

## 15. マスクリーニング研究室

室長：但馬 剛

## 【ミッション・目標】

新生児マスクリーニング (newborn screening; NBS) は、生後早期に治療を始めることで、生まれ持った病気による障害から子供たちを守る、母子保健事業のひとつである。わが国では 1977 年度に開始され、長らく先天代謝異常症 4 疾患 (高フェニルアラニン血症・メープルシロップ尿症・ホモシスチン尿症 1 型・ガラクトース血症) と内分泌 2 疾患 (先天性甲状腺機能低下症・先天性副腎皮質過形成症) を対象に続けられてきたが、タンデム質量分析法 (通称「タンデムマス」) という新しい検査技術の導入によって、2013 年度からは尿素サイクル異常症 (2 疾患) ・有機酸代謝異常症 (7 疾患) ・脂肪酸代謝異常症 (4 疾患) が追加された。さらに 2018 年度からは脂肪酸代謝異常症 1 疾患を加えて、総数 20 疾患まで拡大されている。多彩な対象疾患について、過剰診断や偽陽性の多発を防ぎつつ、早期発見によって真に救われる子供たちを確実に見つけ出し、適切な医療を提供することが求められており、このような要請に応えることが当研究室の使命である。

## 【研究プロジェクト】

1. NBS 対象疾患の確定検査の整備拡充と提供・重症度評価  
精密化学分析・酵素活性測定・遺伝子解析などによる確定/除外診断  
重症度・発症リスク評価のための biochemical phenotype-genotype 情報の集積  
重症度に応じた適切な診療指針の策定
2. NBS 発症症例の登録・コホート体制の構築と費用対効果分析  
患者の診断所見と臨床経過に関する悉皆情報を収集・追跡  
→ 重症度・発症リスク評価や予後推定、NBS 事業の有用性評価などに活用
3. NBS 検査の標準化  
タンデムマス法によるスクリーニング指標・基準値設定の標準化  
NBS 精度管理手法の改良  
NBS 受検のための説明・同意手続きの標準化
4. NBS 対象疾患の拡充  
コバラミン代謝障害のスクリーニング試験研究  
各種の候補疾患の NBS 適合性評価  
新規対象疾患の選定基準策定
5. 糖原病 1a 型に対するアンチセンス療法  
日本人患者の高頻度スプライス変異アレルから正常酵素を発現させるアンチセンス核酸薬の開発
6. 母子健康手帳便色カード測色と品質精度管理検討  
自治体発行母子健康手帳綴じ込み便色カード収集と測色・品質精度確認  
自治体からの便色カード測色・品質精度確認依頼対応  
母子健康手帳綴じ込み便色カード品質・精度管理体制の構築

7. 便色調判定系の確立  
デジタルカメラによる胆道閉鎖症・胆汁うっ滞症関連疾患便色による判定系確立
8. 質量分析装置を用いたマスクリーニング系の開発  
・質量分析装置を用いたマスクリーニング新規対象疾患解析系開発
9. 定量NMRを用いたマスクリーニング測定対象化合物のSIトレーサビリティ系開発
10. 質量分析装置を用いたアデノシンデアミナーゼ欠損症診断・フォローアップ  
・アデノシンデアミナーゼ酵素活性測定系開発

#### 【研究体制】

- 室長 : 但馬 剛  
 研究員 : 中島 英規  
 臨床検査技師 : 志村 明子, 相崎 潤子  
 研究補助員 : 前田 堂子  
 共同研究員 : 北澤 温子, 小澤 仁子, 宇都宮 朱里, 重松 陽介, 花井 潤師

#### 【国内共同研究】

1. NBS 陽性例の酵素・遺伝子診断  
広島大学大学院 医系科学研究科 小児科学 :  
岡田 賢(教授), 香川 礼子(医科診療医), 佐倉 文祥(大学院生), 津村 弥来(研究員)  
国立病院機構 呉医療センター・中国がんセンター 小児科 : 原 圭一(医長)
2. NBS 陽性例の質量分析による生化学診断  
福井大学 医学部 小児科 : 重松 陽介(客員教授), 湯浅 光織(特命助教)
3. 臨床検体の解析  
47 都道府県すべての医療機関から診断依頼の検体提供を受けている。
4. NBS 発見症例の登録・コホート体制の構築と費用対効果分析  
島根大学 医学部 小児科 : 山口 清次(特任教授), 小林 弘典(助教)  
山形大学 医学部附属病院 小児科 : 沼倉 周彦(講師)  
国立保健医療科学院 保健医療経済評価研究センター : 福田 敬(センター長)  
国立保健医療科学院 保険医療経済評価研究センター : 此村 恵子(研究員)  
金沢医科大学 医学部 公衆衛生学 : 西野 善一(教授)
5. NBS 検査の標準化  
島根大学 医学部 小児科 : 山口 清次(特任教授)  
福井大学 医学部 小児科 : 重松 陽介(客員教授)  
東北大学 大学院医学系研究科 小児科学 : 大浦 敏博(非常勤講師)

山形大学 医学部附属病院 小児科： 沼倉 周彦(講師)  
 国立成育医療研究センター 総合診療部： 窪田 満(統括部長)  
 岐阜大学 医学部附属病院 小児科： 笹井 英雄(助教)  
 兵庫医科大学 医学部 小児科： 李 知子(講師)  
 島根大学 医学部 小児科： 小林 弘典(助教)  
 愛媛大学 大学院医学系研究科 小児科学： 濱田 淳平(准教授)  
 琉球大学 大学院医学研究科 育成医学(小児科)講座： 知念 安紹(准教授)  
 札幌イムノ・ダイアグノスティック・ラボラトリー： 福士 勝 ( )  
 北海道薬剤師会公衆衛生検査センター 保健衛生課： 花井 潤師(技術顧問)  
 東京都予防医学協会 母子保健検査部 小児スクリーニング科： 石毛 信之(科長補佐)  
 大阪母子医療センター医療技術部臨床検査部門： 稲岡 一考(総括主査)

#### 6. コバラミン代謝障害のスクリーニング試験研究

広島大学大学院 医系科学研究科 小児科学：  
 岡田 賢(教授)，香川 礼子(医科診療医)，佐倉 文祥(大学院生)  
 国立病院機構 呉医療センター・中国がんセンター 小児科： 原 圭一(医長)  
 広島市立広島市民病院 総合周産期母子医療センター： 西村 裕(主任部長)  
 県立広島病院 小児科： 宇都宮 朱里 (部長)  
 県立広島病院 小児科： 小野 浩明(部長)  
 土谷総合病院 小児科： 田原 昌博(部長)  
 広島市立安佐市民病院 小児科： 荒新 修(主任部長)  
 市立三次中央病院 小児科： 小野 厚(主任医長)  
 尾道総合病院 小児科： 岩瀧 真一郎(主任部長代理)  
 国立病院機構福山医療センター 新生児科： 岩瀬 瑞恵(医師)  
 福山市民病院 小児科： 村岡 倫子(科長)  
 広島市医師会臨床検査センター 検査科： 吉井 千代子 (臨床検査技師)

#### 7. 新規NBS 対象候補疾患の適合性評価と選定基準の策定

AMED 成育疾患克服等総合研究事業  
 2019 年度「新生児マススクリーニング対象拡充の候補疾患を学術的観点から選定・評価するための  
 エビデンスに関する調査研究」研究班 (研究開発分担者 14 名)  
 2020 年度「新生児マススクリーニング対象拡充のための疾患選定基準の確立」研究班  
 (研究開発分担者 21 名)

#### 8. 糖原病 1a 型に対するアンチセンス療法の開発

広島大学大学院 医系科学研究科 小児科学：  
 岡田 賢(教授)，香川 礼子(医科診療医)，津村 弥来(研究員)  
 第一三共株式会社 モダリティ研究所： 小泉 誠(第一グループ長)  
 第一三共株式会社 希少疾患・LCM ラボラトリー：  
 熊倉 誠一郎(ラボラトリー長)，高橋 巨澄(第二グループ長)，伊藤 健太郎(研究員)

## 9. 研究プロジェクト6～10 の共同研究者

聖路加国際大学看護学部特任教授、国立成育医療研究センター名誉院長：松井陽  
 公益社団法人日本印刷技術協会：郡司秀明  
 日本電信電話株式会社コミュニケーション科学基礎研究所：土田勝  
 千葉大学大学院工学研究科フロンティア医工学センター センター長：羽石秀昭  
 千葉大学大学院工学研究科：平井経太  
 慶應義塾大学理工学部：佐藤智典教授  
 国立成育医療研究センター成育遺伝研究部：小野寺雅史部長 内山徹室長  
 日本食品分析センター多摩研究所 試験研究部エキスパート：加藤毅  
 積水メディカル株式会社：研究開発統括部東海研究開発センター  
 積水メディカル株式会社：事業戦略室  
 株式会社 JEOL RESONANCE：アプリケーションサポートチーム 末松孝子 加藤敏代  
 ジーエルサイエンス株式会社：マーケティング課リーダー 鈴木健一

## 【研究の概要】

[NBS 対象疾患の確定検査の整備拡充と提供・重症度評価]

## 1) 脂肪酸代謝異常症：

中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症, 極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症,  
 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

