

厚生労働行政推進調査事業費補助金
成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

**新生児マススクリーニングのコホート体制、
支援体制、および精度向上に関する研究**

平成 26～28 年度 総合研究報告書

研究代表者 山口清次

平成 29 (2017) 年 3 月

(3 年間のまとめ)

目 次

． 総合研究報告

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
資料	23

． 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）	27
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）	41
3．外部精度管理体制の確立に関する研究（分担：但馬剛）	51
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）	56
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）	63
．研究成果の刊行に関する一覧	70

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（島根大学医学部特任教授）

研究要旨

2014年度からタンデムマス（TMS）法が新生児スクリーニング（NBS）に導入された。TMSスクリーニングのスムーズな導入と、新生児スクリーニング体制の立て直しを目的として、以下の5つの分担研究に分けて研究を進めた。すなわち コンサルテーション・患者コホート体制に関する研究、スクリーニング検査精度向上に関する研究、外部精度管理体制の確立に関する研究、次世代のスクリーニングの在り方に関する研究、治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究である。研究成果の概要と提言を以下に示す。

(1)患者全数登録コホート体制の構築：自治体の行政窓口を介する仕組みよりも、各自自治体のNBS連絡協議会のメンバー（特に中核医師等）が主体となって進める方が現実的であり、今後検討すべきである。

(2)TMS コンサルテーションセンターの有用性：年々定着し年間相談件数は100件前後であるが、診療現場に携わる医療関係者、検査施設、自治体関係者、病院事務などからの相談が多く、有効性が確かめられた。さらに広く周知すれば地域格差是正に貢献する。

(3)成人PKUの生活実態調査：NBSで発見され、知的障害なく成人しても、経済的問題などのために治療を中断して神経障害が出る深刻な問題が提起された。移行期医療も含め成人後の支援体制を整備する必要がある。

(4)CPT-2欠損症による突然死例の検討：TMSスクリーニングの臨床的效果を検証してゆくために、乳幼児突然死類似症状で発症した症例を収集したところ、CPT-2欠損症が20例中15例を占めた。TMSスクリーニングでは突然死の予防も重要な目的であり、CPT-2欠損症を一次対象疾患にして積極的に診断すべきである。

(5)発見された疾患の genotyping：NBS 対象疾患のテイラーメード治療を目的として genotyping を2015年5月以降（1年8か月間）62例に行った。軽症型プロピオン酸血症患者の genotype の特徴が明らかになった。同様の手法で他の疾患でもデータを集積すれば、エビデンスに基づく診療に貢献することが期待される。

(6)検査の実施状況：一次対象疾患の再採血率はこの3年間で0.39% 0.34% 0.31%と減少傾向にあり、検査施設の技術が安定しつつあるといえるかもしれない。偽陽性率もNBSとしては適正な範囲に入っていることが分かった。

(7)TMSスクリーニングにおける二次検査法の開発：LC-MS/MSによる質量分析法を改変して血液ろ紙を用いた非誘導体化サンプル処理による方法を開発した（メチルマロン酸血症、グルタル酸血症 型、イソ吉草酸血症、コバラミン代謝異常など）。これにより診断精度が向上するとともに、再採血の呼び出しを減らすことが期待される。

(8)TMS精度管理体制の確立：技能試験（PT試験）年3回と精度試験（QC試験）年1回が定着してきた。今年度、精度管理検体を外部委託した。精度が維持されコスト削減も期待さ

れる。

(9)各検査機関の内部精度管理支援を目的としたweb自動解析システムの構築：各施設の測定値をアップロードすることによって、他施設とのデータの比較、患者データとの比較、カットオフ値の適正性などを、迅速・的確に評価できることが確認された。

(10) NBS に新たに導入が検討されている疾患：諸外国で注目されている原発性免疫不全症（SCID）スクリーニングの情報を収集した。簡便な遺伝子検査である TREC 法または KREC 法によって行われ、発症前に骨髄移植などの治療によって救命される。わが国では 3 施設（名古屋大学、東京医科歯科大学、および国立成育医療研究センター）で検討されている。今後臨床的意義、費用対効果、精度管理体制などの検討が必要とされよう。

(11) 遺伝子変異頻度から推定される疾患頻度の検討：TMSスクリーニングによる発見頻度と、遺伝子変異から推定される発見頻度は必ずしも一致しない可能性がある。東北メディカルメガバンクにある全ゲノム配列データを用いて、PKUとCPT-2欠損症のそれを比較検討した。PKUの頻度はTMS法のそれとほぼ一致したが、CPT-2欠損症のそれは大きくばらついた。これはTMS法で見逃し例が相当数ある可能性を示唆する。同様の方法でTMS法の診断精度を検証することができると思われる。

(12) 治療用特殊ミルクの安定供給の問題：わが国では従来からメーカーのボランティアに依存する面があったが、年々成人例も含め患者数が増加傾向にあり限界が来ている。財源も含めて安定供給の仕組みを早急に検討すべきである。また NBS で発見された患者の特に成人後の支援が、わが国では欧米に比べて不十分であることが示唆された。わが国の治療用食品提供・支援体制構築に参考にして検討すべきである。

(13) 治療用特殊ミルクの微量栄養素の検討：長期摂取にともなう微量元素、ビタミン等のアンバランスが起きる可能性が示唆された。特に、ビオチン、セレン、およびマグネシウム、リン、ヨウ素、亜鉛の微量元素などに注意を払う必要がある。

[おわりに] わが国の NBS は 1977 年にアジアで最初に開始されてから、39 年が経過する。事業開始当時は、とても稀少な疾患を発見するために多額の税金を投入することへの抵抗もあったことが推測されるが、現在では NBS を導入した欧米先進国において「NBS はきわめて優良な公衆衛生事業である」という認識で一致している。最近では、経済発展を遂げつつあるアジア諸国などでも NBS が急速に普及しつつある。NBS 事業は税金を投入して公的事業として行う以上、効率的に国民の母子福祉に貢献する体制が求められる。明らかになってきた課題を整理して質的向上を図る必要がある。また早くから導入した日本の国際貢献も期待される。

研究分担者	大浦敏博（東北大学小児科非常勤講師）
重松陽介（福井大学医学部客員教授）	
但馬 剛（国立成育医療研究センター研究所マ スクリーニング研究室長）	A．研究目的
原田正平（国立成育医療研究センター研究所マ スクリーニング研究室・前室長）	2014年度より全国の自治体で新生児スクリー ニング(以下、NBS)にタンデムマス(以下、TMS) 法が導入された。これによりNBSの対象疾患は従 来の6疾患から19疾患へと拡大された。しかしせ
松原洋一（国立成育医療研究センター研究所所 長）	

っかく発症前に発見されても、適切に対応されなければ、障害発生予防という本来の目的は達成されない。そこで、TMS法のスムーズな導入とともに、NBSの体制を立て直すことを目的として、表1に示す分担研究を柱にして研究を進めた。

表1. 分担研究と研究分担者

研究分担	研究分担者
1. コンサルテーション・患者コホート体制に関する研究	山口清次
2. スクリーニング検査精度向上に関する研究	重松陽介
3. 外部精度管理体制の確立に関する研究	但馬 剛 原田正平
4. 次世代のスクリーニングの在り方に関する研究	松原洋一
5. 治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究	大浦敏博

B. 研究方法

1. 患者コホート・コンサルテーション体制に関する研究

1) 患者登録コホート体制の検討

TMS法による新生児スクリーニング（TMSスクリーニング）によって発見された患者の登録とコホート体制の確立を目的として、以下のように第1段階調査と第2段階調査に分けて進めた。この方法による登録コホート体制について検証した。従来から行われている患者調査と、本研究班で行った患者調査を図1に示した。

(1) 第1段階調査：自治体を対象に発見された疾患、患者数、診断医療機関名を調査した。

(2) 第2段階調査：診断医療機関を対象に、確定診断名、診断方法、診断時の状況を調査した。

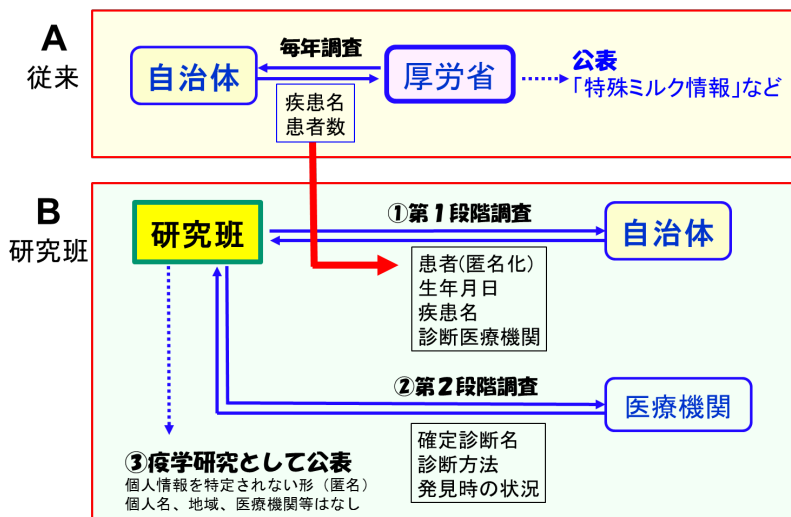


図1. 患者登録の方法：従来の仕組みと研究班で行っている方法。

A. 従来から行われている患者調査法：年1回厚労省から自治体へ患者数と疾患を調査して、愛育会から発刊される「特殊ミルク情報」等に公表。B. 研究班で行ってきた方法：従来の調査（厚労省から自治体へ）の後、第1段階調査としてTMSスクリーニング対象疾患に限って、疾患名、患者数、診断医療機関名（主治医）を調査し、第2段階調査として診断医療機関（主治医）を対象に確定診断名、診断方法、および診断時の状況について調査した。そして1年後、2年後にそれらの患者の状況についてコホート調査を行った。

2) TMS コンサルテーションセンター (TMS コンサルセンター)

2014 年度から TMS スクリーニングに関する相談 (陽性例の診療、支援方法、あるいは実施上の問題等) を受ける窓口を設置した (TMS コンサルセンター: 電話 03-3376-2550)。TMS コンサル窓口では、相談内容によって日本マススクリーニング学会より推薦された医師、検査技師につないで、5 日以内に回答することとした。その活動内容と効果を検証した。

3) TMS スクリーニングの実施状況の調査

2014年度より始まったTMSスクリーニングの各地区の実施状況と課題を、それぞれの中核的な医師を対象に調査した。

4) 成人PKU患者の実態調査

NBS事業における長期追跡の臨床的意義を検証する目的で、20才以上になったPKU患者の生活実態について調査した。対象は、母子愛育会特殊ミルク事務局からアミノ酸またはペプチド粉末 (A-1、またはMP-11) の供給されている20歳以上の患者の主治医に対して質問用紙で調査した。

5) TMS対象疾患のうち乳幼児突然死をきたした症例の収集

TMSスクリーニングの臨床的意義を検証することを目的として、文献、学会報告、あるいはパーソナルコミュニケーションによって、乳幼児突然死をきたしたNBS対象疾患の症例を収集した。

6) TMS スクリーニングで発見された患者の遺伝子型 genotype の調査

TMSスクリーニング対象疾患の効率的な治療法 (テイラーメイド医療) の確立を目的として、発見された患者のうち同意の得られた症例について、次世代シーケンサーを用い genotyping を行い、その効果について検討した。

2. スクリーニング検査精度向上に関する研究

1) 検査施設における検査の実施状況の調査

TMS スクリーニング実施状況と課題を検討することを目的として、TMS 検査機関を対象に、初回検査件数、再採血数、精検数、発見患者数などを

調査した。

2) TMSスクリーニングの新しい診断指標の開発

スクリーニング精度向上を目的として、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-2 (CPT-2) 欠損症の診断指標を開発しその有効性を検証した。

3) 二次検査法の開発

ハイリスクスクリーニングにおけるアシルカルニチン分析法および LC-MS/MS 二次検査法の開発と有用性を検討した。

4) 内部精度管理支援 Web 解析システムの開発

各検査機関における TMS 検査の各指標のデータのばらつきと中央値の分布、カットオフ値の適正性を自動的に評価するために開発された Web 解析システムの効果を検証した。

3. 外部精度管理体制の確立に関する研究

1) 技能試験 (PT試験) と精度試験 (QC試験) の体制の検討

外部精度管理をするための標準検体を作成しその有用性を検討した。

2) ブラインド (BL) サンプルを用いる外部精度管理の検討

情報を伏せて BL サンプルを検査施設に送付して、「正常」、「異常」の判定を求める精度管理試験を、2005 年から取り組み 2015 年度まで行った。

3) 精度管理合同委員会による精度管理体制の検討

日本マススクリーニング学会、NPO 法人タンドムマス・スクリーニング普及協会、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) の三者で構成する「精度管理合同委員会」を立ち上げその効果を検討した。

4. 次世代のスクリーニングの在り方に関する研究

1) 今後検討すべきスクリーニング対象疾患の情報収集

国内外で検討されている原発性免疫不全症の

新生児スクリーニングの実際と効果について情報を収集して検討した。東京医科歯科大学、国立成育医療センター、および名古屋大学で行っている基礎研究の実情を調査した。

2)大規模ゲノムコホートデータを用いた遺伝性疾患頻度の推定

TMSスクリーニングの有用性を検証する目的で、東北メディカルメガバンクにおける健常人ゲノムコホート 2049 人を対象とし、その全ゲノムシーケンスデータから、フェニルケトン尿症 (PKU) と CPT-2 欠損症の保因者頻度から患者頻度を推定した。

3)次世代シーケンサ (NGS) の応用の情報収集

将来NGSの導入の可能性について文献調査を行った。

5. 治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究

1)わが国の治療用特殊ミルク供給体制の現状調査

わが国の治療用特殊ミルク供給の歴史、供給体制、供給量、および課題について検討した。

2)治療用特殊ミルク供給の諸外国の状況調査
諸外国 (特に欧米諸国) の治療用特殊ミルク食品の供給体制、患者家族への社会支援の状況を調査した。

3) PKU 患者の微量栄養素の評価

現在 PKU 患者に使用されている治療用特殊ミルク栄養について、三大栄養素、微量金属、ビタミン類を評価した。血中セレン、ピオチン、あるいは尿中 3-ヒドロキシイソバレリン酸等について長期投与で起こりうる栄養上の問題を評価した。

C. 研究結果

1. 患者コホート・コンサルテーション体制に関する研究

1)患者登録コホート体制の検討

(1)第1段階調査(自治体を対象)の回答状況：
発見患者調査への協力可としたのは、表2に示す

ように、2014年度調査で87%、2015年度63%、2016年度54%であった。

表2. 自治体からの回答内容 (第1段階調査)

	2014年	2015年	2016年
協力可	58 (87%)	42 (63%)	36 (54%)
協力不可	1	13	9
未回答等	8	12	22

集計中 (2017年2月現在)

表3. 第2段階調査 (医療機関対象)

	2014年	2015年	2016年 ^{*1}
[第1段階] 自治体からの回答症例数	97例	67例	61例
[第2段階] 主治医からの回答症例数 (回答率)	96例 (99%)	67例 (100%)	39例 (64%)
確定診断患者数	80例	54例	33例
2年目コホート 発達遅滞例数 死亡例数	(2015) 5 3 ^{*2}	(2016) 4 0	
3年目コホート 発達遅滞例数 死亡例数	(2016) 5 1 ^{*3}		

^{*1} 2017年2月時点の数字；^{*2}メチルマロン酸血症 (生後40日) プロピオン酸血症 (新生児期) 三頭酵素 (TFP) 欠損症 (1才4か月) の各1例；^{*3}CPT-2 欠損症 (1才3か月)

(2)第2段階調査 (医療機関を対象) の患者登録コホート調査：自治体の協力で得られた医療機関 (主治医) を対象として第2段階目の調査をしたところ、表3に示すように、医療機関からの回収率は、99% (2014年) 100% (2015年) と良好であった。2016年度は64%であるが、まだ調査中の数字である。コホート調査では、2014年度

調査で得られた確定診断患者数 80 例だけに注目すると、3 年目コホート（3 歳未満）で、発達遅滞が少なくとも 10 例（2 年目 5 例 + 3 年目 5 例）、死亡例が 4 例という状況であった。

2) TMS コンサルセンターの活動状況

2014 年度より開始されたが、相談件数と相談者の内訳は表 4 に示すように、相談件数はそれぞれ

表 4 . TMS コンサルセンターの質問者内訳

相談者（年度）	2014	2015	2016*
小児科医師等	66	59	34
産婦人科医師等	4	2	2
法医学医師等	0	1	1
検査機関	20	6	4
助産師	3	0	1
自治体	17	13	14
医療機関事務局等	4	15	11
計	114	96	67

*2016 年度は 4 月～12 月の期間（9 か月間）

3) TMS スクリーニングの各地区における実施状況

北海道地区、東北 6 県、新潟県、埼玉県、千葉県、岐阜県、大阪市、兵庫県、広島県、福岡県、熊本県、長崎県、沖縄県の状況をアンケート調査した。TMS スクリーニング実施（2014 年度）から 3 年目になるが、一般的に年々軌道に乗ることが分かった。課題として、確定診断のための特殊検査の依頼先、費用負担等が明確でないこと、見逃し例の把握体制の整備、正確な患者数の把握、軽症例の治療指針が十分に示されていない、行政担当部署、医療機関、検査機関の連携が不十分な点等が挙げられた。

4) 成人 PKU 患者の実態調査

対象 85 例で回収率は 100%であった。NBS 開始

れ 114 件（2014 年）96 件（2015 年）および 67 件（2016 年 9 か月間）と年々減少傾向であった。質問者は小児科医が最も多いが年々減少傾向であった。次いで多かった自治体関係、病院事務関係からの相談は、あまり変動はなかった。相談内容は表 5 に示すように、診療に関するもの、精密検査の相談（費用を含む）などが多かった。

表 5 . TMS コンサルセンターの相談内容

相談内容（年度）	2014	2015	2016*
数値データ	10	2	2
検査・検査基準	27	8	15
精密検査の相談依頼	21	37	11
診断・治療方針	12	15	18
検体採取法に関して	6	2	2
再採血・再検査	6	3	0
検体輸送	2	0	1
検査費用	13	6	8
検体保存	2	3	1
その他	15	20	9
計	114	96	67

* 2016 年度は 4 月～12 月の 9 か月間の数

から 39 年目にあたるため、38 歳以上とそれ以下に分けて検討した。A 群 26 例（20～25 才）、B 群 19 例（26～31 才）、C 群 21 例（32～37 才）および D 群 19 例（38 才以上）の 6 年毎に 4 つのグループに分けた。

(a) 神経学的状況：図 2 に示すように、NBS 開始前（D 群）では、神経障害（発達遅滞、境界域または精神疾患）が 19 例中 13 例（68%）で、このうち重度発達遅滞は 6 例、軽度遅滞～境界は 5 例、精神障害 2 例であった。これに対し、開始後の群（A～C 群）では神経障害は 66 例中 7 例（11%）で、このうち発達遅滞は 1 例のみであった。

(b) 学歴：回答のあった 61 例中 55 例（90%）が高校卒業以上であった。養護学校 6 例はいずれも NBS 開始前の症例であった。

(c)就労状況:回答のあった77例中70例(91%)が就労中または就労可能という回答であった。就

労していないが就労可能(70例中7例)とは、主婦や学生を指す。

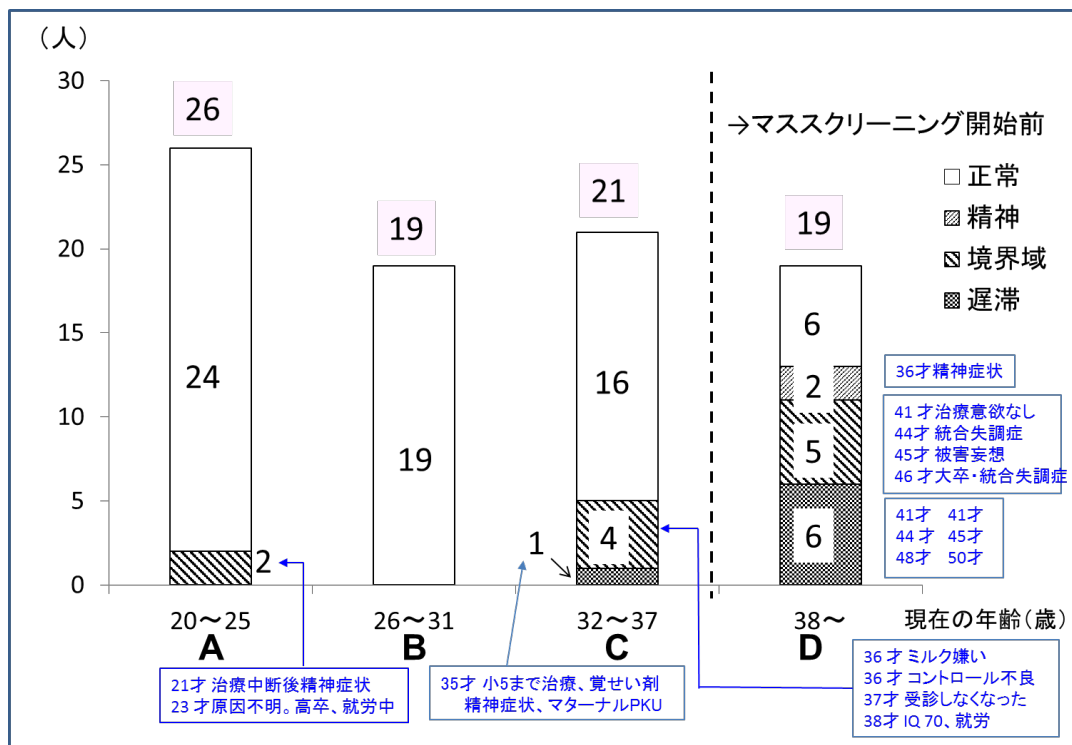


図2. 成人 PKU 患者の神経学的状況 (N=85 例)
母子愛育会の協力による

5) TMS対象疾患のうち乳幼児突然死をきたした症例の収集

2016年度までに計20例を収集した。内訳は、表6に示すように、カルニチン・パルミトイルトランスフェラーゼ- (CPT-2) 欠損症が15例で最も多く、次いで VLCAD 欠損症2例、MCAD 欠損症2例、およびグルタル酸血症型 (GA2) が1例であった。20例のうちTMSスクリーニングを受けていたのは4例のみで、それ以外はTMSスクリーニング開始以前の症例であった。

6) TMSスクリーニングで発見された患者の遺伝子型の調査

マススクリーニング対象疾患のgenotypingを、2015年5月より開始した。2016年12月まで(1

年8か月間)の時点で164例であった。このうちガラクトース血症10例以外はすべてTMSスクリーニング対象疾患であった。多かった疾患はプロピオン酸血症30例、メチルマロン酸血症17例、高フェニルアラニン血症15例、などであった。genotypingの終了しているプロピオン酸血症の22アレルのうち16アレルにPCCBのY435C変異が見いだされ、この変異を持つ10例中8例はこの変異のホモ接合体であった。少なくともこれらはすべてアシドーシス発作などの症状はなく、軽症型であり治療を必要としていないことが分かった。

表 6 . 乳幼児期に突然死様症状で発症した症例

症例	新生児期 NBS 結果	発症 年齢	発症形態 前駆症状	死亡 日	転帰	診断 欠損症	備考
1	TFP 疑い (再検で正常)	8m	インフルエンザ	当日	突然死	CPT2	死亡時に診断
2	異常なし (見逃し例)	7m	発熱、急性脳症		重度心 身障害	CPT2	発作時に診断
3	CPT2 (陽性者)	8m	発熱、倦怠	?	突然死	CPT2	一次対象でない ため精査せず
4	CPT2 (陽性者)	1y3m	ノロ胃腸炎	数日	突然死	CPT2	診断していたが 死亡
5	開始前	3d	チアノーゼ、低体温	翌日	突然死	CPT2	
6	開始前	1m	なし	当日	突然死	VLCAD	睡眠中死亡
7	開始前	4m	感冒症状	数日	突然死	CPT2	
8	開始前	6m	感冒症状	数日	突然死	CPT2	
9	開始前	8m	?		突然死	MCAD	
10	開始前	9m	発熱、下痢	翌日	突然死	CPT2	
11	開始前	9m	?		突然死	GA2	
12	開始前	11m	感冒症状	当日	突然死	CPT2	
13	開始前	1y1m	発熱	?	突然死	CPT2	
14	開始前	1y1m	低血糖、けいれん	6日	突然死	CPT2	死亡時に診断
15	開始前	1y5m	意識障害、けいれん		突然死	VLCAD	
16	開始前	1y8m	?		突然死	MCAD	
17	開始前	?	ライ症候群	?	突然死	CPT2	
18	開始前	?	インフルエンザ	数日	突然死	CPT2	
19	開始前	?	?	?	突然死	CPT2	双胎例
20	開始前	?	?	?	突然死	CPT2	

* 症例 1~4 は TMS スクリーニング開始後の症例。TFP=三頭酵素；CPT2=カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-；VLCAD=極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素；GA2=グルタル酸血症 型

表7. 遺伝子検索した症例数 (2015年5月～2016年12月調査)

臨床暫定診断	症例数		
	2015年	2016年	合計
プロピオン酸血症	13	17	30
メチルマロン酸血症	10	7	17
高フェニルアラニン血症	3	12	15
VLCAD 欠損症	5	9	14
メチルクロトニルグリシン尿症	6	6	12
メープルシロップ尿症	1	10	11
ガラクトース血症	1	9	10
全身性カルニチン欠乏症	7	3	10
MCAD 欠損症	3	5	8
シトルリン血症1型	3	4	7
グルタル酸血症1型	2	4	6
CPT2 欠損症		4	4
CPS1 欠損症/NAGS 欠損症	1	3	4
OTC 欠損症	2	1	3
シトリン欠損症	2		2
マルチプルカルボキシラーゼ欠損症		2	2
ホモシスチン尿症		2	2
一過性高メチオニン血症の疑い		2	2
アルギニノコハク酸尿症	1	1	2
CPT1 欠損症		1	1
軽症型マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	1		1
三頭酵素欠損症	1		1
計	62	102	164

