

# 新生児マススクリーニング代謝異常症検査結果 (2022 年度)

和田光祐 石川貴雄 齋藤大雅 吉永美和 野町祥介 三上 篤  
伊藤 智 長尾雅悦\*1 田中藤樹\*1 小杉山清隆\*2

## 1. 緒 言

札幌市では、2005 年 4 月に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り多成分同時分析を可能と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<sup>1)</sup>。2010 年 8 月からは、従前から検査を行っていたガラクトース血症と併せて代謝異常症検査の対象疾患を 24 疾患まで増やし、札幌市の母子保健事業として現在に至るまで継続して実施している。

今回は、2022 年度の 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

### 2-1 新生児マススクリーニングについて

検査方法は既報<sup>2-4)</sup>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<sup>5)</sup>。

### 2-2 ホモシスチン尿症 (HCU) の各病型に対応した HCU スクリーニングについて

#### (1) HCU II 型、III 型のスクリーニング新規指標導入

#### について(2022 年 4 月 1 日開始)

ホモシスチン尿症(HCU)には、メチオニン(Met)代謝経路のうち、イオウ転移経路の障害を示す I 型の他、再メチル化経路の障害を示す II 型、III 型の病型が存在する<sup>6)</sup>。詳細は図 1 のとおり。

これまでの新生児マススクリーニングでは、Met の上昇を指標に I 型を対象疾患としているが、Met 上昇を伴わない II 型、III 型については対象とされていない。

しかし、近年になって II 型、III 型のスクリーニングに適用できる指標が提案されており<sup>7)</sup>、コンサルタント医の意見も踏まえ、2017 年度から 2020 年度までの初回検体 59,646 検体の測定値分布等から、表 1 に示した指標を 2022 年度から導入することとした。

HCU II 型の指標は、コバラミン代謝の障害による Met の低下と、Cb1C の異常によるプロピオニルカルニチン(以下;C3)の上昇を踏まえて C3/Met とし、1 次検査のカットオフ値を 0.32 としたうえ、高値側を 2 次検査の対象とすることとした。

HCU III 型の指標は、葉酸代謝の障害による Met の低下を踏まえて Met のみとし、1 次検査のカットオフ値を 7 $\mu$ M としたうえ、低値側を 2 次検査の対象とすることとした。

#### (2) HCU I 型のスクリーニング新規指標導入について(2022 年 10 月 1 日開始)

HCU I 型は、従前から新生児マススクリーニング対象疾患であるが、Met 上昇が軽度のため、新生児マススクリーニングでは正常判定となってしまう

\*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

例が知られている<sup>8)</sup>。当該指標についても、近年になって、フェニルアラニン(Phe)との比を用いることで、より精度の高い検査が可能であるとされており<sup>9)</sup>、コンサルタント医の意見を踏まえ、2017年度から2021年度までの初回検体73,377検体の測定値分布から、1次検査カットオフ値を、従来の「Met>50 $\mu$ M」に「Met>40 $\mu$ MかつMet/Phe>0.75」を加えたものとする事とした。

当該指標は、まず、Metの軽度上昇も捉えられるようMetカットオフ値を低下させたものであるが、Met単独指標では、同時に特異度が低下し、偽陽性発生頻度が上昇することが危惧された。そこで、Met代謝経路に関与しないPheとの比率も組み合わせ、相対的Met高値を示すものを検出することとした。これにより、特異度を保ちつつ検査感度の上昇が見込まれ、偽陰性発生頻度の低下が期待できる。また、従来の指標である「Met>50 $\mu$ M」は、当面の間、併用することとした。

### (3) HCUスクリーニングの2次検査について

Met低値指標については、哺乳不良等に起因する非特異的なアミノ酸低値を検出する恐れがあった。

HCUの全病型において総ホモシステイン(tHcy)の上昇が認められるため、(1)(2)の指標を超過した場合に、2次検査としてタンデムマス法によるtHcyの測定<sup>10)</sup>を行うこととした。

既報<sup>10)</sup>において、新生児検体200件の測定によりtHcyの平均値(mean)=3.4 $\mu$ M、標準偏差値(SD)=0.9が得られていたことから、コンサルタント医と相談のうえ、+6SDに相当する「tHcy>9 $\mu$ M」をカットオフ値とし、超過した場合は、その疑い病型に応じて再採血もしくは要精密検査判定とすることとした。

