

分担研究課題名：各地域のスクリーニングに関する実態調査：北海道

研究分担者：田中 藤樹（国立病院機構北海道医療センター

小児科/小児遺伝代謝センター/臨床研究部・医長）

研究要旨

北海道では、新生児に対し2020年11月から有料（任意）でライソゾーム病5疾患および原発性免疫不全症の拡大新生児スクリーニング検査を開始し、2021年9月からは札幌市の出生児も対象とした。ライソゾーム病検査では、一次検査と確認検査では4-Methylumbelliferonを用いる蛍光定量法（以下4-MU法）、二次検査ではタンデムマス質量分析計を用いる方法（以下MS/MS法）により濾紙血中のそれぞれの責任酵素活性を測定した。2020年度～22年度に38981名が受検し、その結果、初回再検査46例、要精査30例となり、要精査例中Fabry病3例、ムコ多糖症2型2例の計5例が患者と診断された。Pompe病においてカットオフ値を低減する必要性があること、ムコ多糖症II型においては測定感度からMS/MS法がより適していることが明らかになった。

研究協力者

長尾 雅悦（国立病院機構北海道医療センター・院長）

送付されたNBSの濾紙血を、札幌市で出生した新生児については追加検査専用の濾紙血をそれぞれ用いた。

A. 研究目的

北海道では、2020年11月から有料で、札幌市を除く道内の産科医療機関で出生した新生児を対象に、原発性免疫不全症およびFabry病、Pompe病、Gaucher病、ムコ多糖症1型・2型（以下MPS1、MPS2）の5疾患のLSDの任意検査（追加検査）を開始した。実施主体は一般社団法人北海道希少疾病早期診断ネットワークである。2021年9月からは札幌市内の産科医療機関で出生した新生児も検査対象とした。2020年度～22年度におけるLSDスクリーニング検査（一次検査と確認検査に4-MU法、二次検査にMS/MS法を用いた）実績を報告するとともに、両検査法における疾患ごとの酵素活性の正常値の分布やカットオフ値について検討した。

方法：

一次検査と確認検査ではエンザプレートLSD（札幌イムノ・ダイアグノスティック・ラボラトリー）を用い、蛍光マイクロプレートリーダーSH-9500Lab（コロナ電気）による4-MU法を実施した。二次検査ではNeoLSD MSMS KitおよびI2S 1-Plex（ともにPerkinElmer）を用いて、タンデムマス質量分析計API3200（SCIEX）によるMS/MS法を実施した。

（倫理面への配慮）

LSD、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（研究整理番号25-2-1及び2020-1-3）。

B. 研究方法

対象：

追加検査は、NBS時に保護者から書面による検査希望の同意が得られた児を対象とした。検体は、札幌市以外で出生した新生児については、

C. 研究結果

LSD/ALD新生児スクリーニングのワーキンググループによる拡大新生児スクリーニングの実施状況に関する調査における各項目の結果は以下ようになった。

- 1) LSD のスクリーニングを実施している (ALD は未実施)。
- 2) 現行のNBS 検査実施施設は札幌市内の出生児は札幌市衛生研究所、札幌市以外は北海道薬剤師会公衆衛生検査センターである。
- 3) LSD 新生児スクリーニングは一括して北海道薬剤師会公衆衛生検査センターである。
- 4) LSD 新生児スクリーニングの実施主体は一般社団法人北海道希少疾病早期診断ネットワークである。
- 5) LSD 新生児スクリーニングに対する公費補助はなく、受検者の負担となっている。
- 6) 現行の新生児スクリーニング・LSD/ALD 拡大新生児スクリーニングでの検査陽性例の精査・診療などに携わっている医療機関は、①北海道医療センター小児科、②北海道大学病院小児科、③手稲溪仁会病院小児科、④旭川医科大学病院小児科、⑤その他、札幌市内、北海道内の中核医療機関である。
- 7) 6)に記載した①～⑤の医療機関は全て下記の役割を担っている。
 - (1) 現行の新生児スクリーニング陽性例の精密検査を行う
 - (2) 現行の新生児スクリーニング後に罹患者と確定した症例の診療を行う
 - (3) 現行の新生児スクリーニング陽性例に対する遺伝カウンセリングを行う
 - (4) LSD/ALD 新生児スクリーニング陽性例の精密検査を行う
 - (5) LSD/ALD 新生児スクリーニング後に罹患者と確定した症例の診療を行う
 - (6) LSD/ALD 新生児スクリーニング陽性例に対する遺伝カウンセリングを行う。
- 8) LSD スクリーニングの実施項目は、ポンペ病・ムコ多糖症 I 型・II 型(男・女)・ゴーシェ病、ファブリー病(男・女)の 5 疾患である。
- 9) LSD 新生児スクリーニング検査に用いる濾紙血は、道内は現行の新生児スクリーニングに用いる濾紙血と同じ検体を使用しているが、札幌市内は新たな検体を採取している。
- 10) LSD スクリーニングの検査法は、1 次検査では蛍光合成基質酵素活性測定法(4MU)、2 次検査ではタンデムマス法(LC-MS/MS・MS/MS)の併用としている。
- 11) 各検査項目のカットオフ値とその変更の経過は表 1 に示した。
- 12) 判定基準(カットオフ値)はキットメーカー推奨の値を採用し、その後、陽性率、他施設の値などをもとに変更した。
- 13) LSD 拡大新生児スクリーニング(ポンペ病、ゴーシェ病、ムコ多糖症 I 型・II 型、ファブリー病)を開始した時期は、道内では 2020 年 11 月より、札幌市では 2021 年 9 月である。ALD、ムコ多糖症 IVA 型・VI 型・VII 型は未実施である。
- 14) LSD スクリーニングを実施した 5 疾患の A. 拡大スクリーニング受験者数、B. 初回採血で再検査となった症例数、C. 再検査などを経て精密検査になった症例数、D. 精査にて診断に至った症例数、E. 精査にて偽陽性と診断された症例数は年度ごとに表 2 に示した。