これまでの研究成果

脂肪酸代謝異常症は、長時間の空腹回避など低コストの方法で、重度障害～死亡に至りうる危険な急性発症を予防できる、新生児マススクリーニング (NBS) の好適疾患群である。しかし、哺乳が異常代謝産物の蓄積につながるアミノ酸・有機酸代謝異常症とは違って、脂肪酸の動員は哺乳の確立とともに抑制され、指標物質の血中濃度は次第に低下する傾向を示す。我々は迅速な確定/除外診断法の整備と積極的な陽性判定・精査に取り組んできた。対象疾患のうち頻度が高く、濾紙血の再検で陽性所見が軽減傾向を示す3疾患 (MCAD 欠損症・VLCAD 欠損症・CPT2 欠損症) について、全国各地からの依頼を受けて酵素活性測定と遺伝子解析を行っている。CPT2 欠損症は、2013 年度のタンデムマス法導入に際して、指標の感度不足から対象疾患とすることが見送られ、その後の調査で乳幼児急死例の多発が判明していたが、当研究室が見出した新しい指標・基準値設定に関する論文を根拠として、2018 年度から全国でのスクリーニングが開始された。2018 年末までに MCAD 欠損症 76 例 (NBS 発見 59, 同胞精査 6, 発症後診断 11)、VLCAD 欠損症 92 例 (NBS 発見 73, 同胞精査 1, 発症後診断 18)、CPT2 欠損症 26 例 (NBS 発見 12, 同胞精査 2, 発症後診断 12) を診断していた。

本年の研究成果

## a) 脂肪酸代謝異常症 3 疾患の診断症例数 (2019 年/2020 年)

MCAD 欠損症	(5/7)	すべて NBS 発見例
VLCAD 欠損症	(13/8)	NBS 発見 19 例, 発症後診断 2 例
CPT2 欠損症	(10/6)	NBS 発見 8 例, 同胞精査 1 例, 発症後診断 7 例

## b) CPT2 欠損症スクリーニング全国実施後の知見と課題

新生児マススクリーニングによる患者 20 例のうち、遺伝子解析実施済みの 18 例中 14 例 (21 アレル) に、p. F383Y あるいは p. E174K が同定されている。これらの変異のホモ接合体あるいは両者の複合ヘテロ接合体は、致死的な急性代謝不全を発症しうることが明らかであり、新生児マススクリーニングによって、低血糖型の発症リスクが潜在する患者を多数発見できていると言える。2018 年に作成した担当医療者向けの手引き資料「CPT2 欠損症の診療に関わっておられる方へー危険な急性発症を防ぐために」に続いて、2019 年には患者・家族向けとして「お子さんが CPT2 欠損症と診断されたご家族の皆さまへ」を作成し、全国の主な小児医療機関・患者会等に配布するとともに、ウェブサイトにも PDF 版を掲載している (<http://nrichd.ncchd.go.jp/massscreening/original/reference.html>)。

一方、急性脳症や横紋筋融解などで精査を受け、本疾患を示唆する異常代謝物の増加を指摘された 3 例が、保因者相当の酵素活性を示し、既知の病理性変異 p. S122F のヘテロ接合体と判明した。付加的な要因として前出の「熱不安定多型」を調べたところ、両親も解析できた 1 例 (CPT2 活性=45%) については、p. [S122F]; [F352C; V368I] という遺伝子型が判明した。これに対して両親の CPT2 活性は、p. [F352C; V368I]; [=] が 103%、p. [S122F]; [=] が 87% であった。また、マススクリーニング陽性で、血清 C16, C18:1 濃度の軽微な上昇と CPT2 活性 (34%) から、軽症患者ないし保因者と評された 1 例は、熱不安定多型だけのホモ接合体 (p. [F352C; V368I]; [F352C; V368I]) と確認された。さらにその後、横紋筋融解症の幼児例と一卵性双胎同胞が、CPT2 活性 28% で罹患者と判定されたが、遺伝子型は片アレル変異と 2 種類の多型のホモ (p. [F383Y; F352C; V368I]; [F352C; V368I]) と判明している。

これらの症例経験から、CPT2 欠損症の新生児マススクリーニングでは、酵素機能評価・遺伝子解析で保因者相当と評価されても、医療管理の必要性を否定することが難しくなっており、熱不安定性多型の臨床的影響を明確にする必要がある。

## c) MCAD 欠損症・VLCAD 欠損症の予後調査

新生児マススクリーニングで発見された MCAD 欠損症・VLCAD 欠損症患者の中長期的予後を明らかにするため、1997 年 4 月から 2019 年 12 月までの期間に確定診断した症例について、担当医へのアンケートによる予後調査を実施した。MCAD 欠損症 47 例・VLCAD 欠損症 50 例から回答が得られ、MCAD 5 例・VLCAD 1 例で低血糖が観察されていた。VLCAD では血清 CK 上昇の回答が 6 例あった。精神発達遅滞は MCAD 3 例・VLCAD 1 例で回答があったが、いずれも急性代謝不全発症歴はなく、原疾患との因果関係は不明なケースであった。死亡例はなかった。低血糖発症例における酵素活性は、MCAD 5 例は 10.6% 以下、VLCAD 1 例は 15.6% であった。以上は中間集計であるが、両疾患の新生児マススクリーニングは、急性低血糖発症による中枢神経障害や死亡の予防に有用と評価される (調査票の回収は継続中)。

## 2) プロピオン酸血症

これまでの研究成果

本疾患の典型例は、乳幼児期に代謝性アシドーシス・高アンモニア血症による重篤な症状で急性発症する。急性期死亡のリスクは高く、救命され診断・医療管理がなされても不安定な経過をたどりがちで、近

年では肝移植を受けるケースも少なくない。一方、新生児マススクリーニング（NBS）で発見されるプロピオン酸血症の患者頻度(1/45,000)は、従来の発症例からの推計頻度(1/465,000)の10倍も多い。この群の症例には、責任酵素であるプロピオニル CoA カルボキシラーゼ（PCC）β-サブユニットをコードする *PCCB* 遺伝子の1塩基置換 c.1304T>C (p.Y435C) 変異が高率に見出されている。この変異アレルは発症後診断例では報告がないため、同変異ホモ接合体の病的意義は、長年にわたって議論の対象となってきた。他の遺伝子型の症例も含め、NBS 発見例の経過は総じて良好と見られているが、その病原性に関する評価の確立が求められている。

AMED 研究班の分担研究課題として、2015年にNBS 発見例の全国調査を行った。各地の医療機関39施設に87症例（うち41例が p.Y435C ホモ接合体）が確認されたが、本疾患に起因すると考えられる異常の回答例は皆無であった。試験研究初期の発見患者は成年を迎えつつあり、その間に各種の急性感染症罹患など本疾患急性発症の誘因があったはずであることを考慮すると、この患者群が急性代謝不全を発症するリスクは乏しいものと推定される。

2016年に実施した発症患者の調査では、p.Y435C 変異例はなく、遺伝子型による病型区分を支持する結果であった。一方、急性代謝不全歴の有無に関わらず、QT 延長をはじめとする心臓の異常が高率に生じており、慢性進行性の心臓病変を生じることが示唆された。この時点で、NBS 発見患者87例中、心機能が評価されていたのは、心臓超音波検査26例、心電図28例にとどまっていたことから、心機能検査歴のない症例について、個別同意の上で心臓超音波検査および心電図検査を実施する研究を2017年に開始した。2018年末までに協力が得られた範囲では、新たに心機能異常所見が認められたNBS 発見患者は確認されず、その後も継続中であった。

## 本年の研究成果

2020年3月末までに、NBS 発見87例中、総数として心臓超音波検査45例・心電図50例分の情報が収集された。1例に異常が指摘されていた（心筋症所見）が、回答時点で遺伝子解析は未実施だったため、遺伝子型情報は得られていない。

代謝性アシドーシスを主徴とする定型的な臨床経過を伴わず、心筋症やQT 延長所見のみでプロピオン酸血症の診断が判明した症例が報告されていることから、心臓病変の形成は異常代謝産物による慢性毒性が主な要因になっていることが示唆される。新生児マススクリーニングで発見された *PCCB* p.Y435C ホモ接合体でも、血中・尿中の異常代謝産物は、比較的軽度ながら常に増加していることから、心臓に関する長期予後はなお不透明である。これを新生児マススクリーニング発見症例の追跡調査で明らかにするには1世代を要することから、心筋症・QT 延長症候群で診療されている患者を対象に、プロピオン酸血症の有無を調べることを計画した。具体的には、国内主要医療機関（小児循環器科および循環器内科）を対象にアンケート調査を実施し、該当患者について尿有機酸分析への協力を要請する。プロピオン酸血症に合致する異常代謝物の増加所見が認められた場合は遺伝子解析への協力を要請し、*PCCB* p.Y435C 変異の有無を明らかにする。これによって、新生児マススクリーニングで発見される大多数の軽症例を「患者」として扱う必要性について、より短期間で見解を提示したい。

\* この調査研究は、AMED 難治性疾患実用化事業（研究開発代表者：笹井英雄）2020～2022年度「難プラ標準レジストリーを使用し、新生児マススクリーニング対象疾患等の遺伝子変異を考慮したガイドライン改定に向けたエビデンス創出研究」の分担課題として、当研究室と広島大学小児科/循環器科・福井大学小児科・土谷総合病院小児科の共同研究計画を立案し、2020年12月8日付で倫理審査承認を取得した。

