

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

分担研究課題名 アミノ酸代謝異常症に関する研究：ホモシスチン尿症 1 型の新たな
新生児マススクリーニング指標

分担研究者： 長尾 雅悦 （国立病院機構北海道医療センター・小児遺伝代謝センター・院長）

研究要旨 わが国のホモシスチン尿症 (HCU) 1 型の新生児マススクリーニング (NBS) は 1977 年から開始され、2021 年に指定難病となった。本症の頻度は約 80 万～100 万人に 1 人と極めて稀な疾患であり、NBS ではメチオニン (Met) の上昇を指標としているがその感度の低いことが諸外国で指摘されている。米国の Region 4 Stork Project 等を参考に、1 次検査として Met とフェニルアラニン (Phe) の比、および 2 次検査として総ホモシステイン (tHcy) 測定による HCU 1 型のスクリーニング法を検討した。対象として NBS 検査結果 (73, 377 検体) を用い、精査例とその診断結果および対照新生児集団の Met, Met/Phe 比, tHcy の測定値分布から至適なカットオフ値を推定した。1 次検査で Met/Phe 比の併用により Met のカットオフ値を低下させても特異度を下げることなく、2 次検査対象 (tHcy を測定) を抽出することができた。Met 上昇を示す他の疾患や病態の鑑別にも Met/Phe は有用であった。tHcy 測定はコストと労力の問題があるが、2 次検査として効率的に利用し HCU 見逃し例の解消に繋がるプログラムの開発が可能である。

研究協力者氏名： 田中 藤樹
所属機関名及び所属機関における職名：
国立病院機構北海道医療センター小児科・臨床
研究部 医長

A. 研究目的

HCU 1 型の頻度は国によって大きく異なり、米国で 1/335,000 であるが¹⁾、カタールでは founder effect による高頻度変異 (R336C) が存在し 1/1,800 と高い²⁾。我が国の頻度は約 80 万～100 万人に 1 人と極めて稀な疾患である³⁾。一方で NBS をすり抜けて発症後診断される症例や、マルファン様症候群として経過観察されていた症例も存在する⁴⁾。そのため Met 上昇を指標とするスクリーニング自体の感度やその他の疾患との鑑別が問題である。2021 年に指定難病となり生涯に渡る治療継続の道が開かれたが、早期発見治療が最も予後に影響する。新たなスクリーニング指標の導入による解決策について検討した。

B. 研究方法

米国の Region 4 Stork Project⁵⁾ 等を参考に、Met/Phe 比および tHcy 測定の追加による HCU スクリーニング法を検討した。研究対象として札幌市の 5 年間 (2016～2020 年度) の NBS 検査結果 (73, 377 検体) を用い、Met 高値による精査例のアミノグラム (タンデムマス) とその診断結果および対照新生児集団の Met, Met/Phe 比, tHcy の測定値分布から HCU に至適なカットオフ値を推定した。

(倫理面への配慮) NBS 対象疾患とその関連疾患の遺伝学的調査研究は、国立病院機構北海道医療センターの倫理委員会の承認を受けている (平成 25 年 2 月 25 日、受付番号 25-2-1)。

C. 研究結果

1) HCU 1 型の NBS におけるカットオフ値 全国の各検査施設の Met のカットオフ値は施設ごとの違いがあり、2021 年度タンデム

マス検査精度管理システムの調査によると、 $80\ \mu\text{M}$ が18施設、 $70\ \mu\text{M}$ が13施設、 $65\ \mu\text{M}$ が5施設、 $60\ \mu\text{M}$ が5施設、 $50\ \mu\text{M}$ が3施設であった。今回の研究対象とした札幌市では全国で最も低いカットオフ値 ($50\ \mu\text{M}$) を用いているが、測定値分布は他施設と同様であった。