2. スクリーニング検査精度向上に関する研究

1) 検査施設における検査の実施状況の調査

TMS 実施施設に対してアンケートを行った。表8に示すように、回答率は80%、89%、90%と徐々に増加した。自治体によって仕組みが異なるため、検査施設がすべての確定患者数を把握しているとは限らない。一次、二次疾患全体の発見頻度は、1:9,597～1:12,823であった。再採血率、発見患者数を3年間で比較すると以下の通りであった。

(a)一次対象疾患：再採血率は0.39% (2013年度分) から0.31% (2015年度分) へと徐々に減少傾向にある。患者頻度は年度によってばらついていた。

(b)二次対象疾患：再採血率は0.09%～0.13%であった。

2) 二次検査体制の構築と有用性の検討

診断精度向上と再採血率低減を目的として、LC-MS/MS を用いた安定同位体希釈法による血液ろ紙の詳細分析法を確立した。3年間の主な技術開発項目を表9に示す。このうち、メープルシロップ尿症、イソ吉草酸血症とメチルマロン酸血症型の具体例を巻末資料として例示している。

表 8 . 検査施設の把握している再採血率と発見患者数

		2013 年度分	2014 年度分	2015 年度分
回答検査施設数 (回答率)		33 (80%)	34 (89%)	37 (90%)
初回検査数 (検査施設の把握数)		872,085	902,093	983,765
一次対象疾患	再採血率	0.39%	0.35%	0.31%
	発見患者数*	54 例	76 例	71 例
	発見頻度	1:16,150	1:11,870	1:13,856
二次対象疾患	再採血率	0.13%	0.09%	0.09%
	発見患者数*	14 例	18 例	9 例
	発見頻度	1:61,292	1:50,116	1:109,307
一次、二次疾患全体の総発見率		1:12,823	1:9,597	1:12,360

調査は、それぞれ 2014 年 (2013 年度分)、2015 年 (2014 年度分)、2016 年 (2015 年度分) に実施したものである。

表 9 . LC-MS/MS を用いた血液ろ紙分析による 2 次検査法の開発

疾患	測定項目
(a)メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症	メチルマロン酸、3-OH-プロピオン酸
(b)グルタル酸血症 型	新生児期の 3-ヒドロキシグルタル酸とグルタル酸
(c)メープルシロップ尿症	アロイソロイシン (巻末資料 1)
(d)イソ吉草酸血症の鑑別	ピパロイルカルニチンとイソバレリツカルニチンの異性体分析 (巻末資料 2)
(e)ヒドロキシメチルグルタル酸血症	3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸
(f)プロピオン酸血症、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症、ケトチオラーゼ欠損症	(グリシン抱合体) プロピオニルグリシン、メチルクロトニルグリシン、チグリルグリシン (巻末資料 3)
(g)メチルマロン酸血症 型 (コバラミン代謝異常症)	メチルマロン酸、ホモシスチン、C3/Met 比 (巻末資料 4)

3) CPT-2 欠損症の新しい診断指標の検証

CPT-2 欠損症は TMS 法で発見できるといわれているが、わが国では TMS スクリーニング一次対象疾患から外れている。その理由は、図 3A に示すように、従来のカットオフの設定 (C16>6.3、C18:1>3.0) では、見逃し例が多く、また偽陽性

も相当数あることが懸念されたからである。

(a)新しい CPT-2 欠損症の診断指標の設定 : 本研究で CPT-2 欠損症の新しい診断指標とその有効性を検討した。すなわち図 3B に示すように新しい指標 (C16>3.0、[C16+C18:1]/C2>0.62) を設定した。

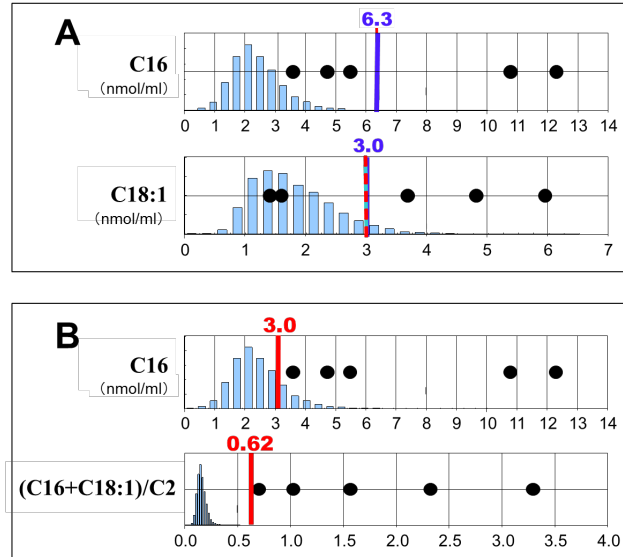


図3 . CPT-2 欠損症の新指標と新指標による検出状況（重松、花井ら）

旧指標（A）では、5例中少なくとも3例の見逃しがあり、一方新指標（B）では検討した5例全例が陽性となり逃しはない。

(b) 新規診断指標の感度特異度の検討：表 10 に示すように、約 100 万新生児を対象に新しい指標によって 8 例の CPT-2 欠損症患者が発見された。一方結果的に偽陽性と判明したのは 25 例であった。検討した期間内において偽陰性例の報告はない。従って、患者発見感度は 100%、特異度（非患者を陰性とする率）は 99.998%、陽性的中率（陽性者が患者である率）は 24.2%と計算された。また陽性率（精密検査を必要とした新生児の率）は 0.002%と極めて低値であった。

表 10 .CPT-2 欠損症の新しい指標による診断精度（感度・特異度）

新しい指標	CPT-2 欠損症患者	非患者	計
陽性	8	25	
陰性	0	1,083,463	1,083,463
計	8	1,083,488	1,083,488

4) 内部精度管理支援 Web 解析システム開発とその有用性

各検査機関における TMS 検査の各指標のデータのばらつきと中央値の分布、カットオフ値の適正性を各検査施設で評価できるよう「Web 解析システム」を開発しその有用性を検討した。図 4 に C3（プロピオニルカルニチン）を例示している。検査施設（横軸）ごとに C3 の正常のばらつきとカットオフが示され、右端に患者の測定値、偽陽性者の測定値が示されている。各施設では定期的に測定データをアップロードすれば、自施設における検査の適正性を評価できる。またカットオフ値等について技術部会から助言することも可能である。

また各検査施設の再採血率、総精査率、即精検率も、図 5 に示すように一覧できるので自施設と他の施設と比較することにより、自施設の位置を確認できる。

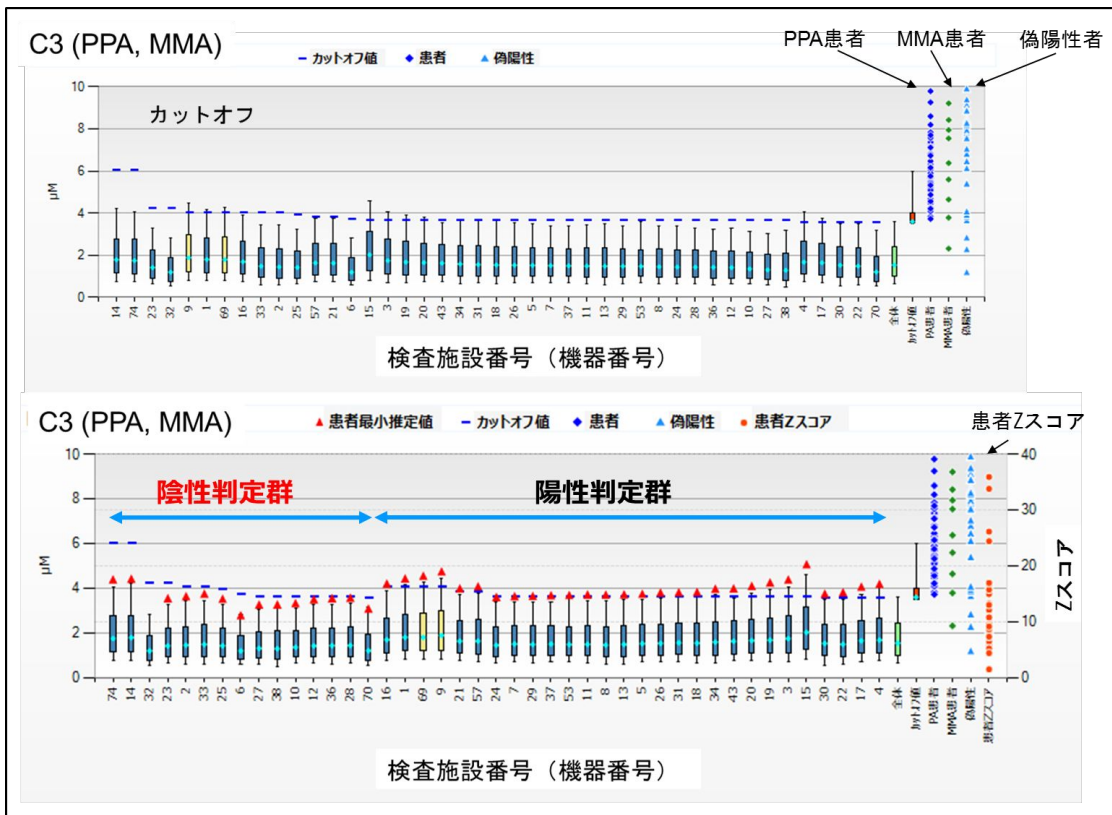


図4. 内部精度管理支援のためのWeb解析システムのアウトプットの例

C3を例示している。上段：各検査施設の測定値のばらつき、カutoff値、および患者（異常検体）の測定値がプロットされている。下段は、患者（異常検体）の最低値をプロットしカutoff値がそれよりも上に設定されていれば「陰性判定群」となり、カutoff値の再検討の必要性が示される。患者（異常検体）の最低値よりもカutoff値が下であれば「陽性判定群」であり、カutoff値は適正であることが示される。

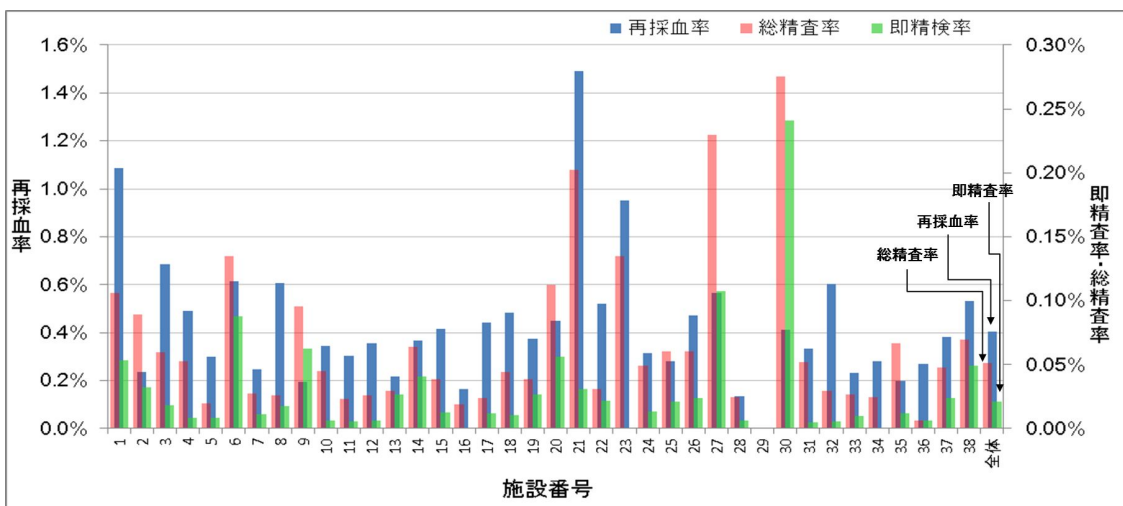


図5. 各施設の再採血率、総精査率、即精検率の一覧（内部精度管理支援web解析システム）
横軸は施設番号である。自施設の再採血率などを他施設のそれと比較できる。

3. 外部精度管理体制の確立に関する研究

1) 技能試験 (PT試験) と精度試験 (QC試験) の体制の検討

(a)PT試験：異常検体を人工的に作成して各施設に送付して、適正に異常が検出されるかという技能を試験するものである。このほかに検体受取りから結果報告までの時間、および報告書式など事務的な適正さなども評価される。2014年度より、PT試験は年3回定期的に実施できるようになった。試験結果は精度管理合同委員会で図られ、著しく外れた結果の出た場合は検査施設に問い合わせ、必要に応じて指導を行う体制が確立した。

(b)QC試験：濃度のわかった複数の検査指標(低～高濃度まで4濃度)を添加した検体を検査施設に送付して、1日2回×10日間の連続測定などにより、日差変動、ばらつき、検量線の直線性などをテストするもので、年1回の試験が軌道に乗った。1日5回×5日間の連続測定も検討中である。

(c)試験用検体の作製：2014～2015年度は国立成育医療研究センターマススクリーニング研究室 (MS研) にて、日本赤十字社から入手した献血赤血球を洗浄後、各種指標物質を添加して作製していた。2016年度から、測定キットや内部標準試薬を製造販売している国内専門業者に必要な仕様を提示し、試験用検体を外部委託した。納品された検体を検品した結果、前年度までは準備困難であった指標についても良好な測定値が確認された。コスト削減も期待されることが分かった。

2) ブラインド (BL) サンプルを用いる外部精度管理の検討

情報を伏せて BL サンプルを検査施設に送付して、「正常」、「異常」の判定を求める精度管理試験を、2005年から取り組み2015年度まで行った。極めて有効な精度管理評価法であるが、検査施設に過度の労力とエネルギーの負担が大きく、PT試験が軌道に乗ったので2016年度から休止としている。

3) 精度管理合同委員会による精度管理体制の検討

日本マススクリーニング学会、NPO 法人タンデ

ムマス・スクリーニング普及協会、MS 研の三者で構成する「精度管理合同委員会」を2015年度に立ち上げた。2016年度からは年4回開催を定例化した。精度管理結果 (PT 試験3回、QC 試験1回) を評価し、問題のあった施設の状況確認を行い、必要に応じて指導的な役割も果たした。また QC 試験のデータの Web 解析システムも開発中である。

4. 次世代のスクリーニングの在り方に関する研究

1) 今後検討すべきスクリーニング対象疾患の情報収集

国内外で注目されている原発性免疫不全症の新生児スクリーニングの実際と効果について情報を収集して検討した。東京医科歯科大学、名古屋大学、および国立成育医療センターで行っている基礎研究の実情を調査した。

(a)東京医科歯科大学での検討：2016年5月から12月にかけて東京医科歯科大学で出生した213名の新生児を対象に、TREC法及びKREC法を用いてスクリーニングを実施した。その結果によると、TREC法およびでもKREC法両手法でも測定値は出生体重、出生週数に影響を受けないことが判明した。また、市販のキット (EnLite, Roche) と自家製キット (TMDU) のいずれにおいても適切な結果が得られることを確認された (図6)。

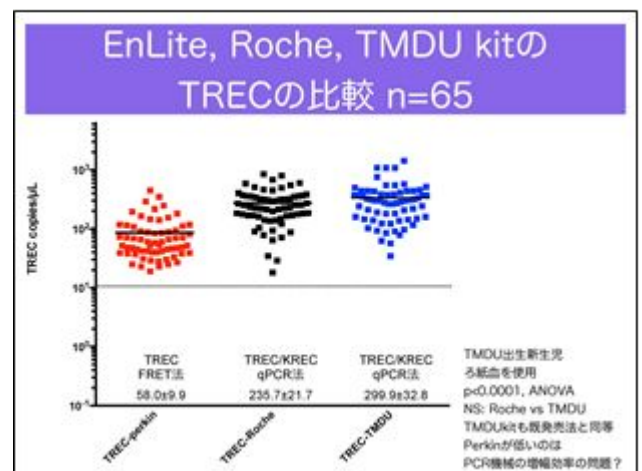


図6. 東京医科歯科大学で検討されたTREC法の市販キットと自家製 (TMDU) キットの比較

(b)名古屋大学での検討：新生児乾燥濾紙血のTREC中央値は139 (32～473) copies/μLで、全例で海外において用いられるカットオフ値29 copies/μL以上であった。保存DNA検体を用いた検討ではSCID患者のTRECの中央値(範囲)は4(3～8) copies/μLであった。新生児213名を対象としてTREC法によるスクリーニングを実施したところ陽性例は認められなかったが、陽性対照検体はすべて同定できることが確認された。

2)大規模ゲノムコホートデータを用いた遺伝性疾患頻度の推定

東北メディカルメガバンクの全ゲノム配列データを用いて、PKUの責任遺伝子(PAH)とCPT-2

欠損症のCPT2遺伝子について保因者頻度から推定される患者頻度を計算した。その結果を表11に示す。PKU(PAH欠損症)の頻度は4.5万人に1人と推定され、TMSパイロット研究のデータと類似していた。一方CPT-2欠損症(CPT2遺伝子異常)では、Human geno emutation data base (HMDB)に記載されている変異のみで計算すると47万人に1人、日本人のCPT-2欠損症患者(16名の患者の島根大学データ)で同定されている変異から計算すると4.1万人に1人と計算された。TMSパイロット研究によるとCPT-2欠損症の頻度は28万人に1人であり、遺伝子変異から推定される頻度とは異なっていた。

表11. 東北メディカル・メガバンクの全ゲノム配列データから推定された疾患頻度

	東北メガバンク 検体数	推定保因者頻度	遺伝子による 推定疾患頻度	TMSパイロット 研究による頻度
PAH遺伝子	1,070名分	1/115	1:45,000	1: 53,000
CPT2遺伝子	2,049名分	1/342 (HMDB)	1:468,000	1: 280,000
		1/102 (日本人患者)	1:41,000	

略字：HMDB = human genomemutation data base

3)次世代シーケンサ(NGS)の応用の情報収集

新生児スクリーニングへのNGSの導入の可能性について文献調査を行った。現時点ではコスト面のみならず倫理的な問題があり現実的ではないが、NGSは、原理的にはあらゆる遺伝性疾患の検出が可能である。米国では、2013年より4つの研究医療機関で倫理面を含めた検討が開始されている。

(a)諸外国における現状：米国NIHでは、2013年よりGenomic Sequencing and Newborn Screening Disorders programのもとに、WGSあるいはWESを用いた新生児集団の遺伝子解析については、すでに研究的な検討が始められ、倫理面を含めた検討が開始されている。

(b)網羅的遺伝子解析の課題：

コスト面は現在のところ、1検体あたり十～数十万円のコストを要するが、将来遺伝子解析コストのさらなる大幅な低下によって、現行の手法との逆転が起こる可能性も考えられる。

技術的課題として、研究機器として開発されてきたが、各ステップの自動化、機械化が進んできており、マススクリーニングに適したシステムを組むことは十分可能と考えられる。

感度、特異度の問題は、現段階の技術では、遺伝子解析によってすべての患者を同定することはできない。また、病的変異のデータベースが未整備なため、しばしば変異の判定をすることが困難である。これらの制約を理解したうえでスクリーニングを行う必要がある。

対象疾患の選定の問題として、病因遺伝子が明らかにされている疾患すべてを対象とするこ

とが可能であるが、NBSとしてふさわしいかどうかを慎重に評価する必要がある。各疾患の専門家を交えた慎重な議論が必要である。

偶発的所見について、網羅的解析によって、本来目的としない疾患までも検出することの是非が議論されている。このことについては、慎重な検討が必要である。

5. 治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究

1) わが国の治療用特殊ミルク供給の現状

わが国の治療用特殊ミルクは表12に示すように、4つのカテゴリーに大別される。NBS対象疾患（先天代謝異常症）は、医薬品（PKUとMSUD）と登録品（大部分の疾患）に入る。

表12. 我が国の治療用特殊ミルクの分類と費用負担、入手方法等

	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	治療用医薬品(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	乳業会社に問い合わせ
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	電解質代謝異常用(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

わが国では1980年度より特殊ミルク供給事業が始まった。先天代謝異常症に対する特殊ミルクの供給の費用は、原則として、メーカーと国が1/2ずつ負担することで始まった。最近いくつかの問題が表面化してきた。図6に示すように、年々ミルク供給量が増大してメーカーのボランティアに頼る体制には限界が近づいてきた。この要因として、患者の蓄積の他に、成人の占める割合が増加していること(20歳以上が約20~30%

を占めるようになった) TMS法の導入によって対象疾患が増大したこと、先天代謝異常症以外の疾患に対する治療用ミルク(100%メーカー負担、登録外ミルク)の供給量が増えたことなどがあげられる。さらに、成人後にも引き続き治療の必要な患者に対する支援制度が整備されていないために、成人後に患者の個人負担が発生して患者家族が非常に不安を感じている。

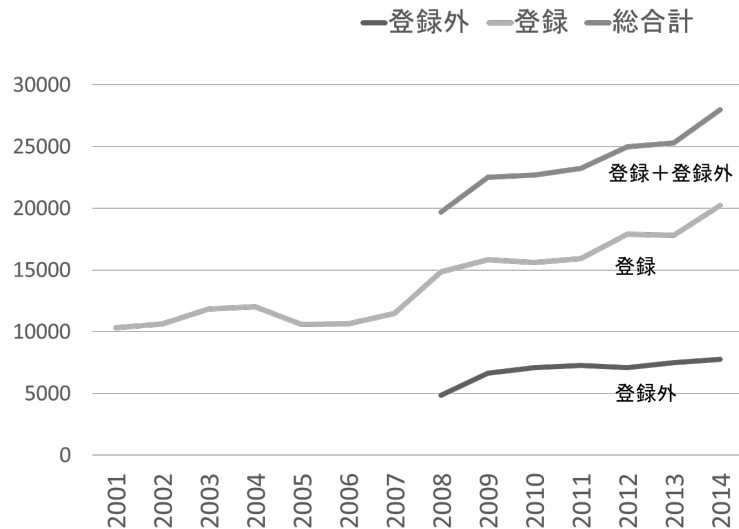


図 6. 登録・登録外特殊ミルクの出荷量(kg)の推移 (2001 - 2014)

2) ヨーロッパにおける治療用特殊ミルク供給の諸外国の状況調査

ヨーロッパの治療用食品の公的負担の状況を、フェニルケトン尿症の公的支援を表13に示した。イギリスの医療用食品の認可プロセスは、医療製品規制庁 (Medicines and Healthcare Regulatory

Agency: MHRA) が承認したものを指す。メーカーが医療用医薬品としてMHRAに申請し、そこで審査される。下部組織としてAdvisory Committee on Borderline Substances (ACBS) があり、MHRAから一部審査を移管されることがある。

表13. 欧州におけるフェニルケトン尿症患者に対する公的支援

	医療用食品 (低たんぱく食など)	社会支援
イギリス	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

3) 米国における支援体制

米国では先天代謝異常症の治療に用いられる食品は医療用食品として「稀少疾患用医療食品」の一部として扱われる。医療用食品は、広義には 有害なアミノ酸を除去したたんぱく質 (アミノ酸) を含む食品 (医療用食品・フォーミュラなど) と 通常の食品の代替物として用いる低たんぱく食品に大別される。

医療用食品は医療保険や償還の対象となるが、その対象疾患、適応範囲は州によって異なっている。フェニルアラニン (Phe) 除去ミルクなどの乳児用治療乳はほとんどの州で給付の対象となっており、医師の処方箋で購入できる。しかし、低たんぱく食品は適応外となっている州も多く、問題となっている。患者の低たんぱく食品に掛かる自己負担を調査すると、48%が自己負担金とし

て月100ドル以上支払っていたというデータがある。

4) PKU患者の摂取している栄養の問題の調査

Phe除去フォーミュラであるA-1 / MP-11は、蛋白質を補充するとともに脂質、微量元素、ビタミンを供給し、小児だけではなく成人PKU患者にも必要不可欠であることを示していた。微量元素、ビタミンについて検討したところ、ビオチン、セレンの摂取不足が示唆された。マグネシウム、リン、ヨウ素、亜鉛の微量元素についてもMP-11もしくはA-1の組成では欠乏する傾向があることが分かった。

D. 考察

わが国では、2014年度にTMSスクリーニングがはじまり3年目になる。本研究班ではTMSスクリーニングの地域格差のないスムーズな導入、39年が経過するわが国のNBSの立て直しと効率化のための提言を目的として、5つの分担研究で進めてきた。それぞれの研究成果についてまとめながら考察したい。

1. 患者コホート・コンサルテーション体制に関する研究

NBSが小児の障害発生予防を目的とした公的事業として行われている以上、発見された患者の長期的な追跡体制は重要な問題である。その意義として以下のことが挙げられる。対象疾患の正確な頻度、対象疾患の自然歴の把握、エビデンスに基づく診療技術向上、稀少疾患の治療法向上、稀少疾患を持つ患者家族のQOL向上、および事業評価と行政サービス向上などである。構築に当たっては、患者のプライバシーの保護、患者家族および臨床現場への有効なフィードバックの方法などに配慮しながら進める必要がある。

本研究では、第1段階調査として自治体を対象として発見された疾患名と患者数と診断した医療機関を質問し、第2段階調査として自治体から得られた医療機関(主治医)を対象にした患者の

状況、診断方法、治療法などを質問した。この体制では、第1段階調査の回答率が重要であるが、回答率は87%(2014年度)、63%(2015年度)、そして54%(2016年度)と残念ながら年々減少した。この理由として、自治体の担当部署では、まず患者の個人情報の漏えいを危惧して慎重になったということが考えられる。

一方、第2段階調査(小児科主治医を対象とした調査)の回収率は90%以上であった。患者と直接接する小児科医はエビデンスに基づく診療のために患者追跡体制の重要性を理解していることがうかがわれる。例えば、がん登録のように患者の全数登録を進めるならば、主治医を介した登録追跡体制の方が現実的であると思われる。