## 3. 結 果

### 3-1 受検者数

2022年4月から2023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12,659件で、その全てがタンデムマス・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、12,121件(95.8%)であった。

### 3-2 検査結果

2022年度における代謝異常症検査結果を表2にまとめた。

アミノ酸代謝異常症における要再採血数は11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、6例はイソ吉草酸血症疑いによるものであり、うち4例に母のピボキシル基含有抗生剤使用歴があった。要精密検査数は1例で、メチルマロン酸血症またはプロピオン酸血症の疑い例であった。

脂肪酸代謝異常症における要再採血数は16例で、うち10例がフリーカルニチン値低値によるカルニチントランスポート異常症疑いによるものであった。要精密検査数は1例で、極長鎖アシル-CoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症の疑い例であった。

ガラクトース血症検査における要再採血数は5例であった。

### 3-3 要精密検査例の詳細とその後

要精密検査例2例について、表3にまとめた。

症例①はC3、C3/C2(C2:アセチルカルニチン)が初回検査と再採血検査で継続してカットオフ値を超えた例である。その後、精密検査受検時の札幌市マススクリーニング関連疾患依頼検査(以下「依頼検査」という。)(日齢20)においてもカットオフ値超過が継続した。

尿中有機酸分析では3-ヒドロキシプロピオン酸、メチルクエン酸、メチルマロン酸が検出されたが、いずれも当該疾患の典型例を疑うような高値ではなかった。

当該例においては、後の遺伝子検査によって、プロピオン酸血症の責任遺伝子であるPCCB遺伝子にY435C及びD293Nの複合ヘテロ変異が確認された。なお、D293Nについては新規変異であった。もう一方のY435C変異は日本人の軽症型で高頻度に報告される変異であるが<sup>6)</sup>、診療ガイドライン上の最軽

症型の定義である Y435C 変異のホモ接合体<sup>8)</sup>ではなく、新規変異が認められたことから、軽症型プロピオン酸血症を念頭に現在も慎重にフォローされている。

症例②は C14:1 (テトラデセノイルカルニチン) 及び C14:1/C2 がカットオフ値を大きく超過し、特に C14:1 は即精査値として内部運用している 1.0 $\mu$ M を超えたため、初回検査の結果から要精密検査判定となった例である。対象児は結果判明の翌日に精密検査担当医療機関を受診した。精密検査受検時(日齢 8) の検体においては同指標ともやや低下したものの、高値が継続していた。

当該例は、後の遺伝子検査によって、本疾患の責任遺伝子である ACADVL 遺伝子に M478I 変異をヘテロに同定した。また、脂肪酸酸化能低下があり、これにより遅発の骨格筋型 VLCAD との確定診断に至った。

### 3-4 HCU スクリーニングについて

タンデムマス検査のうち、HCU に関する 2022 年度の測定データを表 4 に、1 次検査結果を表 5 にまとめた。また、2 次検査結果を表 6 にまとめた。

「Met>50 $\mu$ M」の 1 次検査カットオフ値を超過した検体数は 5 件で、その超過率は 0.04%であった。

「Met>40 $\mu$ M かつ Met/Phe>0.75」の 1 次検査カットオフ値を超過した検体数は 7 件で、その超過率は 0.12%であった。なお、指標導入時の推定超過率は 0.06%であった。

「C3/Met>0.32」の 1 次検査カットオフ値を超過した検体数は 21 件で、その超過率は 0.17%であった。なお、指標導入時の推定超過率は 0.09%であった。

「Met<7 $\mu$ M」の 1 次検査カットオフ値を超過した検体数は 10 件で、その超過率は 0.08%であった。なお、指標導入時の推定超過率は 0.09%であった。

以上、Met に関連する全指標合計で 1 次検査カットオフ値を超過した検体数は 40 件で、超過率は 0.32%であった。

当該 40 件について 2 次検査を実施したが、2 次

検査カットオフ値「tHcy>9 $\mu$ M」を超過した検体はなかった。

なお、既存指標である「Met>50 $\mu$ M」を超過した場合は tHcy 値にかかわらず再採血判定としているが、当該 5 件を再採血判定としたところ、再採血の検査結果はいずれも正常であった。HCU 疑いによる再採血例はこの 5 例のみで、再採血率は 0.04%であった。

