

新生児マススクリーニング代謝異常症検査結果 (2017年度)

手塚美智子 吉永美和 石川貴雄 野町祥介 東田恭明
三觜 雄 長尾雅悦*1 田中藤樹*1 小杉山清隆*2

要 旨

2017年4月から2018年3月までの1年間に新生児マススクリーニングを受検した15,834名について、代謝異常症24疾患を対象とした検査（以下、「代謝異常症検査」という）を実施した。検査の結果、13名を要精密検査とし、うち1名がPTPS欠損症、1名がプロピオン酸血症、2名が中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症と診断された。

1. 緒 言

札幌市では、2005年4月から、新生児マススクリーニング事業の効果を高めることを目的とし、タンデム質量分析計による検査を導入した新生児マススクリーニング（以下、「タンデムマス・スクリーニング」という）を研究事業として開始した¹⁾。2010年8月からは、従来から検査を行っていたガラクトース血症と合わせて代謝異常症検査の対象疾患を24疾患とし、札幌市の母子保健事業として現在まで継続して実施している。

今回は、2017年4月から2018年3月までの1年間における、代謝異常症検査結果について報告する。

なお、本稿において、アミノ酸はIUPACの定めた3文字表記あるいは1文字表記を用いる。

2. 方法及び対象

検査方法は既報^{2,3,4)}に従った。対象は、市内の医療機関で出生した生後4~6日目の新生児のうち、保護者が新生児マススクリーニング申込書により検査を申し込んだ児とした。また、保護者から別途「新生児マススクリーニング検査対象疾患除外申請書」の提出があった場合には、従来からの対象疾患であるアミノ酸代謝異常症3疾患のみの検査を

受けることも可能とした⁵⁾。

3. 結 果

3-1 受検者数

2017年4月から2018年3月までの1年間における新生児マススクリーニングの検査数は15,834件で、そのすべてがタンデムマス・スクリーニングを受検した。また、検査済み検体の研究等への二次利用とそれに伴う検体の10年保存について承諾があったのは、15,221件(96.1%)であった。

3-2 検査結果

2017年度における代謝異常症検査結果を表1にまとめた。

アミノ酸代謝異常症における要再採血数は7例で、要精密検査数は4例であった。

有機酸代謝異常症における要再採血数は16例で、要精密検査数は3例であった。要再採血例のうち、3例はイソ吉草酸血症疑いによるものであったが、うち2例において、母のピボキシル基を有する抗生剤の使用が確認された。また、6例はC5-OHアシルカルニチン高値によるものであったが、そのすべてが低出生体重児であり、初回検査結果正常の後に

*1 国立病院機構北海道医療センター小児科 *2 手稲溪仁会病院小児科

C5-OH アシルカルニチンが上昇した例であった。

によるものであった。要精密検査数は3例であった。

脂肪酸代謝異常症における要再採血数は57例で、うち48例がカルニチントランスポータ欠損症疑い

ガラクトース血症検査の要再採血数は8例で、要精密検査数は3例であった。

表1 2017年度新生児マススクリーニング代謝異常症検査結果

	指標	カットオフ値	疑い疾患名	要再採血数*1	要精密検査数 (うち初回要精査数)
アミノ酸 代謝異常症	Phe	≧120 μM	フェニルケトン尿症	1	1 (1)
	Leu	≧350 μM	メープルシロップ尿症	2	0
	Met	≧50 μM	ホモシスチン尿症	0	1 (1)
	Cit/AA	≧0.025	シトルリン血症1型 シトルリン欠損症	4	2
	小計			7	4 (2)
有機酸 代謝異常症	C3 かつ C3/C2	≧0.4 μM ≧0.25	メチルマロン酸血症 プロピオン酸血症	1	1
	C5	≧1 μM	イソ吉草酸血症	3*2	0
	C5-OH	≧1 μM	マルチプルカルボキシ ラーゼ欠損症 他	6	2
	C5-DC	≧0.25 μM	グルタル酸尿症1型	6*3	0
	小計			16	3
脂肪酸 代謝異常症	C0	≧8 μM	カルニチントランスポータ 欠損症	48*2	1 (1)
	C8 かつ C8/C10	≧0.3 μM ≧1.5	中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症	0	2 (2)
	C8 かつ C10	≧0.3 μM ≧0.5 μM	グルタル酸尿症2型	5*4	0
	C14:1 かつ C14:1/C2	≧0.3 μM ≧0.013	極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症	5*3,4	0
	小計			57*5	3 (3)
糖 代謝異常症	Gal Gal-1-P TR EP	≧6.0mg/dL ≧18.0mg/dL 活性無し 活性無し	ガラクトース血症	8	3
合計				85*5	13 (5)