D. 考察

各疾患の4-MU法のカットオフ値は、キットメーカー推奨の値に基づいて設定したが、陽性率を考慮すると、Pompe病のカットオフ値は低減する必要があると考えられた。Pompe病ではpseudodeficiencyが約3～4%存在するといわれている。不要な精密検査や治療を減らすために、pseudodeficiencyと、患者、保因者、保因者疑いの児を含む陽性者群との区別が必要であるが、現状の検査法では困難な場合が多い。Fabry病では初回検査の結果で3名の患者の診断に結びついたが、pseudodeficiencyや酵素活性の低い女児を明確に区別することが求められる。MPS 2 型では酵素活性の低い検体では、4-MU法の測定感度は十分でなく、二次検査としてMS/MS法を用いることの必要性が示された。MPS 1 型では、正常群のMS/MS法での測定値が4-MU法に対し低値を示す傾向が認められたが、比較的良好的な相関が認められ、1名の精査例と正常群は、良好に分離できることが確認された。Gaucher病では一次検査のカットオフ値を下回る児が存在しなかった。他地域の発症率をも見極めながら本症の検査継続性について考慮する必要がある。

E. 結論

LSDの拡大新生児スクリーニング検査の結果、各疾患の酵素活性測定値の分布や4-MU法とMS/MS法でのカットオフ値の特徴が明らか

となった。Pompe病では陽性率が高く、pseudodeficiency と陽性者群との区別が現状の検査法では難しい。今後もデータを集積し、疾患ごとの検査法の選択やカットオフ値の設定の検討が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 長尾雅悦, 田中藤樹. シスチン尿症. 日本先天代謝異常学会(編) 新生児マススクリーニング対象疾患等診療ガイドライン 2019 (Part2) 2019 年版未収載疾患編. 診断と治療社, 東京, p8-20, 2023.
- 2) 長尾雅悦, 田中藤樹. ホモシスチン尿症スクリーニングの新たな展開. 日本マススクリーニング学会誌 2023;33:31-40.
- 3) 田中藤樹, 長尾雅悦, 小杉山清隆. 新たに追加された「ライソゾーム病+原発性免疫不全+脊髄性筋萎縮症」新生児マススクリーニング. 札幌市医師会医学会誌 2023.
- 4) Jun Kido, Johannes Häberle, Toju Tanaka, Masayoshi Nagao, Yoichi Wada, Chikahiko Numakura, Ryosuke Bo, Hiromi Nyuzuki, Sumito Dateki, Shinsuke Maruyama, Kei Murayama, Shinichiro Yoshida, Kimitoshi Nakamura. Improved sensitivity and specificity for citrin deficiency using selected amino acids and acylcarnitines in the newborn screening. J Inherit Metab Dis, 2023 Sep 8. DOI: 10.1002/jimd.12673.

