

タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニング結果 (2014年度)

手塚美智子 太田 優 斎藤翔太 花井潤師
宮田 淳*1 長尾雅悦*2 田中藤樹*2 小杉山清隆*3

要 旨

2014年4月から2015年3月までの1年間において新生児マス・スクリーニングを受検した16,465件について、代謝異常症23疾患を対象としたタンデム質量分析計による検査を実施した。検査の結果、7名を精査とし、うち1名がシトルリン欠損症、1名がプロピオン酸血症と診断された。

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、代謝異常症23疾患を対象としたタンデム質量分析計による検査（以下、「タンデムマス検査」という）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⁾。タンデムマス・スクリーニングでは、従来からの新生児マス・スクリーニング対象疾患であるアミノ酸代謝異常症3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）に加え、新たに20種類以上の代謝異常症の検査が可能である。2010年8月からは、対象疾患を23種類に選定し、タンデムマス・スクリーニングを新生児マス・スクリーニング事業に組み込み、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、2014年4月から2015年3月までの1年間におけるタンデムマス・スクリーニングの検査成績について報告する。

2. 方法及び対象

検査方法は既報²⁾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（以下、「申込書」という）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³⁾。

3. 結 果

3-1 受検者数

2014年4月から2015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16,465件で、そのすべてがタンデムマス検査を受検した。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、15,720件(95.5%)であった。

3-2 検査結果

2014年度におけるタンデムマス・スクリーニングの検査結果を表1にまとめた。

アミノ酸代謝異常症における初回陽性数は8例で、最終的に要精密検査となったのは3例であった。シトルリン血症及びシトルリン欠損症については、2014年5月まではシトルリン(Cit)を、2014年6月以降はCit/血中全アミノ酸(Cit/AA)値を指標として用いた。

*1 前衛生研究所長 *2 国立病院機構北海道医療センター小児科 *3 手稲溪仁会病院小児科

有機酸代謝異常症における初回陽性数は 16 例で、要精密検査数は 2 例であった。プロピオン酸血症及びメチルマロン酸血症については、2014 年 5 月までは C3/C2 のみを指標として用いていたが、2014

年 6 月以降は C3 アシルカルニチンを新たに指標として追加した。

脂肪酸代謝異常症における初回陽性数は 19 例で、要精密検査数は 2 例であった。

表 1 2014 年度タンデムマス・スクリーニング検査結果

| | 指標 | カットオフ値 | 疑い疾患名 | 初回陽性数* 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 | 2 | 1 (1) |
| | Cit (~2014.5) | ≥40 μM | シトルリン血症 シトルリン欠損症 | 1 | 0 |
| | Cit/AA (2014.6~) | ≥0.025 | シトルリン血症 シトルリン欠損症 | 5 | 2 |
| | 小計 | | | 8 | 3 (1) |
| 有機酸 代謝異常症 | C3/C2 (~2014.5) | ≥0.25 | プロピオン酸血症 メチルマロン酸血症 | 2 | 0 |
| | C3/C2 かつ C3(2014.6~) | ≥0.25 ≥4,000 nM | プロピオン酸血症 メチルマロン酸血症 | 10 | 1 (1) |
| | C5 | ≥1,000 nM | イソ吉草酸血症 | 4* ² | 0 |
| | C5-OH | ≥1,000 nM | マルチプルカルボキシラーゼ 欠損症 他 | 0 | 1 |
| | 小計 | | | 16 | 2 (1) |
| 脂肪酸 代謝異常症 | C0 | ≤9,000 nM | カルニチントランスポータ 欠損症 | 6 | 0 |
| | C8 かつ C10 | ≥300 nM ≥500 nM | グルタル酸尿症 2 型 | 7 | 1 |
| | C14:1 かつ C14:1/C2 | ≥400 nM ≥0.013 | 極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症 | 6 | 0 |
| | C0/(C16+C18) | ≥100 | カルニチンパルミトイル トランスフェラーゼ I 欠損症 | 0 | 1 |
| | 小計 | | | 19 | 2 |
| 合計 | | | | 43* ² | 7 (2) |

*¹ 低体重児の再検査による陽性例と初回要精査例を含む *² 抗生剤による偽陽性 2 例を含む

Phe; phenylalanine Cit; citrulline

C0; free carnitine C2; acetylcarnitine C3; propionylcarnitine C5; isovalerylcarnitine C5-OH; 3-hydroxyisovalerylcarnitine
C8; octanoylcarnitine C10; decanoylcarnitine C14:1; tetradecenoylcarnitine C16; hexadecanoylcarnitine
C18; octadecanoylcarnitine