## [NBS 発見症例の登録・コホート体制の構築と費用対効果分析]

### これまでの研究成果

タンデムマス法による NBS は、欧米での先行研究を受けて、日本国内へは 1997 年度に福井医科大学（当時）小児科・重松陽介によって導入された。初期の試験研究は福井・広島・徳島 3 県で実施され、2004 年度からは厚生労働科学研究班が発足して試験研究参加地域が拡大した。2012 年度までに総数約 195 万人の新生児が受検し、計 216 例（アミノ酸 86, 有機酸 72, 脂肪酸 57）の罹患者が発見された。これらの実績を受けて、2013 年度から全国各自治体事業への移行が始まり、2014 年度中に完了している。

先天性代謝異常に対する新生児マススクリーニングの有用性について、2002 年度までは、治療用ミルク供給の窓口である「恩賜財団母子愛育会 特殊ミルク事務局」によって、タンデムマス法以前の発見症例（フェニルケトン尿症など）の経過・予後に関する調査が行われていたが、個人情報保護法が成立した 2003 年度以降、系統立った情報収集はなされていない。タンデムマス法の全国導入を機に、大幅に拡大した対象疾患のそれぞれについて、発見患者の臨床経過を把握し、NBS の効果を検証することへの要請は高まっているが、個人情報保護規定が厳格化される中、方法は確立していない。

#### ○タンデムマス法試験研究期発見症例の予後調査（2017～2018 年）

2017 年度から当研究室・但馬が代表を務めることになった厚生労働行政推進調査事業費補助金「新生児マススクリーニング検査に関する疫学的・医療経済学的研究」では、タンデムマス法導入の効果を検証する取り組みの端緒として、対象を上記の試験研究期（1997～2012 年度）に発見された患者 216 例に絞って、臨床経過に関するアンケート調査を実施した。この患者群の年齢は 4 歳から 20 歳に分布することになり、成長発達状況をはじめ、予後に関する中長期的な情報が明らかになると期待される。50 施設のうち 37 施設から回答を得、104 例（48%：アミノ酸 27, 有機酸 41, 脂肪酸 36）の情報を収集した。疾患による死亡 5 例（メチルマロン酸血症 3, グルタル酸血症 2 型 1, VLCAD 欠損症 1）、発達遅滞 18 例（アミノ酸 4, 有機酸 8, 脂肪酸 6）が確認された。診断の遅れは、多くの対象疾患で死亡や重度の精神遅滞につながるため、タンデムマスは予後改善に極めて有用と評価された。

#### ○各自治体の NBS 連絡協議会・中核医師を介する発見患者情報の収集

現行 NBS 事業の効果・有用性を正しく評価するためには、高精度かつ均質な検査の提供と、陽性例の精査結果および罹患者確定例の臨床経過などの情報集約が不可欠である。しかし、実施主体は都道府県+政令指定都市=計 67 自治体に細分化されており、運用実態は自治体・検査機関ごとにかかなりの相違がある。特に、個人情報保護のための規制方針には、自治体間の温度差が大きい。

このような困難を克服する方途として、精査以降の医療レベルで情報を収集するべく、全自治体に NBS 事業の取りまとめを担う「連絡協議会」の設置と、そこで中心的役割を担う「中核医師」の選定を要請し、中核医師を対象に発見患者情報の調査を行う仕組みづくりを進めてきた。これは 2019 年度までは日本公衆衛生協会補助事業の補助を受けて取り組んできた（分担事業者：島根大学特任教授・山口清次）が、2020 年度は当研究室が成育医療研究開発課題として引き継ぐこととなった。

### 本年の研究成果

#### a) NBS 中核医師を介する発見患者情報の収集

2019 年度は日本公衆衛生協会補助事業の協力者として、当研究室が 2016～2017 年度 NBS 発見患者の予後調査および 2018 年度 NBS 発見患者数の調査を担当した。

## ＜2016～2017 年度出生児の発見患者予後調査＞

出生年度	患者総数	予後調査回答例数	診療終了または途絶	発達良好	軽度発達遅延	死亡
2016	121	85	22	40	4 内訳： フェニルケトン尿症 1 シトリン欠損症 1 プロピオン酸血症 2	1 全身性カルニチン欠損症
2017	123	81	15	42	4 内訳： フェニルケトン尿症 1 メチルマロン酸血症 1 プロピオン酸血症 1 VLCAD 欠損症 1	0

## ＜2018 年度出生児の発見患者数調査＞

アミノ酸血症＋尿素回路異常症		有機酸代謝異常症		脂肪酸代謝異常症	
疾患	症例数	疾患	症例数	疾患	症例数
フェニルケトン尿症	12 (22)	メチルマロン酸血症	3 (5)	CPT1 欠損症	(1)
高Phe血症	6 (7)	プロピオン酸血症	18 (19)	CPT2 欠損症	3 (2)
PTPS 欠損症	(2)	MCC 欠損症	7 (4)	VLCAD 欠損症	9 (16)
メープルシロップ尿症	1	イソ吉草酸血症	(1)	MCAD 欠損症	2 (18)
ホモシスチン尿症	(3)	グルタル酸血症 I 型	1 (1)	CUD	1 (4)
MAT 欠損症	(2)	複合カルボ欠損症	1 (2)		
シトルリン血症 I 型	4 (1)	$\beta$ KT 欠損症	2		
シトリン欠損症	8 (12)				
アルギニノコハク酸尿症	1				
OTC 欠損症	1				
計	33 (49)	計	32 (32)	計	16 (41)
全体の患者数合計 81 (122)			全体の頻度 1:10,052		
未回答の自治体 4(4)：未回答自治体を除いた出生数 814,230 が対象（全国出生数 918,400）					

( ) 内は、前年度 (2017 年度) の患者数。2018 年度の出生数は 918,400 であったが、未回答自治体 (茨城県、神奈川県、富山県、滋賀県) のデータが間に合わず、これを除いた出生数 814,230 のデータである。

略字：PTPS=6-ピルボイルテトラヒドロプテリン合成酵素 (欠損すると BH4 欠乏性高フェニルアラニン血症を呈する)；MAT=メチオニンアデノシルトランスフェラーゼ (欠乏すると高メチオニン血症を呈する)；OTC=オルニチントランスカルバミラーゼ (欠損症では高アンモニア血症を呈する)；MCC=メチルクロトニル-CoA カルボキシラーゼ (欠損症はメチルクロトニルグリシン尿症)； $\beta$ KT= $\beta$ ケトチオラーゼ；CPT=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；MCAD=中鎖アシル-CoA 脱水素酵素；CUD=全身性カルニチン欠乏症

## b) NBS の費用対効果分析



上記の厚生労働科学研究班では、先天代謝異常症・新生児マスクリーニングを専門とする小児科医・検査技術者と、疫学・医療経済学の専門家から成る共同研究体制を組んで、新生児マスクリーニングの医療経済学的評価に取り組んだ。事業評価・費用対効果分析の前提となる国内外の先行研究と、中央社会保険医療協議会における費用対効果評価の分析ガイドラインを参考として、日本の制度に適した方法を検討し、以下のような枠組みを取りまとめた。

- ・ 評価対象＝タンデムマス法による新生児マスクリーニング
- ・ 比較対象技術＝ガスリー法
- ・ 分析の立場＝保険医療費支払い者
- ・ 対象集団＝新生児, 分析期間＝一生涯
- ・ 分析手法＝費用効用分析
- ・ アウトカム指標＝質調整生存年 (Quality adjusted life years: QALY)
  - \*国内の具体的な QALY データはなく、先行研究の体系的レビューで取得
- ・ 分析モデル＝判断樹モデルおよびマルコフモデル
- ・ 医療費データ＝ナショナルデータベースの診療レセプトデータ

#### <結果>

期待費用：タンデムマス法 8,327,347 円 / ガスリー法 8,324,602 円

QALY：タンデムマス法 37.24880 / ガスリー法 37.24792

→ 増分費用効果比(ICER) = 3,110,219 円/QALY

わが国で費用対効果を評価する場合、ICER ≤ 500 万円が「良好」の目安とされており、「ガスリー法からタンデムマス法への変更による費用の増加に見合った効果が得られている」という評価となった。しかしながら、この分析は先行文献等に依拠した多くの仮定を含むものである。中でも特に重要な評価因子である NBS 発見患者の QOL については、国内・海外を通じて本格的な検討に基づく知見は報告されていない。そこで、国立保健医療科学院および山形大学小児科との共同研究として、新生児マスクリーニング対象疾患のマスクリーニング発見患者および発症後診断患者を対象に、質問紙方式による QOL 調査を 2019 年度から開始しており、2021 年度末まで調査票の回収を続けた後、集計・分析を行う計画である。