2) 諸外国のNBS改善の試み

Met単独指標での感度の問題を解決するために、2段階検査法 (Two-tier strategy for HCU newborn screening) が提案された⁶⁾。従来のMetに加え、Met/Phe比も追加して一次検査を行い、陽性者について2次検査の総ホモシステイン (tHcy) 測定するものである。Metのカットオフ値の低下により感度は上昇するが特異度が低下する。しかしMet/Phe比を追加し偽陽性を減らすことができる。Pheはホモシチン尿症に関連するMet代謝系の影響を受けないことが、Met/Phe比をスクリーニング指標とする根拠である。栄養状態により全体的な低アミノ酸あるいは高アミノ酸であってもPheで補正してMetの上昇を評価できる。またMetとMet/Phe比の分布パターンは極めて類似していた。

Region 4 Stork (R4S) project⁵⁾では、推奨する4つの指標として、1) Met、2) Met/Phe、3) tHcy、4) Low Met/tHcyを提案している。2nd tier markerとして、tHcy、Met/tHcyを使用するなら1次検査のMetのカットオフ値を下げても特異度を上昇させることが可能となる⁷⁾。本症の本質的異常はtHcyの上昇であり、Metは2次的上昇を捉えているに過ぎない。そこで1次検査でMetの現行カットオフ値を下げた上でMet/Phe比を併用し、2次検査でtHcyを測定する方法が適切と考えられた。

3) HCUスクリーニングにおけるMet、Met/Phe、Pheのヒストグラム、Met/Phe比の検証

札幌市ではMetのカットオフ値を $50\ \mu\text{mol/L}$ ($+5.91\text{SD}$) とし国内で最も低いカットオフ値であるが、再採血率、精査率とも適当な範囲であった (2017~2021年の5年間の再採血数は14、精査数5、患者数0)。この5年間 (73377検体) の測定結果から、M

et、Met/Phe、Pheのヒストグラムを検討した。MetとMet/Pheの分布パターンは類似した形を示した。 $+5\sim6\text{SD}$ に相当する値をカットオフに想定すると、Met/Pheは1.0~1.1となった。

次に2つの指標によるカットオフ値の設定を行った。Metを $40\ \mu\text{M}$ ($+3.95\text{SD}$) に下げて高メチオニンの症例を広く拾い上げ、同時にMet/Pheにより特異性が高い高メチオニンを抽出する方針とし、2つの指標のカットオフ値の組み合わせの検討を行った。Metのカットオフ値を $40\ \mu\text{M/L}$ とした場合、Met/Phe >0.75 とすると陽性率0.06となり、1年間当たりの2次検査件数は10件未満と推定された。Met $40\ \mu\text{M}$ のみをカットオフ値とした時の約半分となった。

4) 2次検査でろ紙血を用いたtHcy測定

血中のホモシステインの測定法にはHPLC、ELIA、タンデムマス等がある。NBSの2次検査としてのろ紙血を用いたtHcy測定はLC-MS/MSが適当である⁸⁾。これまで実施していたHPLC法とも良い相関が得られている。対照新生児200検体で測定したところ、平均 $3.43\ \mu\text{mol/L}$ 、SD: 0.9、range: 1.81~7.06となった。2次検査でtHcyを測定する際は、暫定のカットオフ値を $9.0\ \mu\text{mol/L}$ ($+6\text{SD}$ 以上) としている。

D. 考察

NBSにおける新指標の導入やカットオフ値の変更にはその有効性や効率性も含めて慎重に検討する必要がある。上記の結果をもとに、HCU1型の見逃しをなくすことを主眼に、Metのカットオフ値を $40\ \mu\text{M}$ まで下げた場合のプログラムを検討した (図1)。1次検査にMet/Phe比 >0.75 も加えた判定とすると陽性率0.06%と予想され、札幌市の年間検体数では再採血が年2~3件となり、新たな検査負荷として可能な範囲である。また2次検査でtHcyを測定するのでHCU1型疑い例を確実に選択できる。

タンデムマスによるtHcy測定はHCU II型およびIII型疑い検体に対する二次検査として運用可能である。この測定系の堅牢性向上、妥当性検証のためには、多数の検体を検査によるデータ集積が必要である。