3-3 要精密検査例の詳細とその後

要精密検査例 7 例について、表 2 にまとめた。

症例①は、再検査時に C6~C10 アシルカルニチンの全般的な高値が認められたため、グルタル酸尿症

II型を疑い精査とした。C6～C10 アシルカルニチン軽度高値のままフォロー継続中であるが、無症状のまま良好に経過している。

症例②はシトルリン血症及びシトリン欠損症の指標として 2014 年 6 月に新しく導入した指標 Cit/AA による初めての精査例である。検査時に Cit は正常値であったものの、Cit/AA 高値が持続したためシトリン欠損症を疑い精査とした。遺伝子検査の結果シトリン欠損症は否定されたが、現在も Cit/AA 及び Cit 微高値が持続しており、シトルリン血症を疑いフォロー継続中である。

症例③は、Cit/AA 及び Cit 高値のためシトルリン血症及びシトリン欠損症を疑い精査とし、遺伝子検査の結果シトリン欠損症と診断された。

症例④は、児の出生前にコンサルタント医より同胞が軽症プロピオン酸血症である旨の連絡があり、初回検査時に C3 アシルカルニチン及び C3/C2 の軽度高値が認められたため即精密検査としたケースである。遺伝子検査の結果、同胞と同じく軽症プロピオン酸血症と診断されたが、無症状のまま良好に発達している。

表 2 2014 年度の要精密検査例の詳細について

| 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 | 3,106g | グルタル酸尿症 II 型 | C8 ; 0.41 μ M C10 ; 0.75 μ M (5d ; 2,790g) | ②C8 ; 0.61 μ M C10 ; 1.01 μ M(11d ; 2,940g) | 一過性 C8,C10 高値 |
| ② | 3,000g | シトルリン血症 シトリン欠損症 | Cit/AA ; 0.029 (5d ; 2,740g) | ②Cit/AA ; 0.034(19d ; 3,440g) | シトルリン血症 疑い |
| ③ | 3,268g | シトルリン血症 シトリン欠損症 | Cit/AA ; 0.059 Cit ; 74.5 μ M (5d ; 3,268g) | ②Cit/AA ; 0.073 Cit ; 217.8 μ M (15d ; 525g) | シトリン欠損症 |
| ④ | 2,960g | プロピオン酸血症 メチルマロン酸血症 | C3 ; 7.4 μ M C3/C2 ; 0.33 (4d ; 2,815g) | | プロピオン酸 血症 |
| ⑤ | 2,732g | カルニチンパルミトイル トランスフェラーゼ I 欠損症 | C0/(C16+C18) ; 5.3 C0 ; 16.1 μ M (4d ; 2,624g) | ②C0/(C16+C18) ; 9.5 C0 ; 11.6 μ M(18d ; 2,996g) ③C0/(C16+C18) ; 153.5 C0 ; 118.9 μ M(59d ; 3,440g) | ダウン症、肝不全 一過性異常骨髄 増殖症 |
| ⑥ | 3,934g | フェニルケトン尿症 | Phe ; 159.4 μ M (5d ; 3,872g) | | 良性高フェニル アラニン血症 |
| ⑦ | 414g | 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸尿症 マルチプロカルボキシラーゼ欠損症 3-メチルクロトニルグリシン尿症 | C5-OH ; 0.4 μ M (20d ; 424g) | ②C5-OH ; 0.9 μ M(104d ; 1,498g) ③C5-OH ; 1.2 μ M(154d ; 2,480g) | 異常なし |

症例⑤は初回検査時ガラクトース高値、2 回目検査時 C0 低値で要再採血判定となった。その後、投

薬によるカルニチンの補充が開始され、3 回目の検査時には C0/(C16+C18) 及び C0 が著名高値となり精

査としたが、一連の児の検査結果には児の基礎疾患や入院先の医療機関における投薬が影響を与えていると考えられた。入院先の主治医とコンサルタント医によるフォローの結果、肝不全からの回復及びカルニチンの投薬中止後の生後 136 日での検査結果に異常は認められず、フォロー終了となった。