#### [NBS 精度管理手法の改良]

#### これまでの研究成果

全国各自治体でのタンデムマス法の導入決定を受けて、NBS 検査の外部精度管理方式の見直しが必要となり、当研究室と日本マ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の三者で構成する「精度管理合同委員会」が設置された。従来は旧 6 疾患(フェニルケトン尿症・メープルシロップ尿症・ホモシスチン尿症・ガラクトース血症・先天性甲状腺機能低下症・先天性副腎皮質過形成)について、各自治体の検査機関へ試験用検体を毎月送付し、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「技能試験(proficiency testing: PT)」を行ってきた。タンデムマス法では対象疾患が大幅に増え、かつ微量物質の精密分析が求められるため、これを評価する年 1 回の「精度試験(quality control: QC)」を新設し、PT は年 3 回とする新たな枠組みが取り決められた。2014 年からは実際に試験

を実施しながら課題を抽出し、随時改善を進めている。

#### ○ PT の状況

PT は従来、「対象疾患の軽度陽性者を模した検体を送付して、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」というコンセプトで構成されており、タンデムマス法の導入以降も引き継がれている。2018 年度からの変更として、各検査機関には一次対象疾患を全て網羅する 17 種類の検体を郵送し、従来と同様の陽性判定結果に加えて、各検体（献血由来血液）に含まれている正常レベルの各指標物質についても、全測定値（＝シングルアッセイデータ）の報告を求めることとした。シングルアッセイデータは、各指標項目について 13～15 検体（指標項目により異なる）での測定値の CV を評価する。

#### ○ QC の状況

QC の試験方式は、各対象疾患の指標となるアミノ酸・アシルカルニチンを 3 段階の濃度 (Low/Middle, Middle, High) で添加した濾紙血検体および無添加 (Low) 検体の 4 枚を 1 組として、良好な分析精度の基準を「Low および Middle 濃度で  $CV \leq 10\%$ 」に設定している。当初は 10 日間の二重測定による 20 個の測定値の変動係数 (CV) を評価していたが、この方式で評価できるのは主に日間変動であり、日内変動は評価が困難であるため、2018 年度からは「5 回測定×5 日間」へ変更した。さらに QC 試験用サーバーシステムにも改良を加え、利便性向上とともに、日本マスキング学会技術部会で運用している「内部精度管理支援ウェブシステム」との連携性を持たせて、データ収集・解析の効率化を実現した。

#### 本年の研究成果

現在の外部精度管理試験には、各対象疾患の患者検体を模して人工的に作製した血液濾紙検体を使用しているが、これを NBS 用の方法（フローインジェクション法）で分析すると、指標物質濃度の測定値に影響するファクターは多岐に亘る。そこで、各指標物質を含む「キャリブレーション溶液」を各検査機関に配布し、それぞれが日常の業務で使用しているタンデムマス機器と内部標準試薬キットによる分析データを収集した。これを基に外部精度管理試験の成績を再評価した結果、今後の改善に向けて以下のような方策を取りまとめた。

##### a) 標準化された「血液濾紙キャリブレーション」の作製

内部標準物質の精度保証と「キャリブレーション」作成が国際的にも重視されていることから、わが国の外部精度管理試験用血液濾紙検体を、液体クロマトグラフィ質量分析法で値付けして「血液濾紙キャリブレーション」とすることを目指す。さらに進んで、内部標準試薬キットメーカーがユーザーに提供する内部精度管理用の血液濾紙検体に、キャリブレーションの役割を持たせる方向で、メーカーに協力を求めることも検討する。

##### b) 「血液濾紙キャリブレーション」による測定値の補正

スクリーニングに用いられるタンデムマス機器は、膨大なサンプルの分析に伴う機器汚染による性能劣化が避けられないことを踏まえ、検査機関には最低年 1 回の機器メーカーによる点検整備を求める。その上で、点検整備直後の機器で測定した「血液濾紙キャリブレーション」の測定値を用いて、新生児検体の測定値を「補正」することを要請する。

[タンデムマス法によるスクリーニング指標・基準値設定の標準化]



ビタミン B12 の活性型補酵素には、アデノシルコバラミンの他にメチルコバラミンがある。これはホモシステインからメチオニンを再生する反応に必要とされるため、メチルコバラミン合成障害では、血中メチオニン低下とホモシステイン増加が現れる。メチオニンの再生低下から、生体内メチル基供与体として重要な S-アデノシルメチオニンが不足して、重篤な中枢神経障害を生じる。近年、保険診療で処方可能になった薬剤である「ベタイン」の投与を速やかに開始することが、症状抑制に有効であるという報告が示されている。

そこで、C3 高値 and/or メチオニン低値となった血液濾紙検体中のメチルマロン酸・総ホモシステイン濃度を測定すれば、コバラミン合成障害によるメチルマロン酸血症・ホモシステイン尿症のスクリーニングが可能になるものと期待される。2013 年 2 月 1 日から 2016 年 3 月 31 日までに実施された広島県域の新生児マスクリーニングで、(A) C3・C3/C2 高値(116 例)、(B) C3/メチオニン高値(37 例)、(C) メチオニン低値(15 例) を認めた血液濾紙の保存検体について、メチルマロン酸(MMA)・総ホモシステイン濃度(tHcy)を測定した。A 群：MMA 軽度増加 2 例、MMA・tHcy 軽度増加 2 例、B 群：MMA 軽度増加 2 例、C 群：tHcy 増加 1 例。治療可能な新生児の発見を向上させる二次検査として、濾紙血 MMA・tHcy 測定の有用性が示唆された。この結果を基に、広島県内で分娩を扱う総合病院の出生児を対象とする前向きスクリーニング試験研究を計画した。

広島市医師会臨床検査センターで現行のマスクリーニング検査を受ける新生児のうち、保護者の同意が得られた者は、以下の 1~3 の指標についても評価する。

- 1) C3, C3/C2 比 が現行のマスクリーニングで定めた基準値を上回る高値を示した者  
( $C3 \geq 3.6 \mu\text{mol/L}$ ,  $C3/C2 \geq 0.23$ )
- 2) メチオニンが低値を示した者 (基準値は  $10 \mu\text{mol/L}$  に設定)
- 3) C3/メチオニン比が高値を示した者 (基準値は 0.25 に設定)

上記のいずれか 1 項目以上に陽性所見を認めた場合は、その血液濾紙検体の一部を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へ郵送し、メチルマロン酸血症・ホモシステイン尿症関連疾患群に特異性の高い指標物質である、A) メチルマロン酸(基準値  $1 \mu\text{mol/L}$ )、B) 総ホモシステイン(基準値  $5 \mu\text{mol/L}$ )、C) S-アデノシルメチオニン(基準値設定なし)、D) S-アデノシルホモシステイン(基準値設定なし)を測定する。A, B の一方または両方が基準値を上回った場合は、出生病院の共同研究者から結果を説明して精査を勧奨する。

#### 本年の研究成果

この試験研究計画について、当センターの倫理審査承認後、広島県・広島市の承認を経て、2019 年 4 月より順次、広島大学病院・広島市民病院・呉医療センター・県立広島病院・安佐市民病院・土谷総合病院・三次中央病院・東広島医療センター・尾道総合病院・福山医療センター・福山市民病院の参画を得てスクリーニングを開始した。2020 年 3 月末までの広島県内出生児 20,761 名中 3,353 名 (16%) が試験研究対象となり、陽性数(率)はそれぞれ、C3 & C3/C2 高値 3 例(0.09%)、Met 低値 29 例(0.86%)、C3/Met 高値 4 例(0.12%)、Met 低値 & C3/Met 高値 4 例(0.12%)であった。罹患確定例は生じていない。

\*新型コロナウイルス感染の影響で、当研究室での二次検査実施体制が不安定となったため、2020 年 4 月から一時的に中断し、9 月から再開している。

## [新規NBS 対象候補疾患の適合性評価と選定基準の策定]

これまでの研究成果

現行のタンデムマス法による新生児マススクリーニングは、さらに追加しうる多数の疾患候補がある。また、検査・治療技術の進歩に伴って、新たな対象候補疾患が増えている。具体的には、各種のライソゾーム病・副腎白質ジストロフィー・原発性免疫不全症・先天性サイトメガロウイルス感染症・脊髄性筋萎縮症などが挙げられる。米国など先行している国・地域では、ほぼすべてがスクリーニングされているが、わが国では個々の研究者による小規模な試験研究に留まっている。米国では連邦政府内に諮問委員会が設置され、対象疾患リスト“Recommended Uniform Screening Panel (RUSP)”を選定しているが、わが国には新規疾患スクリーニングの事業化に関する公的仕組みは何も設定されていない。

本年の研究成果

## a) 2019 年度 AMED 成育疾患克服等総合研究事業

「新生児マススクリーニング対象拡充の候補疾患を学術的観点から選定・評価するためのエビデンスに関する調査研究」

今後の対象疾患拡充に向けて、AMED から 2019 年度、まず国内の新規疾患スクリーニングに関する現状を整理して、事業化への適合性を評価する研究開発課題が提示され、代表者として取り組んだ。具体的には、RUSP 選定に用いられるスコアリング法の援用による各候補疾患の採点を中心に、公的スクリーニング対象としての適合性や解決すべき課題などに関する現状を提示した。

採点結果に基づいて、原発性免疫不全症をはじめとする幾つかの疾患については、新生児マススクリーニング対象への早急な追加が望まれるという見解を報告した。但し、スコアリングの項目や配点に関しては、必ずしも適切ではないという指摘も少なからずあり、わが国の実情に即した選定・評価基準を策定する必要性を付言した。