*1 同一指標で2回以上要再採血判定となった場合は1と計上する *2 うち2例は抗生剤による偽陽性かつC0低値

*3 うち1例はC5-DC高値かつC14:1, C14:1/C2高値 *4 うち1例はC8, C10高値かつC14:1, C14:1/C2高値

*5 同一人物が複数指標で要再採血判定となった場合は1と計上する

Cit; citrulline AA; Gly, Ala, Val, Leu, Phe, Tyr, Asp, Glu, ASA, Orn, Met, Arg, Citの合計 ASA; argininosuccinic acid
C0; freecarnitine C2; acetylcarnitine C3; propionylcarnitine C5; isovalerylcarnitine C5-OH; 3-hydroxyisovalerylcarnitine
C5-DC; glutaryl carnitine C8; octanoylcarnitine C10; decanoylcarnitine C14:1; tetradecenoylcarnitine Gal; galactose Gal-1-P;
galactose-1-phosphate TR; galactose-1-phosphate-uridyltransferase EP; uridine di-phosphate-galactose-4-epimerase

3-3 要精密検査例の詳細とその後

要精密検査例 13 例について、表 2 にまとめた。

症例①、⑩は、初回検査時に C8 アシルカルニチン及び C8/C10 の著明高値が認められたため、即精密検査としたケースである。症例①は、遺伝子検査及び酵素活性検査の結果、中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症と診断された。遺伝子検査においては中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症の責任遺伝子 *ACADM* にヘテロ接合体変異が認められた。当該疾患は常染色体劣性遺伝性疾患であることから、もう一方の染色体にも何らかの変異を有している可能性があるが、現在までに変異は見つかっていない。症例⑩は、現在遺伝子検査中である。

症例②、⑪は、初回検査は正常であったものの、低出生体重児のため行った再検査で Cit/AA 高値であり、以後も高値が持続したためシトルリン血症 1 型及びシトリン欠損症を疑い精査とした。現在遺伝子検査中であり、2 例ともシトリン欠損症の責任遺伝子 *SLC25A13* に高頻度変異は認められず、シトルリン血症 1 型の責任遺伝子 *ASS1* の解析中である。

症例③は、初回検査で C3 アシルカルニチン及び C3/C2 の軽度高値が認められ、再検査においても軽度高値が持続したため精査となった。遺伝子検査の結果、最軽症型プロピオン酸血症と診断されたが、現在まで無症状のまま良好に発達している。

症例④、⑫は、いずれも超低出生体重児であり、初回検査は正常であったものの、日齢を重ねた再検査で C5-OH アシルカルニチン高値が持続し、精査となった。尿中有機酸分析の結果、代謝異常症は否定され、超低出生体重児における一過性の C5-OH アシルカルニチン上昇と診断された。

症例⑤は、初回検査で Gal-1-P 高値かつ EP 活性が弱めであり、再検査においても同様の結果であったことから、ガラクトース血症 3 型を疑い精査とした。現在遺伝子検査中である。

症例⑥は、児の出生前にコンサルタント医より同胞が 6-ピルボイルテトラヒドロプテリン合成酵素 (6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase : PTPS)

欠損症である旨の連絡があり、初回検査で Phe が著明高値であったことから即精密検査となり、遺伝子検査の結果、同胞と同じく PTPS 欠損症と診断された。PTPS 欠損症は、フェニルアラニン水酸化酵素 (PAH) の補酵素であるテトラヒドロピオプテリン (BH₄) の生合成系の異常により BH₄ の欠乏及び Phe 高値をきたす疾患であり、フェニルケトン尿症同様新生児マススクリーニングで発見される疾患である。