長期追跡の臨床的意義を検討するためのパイロット研究として、成人PKU患者の生活実態を調査した。その結果、予想された通り、NBS開始後に診断された患者は、開始前のそれに比べ知的障害が少ないことが明らかであった。しかし同時にいくつかの深刻な課題が明らかになった。すなわち経済的問題など成人後の患者支援体制の不備のために、治療を中断した結果、精神疾患を発症する例が散見されることである。さらに治療中断のためにマターナルPKUが発生する事例もあることが分かった。成人後の医療支援追跡体制の整備、また小児科から成人診療科への移行期医療の在り方についても検討する必要がある。

稀少疾患診療の地域格差をなくすことを目的として、2014年度からTMSコンサルテーションセンターがスタートした。年間の相談件数は100件前後で推移しているが、まだ十分に周知されていない可能性もある。また各地区のTMSスクリーニング実施状況調査では、おおむね定着しつつあるが、確定診断のための特殊検査の進め方、費用負担などの問題があることが分かった。

TMSスクリーニング導入による障害発生予防の効果を評価するための資料とする目的で、急性脳症や突然死様症状で発症したTMSスクリーニング対象疾患の事例を収集したところ、20例中15例がCPT-2欠損症であった。CPT-2欠損症は偽陽性偽陰

性率が高いという理由で二次対象疾患（強制的対象疾患でない）とされているが、精度の高い診断指標が開発されたので、早急に一次対象疾患にリストされることが望ましい。

この他、NBS対象疾患の効率的なテイラーメイド医療を目的として、同意の得られた患者について、NGSを用いたgenotypingを行った。2015年5月～2016年12の期間内に164例を検査したが、軽症型の患者の診療に有用な情報が得られつつある。世界的に初めての試みであり、患者家族の理解と同意に基づく体制は、治療の無駄を省き、効率的な診療に貢献すると期待される。

2. スクリーニング検査精度向上に関する研究

TMSスクリーニング検査施設の検査実施状況を調査した。TMS法導入から以降3年間で、再採血率は0.39%(2014年度調査)、0.35%(2015年度)、0.31%(2016年度)と年々減少傾向にある。これは検査施設でTMS法が技術的に安定してきたことを示唆する。

血液ろ紙を用いる二次検査法として、LC-MS/MSを用いてメチルマロン酸とホモシスチンを同時測定、C5の異性体であるイソバレリルカルニチンとピパロイルカルニチンの鑑別法などの分析技術を開発してきた。これらによって診断精度が高まり無駄な検査をしなくても済むようになり、再採血を減らせる可能性がある。再採血数が減れば家族のストレスを軽減することにつながる。

さらに、検査施設の内部精度管理支援を目的としたweb自動解析システムを構築しその有用性を検討した。このシステムにより、他施設とのデータの比較、患者データとの比較、カットオフ値の適正性などを、各施設で迅速・的確に評価できることが確認された。

3. 外部精度管理体制の確立に関する研究

技能試験（PT試験）年3回と精度試験（QC試験）年1回が定着してきた。今年度から精度管理検体作成を外部発注したところ、精度もよく、コスト削減も期待される。またTMS検査施設の外部精度

管理、精度管理合同委員会も今年度から年4回に定例化し、各施設の精度管理の評価、精度管理の簡便化、コスト節減について検討されるようになった。

4. 次世代のスクリーニングの在り方に関する研究

今後検討すべき NBS 対象疾患の国内外の情報を集め検討した。米国をはじめとする諸外国では、原発性免疫不全症のスクリーニングが最も話題に上がっている。簡便な遺伝子検査である KREC 法または TREC 法で、現在わが国では 3 施設の独立した研究協力者らによって検討されている。治療は骨髄移植が中心となるが、費用対効果等の疫学的な評価を行い新規項目に追加されるかどうかは決定されることになる。

遺伝子変異の確立から疾患頻度を計算し、実際の TMS スクリーニングの頻度と比較した。PKU は遺伝子頻度から 4.5 万人に 1 人と推定され、TMS パイロット研究の頻度（5.3 万人に 1 人）とほぼ同程度であり、TMS 法による代謝産物測定によって見逃しなく発見していると推定された。一方、CPT-2 欠損症では、遺伝子変異から推定された頻度と、TMS パイロット研究で推定された頻度とは大きく異なっていた。CPT-2 欠損症のスクリーニングでは、偽陰性、偽陽性数が多い可能性を示唆している。今後他の疾患も同様な推計をすることによって、TMS スクリーニングの診断精度を検証することができると思われる。

5. 治療用特殊ミルクの効率的運用に関する研究

治療用特殊ミルクの安定供給が、最近大きな問題になっている。NBS によって発見された患者が年々蓄積し、成人例も増え、また TMS スクリーニングによる対象疾患の拡大などで供給量が増大し、これまでのように乳業メーカーのボランティアに頼る仕組みでは維持できなくなりつつある。欧米のシステムと比較すると、ヨーロッパ諸国では治療用食品の公費負担が進んでおり、また患者に対する社会的支援（障害者認定、税制控除、優

遇雇用など)の面で、日本よりも進んでいる。米国では食品はメディカル・フードの仕組みがあり、医療保険や償還の対象となっているが、対象疾患、適応範囲は州によって異なっている。州によって患者家族の自己負担金の割合の多いところもある。今後わが国のNBS事業でも、成人後の継続治療、移行医療の問題とともに可及的速やかに検討すべき課題である。この他、治療用特殊ミルクを長期にわたって使用する場合、継続的に微量元素、ビタミンについて配慮する必要がある。

E. 結論

本研究班の3年間の研究成果は以下のように集約されよう。

NBSで発見された患者のコホート体制確立には、自治体担当窓口よりも各自治体のNBS連絡協議会を構成する主治医(小児科医)等が中心になって進める方が現実的であると思われる。またこれまでのわが国のNBS事業では、成人後の支援体制、移行期医療の体制が極めて不備の状態であり、早急に整備する必要がある。

稀少疾患の診療に地域格差をなくすためのコンサルテーション体制、精度管理体制はこの3年間で年々充実してきつつあるように思われる。さらに検査施設が参加する精度管理データのweb解析システムの有用性が確認され、今後迅速、的確な精度管理、コスト低減に役立つと思われる。NBS対象疾患のテイラーメイド医療を目的として、genotypingを行っているが、効率的な診療に貢献することが期待される。

今後検討すべきNBS対象疾患として、諸外国では、原発性免疫不全症のスクリーニングが注目されている。現在わが国では3施設の独立した研究協力者らによって検討されているが、新規項目に追加されるかどうか費用対効果等の疫学的なエビデンスに基づく決定が期待される。また全ゲノム情報をもとにした遺伝子変異の頻度から推定される疾患頻度と実際のTMSスクリーニングでの頻度と比較すると、疾患によってギャップのあ

ることが示唆された。TMSスクリーニングの見逃し例の頻度などを把握するために、この手法で他疾患にも応用して検討することが求められる。

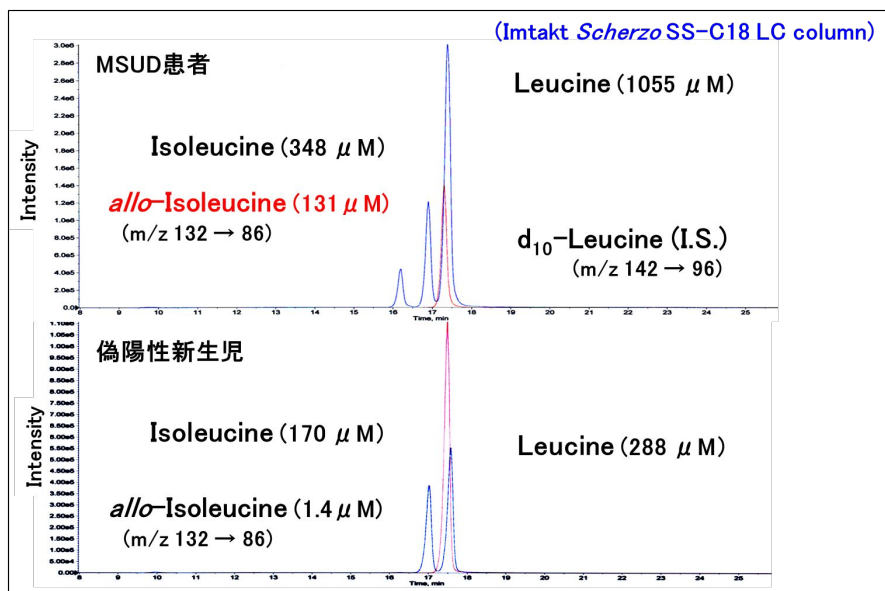
治療用特殊ミルクの安定供給の問題がクローズアップされているが、欧米に比較してわが国の仕組みは不十分な点が多い。治療用ミルク・食品の安定供給体制は、成人後の継続治療、移行期医療の問題とともに重要課題として検討すべきである。NBSの本来の目的を達成するためには長期にわたる支援が不可欠である。

F. 健康危険情報

特になし

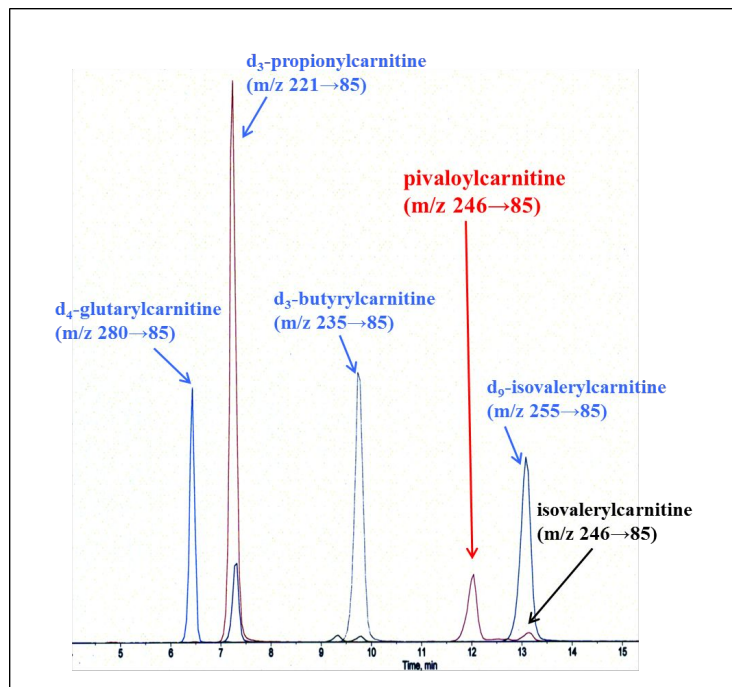
資料

TMS スクリーニング 2 次検査法の開発（抜粋）



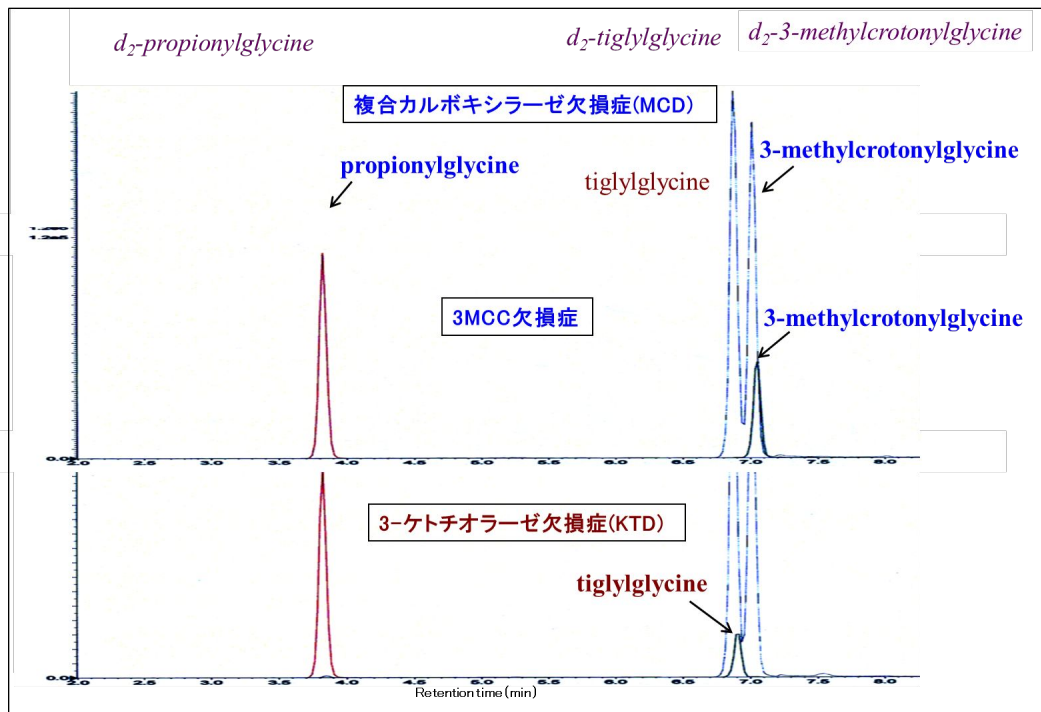
資料 1 . メープルシロップ尿症の 2 次検査法の開発

新生児期の異化亢進状態でロイシン上昇を来しやすくメープルシロップ尿症 (MSUD) との鑑別が必要となることが少なくない。MSUD ではアロイソロイシンが有力な診断指標となる。LC-MS/MS 分析によるアロイソロイシン測定の有用性が示された。



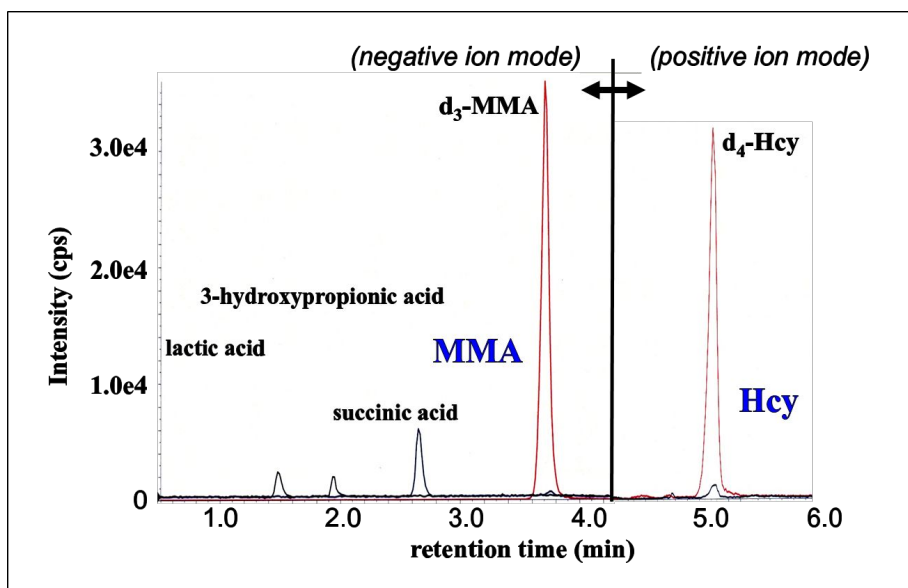
資料 2 . イソ吉草酸血症とピバリン酸結合型抗菌薬服用患者の鑑別診断法

イソ吉草酸血症の診断指標のイソバレリルカルニチン (C5) はピバリン酸結合型抗菌薬使用中のピバロイルカルニチン (C5) は炭素鎖 5 のアシルカルニチンであり、通常のスクリーニングでは鑑別できない。異性体分析による鑑別法を確立した。



資料 3 . LC-MS/MS によるグリシン抱合体の分析

プロピオニルグリシン、メチルクロトニルグリシン、およびチグリルグリシンの一斉分析による 2 次検査法を確立した。



資料 4 . ホモシスチン尿症を伴うメチルマロン酸血症の診断のための 2 次検査法の開発

コバラミン代謝異常に基づくメチルマロン酸血症では同時にホモシスチンの増加を伴う。LC-MS/MS による質量分析法を改変して非誘導体化サンプル処理でメチルマロン酸と総ホモシスチンの同時測定法を開発した。

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 特任教授）

研究要旨

2014 年度から新生児マスキング（NBS）にタンデムマス（TMS）法が導入されて 3 年が経過した。各地区の現状と課題を調査したところ、課題として特殊検査の依頼先・費用負担などの問題、自治体との連携の問題などが挙げられたが、おおむね順調に定着しつつあると思われる。患者の QOL 向上、診療の質向上、および行政側からの事業評価を目的として、発見された患者の登録コホート体制のあり方に関する研究を行った。NBS の事業主体は自治体（全国 67 自治体）であるが、自治体の約半数は、患者の情報を外部に出すことが困難と考えており、別の仕組みが必要である。主治医（小児科医）にアクセスできれば 100%近い回収率となるので、今後の体制づくりに生かしたい。

2016 年度に、長期追跡の意義を確認する目的で行った成人 PKU の生活実態調査の結果、成人後に治療を中断する患者があり、それらは精神症状をきたすことが多いことが分かった。せっかく小児期に治療しても成人後の医療支援体制が不完全では NBS の本来の目的を達成することはできない。移行期医療の体制、成人後の患者診療のための小児科医や内科医の研修・教育が望まれる。

TMS スクリーニングで発見される疾患は重症度、臨床像は個人差が大きい。不必要な治療をされている可能性もある。重症型患者などの標準的治療が確立してない可能性もある。患者コホートや genotyping などを通じてエビデンスに基づいた診療、カウンセリング体制が望まれる。

研究協力者

長尾雅悦（国立北海道医療センター副院長）	中村公俊（熊本大学小児科学分野准教授）
坂本修（東北大学小児病態学分野准教授）	知念安紹（琉球大学育成医学准教授）
高橋勉（秋田大学小児科教授）	高柳正樹（帝京平成大学看護学科教授）
大竹明（埼玉医科大学小児科教授）	竹島泰弘（兵庫医科大学小児科学教授）
荒尾正人（埼玉医科大学小児科）	粟野宏之（神戸大学小児科学）
但馬剛（国立成育医療センター研究所室長）	坊 亮輔（神戸大学小児科）
窪田満（国立成育医療研究センター総合診療部長）	村山 圭（千葉県こども病院代謝科部長）
伊藤哲哉（藤田保健衛生大学小児科教授）	伏見拓矢（千葉県こども病院代科）
深尾敏幸（岐阜大学小児病態学教授）	入月浩美（新潟大学小児科医員）
笹井英雄（岐阜大学小児病態学）	伊達木澄人（長崎大学小児科講師）
大塚博樹（岐阜大学小児病態学）	中富明子（諫早療育センター小児科）
新宅治夫（大阪市立大学発達小児医学教授）	長谷川有紀（島根大学小児科講師）
井上貴仁（福岡大学医学部小児科講師）	小林弘典（島根大学小児科）
廣瀬伸一（福岡大学医学部小児科教授）	山田健治（島根大学小児科）

川口耕一（TMS 普及協会東京オフィス）
青木菊麿（母子愛育会）
横山和紀（母子愛育会）

A．研究目的

2014 年度から、わが国の新生児マススクリーニング（NBS）に、ガスリー法に代わってタンデムマス（TMS）法が導入された。TMS 法ではガスリー法に比べ対象疾患が飛躍的に増え、検査精度も精密になった。対象疾患の種類は多いが、それぞれが超稀少疾患であり、現場では戸惑うこともある。本研究では、新技術のスムーズな導入、稀少疾患の診療を支援する TMS コンサルテーションセンター（TMS コンサルセンター）の有用性、NBS（とくに TMS スクリーニング）で発見される患者の登録追跡体制の構築、治療技術向上のための研究を行った。

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の調査

北海道、札幌市、青森、宮城、仙台市、山形、秋田、福島、新潟、埼玉、千葉、関東地区、岐阜、愛知、大阪市、兵庫、広島、長崎、九州（福岡、福岡市、北九州、佐賀、熊本、熊本市）、沖縄等における各地区の中核医師を対象に患者発見数、診断上の問題、地域の活動、あるいは課題について調査した。

2．患者登録・コホート体制の構築

TMS スクリーニングで発見された患者を対象に、第一ステップとして自治体の把握している患者数の調査、第二ステップとして自治体から情報提供された診断医療機関を対象に診断されたときの患者の状況についてアンケート調査した。第三ステップとして、1 年毎に患者追跡データをアンケートで調査した。また患者長期追跡の意義を明らかにすることを目的として、成人 PKU 患者の

生活実態調査を行った。母子愛育会特殊ミルク事務局から PKU 治療用アミノ酸粉末の A-1、または MP-11 の供給をしている 20 歳以上の成人 PKU 患者 85 例について、神経症状の有無、学歴、就職、結婚、および治療中断歴などの生活の問題点などについて主治医を対象に調査した。

3．TMS コンサルセンターの効率化の検討

2014 年度から、TMS スクリーニング診療をスムーズに行い、また地域格差を是正することを目的として、TMS コンサルセンターが 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：03-3376-2550）東京オフィスに設置された。この 3 年間の活動状況、有用性、および課題について検討した。

4．TMS スクリーニング対象疾患の乳幼児突然死症例の収集

TMS スクリーニングによる乳幼児突然死予防の効果を上げるために、対象疾患のうち乳幼児突然死を起こした症例を、医学中央雑誌検索、学会発表、パーソナルコミュニケーションなどを通じて収集した。そして疾患の種類、死亡時期、臨床経過を調査した。

5．TMS スクリーニング対象疾患の genotyping

効率的な治療を行うことを目的として、TMS スクリーニングで発見された患者の主治医に呼び掛けて、同意の得られた小児を対象に NGS で genotyping を行った。遺伝子解析は AMED の支援を受けて、マルチプレックス PCR 法によって行った。臨床経過とつぎ合わせてテイラーメイド医療への応用の可能性について検討した。遺伝子パネル疾患数は、2015 年 5 月～2016 年 6 月は 60 遺伝子で、2016 年 7 月以降は 168 遺伝子に拡大した。（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

各地区のTMSスクリーニング現状と課題について行ったアンケート調査からの抜粋を以下に示す。

(1)北海道地区

自治体の協力体制がよく、診断体制が整い、また精度管理体制も全国検査機関をリードしている。

(2)東北地区

青森、岩手、山形、福島各県で発見された陽性者は東北大学（仙台市）を受診する体制となっている。秋田県は秋田大学が中核医療機関となっている。広域のため精査機関の偏りが問題となる。

(3)関東甲信越地区

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、関東タンデムマス・スクリーニング・フォーラムを開催し、各地区の課題を議論し地域格差をなくす取り組みをしている。人口が多すぎて患者登録等の問題はやや困難である。新潟県からの意見として、検査機関または医療機関から家族への連絡システムが十分でないという課題があげられた。

(4)東海地区

愛知県は、愛知医大小児科に集中している。患者登録の問題は自治体が特に慎重である。

(5)関西・西日本地区

兵庫県では、見逃し例の確認、正確な患者数の把握体制を検討中である。課題として、軽症例の治療指針の要望が挙げられた。示してほしい、特殊検査GC/MS分析などの事務手続きに時々問題が提起される。大阪市、広島県はおおむね順調に推移しているという報告であった。

(6)九州・沖縄地区

九州先天代謝異常フォーラムで熊本を中心に情報交換の活動の場がある。長崎県では、有機酸分析等の特殊検査の費用負担が明確になってない点が課題として挙げられた。その他行政担当者の移動に伴う連携がスムーズでないことがある、最終診断の確認体制が十分でない、などの課題が挙げられた。

2. 患者登録・コホート体制の構築

(1)一次調査（自治体からの回収率）：自治体を対象に各年度に発見された患者数、疾患、および診断医療機関を調査した。アンケート回収率は表1に示すように、3年間で減少傾向であった。研究班の調査に協力すると答えた自治体は87%（2014年度）63%（2015）54%（2016）であった。

表1. 自治体を対象とした調査の回収率

自治体数 (N=67)	2014年	2015年	2016年
未回答等	8	12	22
協力不可	1	13	9
協力可	58 (87%)	42 (63%)	36 (54%)

*2017年2月現在

(2)二次調査（医療機関からの回収率）：協力の得られた自治体の医療機関を対象として二次調査を行った。表2に示すように医療機関からの回収率は良好であった（98%～100%）。報告された死亡例は2年目までに計3例で、登録初年度メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、TFP欠損症の各1例で、3年目に報告された死亡例（2才台）は1例のCPT-2欠損症であった。

表 2 . 医療機関からの調査回収率（二次調査）

	2014* ¹	2015	2016
陽性者* ²	98	73	61
協力症例 (回収率)	94 (98%)	73 (100%)	未
確定診断	80	60	未
追跡調査* ³			
発達遅滞	12 例	4	未
死亡	1 例	0	

*2014 年とは 2013 年度の患者数を示す。追跡調査は、2013 年度出生症例（2014 年調査）で 2016 年度行った追跡調査の結果である。 **陽性者とは、協力自治体からの症例数であり、日本全体の症例数ではない。

(3)成人 PKU 患者の実態調査：85 例の主治医を対象として調査したところ回収率は全例（100%）であった。今年度 NBS 開始から 39 年目にあたるため、38 歳以上とそれ以下に分けて検討した。

a. 神経障害に関しては、NBS 開始前（38 才以上）の群では 19 例中 13 例（68%）に神経障害がみられた（2 例が精神症状、5 例が境界域、6 例が精神遅滞）。一方 NBS 開始後に生まれた群（20 才～37 才）で神経障害のみられたのは 66 例中 7 例（10%）であった。

b. 最終学歴：返事があった 61 例中 55 例（90%）は、大学、高校または専門学校を卒業していた。養護学校卒業 6 例のうち 5 例は 38 歳以上（NBS の開始前）であった。Nokori 1reiha NBS 未受験の症例であった。

c. 就労状況：85 例中 9 例が就労不可という状態であった。9 例全例が 38 歳以上で NBS 開始前の症例であった。

3 . TMS コンサルセンターの効率化の検討

2016 年度（4 月～12 月）の相談件数は 67 件（2015 年度 12 か月間で 96 件）で、件数自体は例年と同程度であった。表 3 に示すように、質問者は、小児科医が最も多く、次いで自治体関係者、病院事務部からの相談が続いた。相談内容は表 4 に示すように、診療に関するもの、精密検査の相談（費