## &lt;RUSP 選定用スコアリング法(和訳・一部改変版)&gt;

評価項目	配点	評価項目	配点
疾患の頻度	100	治療法の有無と利用可能性	50
生後 48 時間以内の発症可能性	100	治療費	50
無治療での疾病負荷の大きさ	100	治療の有効性	200
高感度・特異的な検査法の有無	200	早期介入の利益 (本人)	200
検査法の特徴 (6 項目)		早期介入の利益 (家族)	100
1) 検体採取が容易	100	早期介入が死亡を防ぐか	100
2) スループット	50	確定検査体制	100
3) 分析単価	50	急性期管理の体制	100
4) 多項目同時測定	50	治療の簡便性	200
5) 同一指標で 2 疾患以上	50	最高点	2, 150
6) 同一検査で多疾患	200	米国での選定基準	1, 200 以上

## &lt;新規候補疾患の RUSP スコア採点結果&gt;

現行対象疾患（比較参考用）	採点結果	候補疾患：ライソゾーム病	採点結果
先天性甲状腺機能低下症	1,615	ポンペ病	1,075～1,400
フェニルケトン尿症	1,583	ムコ多糖症1型	1,200～1,250
MCAD 欠損症	1,515	ムコ多糖症2型	1,125～1,275
VLCAD 欠損症	1,345	ムコ多糖症4a型	950
プロピオン酸血症	1,188	ムコ多糖症6型	1,100
候補疾患：タンデムマス系		ファブリー病	1,075～1,500
ホモシスチン尿症3型	1,275	ゴーシェ病	875～1,250
OTC 欠損症	1,270	候補疾患：その他	
高アルギニン血症	1,400	副腎白質ジストロフィー	1,175～1,335
$\beta$ ケトチオラーゼ欠損症	1,575	重症複合免疫不全症	1,675～1,925
グルタル酸血症2型	1,275	B細胞欠損症	2,025
全身性カルニチン欠損症	1,675～1,815	先天性 CMV 感染症	1,150
		脊髄性筋萎縮症	1,309

## b) 2020 年度 AMED 成育疾患克服等総合研究事業

「新生児マスクリーニング対象拡充のための疾患選定基準の確立」

2019 年度研究開発課題の続きとして、2020 年度から 3 ヶ年の課題が AMED から示され、代表として取り組むこととなった。以下のような計画で着手している。

2020 年度：

## (1) 各候補疾患の知見に基づく選定評価項目の提案

タンデムマス追加疾患、ライソゾーム病、副腎白質ジストロフィー、  
原発性免疫不全症、脊髄性筋萎縮症、先天性感染症、先天性内分泌疾患、胆道閉鎖症

## (2) 提案された評価項目の調整・統合

現行マスクリーニングでの経験から / 産科の立場から /  
遺伝学的検査の観点から / 医療経済学の立場から / スクリーニング検査技術面から

評価項目案は「階層分析法」が適用できる形に取りまとめる。

以後の予定

2021 年度： 関連学会の会員による候補疾患評価への試用

2022 年度： 評価項目の重み付けによる配点決定

[糖原病 1a 型に対するアンチセンス療法]

これまでの研究成果

糖原病 1a 型は内因性血糖供給経路の最終段階を触媒する酵素「グルコース-6-ホスファターゼ (G6Pase)」の機能低下による先天代謝異常症である。患児は反復性低血糖症・肝障害・高脂血症・高尿酸血症・慢性的な乳酸アシドーシスに伴う成長障害・タンパク尿などの所見を呈する。主な治療はでんぷん質の頻回食療法で、アシドーシスに対するクエン酸製剤・尿酸合成阻害剤などが併用されるが、代謝障害による各種異常所見の是正には遠く及ばず、長期的には肝癌発生や腎不全に至りうる。肝癌発生例には肝移植、腎不全例には腎移植が選択される。現在までのところ本疾患に対する特異的な治療薬は存在しない。日本人糖原病 1a 型患者では、約9割が責任遺伝子 *G6PC* に共通変異 c. 648G>T を有することが知られている。この変異はアミノ酸置換を起こさず、近傍配列が異所性スプライス受容部位となつて、91 塩基対短縮した転写産物を生じる。スプライシング変異については近年、当該領域の塩基配列に相補的な核酸誘導体「アンチセンス・オリゴヌクレオチド (以下 ASO)」によって正常な転写を回復させることが可能となっている。日本人糖原病 1a 型患者では、上記共通変異を標的とする 1 種類の ASO を製剤化することで、大多数に有効な特異的薬物療法が実現するものと期待される。

*G6PC* の発現臓器は肝・腎・小腸に限られているが、EB ウイルスによる不死化リンパ球で異所性発現が起こることから、c. 648G>T ホモ接合体患者の末梢血から不死化細胞を樹立した。修飾核酸としてロックド核酸 (LNA) を含む 15 塩基長の ASO を、c. 648T, c. 652\_653AG を含む範囲で位置をずらしながら設計した。各 LNA を添加した培地で c. 648G>T ホモ接合・複合ヘテロ接合患者由来の EBV 不死化リンパ球を培養した後、抽出した cDNA をゲル電気泳動および直接シーケンスで解析した。作製した LNA の一部で、c. 648T を含む正常長 cDNA の生成が観察された。

以上の成果を基に特許を出願 (国内・PCT・台湾) するとともに、第一三共株式会社・広島大学との共同研究を開始した。

## 本年の研究成果

糖原病 1a 型治療薬の臨床試験における適切な薬力学・有効性バイオマーカー候補の選定を目的として、当研究室および広島大学小児科からは、患者の診断・一般状態・現状の治療および患者数に関する知見を提供し、第一三共株式会社からは糖原病 1a 型モデルマウスにおける治療薬候補化合物の薬効薬理評価結果が提示された。第一三共株式会社で作製された新規糖原病 1a 型モデルマウスは、糖原病 1a 型患者の臨床像をよく再現できており、治療薬候補のアンチセンス核酸で示された各指標の改善からは、ヒト臨床での改善が十分期待できるものと評価された。

これらの研究結果は、第61回日本先天代謝異常学会 (2019年10月) にて若手最優秀演題賞を受賞し、第123回日本小児科学会 (2020年8月) では総合シンポジウム「小児未来医療」の演題に採択された。また、第一三共株式会社 2020年度バリューレポート (統合報告書) にて、スペシャリティ領域 (非癌) の主なプロジェクトのひとつとして掲載され、当センター・広島大学との共同研究であることも紹介された。  
[https://www.daiichisankyo.co.jp/files/investors/library/annual\\_report/index/pdf/Value%20Report%202020%20JP.pdf](https://www.daiichisankyo.co.jp/files/investors/library/annual_report/index/pdf/Value%20Report%202020%20JP.pdf) (\*78ページに掲載)

今後、薬力学・有効性のバイオマーカーとして、短期的には血糖値、長期的には肝臓のサイズ (エコーや MRI など) が有用と考えられるが、それらは年齢や病態管理の程度によって大きなばらつきがあることが想定され、また患者の自然歴についてまとまった情報は存在しないことから、臨床試験の成功確度を高めるための施策として、前向き臨床研究や患者レジストリの構築を進める必要がある。

## これまでの研究成果

母子保健法施行規則の一部を改正する省令（平成 23 年 12 月 28 日厚生労働省令第 158 号）により、胆道閉鎖症及び胆汁うっ滞症関連疾患早期発見のため母子健康手帳に便色カードが掲載することが義務付けられた。それ以前の便色カードは印刷会社と医師の経験に基づいてその印刷物色調管理がなされていたが、省令では国際照明委員会の規定に準じる Japan Color 2001 Coated 基準で作成された PDF/X-1a を Japan Color 2001 Coated 基準で印刷することと規定（雇児母発 1228 第 1 号）された。またこの省令では国立成育医療研究センターにおいて便カラーチャートの色調に関する技術的助言も行うことが規定されている。そのためこれまでは自治体から測色依頼を受け、カラーマネージメント指導等行ってきた。また全国自治体より母子健康手帳に綴じ込まれた便色カードを収集して測色・調査した結果、いくつかの自治体便色カードには印刷品質に問題があることが指摘された。この印刷品質に問題がある自治体には、予算的にもある程度余裕があると考えられる政令指定都市である自治体が 2 つも含まれていたことは非常に問題のある結果であった。

## 本年の研究成果

### a) 自治体からの便色カード測色・品質精度確認依頼対応

自治体からの測色依頼・カラーマネージメント指導等はこれまで毎年以来は数件程度であることに加え、国立成育医療研究センターにおける便色カード測色設備や資金、マンパワー等の問題からこれらに依存しない体制構築を検討した。また法制化などの義務化を行うのも困難であった。そこで以後国立成育医療研究センターでは直接受けず、これら業務は有償とし公財日本印刷技術協会 (<https://www.jagat.or.jp/>) で直接業務受託する体制を整えた。今後全国各自治体は母子健康手帳に綴じ込まれる便色カードに関し、独自に日本印刷技術協会へ測色依頼・カラーマネージメント指導等を受ける体制とした。