## 4. 考 察

### 4-1 検査結果全般

2022 年度の代謝異常症検査における要再採血数は 46 例(要再採血率 0.36%)であり、要精密検査数は 2 例(要精密検査率 0.02%)であった。

要再採血率、要精密検査率共に昨年と比して微減(昨年度要再採血率 0.43%、要精密検査率 0.07%)した。今後も再採血率の推移を注視し、検査精度と各指標における再採血率の検証を行っていきたい。

### 4-2 即精密検査判定とした VLCAD 欠損症の患者例について

当該児は日齢 4 で採血した検体が日齢 7 で当所に到着し、当日中に即精密検査判定となり、日齢 8 に精密検査を受診することができた。

VLCAD 欠損症は、診療ガイドライン<sup>8)</sup>上では、「発症前型」「新生児期発症型」「乳幼児期発症型」「遅発型(骨格筋型)」の 4 つの病型に大別されている。本例は骨格筋型と診断されており、この病型は、学童期以降に横紋筋融解やミオパチーといった筋症状を主要な症状として発症する軽症型<sup>8)</sup>とされている。しかし、VLCAD 欠損症では、軽症例であっても低血糖発作による意識障害、けいれん等の症状<sup>8)</sup>も認められる場合があることから、本例を新生児マススクリーニングにより早期診断に結び付けることができた意義は大きい。

また、3-3 で既述した通り、本例の精査受診時(日齢 8) に採血した検体による検査においては、当該疾患の指標物質である C14:1 が引き続きカットオフ値を超過していることを確認できた一方で、その

測定値は、新生児マススクリーニング時よりも低下していた。VLCAD 欠損症の患者には、出生後徐々に C14:1 が低下し、やがて検査値が正常化してしまう症例が存在することが知られているが<sup>11)</sup>、本例も、再検査による偽陰性を防ぐために、早い段階で精密検査受診に繋げることが重要であることを示唆するものであった。

#### 4-3 HCU スクリーニングについて

1次検査カットオフ値の超過率が想定よりも上下している部分は見受けられるが、直ちにカットオフ値の見直しを要するほどの超過率ではないと考えられるため、現行カットオフ値で運用を継続し、超過率を注視していきたい。

また、1次検査全体のカットオフ値超過率が0.32%であったのに対し、HCU 疑いで再採血判定となった検体は5件で再採血率は0.04%であった。新規指標については、2次検査での tHcy 測定により、再採血率を抑えることができたと推察される。2017年度から2021年度までの直近5年間の再採血率平均0.02%と比べるとやや高めであるが、全て従前から運用されている指標を超過した例であり、現時点まで再採血率の増加を避けられていることを踏まえて、今後も推移を注視していきたい。

HCU スクリーニングのための新規指標を導入してまだ1年であること、HCU のわが国での患者発見頻度は約80万人に1人<sup>6)</sup>とされていること等から、今後もデータを蓄積し、改善を図ることが求められると考える。HCU スクリーニングの確立を目指し、全国的な実施等の一助となるよう努めたい。

#### 5. 結 語

2022年度の代謝異常症検査の結果、軽症型プロピオン酸血症1例と極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症 (VLCAD 欠損症) 1例を見出した。いずれも精密検査受診を経てフォローされており、早期治療に繋げることができた。

また、HCU の全病型に対応した新規指標を導入し、HCU の新規スクリーニングを開始した。

今後も適正かつ柔軟な対応ができるよう検査体制を整備し、コンサルタント医との緊密な連携体制を維持しながら本事業を継続していきたい。

#### 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) 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
- 6) 山口清次 編: よくわかる新生児マススクリーニングガイドブック (初版), 32-33, 60-61, 82-83, 154-157, 株式会社診断と治療社, 2019
- 7) 香川礼子, 但馬剛, 前田堂子 他: 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, **29**(1), 51-56, 2019
- 8) 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, 35-42, 127-138, 195-206, 株式会社診断と治療社, 2019

9) Martina Huemer, Viktor Kožich, Piero Rinaldo et al : Newborn screening for homocystinurias and methylation disorders: systematic review and proposed guidelines, J. Inherit. Metab. Dis., 38, 1007-1019, 2015

10) 吉永美和, 石川貴雄, 手塚美智子 他 : 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

11) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀 他 : 経過中血液ろ紙分析でカットオフ値を下回った極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症の 2 例 : 血清分析の必要性, 日本マス・スクリーニング学会誌, 19 (3), 255-258, 2009