用を含む）などが多かった。

表 3 . TMS コンサルセンターの質問者内訳

相談者	2014	2015	2016*
小児科医師等	66	59	34
産婦人科医師等	4	2	2
法医学医師等	0	1	1
検査機関	20	6	4
助産師	3	0	1
自治体	17	13	14
医療機関事務局等	4	15	11
計	114	96	67

*2016 年度は 4 月～12 月の期間

表 4 . TMS コンサルセンターの質問内容

相談内容	2014	2015	2016*
数値データ	10	2	2
検査・検査基準	27	8	15
精密検査の相談依頼	21	37	11
診断・治療方針	12	15	18
検体採取法に関して	6	2	2
再採血・再検査	6	3	0
検体輸送	2	0	1
検査費用	13	6	8
検体保存	2	3	1
その他	15	20	9
計	114	96	67

* 2016 年度は 4 月～12 月の 9 か月間の数

4 . TMS スクリーニング対象疾患の乳幼児突然死症例の収集

表 5 に示すように、収集した計 20 例のうち CPT-2 欠損症が 15 例で最も多く、次いで VLCAD 欠損症 2 例、MCAD 欠損症 2 例、およびグルタル酸血症型（GA2）が 1 例であった。20 例のうち TMS スクリーニングを受けていたのは 4 例のみであった。4 例のうち、症例 1 と 2 は、結果的に CPT2 欠損症が見過ごされていた。症例 3 と 4 は CPT-2

欠損症と診断されていたが、1例は一次対象疾患でないことを理由に確定診断されずに放置されていた。もう1例は、診断されていたが呪い腸炎

を契機に外来で死亡した。それ以外はTMSスクリーニング開始以前の症例であった。

表5. 乳幼児期に突然死様症状で発症した症例

症例	新生児期 NBS 結果	発症 年齢	発症形態 前駆症状	死亡 日	転帰	診断 欠損症	備考
1	TFP 疑い (再検正常)	8m	インフルエンザ	当日	突然死	CPT2	死亡時に診断
2	異常なし (見逃し)	7m	発熱、急性脳症		重度心 身障害	CPT2	発作時に診断
3	CPT2 (検出)	8m	発熱、倦怠	?	突然死	CPT2	1次対象でないため精査せず
4	CPT2 (検出)	1y3m	ノ口胃腸炎	数日	突然死	CPT2	診断していたが死亡
5	開始前	3d	チアノーゼ、低体温	翌日	突然死	CPT2	
6	開始前	1m		当日	突然死	VLCAD	睡眠中死亡
7	開始前	4m	感冒症状	数日	突然死	CPT2	
8	開始前	6m	感冒症状	数日	突然死	CPT2	
9	開始前	8m	?		突然死	MCAD	
10	開始前	9m	発熱、下痢	翌日	突然死	CPT2	
11	開始前	9m	?		突然死	GA2	
12	開始前	11m	感冒症状	当日	突然死	CPT2	
13	開始前	1y1m	発熱	?	突然死	CPT2	
14	開始前	1y1m	低血糖、けいれん	6日	突然死	CPT2	死亡時に診断
15	開始前	1y5m	意識障害、けいれん		突然死	VLCAD	
16	開始前	1y8m	?		突然死	MCAD	
17	開始前	?	ライ症候群	?	突然死	CPT2	
18	開始前	?	インフルエンザ	数日	突然死	CPT2	
19	開始前	?	?	?	突然死	CPT2	双胎例
20	開始前	?	?	?	突然死	CPT2	

* 症例1~4はTMSスクリーニング開始後の症例。TFP=三頭酵素；CPT2=カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ；VLCAD=極長鎖アシル-CoA脱水素酵素；GA2=グルタル酸血症型

5. TMSスクリーニング対象疾患のgenotyping

マススクリーニング対象疾患のgenotypingを行ったのは、2015年5月以降(1年8か月間)で164例であった。内訳は表6に示すように、この

うちガラクトース血症10例以外はすべてTMSスクリーニング対象疾患であった。多かった疾患はプロピオン酸血症30例、メチルマロン酸血症17例、高フェニルアラニン血症15例、などであった。

genotyping のできたプロピオン酸血症の 22 アレルのうち 16 アレルに PCCB の Y435C 変異が見いだされ、この変異を持つ 10 例中 8 例はこの変異のホモ接合体であった。少なくともこれらはすべてアシドーシス発作などの症状はなかった。

表 6. 遺伝子検索した症例数
(2015 年 5 月 ~ 2016 年 12 月)

臨床暫定診断	症例数		
	2015	2016	合計
プロピオン酸血症	13	17	30
メチルマロン酸血症	10	7	17
高フェニルアラニン血症	3	12	15
VLCAD 欠損症	5	9	14
メチルコリン尿症	6	6	12
メープルシロップ尿症	1	10	11
ガラクトース血症	1	9	10
全身性カルニチン欠乏症	7	3	10
MCAD 欠損症	3	5	8
シトルリン血症 1 型	3	4	7
グルタル酸血症 1 型	2	4	6
CPT2 欠損症		4	4
CPS1 欠損症/NAGS 欠損症	1	3	4
OTC 欠損症	2	1	3
シトリン欠損症	2		2
メチルコリン尿症		2	2
ホモシスチン尿症		2	2
一過性高メチル血症の疑い		2	2
アルギニノコハク酸尿症	1	1	2
CPT1 欠損症		1	1
軽症型メチルコリン尿症	1		1
三頭酵素欠損症	1		1
計	62	102	164

D. 考察

2014 年度から NBS に TMS 法が導入されて 3 年が経過した。この 3 年間、TMS スクリーニングのスムーズな導入と、診療の質向上、および発見された患者の登録コホート体制の構築に関する研究を行った。

各地区の導入状況では、検査施設の精度管理体制の課題などはあるものの、概ね順調に定着しつつあるように思われる。課題として挙げられた主なことは、診断のための特殊検査の依頼・費用負担が地区によって異なること、自治体との連携、稀少疾患の診療のことなどが挙げられた。

TMS コンサルセンターの活用は、地域格差の是正に一定の効果을上げていていると思われる。さらに周知してゆくことが望ましい。

患者登録コホート体制について、第一段階（自治体を対象）と第二段階（医療機関と対象）で研究してきた。第一段階で自治体からの協力は年々減少傾向にあり（2014 年度 87% 2016 年度 54%）、別の仕組みを考える必要がある。自治体サイドでは個人情報の漏えいの問題が一番大きいと思われる。第二段階では調査票の回収は極めて良好であり、この 2 年間は 99% ~ 100% の回収率であった。患者全数登録ができれば主治医（小児科医）へのアクセスは良好と思われる。また 2016 年度に、長期追跡の意義を確認する目的で、成人 PKU の生活実態調査を行った。この結果、NBS 開始後の患者では開始前の患者に比べて明らかに神経障害の頻度が低いことが示された。さらに成人後に治療を中断するとせっかく小児期に正常に発達しても、精神症状などが出現してくるといふ深刻な課題が明らかになった。成人後の医療支援、移行期医療の在り方を重点的に検討してゆく必要がある。

対象疾患は開始当初 16 疾患であったが、乳幼児突然死様の症状で発症する疾患は CPT2 欠損症が大部分を占めることが分かった。CPT2 欠損症は以前「偽陽性と偽陰性になる頻度が高い」という理由で一次対象疾患にされていなかった。一次疾患でないからという理由で精査されずみすみす突然死した症例もあった。その後診断精度の高い診断指標が開発されたので、乳幼児突然死、あるいは重症心身障害の予防のために、CPT2 欠損症を一次対象疾患として積極的に検査すべきである。

TMS スクリーニング対象疾患は、疾患ごとに症状は異なるが、同じ疾患でも最重症 ~ 軽症型のある場合がある。軽症型では結果的に不要な治療が行われるケースもあり、また中等症 ~ 重症型症例でも最適な治療法が確立していないケースもある。患者コホートによって自然歴、治療効果を明らかにすることと、本研究で試験的に行われている genotyping によるオーダーメイド医療も効率的

な NBS 事業を進めるうえで不可欠となる。

E . 結論

2014年にTMSスクリーニングが全国導入されたが、この3年間でTMSスクリーニングは各地区で、いくつかの課題を抱えつつも定着しつつあるように思われる。患者登録コホート体制、稀少疾患のコンサルテーション体制、発見された患者の genotyping 等の情報によってエビデンスに基づく診療の質向上が期待される。また新生児Mの診療は、これまで主に小児科医の努力が中心であったが、成人後の医療に目を向けて、患者家族の支援を進めるべきである。

F . 健康危険情報

特になし

F . 健康危険情報

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 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 (ETF DH) 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) Sakai C, Yamaguchi S, Sasaki M, Miyamoto Y,

- Matsushima Y, Goto Y: ECHS1 mutations cause combined respiratory chain deficiency resulting in Leigh syndrome. *Human Mutation* 36(2): 232-239, 2015
- 9) 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. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 41(5): 799-802, 2015
- 10) Takahashi T, Yamada K, Kobayashi H, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S: Metabolic disease in 10 patients with sudden unexpected death in infancy or acute life-threatening events. *Pediatrics International* 57(3): 348-353, 2015
- 11) 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 and Development* 37(7): 698-703, 2015
- 12) Yamamoto K, Fukuda S, Mushimoto Y, Minami N, Kanai R, Tsukamoto K, Yamaguchi S: Acute myositis associated with concurrent infection of rotavirus and norovirus in a 2-year-old girl. *Pediatric Reports* 7(3): 51-53, 2015
- 13) Yamada K, Aiba K, Kitaura Y, Kondo Y, Nomura N, Nakamura Y, Fukushi D, Murayama K, Shimomura Y, Pitt J, Yamaguchi S, Yokochi K, Wakamatsu N: Clinical, biochemical and metabolic characterisation of a mild form of human short-chain enoyl-CoA hydratase deficiency: significance of increased N-acetyl-S-(2-carboxypropyl)cysteine excretion. *Journal of Medical Genetics* 52(10): 691-698, 2015
- 14) Shimada T, Tomatsu S, Mason RW, Yasuda E, Mackenzie WG, Hossain J, Shibata Y, Montaña 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 and IVB. *Journal of Inherited Metabolic Disease Reports* 21: 1-13, 2015
- 15) Bunai Y, Ishii A, Akaza K, Nagai A, Nishida N, Yamaguchi S: A case of sudden death after Japanese encephalitis vaccination. *Legal Medicine* 17(4): 279-282, 2015
- 16) Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Takahashi T, Hasegawa T, Nakamura M, Ishige N, Yamaguchi S: Elevation of pivaloylcarnitine by sivelestat sodium in two children. *Molecular Genetics and Metabolism* 116(3): 192-194, 2015
- 17) 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)
- 18) 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 (9月)
- 19) 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)
- 20) 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)
- 21) 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)
- 22) 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)
- 23) 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)
- 24) 山口清次: タンデムマス法の導入にともなう新生児マススクリーニングの新しい体制. 小児保健研究 74(6): 768-773, 2015
- 25) 原口康平, 里龍晴, 伊達木澄人, 時沢亜佐子, 白川利彦, 中富明子, 長谷川有紀, 山田健治, 小林弘典, 山口清次, 森内浩幸: 急性期にアシルカルニチン分析で異常を示さなかったグルタル酸血症1型の1例. 日本小児科学会雑誌 119(3): 595-599, 2015
- 26) 桑原優, 岡本典子, 城賀本敏宏, 元木崇裕, 中野威史, 林正俊, 山田健治, 小林弘典, 山口清次: スクリーニング後に発症したカルニチンパルミトイルトランスファラーゼ-欠損症. 日本小児科学会雑誌 119(6): 1024-1028, 2015
- 27) 花井潤師, 福土勝, 石毛信之, 田崎隆二, 山口清次, 重松陽介: タンデムマス・スクリーニングにおける精度管理の現状と今後の課題-内部精度管理の充実に向けた取組み-. 日本マススクリーニング学会誌 25(1): 57-66, 2015
- 28) Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Takahashi T, Purevsuren J, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Ohkubo T, Yokota T, Watanabe M, Tsunemi T, Mizusawa H, Takuma H, Shioya A, Ishii A, Tamaoka A, Shigematsu Y, Sugie H, Yamaguchi S: Clinical, biochemical and molecular investigation of adult-onset glutaric acidemia type II: Characteristics in comparison with pediatric cases. Brain & Development 38(3): 293-301, 2016
- 29) Djouadi F, Habarou F, Le Bachelier C, Ferdinandusse S, Schlemmer D, Benoist JF, Boutron A, Andresen BS, Visser G, de Lonlay P, Olpin S, Fukao T, Yamaguchi S, Strauss AW, Wanders RJA, Bastin J: Mitochondrial trifunctional protein deficiency in human cultured fibroblasts: effects of bezafibrate. Journal of Inherited Metabolic Disease 39(1): 47-58, 2016 (January)
- 30) Bo R, Hasegawa Y, Yamada K, Kobayashi H, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S: A fetus with mitochondrial trifunctional protein deficiency: Elevation of 3-OH-acylcarnitines in amniotic fluid functionally assured the genetic diagnosis. Molecular Genetics and Metabolism Reports 6: 1-4, 2016 (March)
- 31) Takahashi T, Hasegawa Y, Yamada K, Bo R, Kobayashi H, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S: Metabolic survey of hidden inherited metabolic diseases in children with apparent life-threatening event (ALTE) or sudden unexpected death in infancy (SUDI) by analyses of organic acids and acylcarnitines using mass spectrometries. Shimane Journal of Medical Science 32(2): 61-68, 2016 (April)
- 32) Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Purevsuren J, Mushimoto Y, Takahashi T, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S: Efficacy of bezafibrate on fibroblasts of glutaric acidemia type II patients evaluated using an in vitro probe acylcarnitine assay. Brain & Development 39(1): 48-57, 2017 (January)
- 33) Yamamoto F, Nakamagoe K, Yamada K, Ishii A, Furuta J, Yamaguchi S: A case of very-long-chain acyl-coenzyme A

dehydrogenase deficiency with novel compound heterozygous mutations. *Journal of the Neurological Sciences* 368(15): 165-167, 2016 (September)

- 34) Purevsuren J, Bolorma B, Narantsetseg C, Batsolongo R, Enkhchimeg O, Bayalag M, Hasegawa Y, Shintaku H, Yamaguchi S: The first Mongolian cases of phenylketonuria in selective screening of inborn errors of metabolism. *Molecular Genetics and Metabolism Reports* 9: 71-74, 2016 (11月)
- 35) 山口清次: .テクノロジーの進歩 タンデムマス・スクリーニング. *小児科診療* 79(6): 745-752, 2016
- 36) 山口清次: 周産期領域の新しい検査法 新生児編 タンデムマス. *周産期医学* 46(6): 800-801, 2016

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, 11 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, 白田信光, 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
 - 19) Yamaguchi S: Inherited metabolic disease of organic and fatty acids in Asia: collaboration study. The 8th International & 13th National Congress on Quality Improvement in Clinical Laboratories lecture. Tehran, Iran, April 2015
 - 20) Yamaguchi S: Inborn metabolic disease in Asia: collaborative study with mass spectrometry. The 118th Annual Meeting of the Japan Pediatric Society / The 11th Asian Society for Pediatric Research Symposium. Osaka, April 2015
 - 21) Yamaguchi S, Fukao T, Vu Chi D, Nguen Thu N: Genetic diversity of organic and fatty acid disorders detectable in expanded newborn screening in Asian countries. The 11th Asia-Pacific Conference on Human Genetics 2015 Symposium. Hanoi, Vietnam, September 2015
 - 22) Yamada K, Bo R, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S: Serum C14:1/C12:1 ratio is a sensitive diagnostic marker for VLCAD deficiency. Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism Annual Symposium 2015. Lyon, France, September 2015
 - 23) Yamaguchi S, Hasegawa Y, Bo R, Yamada K, Kobayashi H, Taketani T, Fukuda S: Prenatal diagnosis on 143 cases with organic and fatty acid diseases by biochemical and gene analyses with amniocentesis. Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism Annual Symposium 2015. Lyon, France, September 2015
 - 24) Pitt JJ, Peters H, Ferdinandusse S, Ruitter J, Wanders RJA, Yapliito-Lee J, Kok F, Boy R, Korman SH, Fitzsimons PE, CrusheII E, Hughes J, Yamaguchi S, Goto Y, Wakamatsu N, Yokochi K, Yamada K, Chen BC, Ngu LH: Leigh disease and the valine pathway. Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism Annual Symposium 2015. Lyon, France, September 2015
 - 25) Gupta D, Bijarnia-Mahay S, Ramprasad VL, Kohli S, Saxena R, Yamaguchi S, Deb R, Verma IC: Identification of a novel mutation in start codon of MMAB gene in an Indian family with methylmalonic acidemia using targeted next generation sequencing and prenatal diagnosis. Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism Annual Symposium 2015. Lyon, France, September 2015
 - 26) Bijarnia-Mahay S, Gupta D, Shigematsu Y,

- Yamaguchi S, Saxena R, Verma IC: Ethylmalonic encephalopathy in an Indian boy: a report of mutations in ETHE1 gene. Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism Annual Symposium 2015. Lyon, France, September 2015
- 27) Yamaguchi S: Country report: Japan. 9th Asia-Pacific Regional Meeting 2015 - International Society for Neonatal Screening. Penang, Malaysia, December 2015
- 28) Yamaguchi S, Hasegawa Y, Bo R, Yamada K, Kobayashi H, Taketani T, Fukuda S: Prenatal diagnosis for severe forms of organic acidemias and fatty acid oxidation defects which are targets of expanded newborn screening. 9th Asia-Pacific Regional Meeting 2015 - International Society for Neonatal Screening. Penang, Malaysia, December 2015
- 29) Hasegawa Y, Kobayashi H, Yamada K, Bo R, Takahashi T, Yamaguchi S: The disease distribution of organic acidemias and fatty acid oxidation defects detected in Asian countries. 9th Asia-Pacific Regional Meeting 2015 - International Society for Neonatal Screening. Penang, Malaysia, December 2015
- 30) 山口清次, 長谷川有紀: タンデムマス・スクリーニング対象疾患のうち重篤な代謝異常の出生前診断. 第29回日本医学会総会 講演. 京都, 2015年4月
- 31) 山口清次: タンデムマス導入にともなう新しい新生児マススクリーニング体制. 第118回日本小児科学会学術集会 シンポジウム. 大阪, 2015年4月
- 32) 山口清次: タンデムマス導入にともなう新生児マススクリーニングの新しい体制. 第62回日本小児保健協会学術集会 教育講演. 長崎, 2015年6月
- 33) 山田健治, 坊亮輔, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: VLCAD 欠損症の診断マーカーにおける血清 C14:1/C12:1 比の有用性. 第42回日本マススクリーニング学会. 東京, 2015年8月
- 34) 小林弘典, 山田健治, 坊亮輔, 長谷川有紀, 城下友義, 井手野晃, 大原利成: タンデムマス・スクリーニングにおける Tetradecenoylcarnitine(C14:1). 第42回日本マススクリーニング学会. 東京, 2015年8月
- 35) 坊亮輔, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: タンデムマス・スクリーニングにおける C5-OH 上昇例の検討. 第42回日本マススクリーニング学会. 東京, 2015年8月
- 36) 坊亮輔, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: CPT-2 欠損症患者の異化亢進を反映するバイオマーカーに関し検討 ~ アシルカルニチン分析との比較から. 第96回山陰小児科学会. 米子, 2015年9月
- 37) 若松延昭, 山田憲一郎, 北浦靖之, 近藤雄介, 野村紀子, 村山 圭, 山口清次, 下村吉治, 横地 健治, ピット ジェームス: 軽症 Short-chain enoyl-CoA hydratase (ECHS1) 欠損症の生化学的解析: 診断に有効な化合物の同定. 第57回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2015年11月
- 38) 箕畑俊和, 小林弘典, 山田健治, 坊亮輔, 長谷川有紀, 山口清次: タンデムマス法による尿素サイクル異常症スクリーニング法の検討. 第57回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2015年11月
- 39) 長谷川有紀, 坊亮輔, 小林弘典, 山田健治, 高橋知男, 山口清次: タンデムマス・スクリーニング導入後に SIDS/ALTE 症例で発見された代謝異常症. 第57回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2015年11月
- 40) 長谷川有紀, 坊亮輔, 小林弘典, 山田健治, 坂本 修, 山口清次: プロピオン酸血症児の尿中メチルクエン酸濃度. 第57回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2015年11月
- 41) 中澤枝里子, 山口清次, 小林弘典, 長谷川有紀, 窪田 満, 菊池信行: 新生児マススクリー

- ニングを契機に診断された母の全身性カルニチン欠乏症. 第 57 回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2015 年 11 月
- 42) 小林弘典, 山田健治, 坊 亮輔, 長谷川有紀, 山口清次: タンデムマス・スクリーニング陽性例の前向き患者追跡調査の試み(第一報). 第 57 回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2015 年 11 月
- 43) 山口清次, 長谷川有紀, 小林弘典, 山田健治, 坊 亮輔, 古居みどり, 竹谷 健, 福田誠司, 深尾敏幸: 日本人グルタル酸血症 2 型の臨床的分子遺伝的特徴: 32 例の検討. 第 57 回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2015 年 11 月
- 44) Yamaguchi S, Hasegawa Y, Shibata N, Kobayashi H, Yamada K, Bo R, Taketani T, Chi DV, Thu NN: Diversity of disease distribution and genetic background of inherited metabolic disease of organic and fatty acids in Asian countries. The 13th International Congress of Human Genetics. Kyoto, Japan, April 2016
- 45) Yamaguchi S: Fatty acid oxidation defects: A causative muscular disease detectable by mass spectrometric procedure (GC/MS and MS/MS). 15th Asian and Oceanian Myology Center Annual Scientific Meeting 2016. Hsinchu, Taipei, May 2016
- 46) Yamada K, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S: The effect of riboflavin is limited in Japanese patients with multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MADD). Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism Annual Symposium 2016. Roma, Italy, September 2016
- 47) Yamaguchi S, Hasegawa Y, Furui M, Yamada K, Bo R, Kobayashi H, Taketani T, Fukuda S, Fukao T, Nishino I: Clinical and genetic aspects of 50 Japanese cases of VLCAD deficiency. Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism Annual Symposium 2016. Roma, Italy, September 2016
- 48) 山口清次: ミトコンドリア 酸化異常症の診断・治療の進歩と臨床的意義. 第 104 回東海臨床遺伝・代謝懇話会. 名古屋, 2016 年 2 月
- 49) 小林弘典, 長谷川有紀, 山田健治, 坊亮輔, 竹谷健, 山口清次: タンデムマス・スクリーニング対象疾患に対するコンサルテーションセンターの利用状況. 第 119 回日本小児科学会. 札幌, 2016 年 5 月
- 50) 山口清次, 長谷川有紀, 古居みどり, 山田健治, 坊亮輔, 小林弘典, 竹谷健, 福田誠司, 深尾敏幸: 日本人極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症 50 例の臨床遺伝的検討. 第 119 回日本小児科学会. 札幌, 2016 年 5 月
- 51) 山口清次: 有機酸・脂肪酸代謝異常症の診断治療の進歩. 第 98 回山陰小児科学会. 米子, 2016 年 9 月
- 52) 山田健治, 坊亮輔, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次, 竹谷健: R1 トレーサー法による 酸化能評価と in vitro probe アッセイの比較: ベザフィブラートの反応性について. 第 58 回日本先天代謝異常学会. 東京, 2016 年 10 月
- 53) 山口清次, 長谷川有紀, 後藤雄一, 坂井千香, 若松延昭, 長友太郎, 大竹明, 村山圭, 岸和子, 竹谷健: 尿中有機酸分析による ECHS1 異常症の簡便な代謝スクリーニング: Leigh 脳症の病因検索に向けて. 第 58 回日本先天代謝異常学会. 東京, 2016 年 10 月
- 54) 坊 亮輔, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次, 竹谷 健: CPT-2 欠損症による突然死の予防~新生児スクリーニングで発見された CPT-2 欠損症の 1 例~. 第 23 回日本 SIDS・乳幼児突然死予防学会. 津, 2017 年 3 月
- H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし
1. 特許取得
 2. 実用新案登録
 3. その他

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 客員教授）

研究要旨

タンデムマス・スクリーニング検査精度向上に関する研究を行い、以下のような成果を得た。

- 1) タンデムマス・スクリーニング事業化後の指定検査施設での検査実態をアンケート調査したところ、日本マスキング学会施設基準への準拠状況は充分とはいえなかった。学会技術者部会が分析データを収集するシステムを開発し、収集データを評価したところ、カットオフ値の設定などが適切でない検査施設がみられた。一方、発見された対象疾患患者数は試験研究の時期とほぼ同等であった。
- 2) 成育医療研究センターのサーバ内で Web ベースの外部精度管理システムを開発出来た。精度管理用の検査濾紙血を、カットオフ値レベルでの分析精度を評価できる仕様で作成することが出来た。これらにより施設基準に準拠した分析精度であるかどうかを評価できるシステムとなった。
- 3) 見逃し例や二次対象疾患の乳幼児期急性発症（死亡例を含む）などのデータを収集し、スクリーニング指標やカットオフ値を検討し、CPT2 欠損症スクリーニング用の新規指標とカットオフ値を開発することができた。また、新生児期飢餓・異化亢進状態での陽性例を排除して再採血率を低減するため、脂肪酸酸化異常症スクリーニング指標とカットオフ値を改訂した。
- 4) ビタミン B12 代謝異常症・欠乏症によるメチルマロン酸血症は、良好な治療効果が得られるものの、偽陰性となる場合があることが判明し、これに対する新しいスクリーニング指標を開発した。新指標採用に伴う再採血率増加には二次検査での対応が必要であり、必要な二次検査法をほぼ全て開発できたので、今後その普及のための方策の検討が必要である。

研究協力者

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・准教授）

善が必要な状況であった。これに対して、日本マスキング学会（以下、「学会」と成育医療研究センター・マスキング研究室（以下、「マス研」）が精度管理や実務研修などの事業を行い、精度管理については 2015 年 3 月に新生児スクリーニング精度管理合同委員会（以下「NBS 合同委員会」）が設置され、協議が開始された。研究分担者は、これらの組織に属する研究協力者の協力を得て、以下の課題を検討することにより、タンデムマス・スクリーニング精度の向上を目指した。