症例⑦は、初回検査で C0 アシルカルニチンが著明低値であり、カルニチントランスポータ欠損症を疑い即精密検査とした。児はダウン症、一過性骨髄異常増殖症 (TAM) で精査時は全身状態不良であり、その後フォロー及び診断の結果、代謝異常症は否定された。

症例⑧は、初回検査は正常であったが、哺乳殆ど不能であったため不備検体と判定され、再検査で C0 アシルカルニチン低値、3 回目の検査で再び正常となった。その後、4 回目の検体において、Gal の著明高値を認め、精密検査となった。精査時、児は先天性心疾患、十二指腸閉鎖、鎖肛等のために出生病院にて入院加療中であり、主治医とコンサルタント医による精査の結果、門脈大循環シャントと診断され、代謝異常症は否定された。

症例⑨は、初回検査で Met 軽度高値であり、本市の過去の新生児マススクリーニング履歴及びコンサルタント医との情報交換から methionine adenosyltransferase (MAT) 欠損症の家族歴が判明し、即精密検査となった。精査の結果、ホモシチン尿症と肝障害は否定され、現在遺伝子検査は未施行であるが、家族歴から MAT 欠損症と診断された。なお、MAT 欠損症は、新生児マススクリーニングの対象疾患ではないものの、患児が Met 高値を示すことからホモシチン尿症のスクリーニングにおいて副次的に発見される疾患であり、これまでに札幌市では 4 名の患児が確認されている。

症例⑬は、初回検査で Gal 軽度高値であり、TR 活性、EP 活性はともに認められたものの、再検査においても Gal 軽度高値が持続したため、精査とな

表 2 2017 年度要精密検査例の詳細

症例	出生時 体重	疑い疾患名	初回検査値 (採血日齢；体重)	再検査値 (採血日齢；体重)	精密検査結果
①	2,864g	中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症	C8；1.9 μM C8/C10；4.8 (5d；2,995g)	—	中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症 <i>ACADM</i> c.449-452delCTGA/- ヘテロ接合体変異
②	1,682g	シトルリン血症 1 型 シトルリン欠損症	Cit/AA；0.022 Cit；30.7 μM (4d；1,682g)	②Cit/AA；0.029 Cit；42.2 μM (21d；1,968g) ③Cit/AA；0.038 Cit；51.9 μM (28d；2,188g)	高シトルリン血症 (遺伝子検査中)
③	2,885g	メチルマロン酸血症 プロピオン酸血症	C3；5.9 μM C3/C2；0.33 (4d；2,715g)	②C3；4.5 μM C3/C2；0.37 (13d；3,038g)	プロピオン酸血症 <i>PCCB Y435C</i> ホモ接合体変異
④	888g	マルチプルカルボキシ ラーゼ欠損症 他	C5-OH；0.2 μM (6d；882g)	②C5-OH；1.2 μM (55d；2,092g) ③C5-OH；1.2 μM (65d；2,424g)	異常なし
⑤	3,150g	ガラクトース血症	Gal；0.8 mg/dL Gal-1-P；18.6 mg/dL TR 活性あり EP 活性弱い (4d；2,958g)	②Gal；0.6 mg/dL Gal-1-P；19.6 mg/dL TR 活性あり EP 活性弱い (10d；3,130g)	ガラクトース血症 3 型 疑い (遺伝子検査中)
⑥	2,446g	フェニルケトン尿症	Phe；813.6 μM (5d；2,275g)	—	PTPS 欠損症 <i>PTS P87S/D96N</i> 複合ヘテロ接合体変異
⑦	2,440g	カルニチントランス ポータ欠損症	C0；1.8 μM (5d；2,234g)	—	一過性カルニチン 欠乏症
⑧	2,089g	ガラクトース血症	正常 (5d；2,098g)	②C0；7.0 μM (23d；1,989g) ③正常 (57d；2,713g) ④ Gal；60.1 mg/dL Gal-1-P；<0.1 mg/dL TR EP 活性あり (98d；3,015g)	門脈体循環シャント
⑨	3,318g	ホモシスチン尿症	Met；58.3 μM (5d；3,266g)	—	MAT 欠損症 (遺伝子検査未施行)
⑩	3,320g	中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症	C8；0.9 μM C8/C10；8.1 (5d；3,210g)	—	中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症 (遺伝子検査中)
⑪	1,958g	シトルリン血症 1 型 シトルリン欠損症	Cit/AA；0.015 Cit；23.2 μM (4d；1,853g)	②Cit/AA；0.026 Cit；27.7 μM (20d；2,192g) ③Cit/AA；0.034 Cit；38.2 μM (30d；2,574g)	高シトルリン血症 (遺伝子検査中)
⑫	973g	マルチプルカルボキシ ラーゼ欠損症 他	C5-OH；0.4 μM (16d；938g)	②C5-OH；1.3 μM (73d；2,104g) ③C5-OH；1.2 μM (85d；2,352g)	異常なし
⑬	2,996g	ガラクトース血症	Gal；6.6 mg/dL Gal-1-P；3.1 mg/dL TR EP 活性あり (8d；2,760g)	②Gal；8.3 mg/dL Gal-1-P；6.8 mg/dL TR EP 活性あり (20d；2,727g)	肝血管腫疑い