Met高値検体（I型疑い）とMet低値検体（II型・III型疑い）を収集し、tHcy測定結果の分布を把握しておくことが重要である。

E. 結論

Metのみを指標としたHCU1型のスクリーニングでは見逃し例があり、マルファン症候群と誤診されて早期の治療介入ができず臨床的に不可逆的な症状に至っている。Met, Met/PheとtHcyを用いる2段階検査法によるスクリーニング法の改善が早急に必要である。

(参考論文)

- 1) Mudd S, Levy H, Skovby F: In: Scriver CR, Beaudet A, Sly WS, Valle D (eds) The metabolic bases of inherited disease, 7th edn. McGraw-Hill, New York, pp 1279-1327.
- 2) Zschocke J, Kebbewar M, Gan-Schreier H. et al: Molecular neonatal screening for homocystinuria in the Qatari population. Human Mutat 30: 1021-1022, 2009.
- 3) Aoki K: Newborn screening in Japan. Southeast Asian J Trop Med Public Health 34: 80, 2003.
- 4) 田中藤樹、長尾雅悦: ホモシスチン尿症1型の新生児マススクリーニングすり抜け例. 日本マススクリーニング学会誌 32(2): 89, 2022.
- 5) Region 4 Stork (R4S) Collaborative Project: <https://news.mayocliniclabs.com/2021/06/24/the-region-4-stork-r4s-collaborative-project/>
- 6) Okun JG, Gan-Schreier H, Ben-Omran T, et al: Newborn screening for vitamin B6 non-responsive 縲 縲classical homocystinuria: systematical evaluation of a two-tier strategy. JIMD Reports DOI 10.1007/8904 2016 556
- 7) Huemer M, Kozich V, Rinaldo P, et al: Newborn screening for homocystinuria

and methylation disorders: systematic review and proposed guidelines. J Inher Metab Dis 38: 1007-1019, 2015.

- 8) 吉永美和、石川貴雄、手塚美智子、野町祥介、細海伸仁、矢野公一: LC-MS/MSによるろ紙血及び尿中総ホモシステインの測定. 札幌市衛生研究所年報 47: 39-47, 2020.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 長尾雅悦 ホモシスチン尿症 新薬と臨床 2022 71:746-749
- 2) 長尾雅悦、田中藤樹 ホモシスチン尿症1型と新生児マススクリーニング 日本マススクリーニング学会誌 2022 32:260-269
- 3) 三浦真之、花井潤師、田中稔泰、田中藤樹、小杉山清隆、棚橋祐展、長尾雅悦 北海道における異なる検査法を用いたライソゾーム病スクリーニングの検査実績とカットオフ値の検討 日本マススクリーニング学会誌 2022 32:298-307
- 4) 田中藤樹、吉永美和、石川貴雄、和田光祐、野町祥介、細海伸仁、長尾雅悦 Galactose mutarotase (GALM) 欠損症の姉弟例 日本マススクリーニング学会誌 2022 32:47-51

2. 学会発表

- 1) 長尾雅悦 ホモシスチン尿症からわかるメチオニン代謝の多面性 第63回日本先天代謝異常学会 2022. 11. 24-26. 熊本
- 2) 長尾雅悦 希少疾患における移行期医療の現状と問題点 日本小児科学会北海道地方会第314回例会 2022. 6. 12 旭川(Web)
- 3) 長尾雅悦 希少疾患・難病の早期診断 「新生児マススクリーニングと未診断疾患イニシアチブ(IRUD)の役割」北海道難病診療連携拠点病院事業「RDD2022 in 北海道」2022. 2. 22 札幌 (Web)
- 4) 長尾雅悦、田中藤樹、石川貴雄、吉永美和、和田光祐野町祥介、三上 篤、山口 亮 ホモシスチン尿症1型のスクリーニング指標の見直し 2022. 8. 26-27. 第49回日本マススクリーニング学会 大阪
- 5) 長尾雅悦、田中藤樹、石川貴雄、吉永美和、和田光祐野町祥介、三上 篤、山口 亮

2段階検査法によるホモシスチン尿症3病型の
新生児マススクリーニングの検討
2022. 11. 24-26 第63回日本先天代謝異常学
会 熊本

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図1 2段階検査法によるHCU1型のクリーニング