### b) 母子健康手帳綴じ込み便色カード品質・精度管理体制の構築

上記のように母子健康手帳に綴じ込まれた便色カードについては自治体独自に品質管理を行う体制を構築したが一方で品質管理を行わない自治体が現れる可能性もあり、新生児保護者の手元に正しい便色カードが届かなくなる危険性が考えられた。そこで、2012 年度からの便色カードの母子健康手帳への綴じ込みの際にも協力を得た、NPO 法人ひまわりの会の協力を得てこの問題点を解決することを目指すとともに新たな便色カード供給体制構築を行った。ひまわりの会にはこれまで公共機関や公共交通機関車内などにも頻繁にみられるようになってきた「マタニティーマーク」の普及活動に実績がある。このマタニティーマーク普及活動に続く啓蒙活動として、「うんち検診」というキャンペーンを開始しようと計画していたことから、この活動の一環として正しく印刷精度管理された便色カードを全ての妊婦に対して配布することを考えた。現在、この活動において 1 社のみの印刷会社から正しく印刷精度管理された便色カードを準備し、「お薬手帳・マタニティーパスポート」という小冊子をひまわりの会で用意してそこに新たにデザインされ、印刷品質管理された便色カードを綴じ込む形の冊子を作成した。この「お薬手帳・マタニティーパスポート」では綴じ込まれる便色カードのデザインを一部変更するとともに小冊子中に「便色記録ページ」を新たに設けた。大阪大学別所一彦氏、東北大学佐々木英之氏の助言を得てこれら新たなデザインを行った。これまでの母子健康手帳に綴じ込まれた便色カードでは、「生後 2 週」「生後 1 ヶ月」「生後 1~4 ヶ月」における便色のみを記録する形であったが、「お薬手帳・マタニティーパスポート」の便色記録ページではよりビジュアルな形の表現を用い、連続 3 日間便の色が薄い場合には医師の相談・判断を得ることとした。この新たな「お薬手帳・マタニティーパスポート」を全国自治体窓口から妊婦に



配布する形とした。2020年7月より、全ての妊婦にこの冊子は配布する体制を構築した。「うんち検診」は厚労省、日本印刷技術協会をはじめ国立成育医療研究センターの協力を得るとともに、日本胆道閉鎖症研究会、日本小児栄養消化器肝臓学会、日本助産師会、日本小児科医会の協賛を得ることができた。

#### c) 正しい便色カード使用法教育体制の構築

上記「母子健康手帳綴じ込み便色カード品質・精度管理体制の構築」において、ひまわりの会が行っている「うんち検診」活動に協力を開始している。この活動の一環として正しい便色カード使用法教育体制の構築も開始した。「色調」肉眼に頼る限りヒトの個体差に依存するばかりか照明等の環境によってもその判断は非常に大きく影響される。例えば白熱灯、蛍光灯、LED 灯の照明下ではそれぞれヒトの目では同じ印刷物の色であっても色調が異なって感じられる。このような問題点を解決するためには判定したい便の近くに便色カードを置いて判定すれば、ある程度誤判定を回避することができる。しかしながらこのような正しい使用法は新生児保護者ばかりか医師に対しても現状十分に伝わっているとは言いがたい。そこで「うんち検診」の活動の一環として正しい便色判定をより一層普及させるため、「正しい便色カード使用法」及びスマートフォン等で動作する下記「母子健康手帳アプリ」の使用法に関するいくつかの動画の作成を開始した。なおこの動画はその正確性を高めるため、日本胆道閉鎖症研究会と日本小児栄養消化器肝臓学会のクレジットを得る予定である。この動画は、YouTube や SNS 等を介して広く配布を行うことを計画している。同時に日本助産師会が行うマタニティークラスの教材として利用していただくよう活動を開始している。動画には一般医に向けた物も作製し、日本小児科医会を介して一般小児科医の啓蒙活動に利用していただくよう活動開始している。

[胆道閉鎖症・胆汁うっ滞症関連疾患に対する便色調判定系の開発]

#### これまでの研究成果

母子健康手帳に綴じ込まれた便色カードによる胆道閉鎖症・胆汁うっ滞症関連疾患の判定及びマスクリーニングはコスト等においても非常に優秀な方法であるが、色覚個人差や悉皆性等の問題点がある。近年スマートフォンが広く普及しつつあるが、スマートフォンには高性能なデジタルカメラが内蔵されておりこれを用いて簡易に便色調判定ができれば非常に有用であると考えられる。実際にスマートフォンのアプリケーションとして国立成育医療研究センターと聖路加国際大学においてそれぞれ独立で判定アプリが開発されたが、照明の強度・色調や機種差などその精度には問題が散見されたため、アップデートや新開発などによって対処する必要性が指摘された。

#### 本年の研究成果

本研究についてもその実用化のため、NPO 法人ひまわりの会が行う「うんち検診」に協力しその活動の一環として行うこととした。ひまわりの会では、以前より母子健康手帳の電子化を進め、スマートフォン上で動作するアプリケーション（スマホアプリ）を開発してきた。本年度はそのアプリのアップデートの際に、便色の記録機能を付加して胆道閉鎖症及びその関連疾患患者発見率の向上を試みた。これまでの母子健康手帳に綴じ込まれた便色カードでは、「生後2週」「生後1ヶ月」「生後1~4ヶ月」における便色のみを記録する形であったが、「母子手帳アプリ」でも「お薬手帳・マタニティーパスポート」の便色記録ページと同様によりビジュアルで直感的な形のインターフェースを目指し、連続3日間便の色が薄い場合には自動的に医師の相談・判断を得る注意を促す表示がされる形とした。

本邦では生後おおよそ5日目に新生児踵から採取される血液をろ紙に滴下して乾燥させた乾燥ろ紙血

Dried blood spots: DBS) を検体として全ての新生児が主に代謝異常症を対象とした新生児マスクリーニングでは受ける。胆道閉鎖症において血中で上昇するビリルビン類は、特異な色調を呈する。当研究室では便色カードのデジタルデータ構築の過程において日本電信電話株式会社、日本印刷技術協会の協力の下、様々な対象物の色調を客観的に解析する系を構築してきた。そこで DBS をパンチアウトし、その色調によって判定可能か検証した。結果、肉眼ではどの検体も「赤褐色」でこの差を判別することはできなかったが、機器を用いた客観性のある測色システムでは、健常 DBS 検体と直接ビリルビン高値の DBS 検体を判別することが可能であった。この判定系は DBS に適した撮影又はスキャナー等測色装置を準備・開発すれば、DBS をカメラやスキャナーで「撮影するだけ」で判別できるため、簡便でコスト的にも非常に優れたシステムを開発できる可能性が示された。今後検体数を増やして検証を行う予定である。

#### [質量分析装置を用いたマスクリーニング系の開発]

##### これまでの研究成果

重症複合免疫不全症 (Severe Combined Immunodeficiency: SCID) に対する新生児マスクリーニングは本邦では制度化されていない。諸外国では SCID で発現していない T-cell Receptor Excision circles (TREC) を定量 PCR 等によって検出する方法によってマスクリーニングが行われはじめており、PerkinElmer からは測定システム・キットも市販されている。当センター成育遺伝研究部の協力の下、積水メディカル株式会社では、TREC ばかりでなく kappa-deleting element recombination circle (KREC) を検出するキットを開発上市した。またこれまで、胆道閉鎖症および新生児胆汁うっ滞を対象とした乾燥ろ紙血によるマスクリーニング測定系については新開発特殊カートリッジを利用した質量分析装置による疾患マーカー候補群の検出系を開発した。

##### 本年の研究成果

SCID に対する新生児マスクリーニングには定量 PCR が用いられているが、検査施設によってその測定値は一定していない。これは定量 PCR で定量基準となる TREC テンプレートの品質が検査施設によって異なっていることが考えられる。更には、その TREC/KREC ジョイント部分には異なった配列のものが存在することが指摘されている。そこでそのジョイント配列の多様性を簡便に確認するため、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置 (MALDI-TOF/MS) によるジョイント配列の分子量を簡便に判別する検出系の構築を試みた。本年度はまず、MALDI-TOF/MS でジョイント配列 DNA を有効に検出するためのマトリックス化合物の選定・検討を行っている。

胆道閉鎖症およびその他の新生児胆汁うっ滞は、母子手帳にある便色カードと新生児の便の色を比較することによって判別されているが、より早期に診断されることによって治療成績が向上することが知られている。これまでに開発した質量分析装置による胆道閉鎖症・胆汁うっ滞症関連疾患のマーカー検出系によって健常検体・患者検体が判別できることを示してきた。本年度は更に全ての新生児が受けている新生児マスクリーニングの検体として繁用されている乾燥ろ紙血 (DBS) を検体に、ビリルビン類に加え胆汁酸類を検出する系を構築した。この系の構築過程で、直接ビリルビン高値の患者検体ではある種の胆汁酸類のうちグルクロン酸抱合体が高値であることを見いだした。今後調査する検体数を増やし、このうちであった分子が判定マーカーとして有用であるか検証を行う。