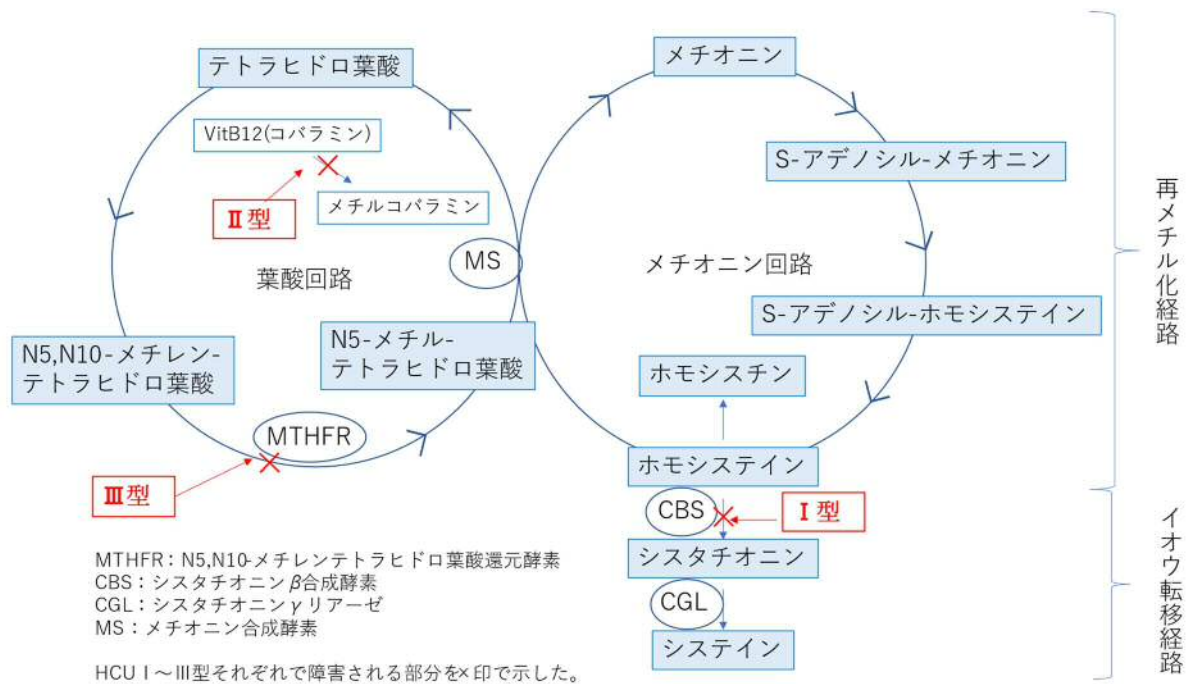


図1 メチオニン代謝経路

表1 HCUの各病型に対応した新規指標の導入

| 対象      | 1次検査指標・カットオフ値                | 2次検査指標・カットオフ値   | 適用時期         |
|---------|------------------------------|-----------------|--------------|
| II型     | C3/Met > 0.32                | tHcy > 9μM      | 2022.4~      |
| III型    | Met < 7μM                    | tHcy > 9μM      | 2022.4~      |
| I型      | Met > 40μM かつ Met/Phe > 0.75 | tHcy > 9μM      | 2022.10~     |
| I型 (参考) | Met > 50μM                   | (参考として tHcy 測定) | 既存指標 (上記と併存) |