症例⑥は、初回検査時に Phe 高値かつ同胞が高フェニルアラニン血症であったため、即精密検査としたケースである。遺伝子検査の結果、同胞と同じく高フェニルアラニン血症と診断され、無症状のまま良好に経過している。

症例⑦は超低体重出生児であり、日齢を重ねるにつれて C5-OH アシルカルニチンが上昇し、精査となった。低体重出生児は再検査時に C5-OH アシルカルニチン高値が遷延するケースがあるため、代謝異常疾患の除外のためのフォロー検査で尿中有機酸分析を行ったところ、代謝異常症は否定された。

4. 考 察

4-1 タンデムマス検査の指標の変更について

(1) シトルリン血症及びシトルリン欠損症

シトルリン血症の患児は新生児マス・スクリーニ

ングで Cit 著名高値となるため、Cit を指標とすることで発見可能である。一方、シトルリン欠損症の患児は Phe、Met、Gal 等が高値を示すことで発見される場合があるが、その発見率は 50%程度であり⁴⁾、また、発症時にほとんどのケースで Cit 高値となるものの、未発症の新生児期には Cit 正常値であることが多く⁵⁾、従来指標では発見が困難な疾患であった。札幌市では 2005 年の検査開始当初より、Cit を両疾患における共通の指標として用いてきたが、2014 年度までにタンデムマス・スクリーニングによるシトルリン欠損症の発見例は無かった。近年になって、血中アミノ酸に対する Cit 濃度の相対的高値、すなわち Cit/血中全アミノ酸 (Cit/AA) 値がシトルリン欠損症の指標として有効であるという報告が上がったことから⁶⁾、2011~2013 年度における Cit 高値偽陽性例と 2005 年度以降の要精査例における Cit 及び Cit/AA の初回検査結果を図 1 にまとめたところ、指標を Cit/AA に変更することで、シトルリン血症及びシトルリン欠損症の一部の患者を発見可能であり、かつ偽陽性例を大幅に軽減できる可能性が示唆されたことから、2014 年 6 月からは Cit/AA を指標として導入することとした。