#### [定量 NMR を用いたマスクリーニング測定対象化合物の SI トレーサビリティ系開発]

### これまでの研究成果

質量分析装置を用いたマスクリーニングでは、その測定値が自治体指定検査機関によって異なることが知られているが、これは測定の際に基準となる「標準物質」が準備されていないことに起因している。これまで国家標準物質を内標準物質に測定対象であるアシルカルニチンと同時測定して核磁気共鳴スペクトル (nuclear magnetic resonance spectroscopy : NMR スペクトル) 上のそれぞれのプロトンシグナルを同定し、定量値決定といった一連のトレーサビリティ紐付けが可能であることが明らかになってきた。

### 本年の研究成果

本年度は胆道閉鎖症において高値を示すビリルビン類の qNMR による標準化を行うため、その NMR 上におけるプロトンシグナルを同定することを目指した。しかしながらグルクロン酸抱合型のビリルビンは試薬としても入手できないため、定量値を求めることができない。そこでグルクロン酸抱合型ビリルビンを合成或いは生物資料から分離精製する方法の検討を行った。そこで積水メディカル株式会社の協力の下、まず酵素合成による方法を検討したが 4 種類の異性体が生成されることに加えその収率も著しく低いため、将来的にキット等を開発した場合の収益性が見込めないことからこの方法を断念した。その他の方法として生体試料からの精製法を検討した。ブタ胆汁を材料に有機溶媒抽出やクロマトグラフィーを駆使してビリルビングルクロナイドを分離精製する方法を確立できた。現状、実験室レベルでの精製法であるため入手できる量は製品化に加え SI トレーサビリティ系の構築には充分ではないため、スケールアップしてミリグラムオーダーで入手できるように検討を行う。

[質量分析装置を用いたアデノシンデアミナーゼ欠損症フォローアップ]

### これまでの研究成果

SCID の原因疾患の一つであるアデノシンデアミナーゼ欠損症 (ADA 欠損症) は様々なタイプが存在するため、遺伝子解析に加えて定量的な酵素活性測定は診断には必須である。本研究では乾燥ろ紙血及び分画血球を検体に LC-MS を用いた酵素活性測定系を開発した。また ADA 欠損症ではデオキシアデノシン 1 リン酸 (dAMP)、デオキシアデノシン 2 リン酸 (dADP)、デオキシアデノシン 3 リン酸 (dATP) が免疫担当細胞に蓄積されることが知られている。これら dAXP の LC-MS を用いた定量系を開発した。ADA 欠損症は酵素補充療法によって迅速に治療開始可能な唯一の SCID 疾患であるが、一方で遺伝子検査等は比較的時間が必要となることから当研究室で開発されたこれら定量法は、迅速で ADA 欠損症疑い患者の確定診断の強力な一助となるため、各所より検体受入を行っている。

### 本年の研究成果

#### アデノシンデアミナーゼ酵素活性測定系開発

本年度は成育遺伝研究部からの依頼で当研究によって開発した ADA 酵素活性測定法及び遺伝子解析によって 1 例が ADA 欠損症として診断された。

## 【平成 31/令和元年研究業績】

## 1. 誌上発表

## (1) 英文原著

- 1) Yuasa M, Hata I, Sugihara K, Isozaki Y, Ohshima Y, Hara K, Tajima G, Shigematsu Y. Evaluation of metabolic defects in fatty acid oxidation using peripheral blood mononuclear cells loaded with deuterium-labeled fatty acids. *Disease Markers*. 2019 Feb 7. doi: 10.1155/2019/2984747.

## (1) 英文総説

- 1) Tajima G, Hara K, Yuasa M. Carnitine palmitoyltransferase II deficiency with a focus on newborn screening. *Journal of Human Genetics*. 2019; 64: 87-98

## (3) 和文原著

- 1) 香川礼子, 但馬剛, 前田堂子, 原圭一, 西村裕, 吉井千代子, 重松陽介. コバラミン代謝障害によるメチルマロン酸血症・ホモシスチン尿症関連疾患群のスクリーニング指標に関する検討. *日本マススクリーニング学会誌*. 2019; 29: 51-56
- 2) 原圭一, 但馬剛, 南花枝, 吉井千代子, 濱崎考史, 新宅治夫. 経過観察中に BH4 療法を開始した軽症高フェニルアラニン血症の一例. *日本マススクリーニング学会誌*. 2019; 29: 257-262

## (4) 和文総説

- 1) 但馬剛. タンデムマススクリーニングの対象疾患に新たに加わったカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-2 欠損症. *日本小児科学会雑誌*. 2019; 123: 711-722
- 2) 但馬剛. 新生児スクリーニングの疫学的評価. *日本マススクリーニング学会誌*. 2019; 29: 298-300

## 2. 学会発表

## (1) 国際学会講演・シンポジウム・招待講演

- 1) Fukao T, Sasai H, Ago Y, Matsumoto H, Otsuka H, Hosokawa J, Fujiki R, Ohara O, Nakajima Y, Ito T, Hara K, Kobayashi M, Tajima G, Sakamoto O, Kido J, Matsumoto S, Nakamura K, Hamazaki T, Kobayashi H, Hasegawa Y. Challenge of genotyping all detected cases in NBS in Japan —genetic diagnosis has been provided for 260 patients with inherited metabolic diseases positively screened by NBS in Japan since 2014. International Society for Neonatal Screening (ISNS) 10th International Symposium / 11th Asia Pacific Regional Meeting, Hangzhou, China, 2019.9.19-22
- 2) Utsunomiya A, Okada S, Kagawa R, Sakata S, Hara K, Tajima G. Growth analysis in 40 Japanese patients with 21OHD — influence of glucocorticoid dosage, genotype and phenotype on growth outcome. International Society for Neonatal Screening (ISNS) 10th International Symposium / 11th Asia Pacific Regional Meeting, Hangzhou, China, 2019.9.19-22
- 3) Tajima G, Maeda Y, Fukao T. Clinical, biochemical and genetic pictures of propionic acidemia patients detected by neonatal screening in Japan. International Society for Neonatal Screening (ISNS) 10th International Symposium / 11th Asia Pacific Regional Meeting, Hangzhou, China, 2019.9.19-22
- 4) Hara K, Okada S, Aisaki J, Tajima G. Screening of MCAD deficiency in Japan: 18-years' experience of enzymatic and genetic evaluation. International Society for Neonatal Screening (ISNS) 10th International Symposium / 11th Asia Pacific Regional Meeting, Hangzhou, China, 2019.9.19-22
- 5) Shigematsu Y, Yuasa M, Sugisaka K, Hata I, Tajima G. A simple diagnostic test for carnitine-

palmitoyltransferase I deficiency using tandem mass spectrometer. International Society for Neonatal Screening (ISNS) 10th International Symposium / 11th Asia Pacific Regional Meeting, Hangzhou, China, 2019.9.19-22

- 6) Tajima G, Hara K, Tsumura M, Kagawa R, Utsunomiya A, Okada S, Yuasa M, Hata I, Shigematsu Y, Yamaguchi S. Neonatal screening for carnitine palmitoyltransferase II deficiency in Japan using (C16 + C18:1)/C2 and C14/C3. International Society for Neonatal Screening (ISNS) 10th International Symposium / 11th Asia Pacific Regional Meeting, Hangzhou, China, September 19-22, 2019.

(2) 国内学会講演・シンポジウム・招待講演・教育講演・特別講演

- 1) 但馬剛. マスクリーニング対象疾患の診断・治療の最近の話題. 第 122 回日本小児科学会学術集会, モーニング教育セミナー1 「はやくぼくをみつけて～早期スクリーニングの重要性」, 金沢市, 2019. 4. 20
- 2) 但馬剛. 先天代謝異常症の新生児マスクリーニング: 「ガスリー」から「タンデムマス」、さらに先へ. 第10回北海道先天代謝異常症研究会, 札幌市, 2019. 7. 6
- 3) 但馬剛. 先天代謝異常症の新生児マスクリーニング: 「ガスリー」から「タンデムマス」、さらに先へ. 第14回香川先天代謝異常症研究会, 高松市, 2019. 10. 11
- 4) 中島英規. 乾燥ろ紙血を含む血液検体による胆道閉鎖症スクリーニング系開発. 第46回日本マスクリーニング学会学術集会, シンポジウム3 「新生児マスクリーニングにおける胆道閉鎖症」, 那覇市, 2019. 11. 22
- 5) 但馬剛. 先天代謝異常症の新生児マスクリーニング: 「ガスリー」から「タンデムマス」、さらにその先へ. 第68回広島新生児研究会, 広島市, 2019. 12. 14

(3) 国内学会一般演題発表

22 題 (第 122 回日本小児科学会 6 題, 第 64 回日本人類遺伝学会 3 題,  
第 60 回日本先天代謝異常学会 7 題, 第 46 回日本マスクリーニング学会 6 題)

【研究費】

公的研究費 (研究代表者)

- 1) 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 研究代表者 但馬剛 (直接経費 8,400 千円, 間接経費 1,436 千円; 研究班全体) 「新生児マスクリーニング検査に関する疫学的・医療経済学的研究」
- 2) 日本医療研究開発機構 成育疾患克服等総合研究事業 研究開発代表者 但馬剛 (直接経費 3,500 千円, 間接経費 1,050 千円; 研究班全体) 「新生児マスクリーニング対象拡充の候補疾患を学術的観点から選定・評価するためのエビデンスに関する調査研究」
- 3) 成育医療研究開発費 研究代表者 中島英規 (直接経費 1,000 千円) 「便色による胆道閉鎖症関連疾患判定系精度管理体制構築検討研究」