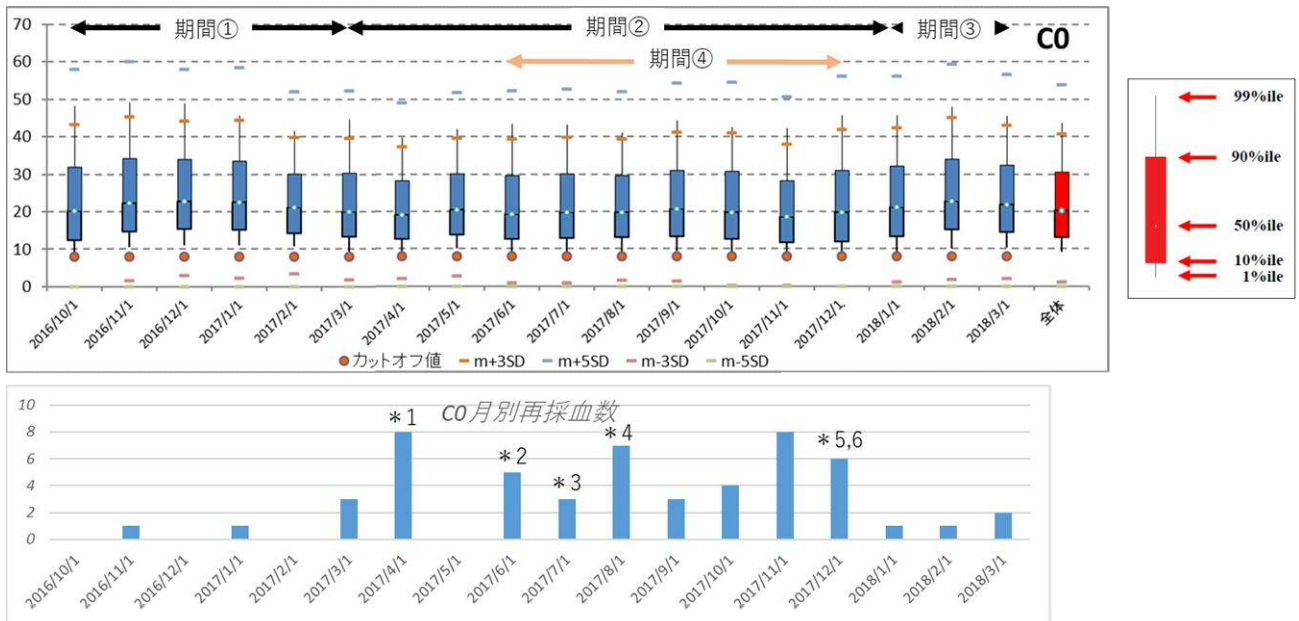


図1 CO 初回検体平均値月別推移と毎月の再採血数

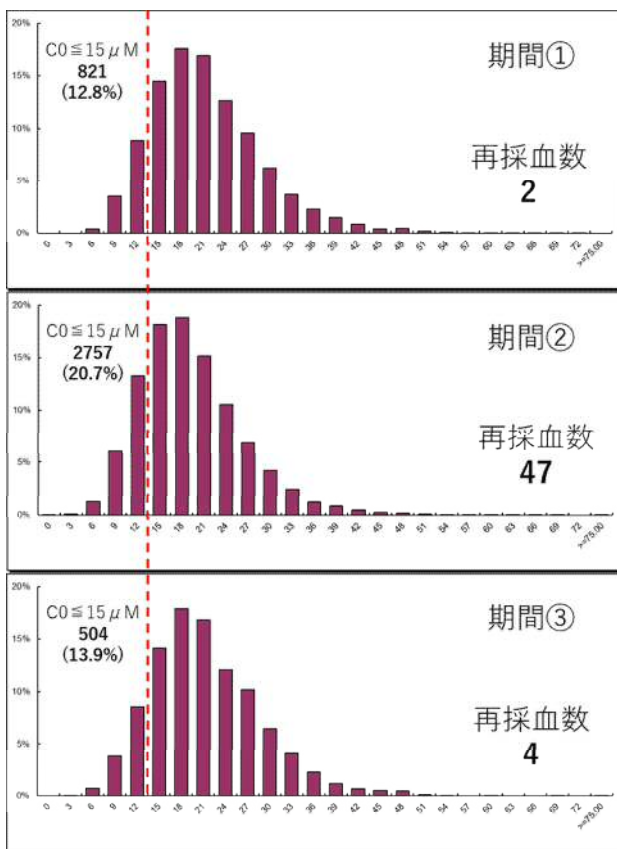


図2 期間①～③におけるCO 初回検体測定値分布

った。精査時、児は先天性心疾患（三尖弁閉鎖等）等のために出生病院にて入院加療中であり、主治医とコンサルタント医による精査の結果、CTにて肝

内濃染像が認められ、現在までに肝血管腫疑いと診断されている。フォロー検体におけるGalは正常化しており、代謝異常症は否定的であった。

4. 考 察

2017年度の代謝異常症検査における要再採血数は85例（0.54%）で、2005年度のタンデムマス・スクリーニング開始以来最も多かった。これは、COアシルカルニチン（以下、COという）低値に伴うカルニチントランスポータ欠損症疑いが例年になく多かったためである。

カルニチントランスポータ欠損症の指標であるCOの、現検査方法運用開始時（2016年10月）から2018年3月までの初回検体平均値月別推移と毎月の再採血数について、図1にまとめた。さらに、期間①（2016年10月～2017年2月）、期間②（2017年3月～2017年12月）、期間③（2018年1月～2018年3月）それぞれにおける初回検体測定値分布について、図2にまとめた。

期間②では、測定値分布全体が低濃度側にシフトするのと同時に、特に低濃度域（ $\text{CO} \leq 15 \mu\text{M}$ ）の検体においては測定値が大きく低下する傾向にあり、再採血数が増加した。

当該原因となった低濃度域における C0 の検出感度低下への対応と考察については以下のとおりである。

4-1 メンテナンスと C0 の推移について

C0 の感度上昇を目的とし、以下のとおりメンテナンスを実施した。

*1 (2017 年 4 月) : 先端部が焼け焦げていたキャピラリーを交換した。イオン強度の増加は見られなかったが、C0 の低濃度検体数は一時的に減少した。

*2 (2017 年 6 月) : 質量分析装置部における 2 つの四重極ロッド(Q1, Q3)の、それぞれのプリロッドに印加するバイアス電圧を、C0 について最適化した。C0 イオンの四重極ロッド通過効率が最大になるようメソッドを最適化することで、C0 イオン強度の増加を試みた。(電圧の最適化は、以後も検査機器の状況の変化に応じて随時行った。)