A. 研究目的

タンデム型質量分析計を用いた先天性代謝異常症等検査（タンデムマス・スクリーニング）が自治体事業として全国実施されたが、自治体より委託された検査施設（指定検査施設）での分析技術や対象疾患病態理解に基づいた対応は未だ改

学会技術者部会を通じて、指定検査施設の分析データを収集するシステムを構築し、スクリーニ

ング指標とカットオフ値の妥当性を検討する。

施設基準で規定された精度での分析が指定検査施設で実施されているかを調査し、また具体的な外部精度管理法を開発する。

指定検査施設での再採血検査率のデータ、見逃し例のデータなどを踏まえ、偽陽性率を低減させるためのスクリーニング指標やカットオフ値を再検討する。

新規指標とそのカットオフ値を適用した場合に生じる再採血率増加に対応するため、新たなスクリーニング精度保証技術(初回濾紙血を用いた“二次検査法”)を開発し、患者検体を用いてその有用性を検証する。

B．研究方法

1．指定検査施設の検査実施状況調査

指定検査施設に対してアンケート調査を実施した。調査内容は、全例のスクリーニング指標毎の測定値、再採血数、精検数、発見患者数であり、これらを解析する「集計・解析シート」を作成した。また、検査施設の精度管理能力を向上させる目的で、指定検査施設が利用出来る Web ベースの内部精度管理システム開発を試みた。

2．指定検査施設の施設基準遵守状況調査

指定検査施設に対してアンケート調査を実施した。

3．外部精度管理法の開発

マス研のサーバにデータ解析システムを構築した。外部精度管理(QC)用および技能試験(PT)用に適した検査用濾紙血作成に関しては、学会検査施設基準への適合レベルを検証するために、スクリーニング指標のカットオフ値の濃度についての分析精度を重視し、指標物質濃度が充分低い合成血の作成を試みた。

4．偽陰性・再採血率低減の為の新規指標の開発

突然死例や見逃し例、および対象疾患患者の濾紙血を収集した。CPT2 欠損症については、新規

スクリーニング指標を用いた試験研究および事業化スクリーニングでの発見患者及び偽陽性例などのデータを検査施設などから収集し、そのスクリーニング精度を検討した。新生児飢餓による異化亢進例での分析データも収集し、脂肪酸酸化異常症スクリーニングでの偽陽性率低減のための新指標も開発した。

5．二次検査法の開発

液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析(LC-MS/MS)法は福井大学に設置された機器および東京都予防医学協会に設置された機器を使用し、既報のものを用いて、疾患関連代謝物を分析した。

C．研究結果

1．指定検査施設の検査実施状況調査

事業化当初高かった再採血率は次第に減少し、試験研究時と同等の数の対象疾患患者が発見されていることが確認された一方、更にカットオフ値の設定や再採血率の点での改善を要すると考えられる検査施設も見られた。

Web ベースの内部精度管理システムがほぼ完成し、個々の検査施設でカットオフ値の適否が確認できるようになった。

2．指定検査施設の施設基準遵守状況調査

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

3．外部精度管理法の開発

スクリーニング指標物質のカットオフ値濃度の分析精度が検証できる濾紙血が作成出来た(表 1)。透析により指標物質濃度を充分低減させた合成血を用い、正常新生児下限から中央値、正常上限、カットオフ値、即精検の 4 レベルの検査用濾紙血が作成され、QC 検査に使用された。

4. 偽陰性・再採血率低減の為の新規指標の開発
 新生児期異化亢進による偽陽性例に対処するため表 2 の通りスクリーニング指標とカットオフ値の改訂を推奨した。

CPT2 欠損症による乳幼児突然死を回避するため、新しい指標を開発した。図 1 に示した通り、新規指標 (C16+C18:1) / C2 > 0.62 & C16 > 3.0 を適用すると、急性発症で診断された CPT2 欠損症患者児全てを拾い上げることが出来、これまで偽陰性例は報告されていない。

5. 二次検査法の開発

表 3 に、花井研究協力者報告書から全国の検査施設での状況を抜粋再掲した。再採血がほとんどないという検査施設もあったが、対象疾患スクリーニングごとの再採血率としては比較的高い 0.05% 以上という施設が多く見られた。

C3 及び C3/C2 の指標でのスクリーニングではメチルマロン酸血症とプロピオン酸血症がスクリーニング対象疾患であるが、ビタミン B12 代謝異常症・欠乏症も治療効果の高いメチルマロン酸

血症であり、これらの疾患のスクリーニング精度は表 4 にしてしたとおり現行の指標では充分ではない。新規指標として C3/Met および Met 低値を指標に加え、LC-MS/MS 二次検査でのメチルマロン酸・総ホモシステイン分析を併用すると、いわゆるホモシステイン尿症 3 型もスクリーニング対象疾患に加えることが出来る。図 2 にその測定法を示した。

新生児期異化亢進ではロイシン上昇を来しやすくメープルシロップ尿症 (MSUD) の偽陽性となる。アロイソロイシンの LC-MS/MS 分析 (図 3) で診断情報が得られる。一方、間歇型と呼ばれる軽症型 MSUD はロイシン上昇を指標とすると偽陰性になっていることが、ハイリスク・スクリーニングにおける LC-MS/MS アロイソロイシン分析で示された。新生児期に偽陰性で、急性発症時にロイシン・イソロイシン上昇と共にアロイソロイシン上昇が認められた患者を表 5 に示した。但し、患児 5、6 は新生児スクリーニング非受検者である。

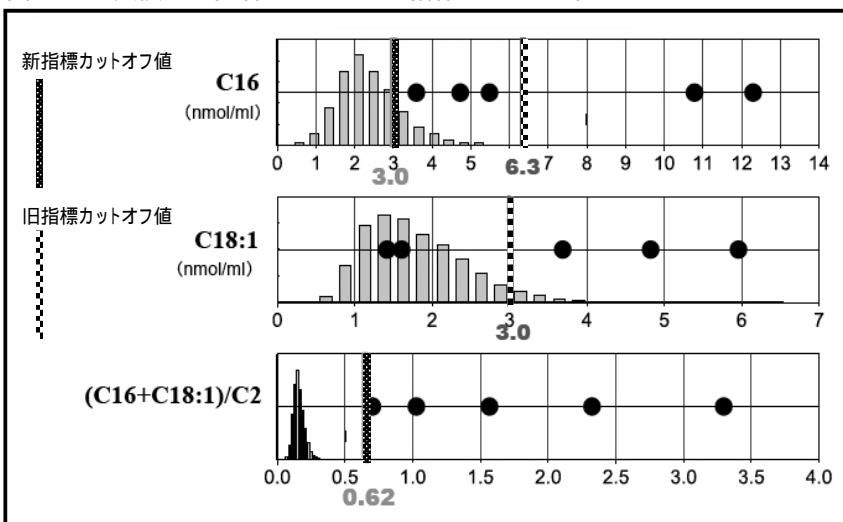
<p>1. PT 用検体</p> <p>1) PT 検体調製用原料血液: 新生児スクリーニング一次対象 19 疾患の指標が正常検体の中央値よりも低値の血液を使用する。</p> <p>2) PT 検体で添加する物質は内分泌 2 疾患の TSH、17-OHP、代謝異常疾患のガラクトース、アミノ酸代謝異常 5 疾患のアミノ酸 5 種類、有機酸代謝異常 7 疾患・脂肪酸代謝異常 4 疾患のカルニチン 13 種類とする。</p> <p>3) PT 検体で添加する物質の濃度は全検査施設のカットオフ値の 1.5 倍以上とする。</p> <p>4) 全対象疾患が陰性の正常検体も調製する。</p> <p>2. QC 用検体</p> <p>1) QC 検体調製用原料血液: アミノ酸は 5 から 10 μM/L 以下、FC は 2.0 μM/L 以下、短鎖 AC では 1 μM/L 以下、中鎖 AC は 0.05 以下、長鎖 AC は 0.5 μM/L 以下、3 ヒドロキシカルニチン及びジカルボキシルカルニチンでは 0.05 μM 以下の血液を調製する。</p> <p>2) QC 検体に添加する物質はアミノ酸は 5 種類、カルニチンは 16 種類とする。</p> <p>3) QC 検体で添加する物質の濃度は正常新生児下限から中央値、正常上限、カットオフ値、即精検の 4 レベルとする。</p>
--

表 1. 精度管理における PT 及び QC 検体の測定と評価方法

表2 改定が推奨されるスクリーニング指標とカットオフ値

対象疾患	スクリーニング指標と陽性判定法
VLCAD欠損症	C14:1 > 0.4 μM かつ C14:1 > C10 かつ C14:1 > 12 かつ C14:1 > C14
MCAD欠損症	C8 > 0.3 μM かつ C8/C10 > 1
CPT1欠損症	C0/(C16+C18) > 100 かつ C0 > 80 μM
CPT2欠損症	(C16+C18:1)/C2 > 0.62 かつ C16 > 3.0 μM

図1 CPT2欠損症の新旧スクリーニング指標とカットオフ値



(新スクリーニング指標: (C16+C18:1)/C2 > 0.62 かつ C16 > 3.0)

表3 検査施設毎の再採血率の調査結果

陽性となった指標	再採血率の分布 (%)	再採血率 > 0.1% (施設数)	再採血率 > 0.05% (施設数)
C3 & C3/C2	0~0.61%	6	22
C5	0~0.26%	10	18
C5-DC	0~0.24%	3	16
Leu	0~0.23%	-	9

表4 メチルマロン酸血症およびホモシスチン尿症2型・3型のスクリーニング指標と患者データ

(新生児濾紙血分析)	C3	C3/C2	C3/Met	Met	メチルマロン酸	総ホモシスチン	
	(μM)			(μM)	(μM)	(μM)	
上限カットオフ値	3.5	0.25	0.25	80	1.0	5.0	
下限カットオフ値				9.27			
cbIC	患者1	10.30	1.10	1.60	6.40	59.7	34.8
	患者2	15.01	1.10	0.46	32.50	44.4	17.0
cbID	患者1	4.79	0.23	0.21	23.00	11.0	(-)
ビタミンB12欠乏症	患者1	3.59	0.21	0.34	10.65	6.7	5.5
	患者2	2.14	0.45	0.35	6.12	5.5	11.8
	患者3	2.53	0.23	0.28	9.00	(-)	(-)
MTHFR欠損症	患者1	0.62	0.13	0.13	4.98	0.5	49.2
ホモシスチン尿症 3型(病型未確定)	患者2	0.45	0.05	0.07	6.63	0.8	10.6
	(患者3)	0.77	0.09	0.17	4.61	1.3	10.4
	(患者4)	0.53	0.09	0.08	6.7	0.7	28.7

図2 LC-MS/MS法による濾紙血中メチルマロン酸・総ホモシステイン分析

LC column : Imtakt Scherzo SS-C18
 mobile phase : [A] 0.5% Formic acid
 [B] (0.5M NH₄-Formate & 0.5M NH₄OH)/MeOH (1:9)
 MRM mode : negative ion mode for 4.3 min → positive ion mode
 flow rate : 0.5ml/min
 analysis time : 15 min

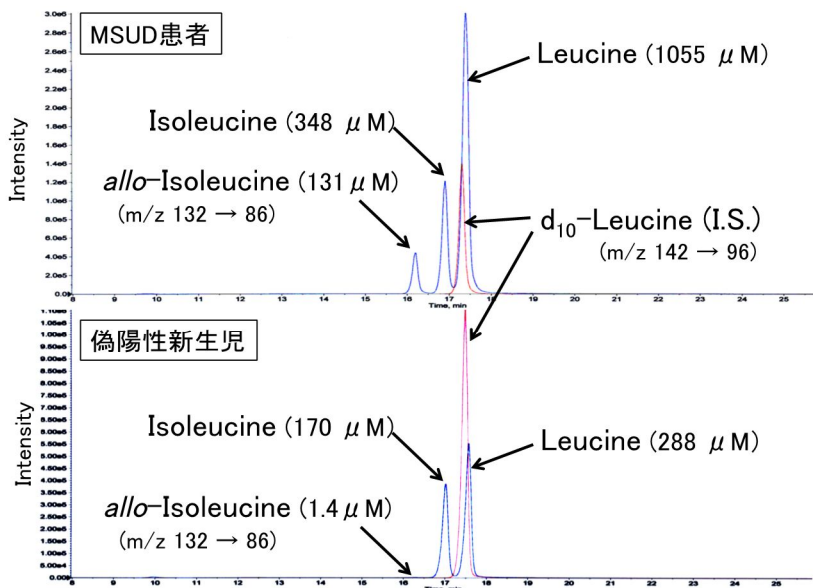
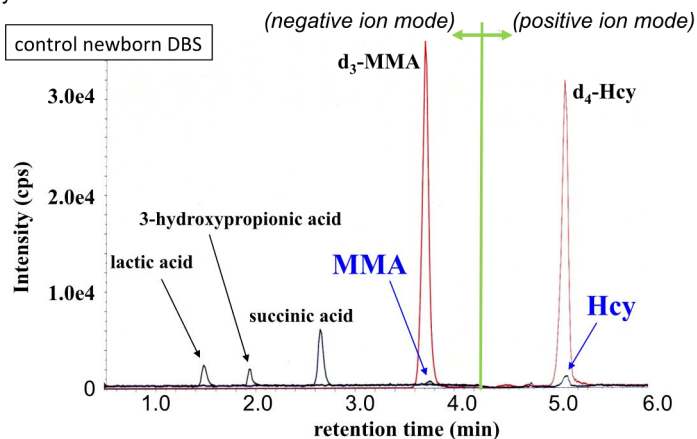


図3: MSUD患者のLC-MS/MS (MRM分析)による化学診断(濾紙血)

表5 急性発症診断時のメープルシロップ尿症 (MSUD) 患者のアロイソロイシン (allo-Ile) 分析

MSUD患児	濾紙血濃度 (μM)				血清濃度 (μM)			
	MS/MS			LC-MS/MS	MS/MS			LC-MS/MS
	C2-AC	Val	Leu/Ile	allo-Ile	C2-AC	Val	Leu/Ile	allo-Ile
1	(-)	(-)	(-)	(-)	39.1	540	636	37.8
2	(-)	(-)	(-)	(-)	39.9	417	642	56.0
3	40.7	368	767	38.3	28.7	546	1107	61.8
4	20.5	427	554	82.1	(-)	(-)	(-)	(-)
5	15.0	386	2199	362.6	(-)	(-)	(-)	(-)
6	17.9	508	813	131.0	(-)	(-)	(-)	(-)
非患者	15.0-38.2	211-420	304-420	0.5-5.9	5.1-70.9	157-588	149-833	0.3-13.5

D. 考察

タンデムマス・スクリーニングの事業化開始後、学会やマス研の研修活動や外部精度管理の取り組みが行われる中で、指定検査施設での分析技術水準も改善されてきており、今後も引き続き同様の取り組みが必要と判断された。

その活動内容であるが、希少難病である対象疾患の病態を適切に理解することが重要である。多くの対象疾患の陽性判定時の対応法がやや複雑であり、単に個々の指標値をカットオフ値のみで陽性判定することにはリスクが伴う。米国でのスクリーニングにおいてプロピオン酸血症の見逃し例が係争中であるという。C3/C2 が 0.199838 であり、カットオフ値の 0.2 を下回ったため陽性判定とならず、診断が遅れ、脳障害が生じたとのことである。わが国の試験研究中においても、B12 代謝異常によるメチルマロン酸血症症例で、C3 値は高かったものの C3/C2 がカットオフ値を下回ったため、偽陰性となっている。

このような事態を避けるためには、まず分析精度の確保が必要であるが、現状では CV が 10%以下におさまることを目標に精度管理を行っている。しかし、この精度管理の分析においては 0.199838 と 0.2 は同じ値であり、このカットオフ値のみで陽性判定をすることに問題があるといえる。この場合 C3 値と組み合わせた判定、あるいは C2 の上昇に着目した判定が重要になるが、この判断は対象疾患の病態を理解していないと難しい。今後、このような事態に対応するために更にスクリーニング指標の改定が必要と考えられ、複雑な組み合わせの陽性判定に対する理解と、それを支える二次検査法の導入が求められる。今後の大きな課題である。

タンデムマス・スクリーニングが全国実施され受検者が拡大するにつれ、発見される対象疾患患者の臨床像スペクトルにさらに広がりが見られている。診断確定は、機能蛋白の活性評価と遺伝子解析を基に行われるが、この精密検査体制についても研究期間中に進展が見られている。病態把握と治療選択においてこのような検査は特に大

きな役割を担っており、更にシステムとして整備されることが期待される。このような知見の蓄積により、発見された患者のトータルケアの内容がさらに充実していくと考えられる。

E. 結論

この間の研究で得られた成果を基に、今後とも検査精度を高める取り組みを継続・深化させる必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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
- 2) 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
- 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) 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
- 5) 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

- 6) 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
- 7) 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
- 8) 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
- 9) Hitomi T, Matsuura N, Shigematsu Y, Okano
Y, Shinozaki E, Kawai M, Kobayashi H,
Harada KH, Koizumi A: Importance of
molecular diagnosis in the accurate
diagnosis of systemic carnitine
deficiency. *J Genet.* 94(1):147-50, 2015.
- 10) Yamamoto H, Tachibana D, Tajima G,
Shigematsu Y, Hamasaki T, Tanaka A, Koyama
M: Successful management of pregnancy
with very-long-chain acyl-coenzyme A
dehydrogenase deficiency. *J Obstet
Gynaecol Res.* 2015 Feb 6. [Epub ahead of
print]
- 11) 林泰平, 岩井和之, 津田英夫, 重松陽介: 母
親の慢性萎縮性胃炎が原因となったビタミン
B12 欠乏症の乳児例 .日本小児科学会雑誌 .
119(3) : 589-594, 2015
- 12) 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 .日本マス・ス
クリーニング学会誌 . 2(1) ; 67-73, 2015
- 13) 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
ング in 広島-自治体事業化後の現状 .日本マ
ス・スクリーニング学会誌 . 2(1) ; 75-82,
2015
- 14) 花井潤師, 福土勝, 石毛信之, 田崎隆二,
山口清次, 重松陽介: タンデムマス・スクリ
ーニングにおける精度管理の現状と今後の
課題-内部精度管理の充実に向けた取組み-.
日本マススクリーニング学会誌 25(1):
57-66, 2015
- 15) Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Takahashi T,
Purevsuren J, Hasegawa Y, Taketani T,
Fukuda S, Ohkubo T, Yokota T, Watanabe M,
Tsunemi T, Mizusawa H, Takuma H, Shioya A,
Ishii A, Tamaoka A, Shigematsu Y, Sugie H,
Yamaguchi S: Clinical, biochemical and
molecular investigation of adult-onset
glutaric acidemia type II:
Characteristics in comparison with
pediatric cases. *Brain & Development*
38(3): 293-301, 2016
- 16) Tajima G, Hara K, Tsumura M, Kagawa R,
Okada S, Sakura N, Hata I, Shigematsu Y,
Kobayashi M: Screening of MCAD deficiency
in Japan: 16years' experience of
enzymatic and genetic evaluation. *Mol
Genet Metab.* 119:322-328, 2016
- 17) Deswal S, Bijarnia-Mahay S, Manocha V,
Hara K, Shigematsu Y, Saxena R, Verma IC:
Primary carnitine deficiency - A rare
treatable cause of cardiomyopathy and
massive hepatomegaly. *Indian J Pediatr.*
2016 Sep 1. [Epub ahead of print]
- 18) Akagawa S, Fukao T, Akagawa Y, Sasai H,
Kohdera U, Kino M, Shigematsu Y, Aoyama Y,
Kaneko K: Japanese male siblings with
2-methyl-3-hydroxybutyryl-CoA
dehydrogenase deficiency (HSD10 Disease)
without neurological regression. *JIMD Rep.*

2016 Jun 16. [Epub ahead of print]

- 19) Gupta D, Bijarnia-Mahay S, Kohli S, Saxena R, Puri RD, Shigematsu Y, Yamaguchi S, Sakamoto O, Gupta N, Kabra M, Thakur S, Deb R, Verma IC: Seventeen Novel Mutations in PCCA and PCCB Genes in Indian Propionic Acidemia Patients, and Their Outcomes. *Genet Test Mol Biomarkers*. 20(7):373-82, 2016
 - 20) 野崎 章仁, 楠 隆, 重松 陽介, 佐々木 彩恵子, 熊田 知浩, 柴田 実, 林 安里, 森 未央子, 日衛嶋 郁子, 井上 賢治, 藤井 達哉: 食事摂取量低下とピボキシル基含有抗菌薬 2 日間投与による二次性低カルニチン血症. *日本小児科学会雑誌*. 120(9); 1371-1374, 2016
 - 21) 重松陽介: 質量分析法による新生児マススクリーニングの実相. *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn*. 64(4); 1-5, 2016
 - 22) 重松陽介, 湯浅光織, 畑郁江: CPT2 欠損症の新生児スクリーニング新指標検討の経緯. *特殊ミルク情報* 52: 12-15, 2016
 - 23) 重松陽介: タンデムマス・スクリーニングのスクリーニング指標の改訂. *日本マススクリーニング学会誌*, 27(1) (印刷中) 2017
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 年 10 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 年 10 月
 - 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 年 10 月
 - 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 年 11 月
 - 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 年 8 月
 - 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 年 8 月
 - 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 年 8 月
 - 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 年 8 月
 - 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 年 8 月
 - 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 年 4 月
- 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, 2014 年 11 月
 - 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 年 11 月
 - 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 年 11 月
 - 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 年 11 月
 - 15) Shigematsu Y, Hata I, Nakajima H: A low-birth-weight baby with 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: markers for newborn screening. The 4th Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. 2015.3. Taipei, Taiwan.
 - 16) Shigematsu Y, Hata I, Nakajima H, Tajima G, Bijarnia-Mahay S, Puri RD, Saxena R, Verma J, Verma IC: Second-tier LC-MS/MS analysis using dried blood spots of C5-OH-acylcarnitine-positive cases in newborn screening and high-risk screening. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. 2015.9. Lyon, France.
 - 17) Bijarnia-Mahay S, Deswal S, Hara K, Shigematsu Y, Verma IC: Systemic primary carnitine deficiency - early treatment with a good outcome in first case from India. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. 2015.9. Lyon, France.
 - 18) Watanabe Y, Tashiro K, Aoki K, Inaba M, Yanagiuchi C, Suzutani Y, Ishii H, Kinoshita Y, Tajima G, Yorifuji T, Shigematsu Y, Maeda Y, Nakajima Y, Inokuchi T, Matsuishi T: A long term follow-up study of 8 individuals with asymptomatic propionic acidemia. Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism. 2015.9. Lyon, France.
 - 19) Shigematsu Y, Hata I, Tajima G, Nakajima H: Strategy for newborn screening of methylmalonic/ propionic acidemias using MS/MS and LC-MS/MS. The 9th Asia-Pacific Regional Meeting of the International Society for Neonatal Screening 2015. 2015.12. Penang, Malaysia.
 - 20) 重松陽介, 畑郁江, 中島英規: タンデム質量分析法による代謝異常症スクリーニングとその問題点. ワークショップ「MS 技術の医療応用とその社会貢献」. 第 63 回質量分析総合討論会. つくば市, 2015 年 6 月
 - 21) 重松陽介: LC-MS/MS による二次検査法の開発. シンポジウム「全国自治体で事業化されたタンデムマス・スクリーニングへの対応」. 第 40 回医用マススペクトル学会. 浜松市, 2015 年 9 月
 - 22) 花井潤師: 正常検体と患者データ情報収集によるタンデムマス・スクリーニングの精度管理. シンポジウム「全国自治体で事業化されたタンデムマス・スクリーニングへの対応」. 第 40 回医用マススペクトル学会. 浜松市, 2015 年 9 月
 - 23) 九曜 雅子, 高森 亮輔, 西永 真理, 上出

- 功, 角 園子, 五十嵐 登, 重松 陽介: タンデムマススクリーニングにおける複数の指標設定の効果. 第 42 回日本マス・スクリーニング学会学術集会. 東京, 2015 年 8 月
- 24) 石毛信之、渡辺和宏、長谷川智美、他: 東京都における LC-MS/MS 法を用いたイソ吉草酸血症の二次検査法の検討. 第 57 回日本先天代謝異常学会. 大阪市, 2015 年 11 月
- 25) 重松陽介、湯浅光織、磯崎由宇子、他: 濾紙血 C5-OH アシルカルニチン上昇例の濾紙血 LC-MS/MS 分析による鑑別診断. 第 57 回日本先天代謝異常学会. 大阪市, 2015 年 11 月
- 26) 但馬剛、原圭一、津村弥来、他: CPT-2 欠損症のマススクリーニング: 一次対象疾患化へ向けた課題. 第 57 回日本先天代謝異常学会. 大阪市, 2015 年 11 月
- 27) 原圭一、香川礼子、但馬剛、他: VLCAD 欠損症確定検査から得られた知見-新たなスクリーニング指標の有用性と新規好発変異. 第 57 回日本先天代謝異常学会. 大阪市, 2015 年 11 月
- 28) 湯浅光織、畑郁江、河北亜希子、他: 重篤なケトアシドーシスの治療中に眼球運動障害を呈した β -ケトチオラーゼ欠損症の 1 例. 第 57 回日本先天代謝異常学会. 大阪市, 2015 年 11 月
- 29) 湯浅光織、畑郁江、林泰平、重松陽介、西村裕: 新生児スクリーニングでのメチオニン値異常に着目した LC-MS/MS 二次検査法の有用性の検討. 第 58 回日本先天代謝異常学会. 東京, 2016 年 10 月
- 30) 香川礼子、但馬剛、原圭一、佐倉伸夫、小林正夫、田中藤樹、長尾雅悦、重松陽介: 新生児スクリーニングでシトルリン著増を認め、無症状で経過中の 1 例. 第 58 回日本先天代謝異常学会. 東京, 2016 年 10 月
- 31) 磯崎由宇子、湯浅光織、畑郁江、重松陽介: 4 歳未満で BH4 治療を開始した軽症フェニルケトン尿症 2 例の臨床経過. 第 58 回日本先天代謝異常学会. 東京, 2016 年 10 月
- 32) 原 圭一, 但馬 剛, 香川 礼子, 岡田 賢, 岡野 里香, 重松 陽介, 柘田 紗季, 森岡 千代美, 吉井 千代子: カルニチントランスポーター異常症のマススクリーニング カルニチン補充を要したヘテロ保因者と考えられる 1 例. 第 43 回日本マス・スクリーニング学会. 札幌, 2016 年 8 月
- 33) 香川 礼子, 原 圭一, 但馬 剛, 重松 陽介, 柘田 紗季, 森岡 千代美, 吉井 千代子: マスクリーニング初回陽性・再採血正常の後に発症したビタミン B12 欠乏症の乳児例. 第 43 回日本マス・スクリーニング学会. 札幌, 2016 年 8 月
- 34) 湯浅 光織, 畑 郁江, 米野 聖子, 重松 陽介: メチオニン低値を指標としたホモシチン尿を伴う疾患群のスクリーニングシステムの検討. 第 43 回日本マス・スクリーニング学会. 札幌, 2016 年 8 月
- 35) 但馬 剛, 津村 弥来, 香川 礼子, 岡田 賢, 原 圭一, 佐倉 伸夫, 畑 郁江, 重松 陽介: タンデムマス・スクリーニング検査での疑問を解決しよう 脂肪酸代謝異常症陽性例への対応 見逃し例を出さないために. 第 43 回日本マス・スクリーニング学会. 札幌, 2016 年 8 月