2. 学会発表

- 1) 田中藤樹. 北海道の新生児マススクリーニングの現状. 北海道ライソゾーム病セミナー2023, 札幌市, 2023. 2. 4. (Hybrid)
- 2) 田中藤樹. 新たな追加マススクリーニング: 北海道での取り組み. 北海道代謝性疾患 Webinar, 札幌市, 2023. 2. 17. (WEB)
- 3) 田中藤樹. 新たに北海道で開始した PID・LSD・SMA 新生児マススクリーニング. 北海道新生児スクリーニング懇話会, 札幌市, 2023. 4. 25. (WEB)
- 4) 田中藤樹. 新たな追加新生児マススクリーニング: 北海道での取り組み. 岡山代

謝性疾患 Webinar, 岡山市, 2023. 6. 30. (WEB)

- 5) 田中藤樹. ライソゾーム病の新生児マススクリーニング. 第3回東北・北海道ライソゾーム病ネットワークセミナー, 札幌市, 2023. 9. 15. (Hybrid)
- 6) 田中藤樹. 北海道における追加新生児マススクリーニングでのファブリー病の発見. Fabry disease Web seminar, 札幌市, 2023. 10. 23. (WEB)
- 7) 田中藤樹. 北海道での拡大新生児マススクリーニングの取り組み. 拡大新生児マススクリーニングライブ配信講演会 Expert Collaboration, 札幌市, 2023. 11. 30. (WEB)
- 8) 長尾雅悦, 田中藤樹, 小杉山清隆. 新たに追加された「ライソゾーム病+原発性免疫不全+脊髄性筋萎縮症」新生児マススクリーニング. 第48回札幌市医師会医学会, 札幌市, 2023. 2. 19.
- 9) 田中藤樹. LSD/PID/SMA-NBS 北海道新生児追加スクリーニングの現況報告. 第17回北海道先天代謝異常症研究会, 札幌市, 2023. 6. 10.
- 10) 長尾雅悦, 田中藤樹, 小杉山清隆, 石川貴雄, 齋藤大雅, 和田光祐, 吉永美和, 野町祥介, 三上篤, 伊藤智, 三浦真之, 花井潤師. ホモシスチン尿症の新生児マススクリーニングの新たな展開. 第50回日本マススクリーニング学会学術集会, 新潟市, 2023. 8. 25-26.
- 11) 長尾雅悦, 田中藤樹, 小杉山清隆, 石川貴雄, 齋藤大雅, 和田光祐, 吉永美和, 野町祥介, 三浦真之, 花井潤師. 新生児マススクリーニング関連疾患検査としてのハイリスク・スクリーニングの成果. 第64回日本先天代謝異常学会学術集会, 大阪市, 2023. 10. 5-7.

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得: 該当なし
2. 実用新案登録: 該当なし
3. その他: 該当なし

表1 5疾患のカットオフ値

	カットオフ値	単位	変更ありの場合 いつからいくつになったか
MPS I (IDUA)	8.0(4MU) 2.0(タンデムマス法)	pmol/h/disk(4MU) μM/h(タンデムマス法)	
MPS II (IDS)	4.0(4MU) 2.9(タンデムマス法)	pmol/h/disk(4MU) μM/h(タンデムマス法)	7.0→4.0 pmol/h/disk (4MU, 2022年1月から変更)
Pompe (GAA)	3.5(4MU) 1.4(タンデムマス法)	pmol/h/disk(4MU) μM/h(タンデムマス法)	6.0→3.5 pmol/h/disk (4MU, 2022年9月から変更)
Fabry (GLA)	7.0(4MU) 2.6(タンデムマス法)	pmol/h/disk(4MU) μM/h(タンデムマス法)	
Gaucher (GBA)	5.0(4MU) 3.0(タンデムマス法)	pmol/h/disk(4MU) μM/h(タンデムマス法)	

表2 2020年度～22年度の症例数

①ポンペ病

年度	A. 受験者数	B. 初回再検査	C. 要精密検査	D. 診断数	E. 偽陽性数
2020年度	3319人	2人	1人	0人	0人
2021年度	16293人	12人	11人	0人	3人
2022年度	19369人	13人	5人	0人	0人

②ムコ多糖症Ⅰ型

年度	A. 受験者数	B. 初回再検査	C. 要精密検査	D. 診断数	E. 偽陽性数
2020年度	3319人	0人	0人	0人	0人
2021年度	16293人	2人	1人	0人	0人
2022年度	19369人	1人	0人	0人	0人

③ムコ多糖症Ⅱ型

年度	A. 受験者数	B. 初回再検査	C. 要精密検査	D. 診断数	E. 偽陽性数
2020年度	3319人	1人	1人	0人	1人
2021年度	16293人	7人	3人	2人	1人
2022年度	19369人	8人	5人	0人	5人

④ゴーシェ病

年度	A. 受験者数	B. 初回再検査	C. 要精密検査	D. 診断数	E. 偽陽性数
2020年度	3319人	0人	0人	0人	0人
2021年度	16293人	0人	0人	0人	0人
2022年度	19369人	0人	0人	0人	0人

⑤ファブリー病

年度	A. 受験者数	B. 初回再検査	C. 要精密検査	D. 診断数	E. 偽陽性数
2020年度	3319人	0人	1人	1人	0人
2021年度	16293人	0人	1人	1人	0人
2022年度	19369人	0人	1人	1人	0人