*3 (2017 年 7 月) : C0 の Dwell time (データ取り込み時間) を 20msec→100msec に変更した。既定の分析時間内における C0 の検出に充てる時間を増加させ、C0 の感度上昇を試みた。

*4 (2017 年 8 月) : ESI プローブの位置を+4mm→+1mmへ変更した。プローブの位置は、質量分析部へ導入されるスプレー状の試料とインターフェイス部との距離(中心位置: ±0)を示すものであり、分析メソッドの流量に応じて最適な位置が存在する。本検査機器の設置時には、流量に応じた最適位置(-1~+2mm)からは外れた+4mmにおいて最も感度が高かったため、これを適用していたが、改めて位置を調整したところ、+1mmにおいて測定対象物質全体のイオン強度が大きく増加した。C0 の低濃度検体数は一時的に減少した。

*5 (2017 年 12 月) : レンズ系部品(マルチポール、Qarray、スキマー)の洗浄を行った。レンズ系の洗浄により測定対象物質全体のイオン強度が増加することを期待したが、改善は見られなかった。

*6 (2017 年 12 月) : サンプルの注入量を 1μL→2μLへ変更した。C0 以外の測定対象物質は、イオン

強度が増加する一方で定量値に変化は無かったのに対し、 $C0 \leq 15 \mu M$ の検体では定量値が 1.2 倍~2 倍程度に上昇した。 $C0 \geq 15 \mu M$ の検体では、定量値に大きな変化は無かった。

*1~*6 の結果から、以後はサンプルの注入量を 2 μL とすることとした。

4-2 異なる分析系の影響について

期間④(2017 年 6 月~2017 年 11 月)では、測定対象物質全体においてイオン強度の低下が見られたが、この期間は異なる分析系の検討のために検査機器を併用していた時期と重なる。当該分析系における移動相はギ酸アンモニウム塩を含んでおり、溶媒ラインに残留したギ酸アンモニウム塩が、イオン化の過程で測定対象物質と付加イオン $[M+NH_4]^+$ を形成し、タンデムマス・スクリーニングにおける分析対象である $[M+H]^+$ イオン強度の減少につながった可能性が考えられた。

5. 結 語

2017 年度の代謝異常症検査の結果、PTPS 欠損症 1 例、プロピオン酸血症 1 例、中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症 2 例の合計 4 例の患児を発見した。PTPS 欠損症の患児は、児の出生前からコンサルタント医と連携し早期に患児を治療へ結びつけることができた。また、代謝異常症検査の対象疾患には含まれないものの、MAT 欠損症の 1 例についても、コンサルタント医との情報交換により早期に家族歴を確認することができ、再検査を繰り返すことなく精密検査へとつなげることができた。今後もコンサルタント医との円滑な連携を維持し、患児の早期発見・早期フォローに努めたい。

また、2017 年度は C0 の感度低下によるカルニチントランスポータ欠損症疑いの再採血数が非常に多かった。担当者がメンテナンスに関する知識を習熟する必要性とともに、タンデムマス・スクリーニングの検査機器で異なる分析系を併用することの難しさが明らかとなった。

6. 文 献

- 1) 野町祥介, 本間かおり, 花井潤師 他 : 札幌市におけるタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングのための体制整備, 日本マス・スクリーニング学会誌, **16**(1), 65-72, 2006
- 2) 重松陽介, 畑郁江, 稲岡一考 : タンデムマス・スクリーニングにおける非誘導体化分析, 日本マス・スクリーニング学会誌, **21**, 213-218, 2011
- 3) Yamaguchi A, Fukushi M, Mizushima Y et al : Microassay system for newborn screening for phenylketonuria, maple syrup urine disease, homocystinuria, histidinemia and galactosemia with use of a fluorometric microplate reader. *Screening*, **1**, 49-62, 1992
- 4) Beutler E, Baluda M, Donnell GE : A new method for the detection of galactosemia and its carrier state. *J. Lab. Clin. Med.* **64**, 695-705, 1964
- 5) 太田優, 吉永美和, 手塚美智子 他 : タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングについて-2012年度の結果と申込書の様式変更-, 札幌市衛生研究所年報, **40**, 57-62, 2013