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 但馬 剛・原田正平

（国立成育医療研究センター研究所 マスクリーニング研究室長）

研究要旨

2014年度から導入されたタンデムマス（TMS）法は、従来のガスリー法に比べ、精度管理が極めて重要になる。本研究班3年間に、全国のすべてのTMS検査施設が参加する形で、技能試験（proficiency testing: PT）年3回、精度試験（quality control: QC）年1回が定期的に行われる体制ができた。またブラインド試験も2015年まで行ってきたが、検査施設の負担が大きいこととPT試験が一定の機能を果たすことから2016年度より中止した。学会、NPO法人、および成育医療センターの三者で「精度管理合同委員会」が立ち上がり、PT試験、QC試験の結果の解析が行われるようになった。また検査データ、精度管理データのWeb解析システムができ、検査施設の自己評価も簡単にできるようになった。精度管理合同委員会と自治体、検査施設等の連携によって、今後継続的な精度管理による質の維持向上を図ることが重要である。

研究協力者

中島英規（国立成育医療研究センター研究所

マスクリーニング研究室・研究員）

志村明子（同上・臨床検査技師）

相崎潤子（同上・臨床検査技師）

前田堂子（同上・研究補助員）

後藤温子（同上・研究補助員）

小澤仁子（同上・共同研究員）

渡辺倫子（同上・元研究員）

鈴木恵美子（同上・元研究員）

B．研究方法

1．技能試験（proficiency test, PT 試験）による精度管理

対象疾患の陽性者を模した検体を検査施設に送付して、受付から結果報告までの一連の業務全体の精確さを評価する試験である。異常者を発見するという技能試験であるが、加えて検体受付から結果報告までの時間、事務的な正確さなども評価する精度管理法である。対象疾患から任意の9疾患分の異常検体と正常検体から成る10検体を1組として各検査施設に送付して、平常業務と同じ手順で作業を行うものとした。測定結果および結果報告までの時間、事務手続きなどを含めて精度管理委員会で評価される。

2．精度管理（quality control test, QT 試験）

TMS分析の精密度を評価する試験である。各対象疾患の指標であるアミノ酸・アシルカルニチンを3段階の濃度のろ紙検体（Low-Middle, Middle, High）および無添加（Low）検体の4枚を1組として

A．研究目的

2014年度から、わが国の全自治体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ってタンデムマス（TMS）法が導入された。ガスリー法が one test one disease screening であったのに対し、TMS法は one test multiple screening で対象疾患が飛躍的に拡大した。一方、TMS法では高精度精密機器を扱うため、継続的な精度管理が不可欠である。そこでTMS法の精度管理体制の在り方について研究した。

検査施設に送付した。検査施設では、10 業務日連続で二重測定して測定値を報告する。

3．ブラインド検体による試験

「ブラインド試験」とは、各自治体の協力産科施設から、検査機関に情報を伏せて試験検体を検査施設に送付して、「正常」、「異常」の判定を求める精度管理試験である。2005 年から取り組み2015 年度まで行った。

4．精度管理合同委員会

日本マススクリーニング学会、NPO 法人タンドムマス・スクリーニング普及協会、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）の三者で構成する「精度管理合同委員会」を年 4 回開催して、検査施設の精度管理状況を評価した。また 2005 年～2016 年にかけて、全国の検査施設の正常と異常のデータを蓄積して各施設の正常値、カットオフ値を自動的に一覧できる Web 解析システムを開発した。また QT 試験のデータも Web 解析システムを作り、精度管理委員会で各施設の日内変動、日差変動、直線性などを評価した。

C．研究結果

1．試験用検体の作製

2014～2015 年度は MS 研にて、日本赤十字社から入手した献血赤血球を洗浄後、各種指標物質を添加して作製していた。2016 年度から、測定キットや内部標準試薬を製造販売している国内専門業者に必要な仕様を提示し、試験用検体を外部委託した。納品された検体を検品した結果、前年度までは準備困難であった指標についても、良好な測定値が確認された。コスト削減も期待される。

2．PT 試験

2014 年度より、PT 試験は年 3 回定期的に行えるようになった。試験結果は精度管理合同委員会で図られ、著しく外れた結果の出た場合は検査施設に問い合わせ、必要に応じて指導を行った。

2．QC 試験

年 1 回順調に実施できるようになった。集められた測定値は精度管理評価は軌道に乗った。2016 年度から試験検体の作成を外部委託とした。試験結果は精度管理合同委員会で図られるパターンが確立した。

3．ブラインド検体による試験

参加施設が全体の 1/3 程度に留まり、産科施設、検査施設の負担も大きく、PT 試験である程度評価できるため 2016 年度から中止した。

4．精度管理合同委員会

年 4 回開催して、検査施設の精度管理状況を評価し、必要に応じて指導的な役割も果たした。各施設の正常値、カットオフ値を自動的に一覧できる Web 解析システムを開発した。また QT 試験のデータの Web 解析システムを確立して、各検査施設は簡単に自施設のデータの位置づけ、カットオフの適正さ、データのばらつきなどを評価し、他の施設と比較することが可能になった。

D．考察

2014 年度に TMS 法が全国に導入されて「精度管理」が非常に重要になった。この 3 年間に、PT 試験、QT 試験の定期的実施体制が確立した。また自施設の測定値のばらつき、疾患のカットオフ値の適正性も他施設と比較の中で評価できるようになった。

TMS の精度管理は 1 回で済むものでなく、機種や試薬の違い、また同じ機種でも測定値は、季節、機器のリニューアル、分析条件の調整前後で異なる可能性がある。試薬のロット番号でも微妙に差異が出ることもある。このためには継続的な精度管理体制によって TMS スクリーニングの質が担保される。

本研究ではまた、全国の全検査施設が参加して精度管理の情報を共有できる体制ができた。それをさらに簡便に自己評価できる Web 解析システ

ムを開発し、その有用性が確認された。

さらに検討すべき課題として、以下のような点が精度管理合同委員会で議論に挙がっている。すなわち 日常業務への影響を軽減するため、1日の測定回数を増やして測定日数を短縮する、検出限界・定量限界・定量範囲の評価を可能にするために測定濃度を増やす。サーバーシステムの利便性向上、特に内部精度管理支援 web システムとの連携性を持たせて、重複のない効率的なデータ収集を図ることも今後の課題として挙げられている。

NBS における検査は、いわゆる「臨床検査」ではなく、罹患児の障害発生を防ぐために、再採血や精査の要否を自ら判断しなければならない。原則として正常な新生児を対象として行う検査であるので、偽陽性、偽陰性をできるだけ減らす努力も必要である。産科施設や精査医療機関と緊密な協力関係を築くことが重要である。

検査費用について、日本マススクリーニング学会や当研究班では、適正と考える検査業務経費を提示しているが、極端に安価な検査費用を提示して落札する検査施設もあり、それが結果的に NBS の質の低下につながることもある。適正価格で、良質なサービスの可能な NBS 体制も考慮するに値する。

E . 結論

本研究班で3年が経過する中、外部精度管理試験については PT 試験年3回、QC 試験年1回という体制が軌道に乗った。また正常値のばらつき、カットオフの適正性、精度管理検体の測定値の適正性を、全国すべての TMS スクリーニング検査施設が参加する形で、自己評価できる Web 解析システムも確立した。産科施設、検査施設、医療機関、および自治体の連携を強化して質の良い NBS を提供すべきである。

F . 健康危険情報

特になし

G . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Hara K, Tajima G, Okada S, et al.: Significance of ACADM mutations identified from newborn screening of MCAD deficiency in Japan. Mol Genet Metab 118 (1): 9-14: 2016, 謝辞あり
- 2) Tajima G, Hara K, Tsumura M, et al.: Screening of MCAD deficiency in Japan: 16 years' experience of enzymatic and genetic evaluation. Mol Genet Metab 119 (4): 322-328: 2016, 謝辞あり
- 3) 但馬剛, 原圭一, 津村弥来, 他: CPT-2 欠損症の新生児スクリーニング: 偽陰性発症例の経験と新たな指標による診断体制の構築. 特殊ミルク情報 52: 16-22: 2016,

2 . 学会発表

- 1) 但馬剛: 新生児スクリーニングの外部精度管理-実施状況と今後の展望. 恩賜財団母子愛育会新生児スクリーニング検査技術者等研修会, 東京, 2016年6月24日.
- 2) 中島英規: 質量分析装置の臨床応用における標準物質の重要性. 日本医用マススペクトル学会第1回東部会, 千葉市, 2016年6月25日.
- 3) 但馬剛: 我が国の新生児スクリーニングシステムと外部精度管理. 日本マススクリーニング学会検査技術者等基礎研修会, 東京, 2016年12月16日.

F . 健康危険情報

特になし

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Hara K, Tajima G, Okada S, et al.: Significance of ACADM mutations identified from newborn screening of MCAD deficiency in Japan. Mol Genet Metab 118 (1): 9-14, 2016
 - 2) Tajima G, Hara K, Tsumura M, et al.: Screening of MCAD deficiency in Japan: 16 years' experience of enzymatic and genetic evaluation. Mol Genet Metab 119 (4): 322-328, 2016
 - 3) 但馬剛, 原圭一, 津村弥来, 他: CPT-2 欠損症の新生児スクリーニング: 偽陰性発症例の経験と新たな指標による診断体制の構築. 特殊ミルク情報 52: 16-22, 2016
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, 2014 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. 第 41 回日本マス・スクリーニング学会学術集会. 広島市, 2014 年 8 月
 - 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. 第 41 回日本マス・スクリーニング学会学術集会. 広島市, 2014 年 8 月
 - 4) 中島英規, 前田堂子, 後藤温子, 品田京子, 志村明子, 相崎潤子, 小澤仁子, 渡辺倫子, 鈴木恵美子, 松原洋一, 原田正平: SI トレーサブルなマススクリーニング測定対象化合物検定法の確立. 第 42 回日本マススクリーニング学会学術集会. 東京, 2015 年 8 月
 - 5) 中島英規, 前田堂子, 後藤温子, 品田京子, 志村明子, 相崎潤子, 小澤仁子, 渡辺倫子, 鈴木恵美子, 松原洋一, 原田正平: 平成 26 年度 Quality control 外部精度管理結果について. 第 42 回日本マススクリーニング学会学術集会. 東京, 2015 年 8 月
 - 6) 中島英規, 前田堂子, 後藤温子, 品田京子, 志村明子, 相崎潤子, 小澤仁子, 渡辺倫子, 鈴木恵美子, 松原洋一, 原田正平: マススクリーニング外部精度管理ウェブデータ授受システムの構築. 第 42 回日本マススクリーニング学会学術集会. 東京, 2015 年 8 月
 - 7) 重松陽介, 畑郁江, 湯浅光織, 但馬剛, 渡邊順子, 石毛信之, 中島英規: 有機酸代謝異常症の LC-MS/MS 法による二次検査法の検討. 第 42 回日本マススクリーニング学会学術集会. 東京, 2015 年 8 月
 - 8) 渡辺倫子, 中島英規, 鈴木恵美子, 小澤仁子, 前田堂子, 品田京子, 志村明子, 後藤温子, 松原洋一, 原田正平: 平成 26 年度新生児マススクリーニング精度管理(技能試験)の報告. 第 42 回日本マススクリーニング学会学術集会. 東京, 2015 年 8 月
 - 9) 鈴木恵美子, 渡辺倫子, 相崎潤子, 小澤仁子, 中島英規, 松原洋一, 原田正平: 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. 第 42 回日本マススクリーニング学会学術集会. 東京, 2015 年 8 月
 - 10) 原田正平, 渡辺倫子, 鈴木恵美子, 中島英規, 松原洋一, 酒井好美, 河地豊, 伊藤哲哉: 外部精度管理機関による新生児マススクリーニング検査機関査察の試み. 第 42 回日本マススクリーニング学会学術集会. 東京, 2015 年 8 月
 - 11) 原田正平: わが国のマススクリーニングの発展に及ぼす日本マススクリーニング学会の役割 マススクリーニングと行政との関わり(主に精度管理、情報管理の観点から). 第 42 回日本マススクリーニング学会学術集会. 東京, 2015 年 8 月
 - 12) 中島英規, 鈴木恵美子, 渡辺倫子, 原田正平: 質量分析装置による新生児マススクリーニング外部精度管理結果. 第 55 回日本

- 臨床化学会年次学術集会. 大阪市, 2015 年 10 月
- 13) 中島英規, 渡辺倫子, 鈴木恵美子, 原田正平: 定量 NMR を応用した SI トレーサブルな新生児マススクリーニング測定対象化合物検定法の確立. 第 55 回日本臨床化学会年次学術集会. 大阪, 2015 年 10 月
- 14) Tajima G, Hara K, Tsumura M, Kagawa R, Okada S, Sakura N, Hata I, Shigematsu Y, Kobayashi M: Screening of MCAD deficiency in Japan: 15 years' experience of enzymatic and genetic evaluation. 13th International Congress of Human Genetics, Kyoto, April 3-7, 2016.
- 15) 中島英規: 質量分析装置の臨床応用における標準物質の重要性. 日本医用マススペクトル学会第 1 回東部会. 千葉市, 2016 年 6 月
- 16) 但馬剛, 津村弥来, 香川礼子, 岡田賢, 原圭一, 佐倉伸夫, 畑郁江, 重松陽介: 脂肪酸代謝異常症陽性例への対応: 見逃し例を出さないために. 第 43 回日本マススクリーニング学会学術集会. 札幌市, 2016 年 8 月
- 17) 但馬剛, 香川礼子, 前田康博, 深尾敏幸: 新生児マススクリーニングで発見されたプロピオン酸血症例の全国アンケート調査. 第 43 回日本マススクリーニング学会学術集会. 札幌市, 2016 年 8 月
- 18) 原圭一, 但馬剛, 香川礼子, 岡田賢, 岡野里香, 重松陽介, 柘田紗季, 森岡千代美, 吉井千代子: カルニチントランスポーター異常症のマススクリーニング: カルニチン補充を要したヘテロ保因者と考えられる 1 例. 第 43 回日本マススクリーニング学会学術集会. 札幌市, 2016 年 8 月
- 19) 香川礼子, 原圭一, 但馬剛, 重松陽介, 柘田紗季, 森岡千代美, 吉井千代子: マススクリーニング初回陽性・再採血正常の後に発症したビタミン B12 欠乏症の乳児例. 第 43 回日本マススクリーニング学会学術集会. 札幌市, 2016 年 8 月
- 20) 但馬剛, 香川礼子, 前田康博, 深尾敏幸: プロピオン酸血症例の全国調査: 発症後診断例とマススクリーニング発見例の比較検討. 第 58 回日本先天代謝異常学会総会. 東京, 2016 年 10 月
- 21) 原圭一, 但馬剛, 香川礼子, 岡田賢, 佐倉伸夫: オルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)欠損症の遺伝子診断: 3 年間のまとめ. 第 58 回日本先天代謝異常学会総会. 東京, 2016 年 10 月
- 22) 香川礼子, 但馬剛, 原圭一, 佐倉伸夫, 小林正夫, 田中藤樹, 長尾雅悦, 重松陽介: 新生児マススクリーニングでシトルリン著増を認め、無症状で経過中の 1 例. 第 58 回日本先天代謝異常学会総会. 東京, 2016 年 10 月
- 23) 江見咲栄, 立石浩, 岡田裕介, 向野文貴, 堀田紀子, 松藤博紀, 伊藤智子, 但馬剛, 内田正志: 母親の性線モザイク発生によると考えられるオルニチントランスカルバミラーゼ(OTC)欠損症の女児例. 第 58 回日本先天代謝異常学会総会. 東京, 2016 年 10 月

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

疾病の発症予防にとって極めて有用な新生児マススクリーニング（NBS）は、適切な対象疾患を拡大することによって、更なる小児の健康増進と医療費削減に寄与することが期待される。本分担研究では、遺伝子解析を中心とした新しい技術の導入によるNBS対象疾患の拡大の可能性について検討をおこなった。具体的には、すでに欧米各国で遺伝子解析に基づくNBSが実施されている原発性免疫不全症を中心に検討した。次に、新たなNBS対象疾患の候補選定に必要な疾患頻度推定を目的として、東北メディカルメガバンクの大規模ゲノムコホートデータを用いた保因者頻度および疾患頻度の推定を試みた。また、次世代遺伝子解析装置を用いたNBSへの可能性についても考察を加えた。

研究協力者

呉 繁夫（東北大学大学院医学系研究科・教授）

小島勢二（名古屋大学大学院医学系研究科・教授）

斎藤加代子（東京女子医科大学

附属遺伝子医療センター 教授）

今井耕輔（東京医科歯科大学・准教授）

小野寺雅史（国立成育医療研究センター・部長）

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、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り、NBS の社会貢献度・重要性は一

層高まったといえる。

最近、米国をはじめとする諸外国では、技術革新が著しい遺伝子解析法を用いて原発性免疫不全症の NBS が実施されるようになった。原発性免疫不全症は放置されると致死的な疾患であり、約 5 万人に一人の頻度と考えられている。早期の造血幹細胞移植、遺伝子治療によって救命するとともに予後を大きく改善できることが知られている。用いられている遺伝子解析法は TREC (T-cell receptor excision circle) を検出するもので、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。発見された患者には、早期治療が実施され大きな成果が挙げられている。わが国ではまだ実施されていない。



本分担研究では、近年技術革新が著しい遺伝子解析を中心とした新しい技術の導入による NBS 対象疾患の拡大の可能性、とくに重症複合型免疫不全症を含む原発性免疫不全症について、検討をおこなった。また、新たな NBS 対象疾患の候補選定に必要な疾患頻度推定を目的として、東北メディカルメガバンクの大規模ゲノムコホートデータを用いた保因者頻度および疾患頻度の推定を試みた。さらに、次世代遺伝子解析装置を用いた NBS への可能性についても考察を加えた。

B. 研究方法

1. 新しい NBS 対象疾患としての原発性免疫不全症に関する検討

原発性免疫不全症の遺伝子解析を用いて施設内の新生児を対象に検査を提供している 3 医療施設（国立成育医療研究センター、名古屋大学、東京医科歯科大学）における実施状況を調査した。

また、最近画期的な治療法が開発され、簡便な遺伝子解析によって同定ができる脊髄性筋萎縮症についてその現況を調査した。

2. 大規模ゲノムコホートデータを用いた遺伝性疾患頻度の推定

東北メディカルメガバンクの 2049 人の全ゲノムシーケンスデータを用いて、フェニルケトン尿症およびカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症（CPT2 欠損症）の疾患頻度の推定が可能かどうかを検証した。

遺伝子変異の効果予測ソフトとしては PolyPhen2、SIFT、Mutation Taster などに加え、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、変異リストを出力した。また疾患変異データベースとして Human Gene Mutation Database も参照した。

3. 次世代遺伝子解析装置による NBS の検討

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）

本分担研究自体は、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。

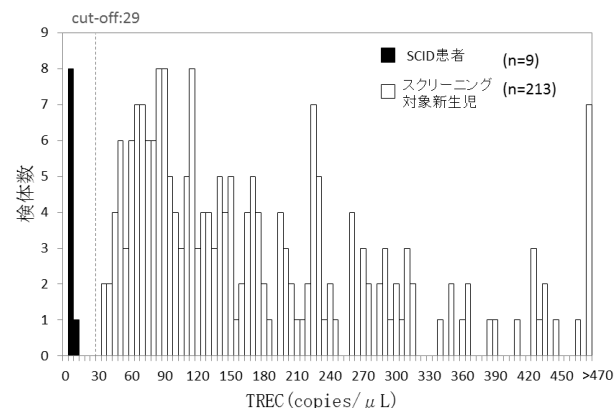
C. 研究結果

1. 遺伝子解析を用いた原発性免疫不全症の NBS 国立成育医療研究センターでの検討

センター内で出産した 331 名の新生児に対して説明を行い、303 検体に対して TREC 測定を行った。結果、2 検体の陽性があり、実際、1 名は false positive であった（約 0.3%）。一方、陽性であった 1 検体は実際にリンパ球の減少を反映していた。確かに、この新生児は一過性のリンパ球減少症ではあったが、新生児期にウイルス感染症の罹患率が高いことを考えると、これら TREC 値が低い新生児を早期に観察することは新生児期の重篤な感染症予防に繋がる可能性が考えられる。

名古屋大学での検討

新生児乾燥濾紙血の TREC 中央値は 139（32～473）copies/ μ L で、全例で海外において用いられるカットオフ値 29 copies/ μ L 以上であった。保存 DNA 検体を用いた検討では SCID 患者の TREC の中央値（範囲）は 4（3～8）copies/ μ L であった。



実際に日齢 4～7 の新生児 213 名を対象として TREC 法によるスクリーニングを実施したところ陽性例は認められなかった。陽性対照検体はすべ

て同定することができた

東京医科歯科大学での検討

2016年5月から12月にかけて東京医科歯科大学で出生した213名の新生児を対象に、TREC法及びKREC法を用いてスクリーニングを実施した。

原発性免疫不全症(PID)の早期発見にご協力ください

原発性免疫不全症(PID)は生まれつき感染病に弱い病態です(1万人~5万人に1人)。BCGやロタワクチンなどの病原体ワクチンで感染しやすくなり、感染は速く広がるような場合が長引いたり、時には死に至ることもある重篤な病気です。そのため、生後早期に診断し、感染症の予防や治療を行うことが重要で、当院では、全国の大学と共同でその早期診断法を確立しましたが、まだ日本人での正常値がわかりません。そこで、

あなたのお子様が生まれて、約5日後に行われる、新生児マススクリーニング検査の際に、0.1ml~3.0ml(2~3滴)程度の血液をいただけませんか。

(新生児マススクリーニング検査は、生後生後1週間以内に行われる検査で、先天性免疫不全症などの重篤な早期発見に用いられています。)

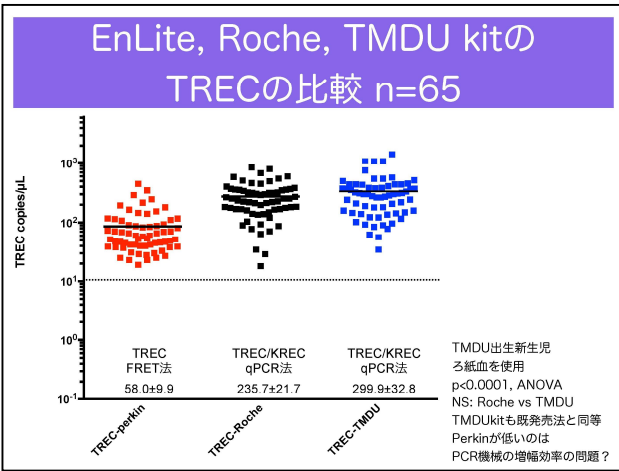
●ご協力いただける方は、医師による詳しい説明がございます。

説明書をお願いしたい、説明書がほしい場合は、説明書に御署名をお願いします。

- 説明書はどのタイミングでも必要です。説明書がほしい場合は、お母さま(ご本人)のサインを必ずお持ちください。
- 個人情報の保護には十分配慮しております。
- 本研究(研究機関名)は、原発性免疫不全症の早期発見の確立に関する研究です。
- 本学倫理委員会(研究倫理委員会)の承認を受けております。
- 詳細情報は、下記にお問い合わせください。

東京医科歯科大学小児科
連絡先: 〒113-8531 東京都文京区湯島1-5-45
電話: 03-3826-3034 FAX: 03-3826-3035
お問い合わせ: 03-3826-3035 (受付時間)

その結果、両手法で得られる結果は出生体重、出生週数に影響を受けないことが判明した。また、市販のキット(EnLite, Roche)と自家製キット(TMDU)のいずれにおいても適切な結果が得られることを確認した。



脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy: SMA) に関する調査

脊髄性筋萎縮症は、予後不良の下位運動ニューロン病である。近年、その病態分子機構の解明に基づく画期的な治療薬が開発された。治療開始にはあたっては可能な限りの早期介入が必須であり、NBSの可能性が示唆される。国際共同治験ではSMA治療薬の劇的な効果が確認されており、また新生児早期からの治療が予後に大きく影響を

与えることが示唆された。SMAの遺伝子診断にはすでに簡易迅速検査法が開発されており、将来的にはNBS対象疾患の候補と考えられた。

2. 大規模ゲノムコホートデータを用いた遺伝性疾患頻度の推定

まず、1,070人の全ゲノム配列を対象としてフェニルケトン尿症の責任遺伝子であるPAHについて解析したところ、推定疾患頻度は約4万5千人に1人であった。これまで、わが国の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。

