている問題が続いている。

【参考・引用文献】

- [1] 中材丁次・森脇久隆、「メディカル・フードの考え方」『臨床栄養』105(1)：56-57, 2004.
- [2] National PKU Alliance
<http://npkua.org/resources/insurancecoverage.aspx>
- [3] Berry S. A. et al, Insurance coverage of medical foods for treatment of inherited metabolic disorders. *Genet Med.* 2013 Dec;15(12):978-82.
- [4] The Committee for Orphan Medicinal Products and the European Medicines Agency Scientific Secretariat. European regulation on orphan medicinal products: 10 years of experience and future perspectives. *Nature Reviews Drug Discovery* 10, 341-349 (May 2011).
- [5] 児玉知子・富田奈穂子、難病・希少疾患対策の国際的な動向『保健医療科学』2011年、Vol.60 No.2 p.105 - 111
- [6] MHRA, A Guide to What is a Medicinal Product. MHRA Guidance Note. No.8.
<http://www.mhra.gov.uk/home/groups/is-lic/documents/publication/con007544.pdf>
- [7] 恩賜財団母子愛育会、先天性代謝異常症治療用ミルク関係事業、
http://www.boshiaiikukai.jp/milk02_01.html
- [8] 山口清次編『タンデムマス・スクリーニング

ガイドブック』診療と治療社、2013年。

[9]森臨太郎「諸外国の特殊ミルク体制」特殊ミルク安定供給のためのワーク・ショップ。平成24年11月11日、東京

E. 結論

現在日本ではフェニルケトン尿症（PKU）とメープルシロップ尿症（MSUD）治療を目的とした薬価収載品2品目が、義務教育就学後の小児に対しては小児慢性特定疾患治療研究事業（18歳未満、場合により20歳未満）による公費負担となっており、患者の自己負担は2割となる。成人以後も続けて治療を行う場合薬価収載品として保険適用ではあるが、成人であるために3割自己負担となる。一方で、薬価収載品2品目以外では開発費用

が民間企業の負担となっており将来の安定的供給の問題が続いている。日本においても医薬品としてではなく医療用の食品（例えば、低フェニルアラニンのハンバーガーなど商品化も可能）として扱うことのメリットも今後考察されるべきである。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
重松陽介	脂肪酸代謝異常症	井田博幸	小児の治療指針	診断と治療社	東京	2014	524-525
大浦敏博	特殊ミルク	位田忍、他	先天代謝異常症 栄養食事指導ケースブック	診断と治療社	東京	2014	128-132
大浦敏博	先天代謝異常症の食事療法に併用される経口製剤	位田忍、他	先天代謝異常症 栄養食事指導ケースブック	診断と治療社	東京	2014	133-134

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年	* 本誌掲載
Naiki M, Ochi N, Kato YS, Purevsuren J, Yamada K, Kimura R, Fukushi D, Hara S, Yamada Y, Kumagai T, Yamaguchi S, Wakamatsu N	Mutations in HADHB, which encodes the β -subunit of mitochondrial trifunctional protein, cause infantile onset hypoparathyroidism and peripheral polyneuropathy	American Journal of Medical Genetics A	164(5)	1180-1187	2014	
Yasuno T, Osafune K, Sakurai H, Asaka I, Tanaka A, Yamaguchi S, Yamada K, Hitomi H, Arai S, Kurose Y, Higaki Y, Sudo M, Ando S, Nakashima H, Saito T, Kaneoka H	Functional analysis of iPSC-derived myocytes from a patient with carnitine palmitoyltransferase deficiency	Biochemical and Biophysical Research Communications	448(2)	175-181	2014	
Tomatsu S, Shimada T, Mason RW, Montano AM, Kelly J, LaMarr WA, Kubaski F, Giugliani R, Guha A, Yasuda E, Mackenzie W, Yamaguchi S, Suzuki Y, Orii T	Establishment of Glycosaminoglycan Assays for Mucopolysaccharidoses	Metabolites	4(3)	655-679	2014	
Shioya A, Takuma H, Yamaguchi S, Ishii A, Hiroki M, Fukuda T, Sugiee H, Shigematsu Y, Tamaoka A	Amelioration of acylcarnitine profile using bezafibrate and riboflavin in a case of adult-onset glutaric acidemia type 2 with novel mutations of the electron transfer flavoprotein dehydrogenase (ETFDH) gene	Journal of The Neurological Sciences	346 (1-2)	350-352	2014	* p113