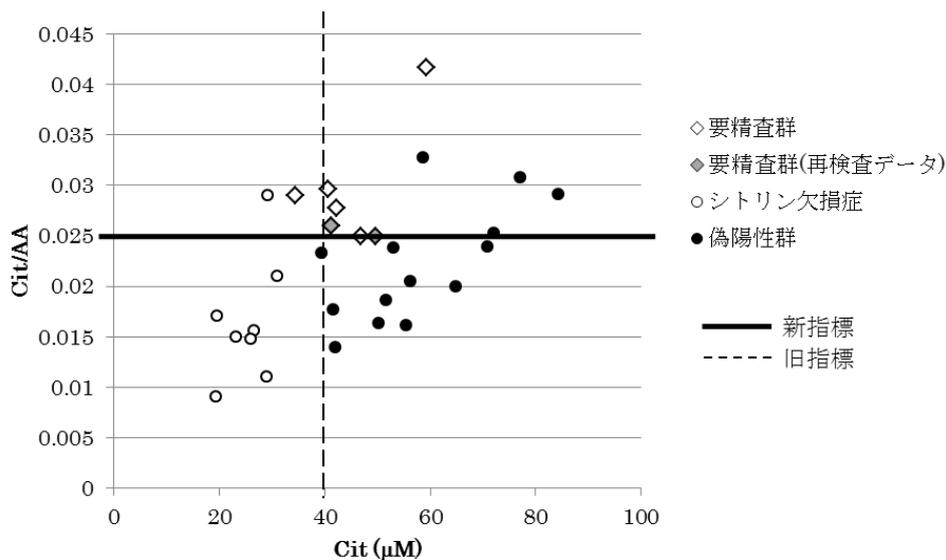


図 1 要精査群と偽陽性群における Cit 及び Cit/AA の分布

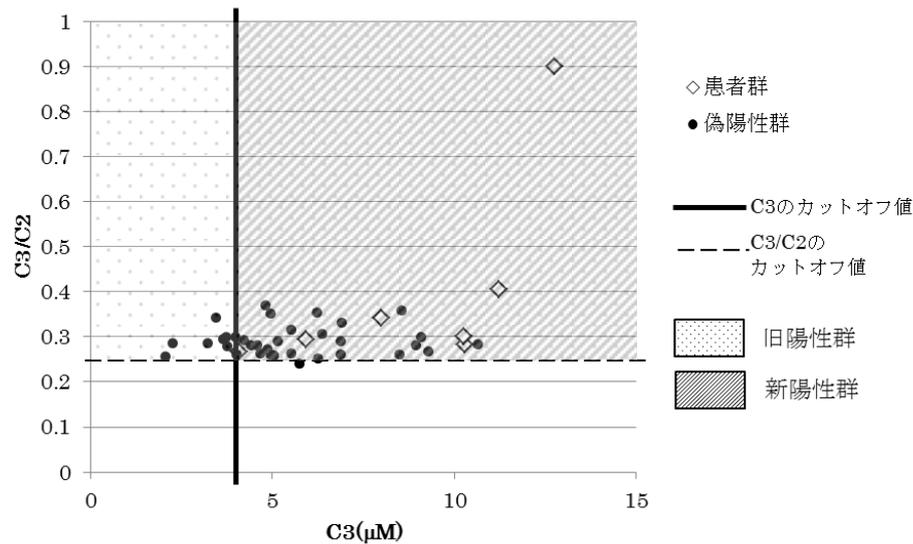


図2 日齢4～6における患者群と偽陽性群のC3及びC3/C2の分布

(2) プロピオン酸血症及びメチルマロン酸血症

プロピオン酸血症及びメチルマロン酸血症の患児はC3及びC3/C2が上昇することが知られているが、札幌市では、C3の血中濃度が採血日齢によって変動することを考慮し⁷⁾、2014年5月までC3/C2のみを指標として用いてきた。しかし、全国すべてにタンデムマス・スクリーニングが普及する中で、C3及びC3/C2を指標として併用する施設が多いことから、2005年度以降の札幌市における発見患者例と偽陽性例の初回検査結果を図2にまとめたところ、C3を指標に追加することで25%程度の偽陽性例を軽減できる可能性が示唆された。

4-2 検査成績について

2014年度のタンデムマス・スクリーニングにおける再検査数は43件(再検査率0.26%)であった。Cit/AA高値による偽陽性例はわずか3例で、Citを指標としていた昨年度の11例に比べ大幅に減少した。また、タンデムマス・スクリーニング開始以降初めてとなる新生児期のシトリン欠損症患児を発見した。初回検査結果は旧指標のCit、新指標のCit/AAのどちらを用いても陽性となるケースであったが、新指標が有効に機能していることが示唆された。一方、C3/C2高値で陽性となった12例(プロピオン酸血症患者1例、偽陽性11例)はすべて

C3も高値であり、2014年度は偽陽性例の減少にはつながらなかった。

5. 結 語

2014年度のタンデムマス・スクリーニングでは、シトリン欠損症1例、プロピオン酸血症1例の合計2例の患児を発見した。シトリン欠損症については、札幌市でタンデムマス・スクリーニングを開始して以降初となる発見例であった。また、プロピオン酸血症の患児は、児の出生前からコンサルタント医と連携することで早期に患児をフォローへとつなげることができた。さらに、タンデムマス・スクリーニング対象疾患23疾患には含まれないものの、良性高フェニルアラニン血症の1例についても、コンサルタントとの情報交換で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早期のフォロー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つつ、スクリーニング受検者の負担を減らせるよう精度の良いスクリーニングの実施に努めたい。

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) 野町祥介, 仲島知美, 櫻田美樹 他: タンデム質量分析計による非誘導体化アミノ酸・アシルカルニチンの一斉分析ー現行ブチル誘導体化法との比較ー, 札幌市衛生研究所報, **34**, 37-47, 2007
- 3) 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
- 4) Ohura, T., Kobayashi, K., Tazawa, Y. et al : Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD), J. Inherit. Metab. Dis., **30**(2), 139-144, 2007
- 5) Tamamori, A., Fujimoto, A., Okano, Y. et al : Effects of citrin deficiency in the perinatal period: feasibility of newborn mass screening for citrin deficiency, Pediatrics, **56**(4), 608-614, 2004
- 6) 重富浩子, 田中藤樹, 森井麻祐子 他: シトリン欠損症の新たな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**(2), 80, 2014
- 7) 野町祥介, 雨瀧由佳, 花井潤師 他: 血中フリーカルニチン・アシルカルニチンの採血日齢との関連性について, 日本マス・スクリーニング学会誌, **20**(1), 21-26, 2010