次に、東北メディカルメガバンクの2049人の全ゲノムシーケンズデータを用いCPT2欠損症の疾患頻度の推定が可能かどうかを検証した。検討集団では、CPT2遺伝子において34個のエクソン内SNPが検出された。このうちHuman Gene Mutation Databaseに記載されている変異のみを対象として計算するとわが国の疾患頻度は47万人に1人となった。一方、島根大学小児科の患者変異リストに基づいて計算すると、疾患頻度は4.1万人に1名となった。

CPT2欠損症の疾患頻度推定

- 1) 変異リスト全て~保因者68名
 $(68/2049)^2 \times 1/4 = 1/3,600$
- 2) HMDB~保因者5+1名(342名に1人)
 $(1/342)^2 \times 1/4 = 1/468,000$
- 3) 島根リスト~保因者19+1名(102人に1人)
 $(1/102)^2 \times 1/4 = 1/41,000$

3. 次世代遺伝子解析装置によるNBSについて

次世代シーケンサーは、個々人のゲノムを網羅的にシーケンスするもので、原理的にはほぼあらゆる遺伝性疾患の検出が可能である。技術的には、ゲノム全体をシーケンスする whole genome sequencing (WGS)、タンパク翻訳領域をコードするエクソン部分のみについてシーケ

ンスする whole exome sequencing (WES)、標的とする一群の疾患群の遺伝子部分のみをシーケンシングする targeted re-sequencing の 3 種類に分類することができる。いずれも数多くの遺伝性疾患を網羅的に一斉にスクリーニングすることが可能である。

諸外国における現状

WGS あるいは WES を用いた新生児集団の遺伝子解析については、すでに研究的な検討が始められている。米国 NIH では、2013 年より Genomic Sequencing and Newborn Screening Disorders program のもとに、4 つの研究医療機関に 5 年で 2500 万ドルの研究費を交付し、倫理面を含めた検討が開始されている。

網羅的遺伝子解析の課題

・費用

現在のところ、1 検体あたり十～数十万円のコストを要する。数多くの疾患を一斉に解析することが可能なため、1 疾患当たりの費用は数百円程度に抑えることができるが、総額としては現行のマススクリーニング事業をはるかに超える金額となり、現行制度にそのまま組み込むことは難しい。現時点ではこれが最大の課題である。今後、遺伝子解析コストのさらなる大幅な低下によって、現行の手法との逆転が起こる可能性も考えられる。

・技術的課題

研究機器として開発されてきたことから、マススクリーニングのプラットフォームには対応していない。しかしながら、各ステップの自動化、機械化が進んできており、マススクリーニングに適したシステムを組むことは十分可能と考えられる。

遺伝子解析というこれまでのスクリーニング法と全く異なる技術の導入は、担当者の教育・研修を含めた新たな課題に対処する必要がある。

・感度、特異度

現段階の技術では、遺伝子解析によってすべての患者を同定することはできない。また、病的変異のデータベースが未整備なため、遺伝子配列変

化があっても、しばしばその判定をすることが困難である (VUS:variant of unknown significance)。これらの制約を理解したうえでスクリーニングを行う必要がある。

・対象疾患の選定

病因遺伝子が明らかにされている疾患すべてを対象とすることが可能であるが、NBS としてふさわしいかどうかを慎重に評価する必要がある。各疾患の専門家を交えた慎重な議論が必要である。

・偶発的所見

網羅的解析によって、本来目的としない疾患までも検出することの是非が議論されている。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) をもとにしばしば議論がなされている。慎重な検討が必要と考えられる。

D. 考察

1. 遺伝子解析を用いた原発性免疫不全症の NBS

TREC 検査は、遺伝子の塩基配列の変化を検出するものではなく、免疫関連細胞が作られる過程で生じる「特定の遺伝子産物の定量」である。スクリーニングに当たっては、定量とカットオフ値の設定が最も重要な要素であり、代謝産物やホルモンを測定する現行の NBS と親和性が高い。

TREC を用いたマススクリーニングは米国において実用化されており、すでにその有用性が示されている。2013 年 7 月までに、全米で 303 万人の新生児がスクリーニングを受け、52 例の SCID 症例が診断された。SCID の頻度は 58000 出生当たり 1 人 (95%信頼区間, 1/46000~1/80000) であった。厚生労働省人口動態統計の日本の年間出生数は 100 万人 (平成 26 年) であるため、米国における SCID 患者の発生頻度を考慮すれば、日本においても年間 17.2 人の SCID 患者が診断されると推定される。わが国の 3 施設 (国立成育医療

研究センター、名古屋大学、東京医科歯科大学)の独立した研究協力者らの研究によって、TREC測定が適切な精度で実施可能であり、日本人においても患者群と健常群を明確に判別できることが実証された。測定に要する費用は1件当たり2,600~6,000円と試算された。今後、愛知県において大規模なパイロットスタディが開始される予定となっている。欧米各国ではすでにスクリーニング開始されて救命される新生児が増加していることに鑑み、わが国でも早急に実施に向けた検討を始めるべきではないかと思われる。わが国における費用対効果の算定も必須である。

脊髄性筋萎縮症については、新たなNBS対象疾患として将来的には有力な候補であると考えられた。今後、治療薬市販後の調査や費用対効果などの検討が望まれる。

2. 大規模ゲノムコホートデータを用いた遺伝性疾患頻度の推定

健常人ゲノムコホートデータを用いた保因者頻度、患者頻度の推定が可能であることが示された。今後、最適なゲノム参照パネルのサイズの検討とともに、さらに多くの変異解析と発現解析が重要と考えられる。

3. 次世代遺伝子解析装置によるNBSについて

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、現時点ではコストなどの点でNBSに対応できる段階にはないと思われる。しかしながら今後の急速な技術革新により、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が否定できない。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今後の検討課題である。

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、今後は次世代シークエ

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

原発性免疫不全症のNBSに関して、国内で一定規模のパイロット研究を実施すべき時期に来ているものと考えられる。また、わが国における費用対効果の検討をおこなうべきである。

健常人ゲノムコホートデータは、保因者頻度、患者頻度の推定に有用であることが示された。

次世代シーケンサーのNBSへの導入は現時点では時期尚早と考えられるが、将来的には対象疾患を飛躍的に拡大させていくことが予測される。

F. 健康危険情報

特になし

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
- 4) 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
- 5) Katoh-Fukui Y, Igarashi M, Nagasaki K, Horikawa R, Nagai T, Tsuchiya T, Suzuki E, Miyado M, Hata K, Nakabayashi K, Hayashi K, Matsubara Y, Baba T, Morohashi K, Igarashi A, Ogata T, Takada S, Fukami M. Testicular dysgenesis/regression without campomelic dysplasia in patients carrying missense mutations and upstream deletion of SOX9. *Mol Genet Genomic Med.* 3(6):550-7, 2015
- 6) 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 Mabry syndrome. *Am J Med Genet A* 167A(4):777-85, 2015
- 7) Moriya M, Inoue SI, Miyagawa-Tomita S, Nakashima Y, Oba D, Niihori T, Hashi M, Ohnishi H, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y. Adult mice expressing a Braf Q241R mutation on an ICR/CD-1 background exhibit a cardio-facio-cutaneous syndrome phenotype. *Hum Mol Genet.* 24(25):7349-60, 2015
- 8) Niihori T, Ouchi-Uchiyama M, Sasahara Y, Kaneko T, Hashii Y, Irie M, Sato A, Saito-Nanjo Y, Funayama R, Nagashima T, Inoue S, Nakayama K, Ozono K, Kure S, Matsubara Y, Imaizumi M, Aoki Y. Mutations in MECOM, encoding oncoprotein EVI1, cause radioulnar synostosis with amegakaryocytic thrombocytopenia. *Am J Hum Genet.* 97(6):848-54, 2015
- 9) Komatsuzaki S, Ogawa E, Shimozawa N, Sakamoto O, Haginoya K, Uematsu M, Hasegawa Y, Matsubara Y, Ohura T. First Japanese case of Zellweger syndrome with a mutation in PEX14. *Pediatr Int.* 57(6):1189-92, 2015
- 10) Yaoita M, Niihori T, Mizuno S, Okamoto N, Hayashi S, Watanabe A, Yokozawa M, Suzumura H, Nakahara A, Nakano Y, Hokosaki T, Ohmori A, Sawada H, Migita O, Mima A, Lapunzina P, Santos-Simarro F, García-Miñaur S, Ogata T, Kawame H, Kurosawa K, Ohashi H, Inoue S, Matsubara Y, Kure S, Aoki Y. Spectrum of mutations and genotype-phenotype analysis in Noonan syndrome patients with RIT1 mutations. *Hum Genet.* 135(2):209-22, 2016
- 11) 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.* 167A(2):407-11, 2015
- 12) 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.* 60(5):1297-307,

- 2015
- 13) 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.* 30(3):499-506, 2015
- 14) Suzuki E, Izumi Y, Chiba Y, Horikawa R, Matsubara Y, Tanaka M, Ogata T, Fukami M, Naiki Y. Loss-of-function SOX10 mutation in a patient with Kallmann syndrome, hearing loss, and iris hypopigmentation. *Horm Res Paediatr* 84:212-216, 2015
- 15) Nakano E, Geisz A, Masamune A, Niihori T, Hamada S, Kume K, Kakuta Y, Aoki Y, Matsubara Y, Ebert K, Ludwig M, Braun M, Groneberg DA, Shimosegawa T, Sahin-Tóth M, Witt H. Variants in pancreatic carboxypeptidase genes CPA2 and CPB1 are not associated with chronic pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 309(8):G688-94, 2015
- 16) Aoki Y, Niihori T, Inoue SI, Matsubara Y. Recent advances in RASopathies. *J Hum Genet.* 61(1):33-9, 2016.
- 17) Shima H, Tanaka T, Kamimaki T, Dateki S, Muroya K, Horikawa R, Kanno J, Adachi M, Naiki Y, Tanaka H, Mabe H, Yagasaki H, Kure S, Matsubara Y, Tajima T, Kashimada K, Ishii T, Asakura Y, Fujiwara I, Soneda S, Nagasaki K, Hamajima T, Kanzaki S, Jinno T, Ogata T, Fukami M; Japanese SHOX study group. Systematic molecular analyses of SHOX in Japanese patients with idiopathic short stature and Leri-Weill dyschondrosteosis. *J Hum Genet.* 61(7):585-91, 2016
- 18) Higasa K, Miyake N, Yoshimura J, Okamura K, Niihori T, Saitsu H, Doi K, Shimizu M, Nakabayashi K, Aoki Y, Tsurusaki Y, Morishita S, Kawaguchi T, Migita O, Nakayama K, Nakashima M, Mitsui J, Narahara M, Hayashi K, Funayama R, Yamaguchi D, Ishiura H, Ko WY, Hata K, Nagashima T, Yamada R, Matsubara Y, Umezawa A, Tsuji S, Matsumoto N, Matsuda F. Human genetic variation database, a reference database of genetic variations in the Japanese population. *J Hum Genet.* 61(6):547-53, 2016
- 19) Miyake H, Yamada S, Fujii Y, Sawai H, Arimori N, Yamanouchi Y, Ozasa Y, Kanai M, Sago H, Sekizawa A, Takada F, Masuzaki H, Matsubara Y, Hirahara F, Kugu K. Nationwide survey for current clinical status of amniocentesis and maternal serum marker test in Japan. *J Hum Genet.* 2016 Jun 30. doi: 10.1038/jhg.2016.67. [Epub ahead of print]
- 20)
2. 学会発表
- 1) 松原洋一：希少遺伝性疾患研究の最前線」第22回日本家族性腫瘍学会学術集会。松山市，2016年6月
- 2) 松原洋一：小児科医が知っておきたい希少疾患の基礎知識と最近の話題」第8回日本小児科学会 長野地方会。長野県上田市，2016年6月
- 3) 松原洋一：Rare Disease Research in Japan」第61回日本新生児成育医学会・学術集会。東京都，2016年11
- 4) 松原洋一：新生児におけるゲノム医療 Genomic medicine for newborns」第61回日本新生児成育医学会・学術集会。大阪府，2016年12月

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・仙台市立病院副院長）

研究要旨

治療用特殊ミルクには「市販品」、「医薬品」と特殊ミルク事務局から無償で提供され国庫補助のある「登録品」及び全額企業負担の「登録外品」が存在する。登録品と登録外品を合わせた出荷量は1980年の発足当時と比べると2014年度は5倍以上の28,000kgに増加している。登録品の13%が助成対象外の20歳以上に供給されており、乳業メーカーの全額負担になっている。国庫補助のない登録外品では難治性てんかんに用いるケトンフォーミュラと小児慢性腎疾患に用いる低カリウム・中リンフォーミュラが著増している。患者数の増加に見合った補助金の増額、対象年齢の引き上げ、治療に必要な登録外品の登録品化が必要である。米国では先天代謝異常症の治療に用いられる食品はメディカル・フードとして「稀少疾患用医療食品」の一部として扱われる。将来的には我が国でも、メディカル・フードとして一括して、医師の処方箋で購入できるようにすべきであろう。また、低たんぱく食品に関しては、高額であり患者の経済的負担を軽減する新たな対策が必要である。

研究協力者

青木菊麿（母子愛育会総合母子保健センター 研究開発部長）

横山和紀（母子愛育会総合母子保健センター 特殊ミルク事務局課長代理）

岡野善行（兵庫医科大学遺伝学教室非常勤講師・おかのこどもクリニック）

高橋幸利（静岡てんかん・神経医療センター副院長）

濱崎祐子（東邦大学医学部小児腎臓学講座講師）

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（国立成育医療研究センター政策科学部研究員）

金子哲夫（株式会社明治 食機能科学研究所参与）

大島幸裕（株式会社明治 研究本部小田原工場参与）

庄田卓司（株式会社明治 栄養営業部専任課長）

藤田 孝（雪印メグミルク ミルクサイエンス研究所所長）

内田俊昭（雪印メグミルク 特殊ミルク開発室）

伊賀由則（雪印メグミルク ミルクサイエンス研究所・主幹）

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）

A．研究目的

特殊ミルクには「市販品」、「医薬品」および先天代謝異常症を対象とした国庫補助のある「登録」特殊ミルクと、それ以外を対象とする「登録外」特殊ミルクがある。特殊ミルクの供給状況を明らかにすることを目的として、登録品および登録外品の出荷量の推移に焦点を当て、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策を検討した。

米国における特殊ミルクの供給体制、経済的支援制度を調査し、先天代謝異常症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政策的観点から分析し、政策提言に資する比較

研究を行った。

20 歳以上でも特殊ミルクが必要である理由を明らかにするために、フェニルケトン尿症(PKU)患者を例にとり、特殊ミルクの摂取状況と栄養状態、中でも微量元素とビタミンについて検討した。また、登録外特殊ミルクであるケトンフォーミュラ(817-B)と低カリウム・中リンフォーミュラ(8806)について、それぞれ難治性てんかんと小児慢性腎疾患(CKD)に対する有効性を評価するため、調査研究及び文献的考察を行った。

B. 研究方法

分担研究者の大浦が中心となり、文献調査及び特殊ミルク事務局並びに特殊ミルクの製造・供給に関係する乳業メーカー担当者への聞き取り調査を行い、課題を挙げるとともに、解決策の検討を行なった。米国の特殊ミルクの供給・経済的支援制度、8806 の有効性については文献的考察を行った。(倫理面への配慮) 該当しない。

PKU 患者の栄養調査は文書で同意された 14 人を対象にその食事記録をもとに管理栄養士が栄

養評価を行った。817-B の有効性の検討では、静岡てんかん・神経医療センター倫理委員会に「患者コホート調査」を申請し、許可を得た方法で文書同意を取得した 53 例について調査を行った。

(倫理面への配慮) 本試験のデータは研究責任者が責任をもって管理し、患者のプライバシーの保護を十分に配慮する。

C. 研究結果

1. 治療用特殊ミルクの供給状況

1) 特殊ミルクの年間出荷量の推移

2014 年度の特殊ミルクの出荷量は登録品 20,084kg、登録外品 7,912kg で総計は約 28,000kg であった。事業当初の 1981 年の出荷量はおよそ 5,000kg であり、それと比較すると出荷量は 5 倍以上になり、登録特殊ミルクに限っても 2001 年度から 2014 年度までの間に 2 倍に増加していた [1] (図 1)。

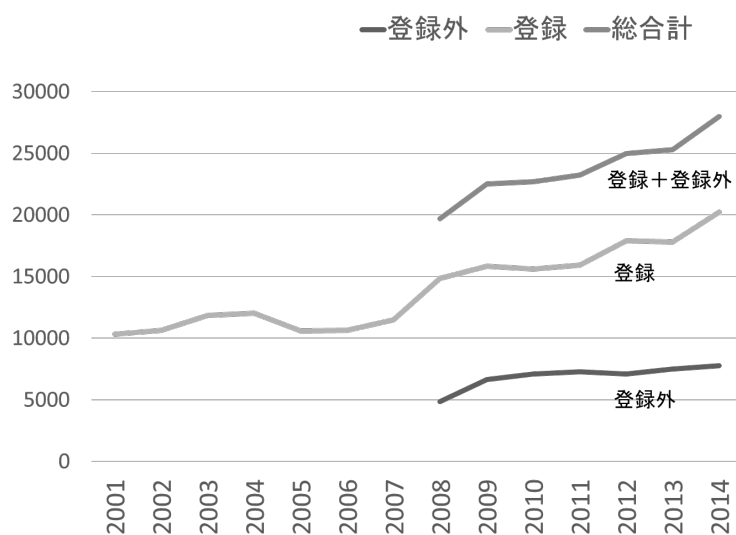


図 1. 登録・登録外特殊ミルクの出荷量(kg)の推移(2001 - 2014)

2) 成人患者の占める割合

PKU の年長者の治療に使用されることが多いフェニルアラニン無添加総合アミノ酸粉末(A-1)および低フェニルアラニンペプチド粉末(MP-11)

の成人への供給量は 2014 年度 50%を超えていた。PKU 以外についてみると、表 1 のように、糖原病患者の 12~13%が 20 歳以上であり、メチオニン除去粉乳(S-26)使用者では 38%が成人である。

現在、登録品全体の約13%が20歳以上に供給されているが、20歳以上の患者は国庫補助の助成

対象外であるため、全額乳業メーカーの負担になっている。

表1. 2014年度における20歳以上の特殊ミルク出荷の割合(%)

品名	出荷量(kg)	全患者数	20歳以上の患者数	%
糖原病用フォーミュラ-昼間用	1570	91	11	12
糖原病用フォーミュラ-夜間用	1961	116	15	13
必須脂肪酸強化MCT 721	3348	210	1	0.5
高アンモニア血症 7925-A	294	15	3	20
ケトンフォーミュラ 817-B	5524	103	4	3.8
フェニルアラニン・チロシン除去粉乳 S-1	228	12	3	25
イソロイシン・バリン・メチオニン・スレオニン・グリシン除去 S-22	2504	102	8	8
たんぱく除去粉乳 S-23	2272	123	12	10
メチオニン除去粉乳 S-26	1460	44	17	38

3)ケトンフォーミュラ(817-B)と低カリウム・中リンフォーミュラ(8806)の出荷量の推移
登録外特殊ミルクの中では817-Bと8806の出荷量が著増している(図2)。治療に不可欠の特

殊ミルクでありながら、登録外品は先天代謝異常症でないため国庫補助の対象とならず、全額乳業メーカーが負担している。

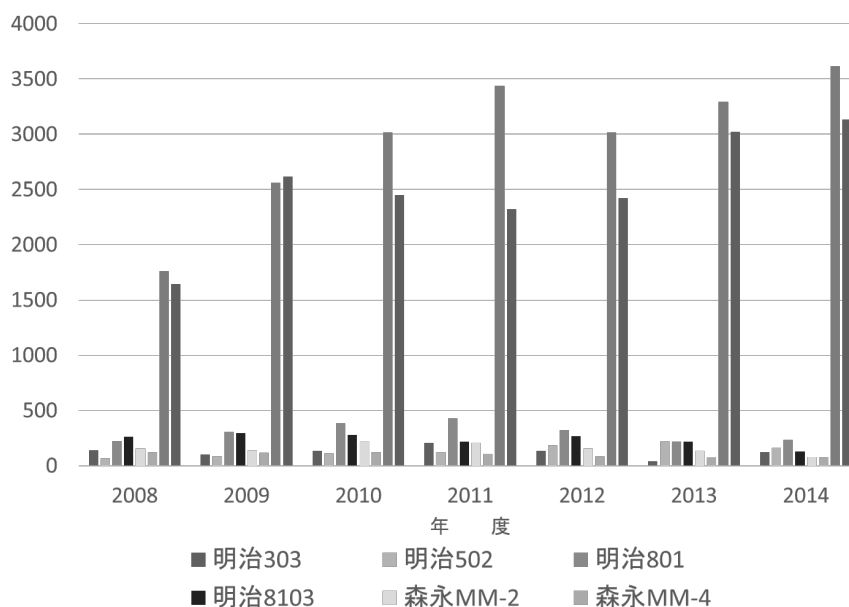


図2. 年度別登録外特殊ミルク出荷量 (kg)

2.米国における特殊ミルクの供給体制と経済的支援制度

食品はメディカル・フードとして「稀少疾患用医療食品」の一部として扱われる。メディカル・フードは、広義には 有害なアミノ酸を除去したた

米国では先天代謝異常症の治療に用いられる

んぱく質(アミノ酸)を含む食品(メディカル・フォーミュラなど)と通常の食品の代替物として用いる低たんぱく食品に大別される(表2)。メディカル・フードは医療保険や償還の対象となるが、その対象疾患、適応範囲は州によって異なっている。フェニルアラニン(Phe)除去ミルクな

どの乳児用治療乳はほとんどの州で給付の対象となっており、医師の処方箋で購入できる。しかし、低たんぱく食品は適応外となっている州も多く存在し、問題となっている。患者の低たんぱく食品に掛かる自己負担を調査すると、48%が自己負担金として月100ドル以上支払っていた[2]

表2. 米国におけるメディカル・フードの種類

① たんぱく代替食品 (medical formulas, protein substitutes, medical protein)

a. 乳児用

- ・有害なアミノ酸を除去したたんぱく質(アミノ酸)を含む食品。多くは成長と発達に必要なすべての栄養素を含有する(PKUに対するフェニルアラニン除去ミルクなど)。

b. 1歳以降～青年期・成人用

i. 有害な栄養成分を除去し、他の必要な栄養成分を含む食品

- ・水、ジュースなどに溶かして用いる粉末製品や粉乳
- ・そのまま飲める液状の製品
- ・棒状の製品(Bar)

ii. 個別の成分からなる食品

- ・有害なアミノ酸を除去したアミノ酸混合末、錠剤、Bar、スポーツ飲料
- ・ビタミン、微量元素製剤
- ・中鎖脂肪酸(液体、粉末)

② 低たんぱく食品 (modified low protein foods)

- ・離乳期以降の乳児から成人まですべての年齢層の先天代謝異常症に用いられる
- ・通常の食品の代替物として用いるたんぱく質含量の少ない食品
- ・小麦粉、シリアルやパン、クッキー、クラッカー、ピザ生地などオーブンで焼いた食品、ピーナッツバター、肉やチーズの代替食品、パスタ、米などがある

3. 20歳以上でも特殊ミルクが必要である理由

PKUの食事療法では、自然たんぱく質の摂取を厳しく制限しながら、エネルギー量および三大栄養素、微量栄養素を健常者とほぼ等しく摂取することが求められている。推奨たんぱく摂取量の80%以上をPhe除去ミルクとA-1/MP-11から得ているPKU患者の栄養評価を行ったところ、推奨量に見合ったエネルギー量とたんぱく質が摂取され、良好な血中Phe値が得られていた。しかしながら、Phe除去ミルクに無添加のセレン、ビオチンの摂取量は推奨量/目安量のそれぞれ25.0と18.1%と著明に少なく、有添加のマグネシウム、亜鉛、ヨウ素、リンにおいても70~80%と摂取不足を認めた。エネルギーの51%、炭水化物の38%、脂質の67%、たんぱく質の82%がPhe除去ミルクとA-1/MP-11由来であった。微量元素、ビタミンでは、自然食品からは推奨量/目安量の50%以下しか摂取できず、その多くをPhe除去ミルクと

MP-11に依存していた。これらの結果よりPhe除去ミルク、A-1/MP-11はたんぱく質を補充すると共に、脂質、微量元素、ビタミンを供給し、小児だけではなく成人PKU患者にも必要不可欠であることが明らかとなった。また、Phe除去ミルクへのセレン、ビオチン、カルニチンの添加とA-1、MP-11の微量元素の組成について再検討が必要であると考えられた[3]。

4. ケトンフォーミュラ(817-B)の難治性てんかんに対する有効性

難治性てんかん患者53例中に817-Bを用いたケトン食療法を行ったところ、6例(11.3%)で発作が抑制された。その6例の内訳はGlut-1異常症(3例)、周産期障害(1例)、染色体異常(1例)、脳形成異常(1例)を病因とする症例であった。ケトン食療法前後で入院日数が 14.5 ± 27 日(/3か月間)減少し(Wilcoxon matched-pairs

signed rank test, $P = 0.0017$) 救急受診が 1.1 ± 2.1 回 (/3 か月間) 減少し ($P = 0.0006$) 救急搬送は 1.1 ± 2.1 回 (/3 か月間) 減少した ($P = 0.0002$)。就園就学日数は 1.2 ± 1.9 日 (/1 週間) 増加した ($P = 0.0195$)。817-B を用いたケトン食療は、難治性てんかん患者の生活の質の向上に寄与することが明らかにされた。