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年	* 本誌掲載
Vatanavicharn N, Yamada K, Aoyama Y, Fukao T, Densupsoontorn N, Jirapinyoe P, Sathienkijkanchai A, Yamaguchi S, Wasant P	Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency: two neonatal cases with common splicing mutation and in vitro bezafibrate response	Brain and Development			in press	* p116
Sakai C, Yamaguchi S, Sasaki M, Miyamoto Y, Matsushima Y, Goto YI	ECHS1 mutations cause combined respiratory chain deficiency resulting in Leigh syndrome	Human Mutation			in press	
Kobayashi T, Minami S, Mitani A, Tanizaki Y, Booka M, Okutani T, Yamaguchi S, Ino K	Acute fatty liver of pregnancy associated with fetal mitochondrial trifunctional protein deficiency	J Obstet Gynaecol Res			in press	
坊岡美奈, 比嘉明日美, 津野嘉伸, 熊谷健, 奥谷貴弘, 吉川徳茂, 城道久, 太田菜美, 八木重孝, 南佐和子, 井篁一彦, 山田健治, 山口清次	胎児心不全で発症したミトコンドリア三頭酵素欠損症の1例	日本周産期・新生児医学学会雑誌	50(3)	1015-1021	2014	
重松陽介	血清および尿のアシルカルニチン分析	小児内科	46(4)	506-509	2014	* p122
Hayashi H, Tokuriki S, Okuno T, Shigematsu Y, Yasushi A, Matsuyama G, Sawada K, Ohshima Y	Biotin and carnitine deficiency due to hypoallergenic formula nutrition in infants with milk allergy.	Pediatr Int.	56(2)	286-288	2014	* p126
原圭一, 但馬剛, 小野浩明, 津村弥来, 岡田賢, 佐倉伸夫, 畑郁江, 重松陽介	CPT II 欠損症の新生児スクリーニング・見逃し例経験後の指標変更の影響	日本マス・スクリーニング学会誌	24(3)	261-266	2014	* p129
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			(印刷中)	
重松 陽介, 畑 郁江, 林 泰平, 小野 浩明, 但馬 剛	二次検査法と組み合わせて実施するメチルマロン酸血症・プロピオン酸血症のタンデムマス・スクリーニング指標の検討	日本マス・スクリーニング学会誌	24(1)	49-56	2014	* p135
畑 郁江, 重松 陽介	新生児期に特徴的なけいれん性疾患. 先天代謝異常症	小児科	55(8)	1175-1182	2014	* p143

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年	* 本誌掲載
重松 陽介, 畑 郁江	ピンポイント小児医療 タンデムマス・スクリーニングの二次検査 血清および尿のアシルカルニチン分析	小児内科	46(4)	506-509	2014	
小野 浩明, 但馬 剛, 重松 陽介, 畑 郁江, 原 圭一, 佐倉 伸夫, 吉井 千代子, 森岡 千代美, 阪本 直美	新生児タンデムマス・スクリーニングで陽性とならず、1歳時ノロウイルス感染を契機に発症したビタミンB12反応性メチルマロン酸血症の1例	日本マス・スクリーニング学会誌	24(1)	43-47	2014	
西山 将広, 田中 司, 藤田 杏子, 丸山 あずさ, 永瀬 裕朗, 竹田 洋樹, 上谷 良行, 重松 陽介	ピボキシル基含有抗菌薬3日間投与によるカルニチン欠乏が関与した急性脳症の1例	日本小児科学会雑誌	118(5)	812-818	2014	
Ogata T, Niihori T, Tanaka N, Kawai M, Nagashima T, Funayama R, Nakayama K, Nakashima S, Kato F, Fukami M, Aoki Y, Matsubara Y	TBX1 mutation identified by exome sequencing in a Japanese family with 22q11.2 deletion syndrome-like craniofacial features and hypocalcemia	PLoS One.	9(3)	e91598	2014	
Dragneva S, Szyszka-Niagolov M, Ivanova A, Mateva L, Izumi R, Aoki Y, Matsubara Y	Seven Novel Mutations in Bulgarian Patients with Acute Hepatic Porphyrrias (AHP)	JIMD Rep.	16	57-64	2014	
Inoue SI, Moriya M, Watanabe Y, Miyagawa-Tomita S, Niihori T, Oba D, Ono M, Kure S, Ogura T, Matsubara Y, Aoki Y	New BRAF knockin mice provide a pathogenetic mechanism of developmental defects and a therapeutic approach in cardio-facio-cutaneous syndrome	Hum Mol Genet.	23(24)	6553-6566	2014	
Izumi R, Niihori T, Suzuki N, Sasahara Y, Rikiishi T, Nishiyama A, Nishiyama S, Endo K, Kato M, Warita H, Konno H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Nakayama K, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y, Aoki M	GNE myopathy associated with congenital thrombocytopenia: A report of two siblings	Neuromuscul Disord.	24(12)	1068-1072	2014	

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年	* 本誌掲載頁
Nakano E, Masamune A, Niihori T, Kume K, Hamada S, Aoki Y, Matsubara Y, Shimosegawa T	Targeted Next-Generation Sequencing Effectively Analyzed the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene in Pancreatitis	Dig Dis Sci.	[Epub ahead of print]		2014	
Nishi E, Mizuno S, Nanjo Y, Niihori T, Fukushima Y, Matsubara Y, Aoki Y, Kosho T	A novel heterozygous MAP2K1 mutation in a patient with Noonan syndrome with multiple lentigines	Am J Med Genet A.	[Epub ahead of print]		2014	
Kon M, Suzuki E, Dung VC, Hasegawa Y, Mitsui T, Muroya K, Ueoka K, Igarashi N, Nagasaki K, Oto Y, Hamajima T, Yoshino K, Igarashi M, Kato-Fukui Y, Nakabayashi K, Hayashi K, Hata K, Matsubara Y , Moriya K, Ogata T, Nonomura K, Fukami M	Molecular basis of non-syndromic hypospadias: systematic mutation screening and genome-wide copy-number analysis of 62 patients	Hum Reprod.	[Epub ahead of print]		2015	
Fujiwara I, Murakami Y, Niihori T, Kannno J, Hakoda A, Sakamoto O, Okamoto N, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Kinoshita K, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y	Mutations in <i>PIGL</i> in a patient with hyperphosphatasia mental retardation syndrome	Am J Med Genet A	印刷中		2015	
Shintaku H, Ohura T	Sapropterin is safe and effective in patients less than 4-years-old with BH4-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency in Japan	J Pediatr	165	1241-1244	2014	* p151
大浦敏博、坂本修	シトリン欠損症 (NICCD, CTLN2)	小児科診療	77 (増号)	519-521	2014	* p155
山口清次	タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの社会的意義と課題	公衆衛生情報	44(3)	5-8	2014	* p161