公的研究費 (研究分担者)

- 1) 日本医療研究開発機構 難治性疾患実用化研究事業 研究開発分担者 但馬剛 (直接経費 600 千円, 間接経費 180 千円; 所属機関一括) 「新生児マスクリーニング対象疾患等の診療に直結するエビデンス創出研究」 (研究開発代表者: 深尾敏幸)
- 2) 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業 研究分担者 但馬剛 (直接経費 500 千円) 「先天代謝異常症の生涯にわたる診療支援を目指したガイドラインの作成・改訂および診療体制の

整備に向けた調査研究」(研究代表者 中村公俊)

【その他】

[研究・教育活動]

- 1) 但馬 剛：広島大学医学部客員准教授 小児科学(研究・講義・後進指導), 人類遺伝学(講義)

[学会等の活動]

- 1) 但馬 剛：日本マスクリーニング学会 理事・評議員 編集/精度保証システム/教育研修/将来計画/患者支援登録 各委員会委員
- 2) 但馬 剛：日本先天代謝異常学会 評議員 薬事/倫理・用語/診断基準・診療ガイドライン/患者登録 各委員会委員
- 3) 但馬 剛：日本医用マスペクトル学会 評議員
- 4) 中島 英規：日本医用マスペクトル学会 評議員

[医療・社会への貢献]

- 1) 但馬 剛：日本先天代謝異常学会(編), 新生児マスクリーニング対象疾患等診療ガイドライン 2019. 診断と治療社, 東京, 2019 (\*プロピオン酸血症・先天性門脈体循環シャントによる高ガラクトース血症のガイドライン作成、および有機酸代謝異常症各疾患ガイドラインの取りまとめを担当)
- 2) 但馬 剛：山口清次(編), よくわかる新生児マスクリーニング ガイドブック. 診断と治療社, 東京, 2019 (CPT1 欠損症・CPT2 欠損症・ガラクトース血症などの解説執筆を担当)
- 3) 但馬 剛：患者・家族向けの手引き資料「お子さんが CPT2 欠損症と診断されたご家族の皆さまへ」を作成(全国の主な小児医療機関 161 施設に配布/ウェブサイトに PDF 版を掲載 <http://nrichd.ncchd.go.jp/massscreening/original/reference.html>)
- 4)

[受賞]

該当案件なし

[倫理委員会承認研究課題]

承認日 2019. 2. 12 (受付番号 2055)

タンデムマス・スクリーニングの基準値設定におけるパーセントイル値の有用性に関する研究

承認日 2019. 12. 9 (受付番号 2019-058)

新生児マスクリーニングで発見された患児の登録と経過追跡に関する研究

## 【令和2年研究業績】

## 1. 誌上発表

## (1) 英文原著

- 1) Nakamura-Utsunomiya A, Nakamae T, Kagawa R, Karakawa S, Sakata S, Sakura F, Tani C, Matsubara Y, Ishino T, Tajima G, Okada S. A case report of a Japanese boy with Morquio A syndrome: effects of enzyme replacement therapy initiated at the age of 24 months. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 Feb 2;21(3). pii: E989.
- 2) Sawada T, Kido J, Yoshida S, Sugawara K, Momosaki K, Inoue T, Tajima G, Sawada H, Mastumoto S, Endo F, Hirose S, Nakamura K. Newborn screening for Fabry disease in the western region of Japan. *Molecular Genetics and Metabolism Report*. 2020 Jan 11;22:100562. doi: 10.1016/j.ymgmr.2019.100562
- 3) Hirashio S, Kagawa R, Tajima G, Masaki T. A classic variant of Fabry disease in a family with the M296I late-onset variant. *CEN Case Reports*. 2020 Sep 09. doi: 10.1007/s13730-020-00527-0

## (2) 和文総説

- 1) 山口清次, 但馬剛. 新生児マススクリーニングの全国標準化. 公衆衛生情報. 2020; 50(4): 10-12
- 2) 但馬剛, 原圭一, 宇都宮朱里, 香川礼子, 佐倉文祥. 有機酸代謝異常症. 小児科. 2020; 61(10): 1359-1364

## 2. 学会発表

## (1) 国内学会講演・シンポジウム・招待講演

- 1) 但馬剛. 拡大する新生児マススクリーニング：ガスリー法からタンデムマスの時代へ/新規候補疾患の現状と課題 - ファブリー病を例に. 第8回山口県新生児研究会, 山口市, 2020. 2. 13
- 2) 但馬剛. アミノ酸分析の結果の読み方. 第62回日本小児神経学会学術集会実践教育セミナー「先天性代謝疾患をどうやって診断するか」, 東京都(会場からのライブ配信), 2020. 8. 17
- 3) 伊藤健太郎, 但馬剛, 岡田賢, 中村秀文, 神里千賀子, 近藤寛史, 神田明, 永瀬弘之, 岩本充広, 関口幸子, 沼田幸伸, 辻真之介, 角田正代, 益田剛, 大西朗之, 小泉誠, 松尾雅文, 高石巨澄. 日本人好発変異を伴う糖原病 Ia 型に対する新規核酸医薬の創製研究. 第123回日本小児科学会学術集会, 総合シンポジウム4「小児未来医療」, 神戸市(会場からのライブ配信), 2020. 8. 22
- 4) 但馬剛, 長谷川有希, 湯浅光織, 佐倉文祥, 香川礼子, 宇都宮朱里, 原圭一: タンデムマス・スクリーニングで発見される軽症例への対応. 第47回日本マススクリーニング学会, シンポジウム2「タンデムマス・スクリーニングの問題点」, 岐阜市(オンライン開催), 2020. 9. 25
- 5) 但馬剛. 拡大する新生児マススクリーニング：ガスリーからタンデムマスへ/新規候補疾患の現状と課題. 第227回大阪小児科学会, 大阪市(会場からのライブ配信), 2020. 9. 27
- 6) 但馬剛. ファブリー病診断の難しさ：他のライソゾーム病との比較から. JCR 先天代謝セミナー in 広島 web 講演会, 広島市(会場開催+ライブ配信), 2020. 10. 5

## (2) 国内学会一般演題発表

9題 (第123回日本小児科学会4題, 第47回日本マススクリーニング学会5題)

## 【研究費】

## 公的研究費 (研究代表者)

- 1) 日本医療研究開発機構 成育疾患克服等総合研究事業 研究開発代表者 但馬剛 (直接経費 5,600 千)

円、間接経費 1,680 千円；研究班全体) 「新生児マスクリーニング対象拡充のための疾患選定基準の確立」

- 2) 成育医療研究開発費 主任研究者 但馬剛 (直接経費 1,620 千円；研究班全体) 「自治体の枠を超えた新生児マスクリーニングの標準化・効率化に関する研究」

#### 公的研究費 (研究分担者)

- 1) 日本医療研究開発機構 難治性疾患実用化研究事業 研究開発分担者 但馬剛 (直接経費 450 千円, 間接経費 135 千円) 「難プラ標準レジストリーを使用し、新生児マスクリーニング対象疾患等の遺伝子変異を考慮したガイドライン改定に向けたエビデンス創出研究」 (研究開発代表者：笹井英雄)
- 2) 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業 研究分担者 但馬剛 (600 千円) 「新生児スクリーニング対象疾患等の先天代謝異常症における生涯にわたる診療体制の整備に関する研究」 (研究代表者 中村公俊)

#### 私的研究費 (研究代表者)

- 1) 積水メディカル株式会社 共同研究費 研究責任者 中島英規 (直接経費 385 千円, 間接経費 115 千円) 「乾燥ろ紙血液を用いた胆道閉鎖症およびその他の新生児胆汁うっ滞症のマスクリーニング法の測定法開発のための研究」

#### 【その他】

##### [研究・教育活動]

- 1) 但馬 剛：広島大学医学部客員准教授 小児科学 (研究・講義・後進指導), 人類遺伝学 (講義)

##### [学会等の活動]

- 1) 但馬 剛：日本マスクリーニング学会 理事・評議員 総務委員会 委員長, 編集/精度保証システム/教育研修/将来計画/患者支援登録 各委員会委員
- 2) 但馬 剛：日本先天代謝異常学会 評議員 薬事/倫理・用語/診断基準・診療ガイドライン/患者登録 各委員会委員
- 3) 但馬 剛：日本小児科学会 小児慢性特定疾病委員会 委員 (日本先天代謝異常学会代表)
- 4) 但馬 剛：日本医用マスペクトル学会 評議員
- 5) 中島 英規：日本医用マスペクトル学会 評議員

##### [医療・社会への貢献]

- 1) 中島葉子, 但馬 剛：メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症. 日本小児医療保健協議会(四者協) 治療用ミルク安定供給委員会(編), 特殊ミルク治療ガイドブック. 診断と治療社, 東京, 2020; p.36-41

##### [倫理委員会承認研究課題]

承認日 2020. 11. 16 (受付番号 2020-205)

新生児マスクリーニングで発見された患児の登録と経過追跡に関する研究



承認日 2020.12.8 (受付番号 2020-233)

心筋症・QT 延長症候群におけるプロピオン酸血症罹患状況の調査