5. 低カリウム・中リンフォーミュラ (8806) の小児慢性腎疾患 (CKD) に対する有効性

8806 は CKD 患者用に我が国で開発されたミルクであり、高ナトリウム ($\text{Na} = 2.7 \text{mEq}/100 \text{ml}$)、低カリウム ($\text{K} = 0.8 \text{mEq}/100 \text{ml}$)、中リン (リン $= 24 \text{mg}/100 \text{ml}$) の組成となっている。国内では小児腹膜透析治療マニュアル、CKD 診療ガイド 2012[4]、エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2013[5]、慢性腎臓病に対する食事療法基準 2014[6]などに 8806 が記載されている。国外ではオーストラリアの CARI CKD ガイドライン[7]で、高ナトリウム腎臓病ミルクの使用が推奨されている。また Parekh らは多尿を呈する乳児 CKD 患者に対して十分な水分量とナトリウム補充ミルク ($\text{Na} 2-4 \text{mEq}/100 \text{ml}$) を与えた結果、身長 SD 値はコントロール群に較べて有意に上昇したと報告している[8]。国外で使用されている CKD 用ミルクの電解質組成は 8806 とほぼ同等であることより、本ミルクの有効性が示された。

D. 考察

登録および登録外特殊ミルクの総出荷量は年々漸増傾向にある (図 1)。タンデムマス・スクリーニングで新たに発見される有機酸・脂肪酸代謝異常症患者の増加により、今後ますます特殊ミルクの需要は高まるであろう。患者数の増加に見合った国庫補助の増額が求められる。

新生児マススクリーニング (NBS) が開始され 39 年が経過した現在、PKU 患者の 44% が成人である。PKU に対する Phe 除去ミルクを用いた食事療は生涯継続することが標準治療となっており、20 歳以降も特殊ミルクは不可欠である。登録品

の供給対象年齢は 20 歳未満となっているが、NBS により早期発見・治療の恩恵を受けた患儿が 20 歳で特殊ミルクの供給が中止されたことが原因で、症状が悪化するような事態があってはならない。20 歳を超えても継続的に登録品が供給出来る仕組みを作る必要がある。

高橋らは自験例の解析で難治性てんかんに対する 817-B の有用性を明らかにしている。また、濱崎らは文献的考察により 8806 は CKD の治療に有用なミルクであると結論付けている。しかし、対象となる疾患が先天代謝異常症でないためメーカー全額負担の登録外品として扱われている。817-B と 8806 の 1 g あたりの製造原価はそれぞれ 18 円と、8 円であり、掛かる費用は 817-B では約 6,500 万円、8806 では約 2,500 万円、合計でおおよそ 9,000 万円と計算される。

2014 年度乳業メーカー 3 社で供給している登録品と登録外品の総量はそれぞれ 20,084kg、7,912kg である。これを特殊ミルクの平均製造単価である 1g を 12 円で計算すると、掛かる費用は登録品、登録外品それぞれ 2 億 4,100 万円、9,500 万円となり、総計では大凡 3 億 3,600 万円となる。これに対して 2014 年度に支出された国からの補助金のうち事務諸費を除いた事業諸費は 1 億円であり、乳業メーカー全体で合わせて年間 2 億円以上負担していると推計される。乳業メーカーはこの事業を社会貢献という立場で協力してきたと思われるが、この状態を放置すれば、いずれ破綻することが憂慮され、抜本的改革が急務であると思われる。

現在の登録特殊ミルクの供給体制は患者家族に負担はなく、医療機関を通して医師の指示の下に患者に供給される良い方法である。対象疾患の増加に見合った予算の増額だけでなく、817-B と 8806 に関しては難治性てんかん、慢性腎疾患という小児希少難病が対象であることに鑑み早急に登録品化すべきである。さらに難病対策として 20 歳以上も国庫補助事業の対象とし、継続的に供給できる仕組みを構築すべきである。その為にも、相応の予算の増額が求められる。

米国では特殊ミルクは医療用食品（メディカル・フード）と位置づけられ、医師の処方箋により入手し、医療保険や償還制度の適応となっている。多くの治療用特殊ミルクは患者にとって有害となる成分が除去されたミルクである。この中には特定の必須アミノ酸が除去されたミルクも多く、誤使用された場合は重大な栄養障害をもたらすことがある。使用に当たっては医師、管理栄養士の指導の下、医薬品として処方箋で供給されるのが望ましい。しかし、医薬品としての品質管理を求めるのではなく、米国のメディカル・フードの様に食品の規格のままで保険収載の医薬品として扱い、医師の処方箋で入手可能な新しい仕組みを構築することが求められている。我が国では乳児用治療乳（特殊ミルク）は医薬品と登録品、登録外品に分割されているが、将来的にはメディカル・フードとして一括して、医師の処方箋で購入できるようにすべきであろう。

低たんぱく食品は高額であり、2009年にPKU親の会連絡協議会で行われた18歳以上の患者に対するアンケート調査によれば、低たんぱく食品に掛かる支出は回答者41名の内、18名（44%）が月10,001～20,000円、7名（17%）が20,001～40,000円、1名が40,001～60,000円であった[9]。患者の経済的負担を軽減する新たな対策が必要である。

E. 結論

先天代謝異常症に対する特殊ミルク供給事業が発足して36年が経過した。この間、医学の進歩に従い登録品対象疾患の拡大、治療継続を必要とする成人患者の増加、小児腎・神経疾患に対する特殊ミルクの開発など特殊ミルク全体の出荷量は年々増加している。乳業メーカーの負担による現在の制度は安定供給上大きな問題であり、国庫補助の増額が望まれる。将来的には特殊ミルクをメディカル・フードと位置づけ、医師の処方箋で入手できる新たな仕組みを構築するのが望ましい。

【参考文献】

- [1] 大浦敏博．治療用特殊ミルクの現状と安定供給上の課題．日本マススクリーニング学会誌 26 卷(3号)93-96 頁、2016 年
- [2] Berry SA et al. Insurance coverage of medical foods for treatment of inherited metabolic disorders. *Genet Med.* 15(12): 978-982, 2013.
- [3] Okano Y, Hattori T, Fujimoto H, et al. Nutritional status of patients with phenylketonuria in Japan. *Mol Genet Metab Rep* 8:103-110, 2016.
- [4] 濱崎祐子．生活指導・食事指導：小児．日本腎臓学会編．CKD 診療ガイド 2012．東京、東京医学社：p57-60, 2012.
- [5] エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2013. 日本腎臓学会編．東京医学社：p187-188, 2013
- [6] 慢性腎臓病に対する食事療法基準 2014. 日本腎臓学会編．東京医学社：p14-23, 2014.
- [7] Pollock C, Voss D, Hodson E et al. The CARL guidelines. Sodium chloride and water intake in children. *Nephrology (Carlton)* 10: S211-S212, 2005.
- [8] Parekh RS, Flynn JT, Smoyer WE et al. Improved Growth in Young Children with Severe Chronic Renal Insufficiency Who Use Specified Nutritional Therapy. *J Am Soc Nephrol* 12: 2418-2426, 2001.
- [9] 大浦敏博．患者の QOL 向上に関する研究．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．タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究．平成 23 年度総括・分担研究報告書（研究代表者 山口清次）：87～89 頁、平成 24（2012）年 3 月．

F . 健康危険情報

特になし

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) 大浦敏博、岡野善行、坂本修：シトリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞症の臨床像・診断と治療・フォローアップの留意点．特殊ミルク情報 51: 6~11, 2015
 - 2) 大浦敏博：シトリン欠損症．小児科診療 79(6): 805-811, 2016
 - 3) 大浦敏博：ホモシスチン尿症．小児内科 48(増刊): 57-63, 2016
 - 4) 大浦敏博：治療用特殊ミルクの現状と安定供給上の課題．日本マススクリーニング学会誌 26(39): 93-96, 2016
 - 5) Okano Y, Hattori T, Fujimoto H, et al.: Nutritional status of patients with phenylketonuria in Japan. Molecular Genetics and Metabolism Reports 8: 103-110, 2016
 - 6) Mori T, Imai K, Oboshi T, et al: Usefulness of ketogenic diet in a girl with migrating partial seizures in infancy. Brain & Development 38(6): 601-604, 2016
- 2 . 学会発表
 - 1) 大浦敏博：先天代謝異常症の栄養療法．第118回日本小児科学会学術集会 分野別シンポジウム 先天代謝異常症の治療の進歩．大阪, 2015年4月
 - 2) 大浦敏博：問題点の整理：誰が特殊ミルクの費用を負担するべきか．第2回治療用ミルク安定供給のためのワークショップ．日本小児連絡協議会治療用ミルク安定供給委員会主催．2015年12月
 - 3) 大浦敏博：アンパンが嫌いなのは訳がある！．我が国で発見された、特異な食癖をもつ遺伝性疾患～シトリン欠損症～．日本先天異常学会教育講演．姫路, 2016年7月
 - 4) 大浦敏博：先天代謝異常症と食事療法について～特殊ミルクの役割～．第43回日本マススクリーニング学会 公開市民講座．札幌, 2016年8月
 - 5) 大浦敏博：特殊ミルクの現状と安定供給上の課題．第38回日本臨床栄養学会総会/第37回日本臨床栄養協会総会（第14回大連合大会）．大阪, 2016年10月
 - 6) 大浦敏博：PKU～生涯にわたっての治療を考える～．第58回日本先天代謝異常学会 スポンサードセミナー．東京, 2016年10月．
 - 7) 大浦敏博：尿素サイクル異常症の診断と治療．第222回日本小児科学会宮城地方会ランチオンセミナー．仙台, 2016年11月

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
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
山口清次	グルタル酸血症 型 マルチプルアシル-CoA 脱水素酵素欠損症)	埜中征哉	骨格筋症候群(第2版)下	日本臨床社	大阪	2015	121-126
山口清次	極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素(VLCAD) 欠損症	埜中征哉	骨格筋症候群(第2版)下	日本臨床社	大阪	2015	89-94
山口清次	ミトコンドリア三頭酵素(TFP)/長鎖 3-ヒドロキシアシル-CoA 脱水素酵素(LCHAD) 欠損症	埜中征哉	骨格筋症候群(第2版)下	日本臨床社	大阪	2015	95-100
山口清次	ミトコンドリア脂肪酸 酸化異常症: 概論	埜中征哉	骨格筋症候群(第2版)下	日本臨床社	大阪	2015	66-73
畑 郁江, 重松 陽介	カルニチン/アシルカルニチントランスロカーゼ欠損症	埜中征哉	骨格筋症候群(第2版)下	日本臨床社	大阪市	2015	87-89
畑 郁江, 重松 陽介	カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼII 欠損症	埜中征哉	骨格筋症候群(第2版)下	日本臨床社	大阪市	2015	83-86
重松 陽介	カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼI 欠損症	埜中征哉	骨格筋症候群(第2版)下	日本臨床社	大阪市	2015	79-82
重松 陽介	全身性カルニチン欠乏症	埜中征哉	骨格筋症候群(第2版)下	日本臨床社	大阪市	2015	75-78
重松陽介	マスキングで陽性となった新生児への対応	水口雅, 市橋光, 崎山弘	今日の小児治療指針第16版	医学書院	東京	2015	229-230
大浦敏博	シトリン欠損症	水口雅, 市橋光, 崎山弘	今日の小児治療指針 第16版	医学書院	東京	2015	210-211

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
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
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
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
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
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
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
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
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
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	
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
大浦敏博、坂本修	シトリン欠損症 (NICCD, CTLN2)	小児科診療	77	519-521	2014
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月8日	2014
Sakai C, Yamaguchi S, Sasaki M, Miyamoto Y, Matsushima Y, Goto Y	ECHS1 mutations cause combined respiratory chain deficiency resulting in Leigh syndrome	Human Mutation	36(2)	232-239	2015
Shimada T, Tomatsu S, Mason RW, Yasuda E, Mackenzie WG, Hossain J, Shibata Y, Montano 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 and IVB	Journal of Inherited Metabolic Disease Reports	21	1~13	2015
Bunai Y, Ishii A, Akaza K, Nagai A, Nishida N, Yamaguchi S	A case of sudden death after Japanese encephalitis vaccination	Legal Medicine	17(4)	279-282	2015
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	Journal of Obstetrics and Gynaecology Research	41(5)	799-802	2015

Takahashi T, Yamada K, Kobayashi H, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S	Metabolic disease in 10 patients with sudden unexpected death in infancy or acute life-threatening events	Pediatrics International	57(3)	348-353	2015
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 and Development	37(7)	698-703	2015
Yamamoto K, Fukuda S, Mushimoto Y, Minami N, Kanai R, Tsukamoto K, Yamaguchi S	Acute myositis associated with concurrent infection of rotavirus and norovirus in a 2-year-old girl	Pediatric Reports	7(3)	51-53	2015
Yamada K, Aiba K, Kitaura Y, Kondo Y, Nomura N, Nakamura Y, Fukushi D, Murayama K, Shimomura Y, Pitt J, Yamaguchi S, Yokochi K, Wakamatsu N	Clinical, biochemical and metabolic characterisation of a mild form of human short-chain enoyl-CoA hydratase deficiency: significance of increased N-acetyl-S-(2-carboxypropyl) cysteine excretion	Journal of Medical Genetics	52(10)	691-698	2015
Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Takahashi T, Hasegawa T, Nakamura M, Ishige N, Yamaguchi S	Elevation of pivaloylcarnitine by sivelestat sodium in two children	Molecular Genetics and Metabolism	116(3)	192-194	2015
Yamada K, Kobayashi K, Bo R, Takahashi T, Purevsuren J, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Ohkubo T, Yokota T, Watanabe M, Tsunemi T, Mizusawa H, Takuma H, Shioya A, Ishii A, Tamaoka A, Shigematsu Y, Sugie H, Yamaguchi S	Clinical, biochemical and molecular investigation of adult-onset glutaric acidemia type II: Characteristics in comparison with pediatric cases	Brain & Development	38(3)	293-301	2016
山本幹枝, 安井建一, 渡辺保裕, 古和久典, 山口清次, 中島健二	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
原口康平, 里龍晴, 伊達木澄人, 時沢亜佐子, 白川利彦, 中富明子, 長谷川有紀, 山田健治, 小林弘典, 山口清次, 森内浩幸	急性期にアシルカルニチン分析で異常を示さなかったグルタル酸血症1型の1例	日本小児科学会雑誌	119(3)	595-599	2015
桑原優, 岡本典子, 城賀本敏宏, 元木崇裕, 中野威史, 林正俊, 山田健治, 小林弘典, 山口清次	スクリーニング後に発症したカルニチンパルミトイルトランスファラーゼ-欠損症	日本小児科学会雑誌	119(6)	1024-1028	2015
花井潤師, 福士勝, 石毛信之, 田崎隆二, 山口清次, 重松陽介	タンデムマス・スクリーニングにおける精度管理の現状と今後の課題-内部精度管理の充実に向けた取組み-	日本マススクリーニング学会誌	25(1)	57-66	2015
山口清次	タンデムマス法の導入にともなう新生児マススクリーニングの新しい体制	小児保健研究	74(6)	768-773	2015

Hitomi T, Matsuura N, Shigematsu Y, Okano Y, Shinozaki E, Kawai M, Kobayashi H, Harada KH, Koizumi A	Importance of molecular diagnosis in the accurate diagnosis of systemic carnitine deficiency	J Genet.	94(1)	147-150	2015
Yamamoto H, Tachibana D, Tajima G, Shigematsu Y, Hamasaki T, Tanaka A, Koyama M	Successful management of pregnancy with very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency	J Obstet Gynaecol Res.	Epub ahead of print	2015	
林泰平, 岩井和之, 津田英夫, 重松陽介	母親の慢性萎縮性胃炎が原因となったビタミンB12欠乏症の乳児例	日本小児科学会雑誌	119(3)	589-594	2015
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	日本マス・スクリーニング学会誌	25(1)	67-73	2015
但馬剛, 津村 弥来, 香川 礼子, 岡田 賢, 原 圭一, 松本裕子, 栢田 紗季, 森岡 千代美, 吉井 千代子, 佐倉 伸夫, 畑 郁江, 重松 陽介	タンデムマス新生児スクリーニングin広島-自治体事業化後の現状	日本マス・スクリーニング学会誌	25(1)	75-82	2015
Katoh-Fukui Y, Igarashi M, Nagasaki K, Horikawa R, Nagai T, Tsuchiya T, Suzuki E, Miyado M, Hata K, Nakabayashi K, Hayashi K, Matsubara Y, Baba T, Morohashi K, Igarashi A, Ogata T, Takada S, Fukami M	Testicular dysgenesis/regression without campomelic dysplasia in patients carrying missense mutations and upstream deletion of SOX9	Mol Genet Genomic Med	3(6)	550-557	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 Mabry syndrome.	Am J Med Genet A	167A(4)	777-785	2015
Moriya M, Inoue SI, Miyagawa-Tomita S, Nakashima Y, Oba D, Niihori T, Hashi M, Ohnishi H, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y	Adult mice expressing a Braf Q241R mutation on an ICR/CD-1 background exhibit a cardio-facio-cutaneous syndrome phenotype.	Hum Mol Genet	24(25)	7349-7360	2015
Niihori T, Ouchi-Uchiyama M, Sasahara Y, Kaneko T, Hashii Y, Irie M, Sato A, Saito-Nanjo Y, Funayama R, Nagashima T, Inoue S, Nakayama K, Ozono K, Kure S, Matsubara Y, Imaizumi M, Aoki Y	Mutations in <i>MECOM</i> , encoding oncoprotein <i>EVI1</i> , cause radioulnar synostosis with amegakaryocytic thrombocytopenia.	Am J Hum Genet	97(6)	848-854	2015
Komatsuzaki S, Ogawa E, Shimozawa N, Sakamoto O, Haginoya K, Uematsu M, Hasegawa Y, Matsubara Y, Ohura T	First Japanese case of Zellweger syndrome with a mutation in <i>PEX14</i> .	Pediatr Int	57(6)	1189-1192	2015

Nishi E, Mizuno S, Nanjo Y, Niihori T, Fukushima Y, <u>Matsubara Y</u> , Aoki Y, Kosho T	A novel heterozygous MAP2K1 mutation in a patient with Noonan syndrome with multiple lentigines	Am J Med Genet A	167A(2)	407-11	2015
Nakano E, Masamune A, Niihori T, Kume K, Hamada S, Aoki Y, <u>Matsubara Y</u> , Shimosegawa T	Targeted next-generation sequencing effectively analyzed the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in pancreatitis	Dig Dis Sci	60(5)	1297-307	2015
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, <u>Matsubara Y</u> , 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	30(3)	499-506	2015
Suzuki E, Izumi Y, Chiba Y, Horikawa R, <u>Matsubara Y</u> , Tanaka M, Ogata T, Fukami M, Naiki Y	Loss-of-function SOX10 mutation in a patient with Kallmann syndrome, hearing loss, and iris hypopigmentation	Horm Res Paediatr	84	212-216	2015
Nakano E, Geisz A, Masamune A, Niihori T, Hamada S, Kume K, Kakuta Y, Aoki Y, <u>Matsubara Y</u> , et al.	Variants in pancreatic carboxypeptidase genes CPA2 and CPB1 are not associated with chronic pancreatitis.	Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol	309(8)	G688-94	2015
Bo R, Hasegawa Y, Kobayashi H, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S	A fetus with mitochondrial trifunctional protein deficiency: Elevation of 3-OH-acylcarnitines in amniotic fluid functionally assured the genetic diagnosis	Molecular Genetics and Metabolism Reports	6	1~4	2016
Yaoita M, Niihori T, Mizuno S, Okamoto N, Hayashi S, Watanabe A, Yokozawa M, Suzumura H, Nakahara A, Nakano Y, Hokosaki T, Ohmori A, Sawada H, Migita O, Mima A, Lapunzina P, Santos-Simarro F, García-Miñaur S, Ogata T, Kawame H, Kurosawa K, Ohashi H, Inoue S, <u>Matsubara Y</u> , Kure S, Aoki Y	Spectrum of mutations and genotype-phenotype analysis in Noonan syndrome patients with RIT1 mutations.	Hum Genet.	135(2)	209-222	2016
Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Takahashi T, Purevsuren J, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Ohkubo T, Yokota T, Watanabe M, Tsunemi T, Mizusawa H, Takuma H, Shioya A, Ishii A, Tamaoka A, Shigematsu Y, Sugie H, Yamaguchi S	Clinical, biochemical and molecular investigation of adult-onset glutaric acidemia type II: Characteristics in comparison with pediatric cases	Brain & Development	38(3)	293-301	2016

Takahashi T, Hasegawa Y, Yamada K, Bo R, Kobayashi H, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S	Metabolic survey of hidden inherited metabolic diseases in children with apparent life-threatening event (ALTE) or sudden unexpected death in infancy (SUDI) by analyses of organic acids and acylcarnitines using mass spectrometries	Shimane Journal of Medical Science	32(2)	61-68	2016
Yamamoto F, Nakamagoe K, Yamada K, Ishii A, Furuta J, Yamaguchi S	A case of very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency with novel compound heterozygous mutations	Journal of the Neurological Sciences	368(15)	165-167	2016
Purevsuren J, Bolorma B, Narantsetseg C, Batsolongo R, Enkhchimeg O, Bayalag M, Hasegawa Y, Shintaku H, Yamaguchi S	The first Mongolian cases of phenylketonuria in selective screening of inborn errors of metabolism	Molecular Genetics and Metabolism Reports	9	71-74	2016
Yamada K, Kobayashi H, Bo R, Purevsuren J, Mushimoto Y, Takahashi T, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S	Efficacy of bezafibrate on fibroblasts of glutaric acidemia type II patients evaluated using an in vitro probe acylcarnitine assay	Brain & Development	39(1)	48-57	2017
山口清次	．テクノロジーの進歩 タンデムマス・スクリーニング	小児科診療	79(6)	745-752	2016
山口清次	周産期領域の新しい検査法 新生児編 タンデムマス	周産期医学	46(6)	800-801	2016
Hara K, Tajima G, Okada S, et al.	Significance of ACADM mutations identified from newborn screening of MCAD deficiency in Japan	Mol Genet Metab	118 (1)	9-14	2016
Tajima G, Hara K, Tsumura M, et al.	Screening of MCAD deficiency in Japan: 16 years' experience of enzymatic and genetic evaluation	Mol Genet Metab	119 (4)	322-328	2016
但馬剛	メチルマロン酸血症	小児内科	48 (増刊)	109-113	2016
但馬剛,原圭一,津村弥来,香川礼子,岡田賢,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	CPT-2欠損症の新生児スクリーニング：偽陰性発症例の経験と新たな指標による診断体制の構築	特殊ミルク情報	52	16-22	2016
重松陽介	質量分析法による新生児マススクリーニングの実相	J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.	64	1-5	2016
Tajima G, Hara K, Tsumura M, et al.	Screening of MCAD deficiency in Japan: 16years' experience of enzymatic and genetic evaluation.	Mol Genet Metab	119	322-328	2016
Deswal S, Bijarnia-Mahay S, Manocha V, et al.	Primary carnitine deficiency - A rare treatable cause of cardiomyopathy and massive hepatomegaly.	Indian J Pediatr	53	914-916	2016

Akagawa S, Fukao T, Akagawa Y, et al.	Japanese male siblings with 2-methyl-3-hydroxybutyryl-Co A dehydrogenase deficiency (HSD10 Disease) without neurological regression.	JIMD Rep	Epub		2016
Hara K, Tajima G, Okada S, Tsumura M, Kagawa R, Shirao K, Ohno Y, Yasunaga S, Ohtsubo M, Hata I, Sakura N, Shigematsu Y, Takihara Y, Kobayashi M	Significance of <i>ACADM</i> mutations identified from newborn screening of MCAD deficiency in Japan	Mol Genet Metab	118 (1)	9~14	2016
Gupta D, Bijarnia-Mahay S, Kohli S, Saxena R, Dua Puri R, Shigematsu Y, Yamaguchi S, Sakamoto O, Gupta N, Kabra M, Thakur S, Deb R, Verma I-C	Seventeen Novel Mutations in PCCA and PCCB Genes in Indian Propionic Acidemia Patients, and Their Outcomes	Genetic Testing and Molecular Biomarkers	20 (7)	373-382	2016
Aoki Y, Niihori T, Inoue SI, Matsubara Y	Recent advances in RASopathies.	J Hum Genet	61(1)	Sep-33	2016
Shima H, Tanaka T, Kamimaki T, Dateki S, Muroya K, Horikawa R, Kanno J, Adachi M, Naiki Y, Tanaka H, Mabe H, Yagasaki H, Kure S, Matsubara Y, et al.	Japanese SHOX study group. Systematic molecular analyses of SHOX in Japanese patients with idiopathic short stature and Leri-Weill dyschondrosteosis	J Hum Genet	61(7)	585-91	2016
Higasa K, Miyake N, Yoshimura J, Okamura K, Niihori T, Saito H, Doi K, Shimizu M, Nakabayashi K, Aoki Y, Tsurusaki Y, Morishita S, Kawaguchi T, Migita O, Nakayama K, Nakashima M, Mitsui J, Narahara M, Hayashi K, Funayama R, Yamaguchi D, Ishiura H, Ko WY, Hata K, Nagashima T, Yamada R, Matsubara Y, et al.	Human genetic variation database, a reference database of genetic variations in the Japanese population.	J Hum Genet	61(6)	547-53	2016
Miyake H, Yamada S, Fujii Y, Sawai H, Arimori N, Yamanouchi Y, Ozasa Y, Kanai M, Sago H, Sekizawa A, Takada F, Masuzaki H, Matsubara Y, Hirahara F, Kugu K	Nationwide survey for current clinical status of amniocentesis and maternal serum marker test in Japan	J Hum Genet	[Epub ahead of print]		2016
大浦敏博, 岡野善行, 坂本修	シトリン欠損による新生児肝内胆汁うっ滞症の臨床像・診断と治療・フォローアップの留意点	特殊ミルク情報	51	6~11	2015
大浦敏博	シトリン欠損症	小児科診療	79 (6)	805-811	2016
大浦敏博	ホモシスチン尿症	小児内科	48 (増刊)	57-63	2016
大浦敏博	治療用特殊ミルクの現状と安定供給上の課題	日本マススクリーニング学会誌	26(3)	93-96	2016

Okano Y, Hattori T, Fujimoto H, et al.	Nutritional status of patients with phenylketonuria in Japan	Molecular Genetics and Metabolism Reports	8	103-110	2016
Mori T, Imai K, Oboshi T, et al	Usefulness of ketogenic diet in a girl with migrating partial seizures in infancy	Brain & Development	38(6)	601-604	2016