表2 2022年度新生児マススクリーニング代謝異常症検査結果

| 項目                   | 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<br>(うち初回要精査数) |
|----------------------|----------------|----------------------------|---|---------------------|----------------------|
| アミノ酸<br>代謝異常症        | Phe            | >120 μM                    | フェニルケトン尿症                               | 4*2*3               | 0                    |
|                      | Leu            | >350 μM                    | メープルシロップ尿症                              | 2*2                 | 0                    |
|                      | Met            | >50 μM                     | ホモシスチン尿症 I 型                            | 5*2*3               | 0                    |
|                      | Cit/AA         | >0.025                     | シトルリン血症 I 型<br>シトルリン欠損症                 | 3                   | 0                    |
|                      | 小計             |                            |   | 11*4*5              | 0                    |
| 有機酸<br>代謝異常症         | C3 かつ<br>C3/C2 | >0.4 μM<br>>0.25           | メチルマロン酸血症<br>プロピオン酸血症                   | 4                   | 1                    |
|                      | C5             | >1 μM                      | イソ吉草酸血症                                 | 6*6*7               | 0                    |
|                      | C5-DC          | >0.35 μM                   | グルタル酸尿症 I 型                             | 7*2*7*8             | 0                    |
|                      | 小計             |                            |   | 16*4*5              | 1                    |
|                      | 脂肪酸<br>代謝異常症   | C0                         | <8 μM                                   | カルニチントランスポータ<br>異常症 | 10                   |
| C8 かつ<br>C10         |                | >0.3 μM<br>>0.5 μM         | グルタル酸尿症 II 型                            | 5*8                 | 0                    |
| C14:1 かつ<br>C14:1/C2 |                | >0.4 μM<br>>0.013          | 極長鎖アシル-CoA<br>脱水素酵素欠損症                  | 1                   | 1(1)                 |
| 小計                   |                |                            | 16*5                                    | 1(1)                |                      |
| 糖<br>代謝異常症           |                | Gal<br>Gal-1-P<br>TR<br>EP | >6.0mg/dL<br>>18.0mg/dL<br>活性無し<br>活性無し | ガラクトース血症            | 5                    |
| 合計                   |                |                            |   | 46*9                | 2(1)                 |

\*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。 \*2 うち1例は Phe 高値かつ Leu 高値かつ Met 高値かつ C5-DC 高値。 \*3 うち1例は Phe 高値かつ Met 高値。 \*4 同一人が同一項目内複数指標で要再採血判定の場合1と計上。 \*5 同一人が項目の異なる複数指標で要再採血判定となった場合それぞれの項目に計上。 \*6 うち4例で母のピボキシル基含有抗生剤の使用歴あり。 \*7 うち1例は C5 高値かつ C5-DC 高値。 \*8 うち1例は C5-DC 高値かつ C8,C10 高値。 \*9 小計間を跨ぐ複数指標で要再採血判定となった場合1と計上。

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-DC ; glutarylcarnitine. C8 ; octanoylcarnitine. C10 ; decanoylcarnitine. C14:1 ; tetradecenoylcarnitine. Gal ; galactose. Gal-1-P ; galactose-1-phosphate. TR ; galactose-1-phosphate-uridylyltransferase. EP ; uridine di-phosphate-galactose-4-epimerase.

表3 2022年度要精密検査例の詳細

| 症例 | 出生時<br>体重 | 疑い疾患名                               | 初回検査値<br>(採血日齢；体重)                                   | 再検査値<br>(採血日齢；体重)                              | 診断結果<br>(精密検査時依頼検査測定値<br>及び日齢)                                   |
|----|-----------|-------------------------------------|--|--|--|
| ①  | 3,176g    | メチルマロン酸血症<br>プロピオン酸血症               | C3；7.595 $\mu$ M<br>C3/C2；0.29<br>(5d；3,208g)        | C3；5.688 $\mu$ M<br>C3/C2；0.34<br>(13d；3,298g) | 軽症型プロピオン酸血症<br>C3；4.526 $\mu$ M,<br>C3/C2；0.37<br>(20d)          |
| ②  | 3,408g    | 極長鎖アシル-CoA 脱<br>水素酵素 (VLCAD)<br>欠損症 | C14:1；1.408 $\mu$ M<br>C14:1/C2；0.084<br>(4d；3,248g) | —  | 骨格筋型 VLCAD 欠損症<br>C14:1；0.447 $\mu$ M,<br>C14:1/C2；0.049<br>(8d) |

表4 HCU スクリーニング新規指標に関する検査結果

|                      | Met     | C3/Met | Met/Phe <sup>※1</sup> |
|----------------------|---------|--------|-----------------------|
| 検体数(件) <sup>※2</sup> | 12,659  | 12,659 | 12,659                |
| 平均値( $\mu$ M)        | 20.0    | 0.099  | 0.449                 |
| 標準偏差                 | 5.2     | 0.044  | 0.118                 |
| 最小値( $\mu$ M)        | 4.6     | 0.014  | 0.101                 |
| 最大値( $\mu$ M)        | 95.0    | 0.553  | 1.258                 |
| 0.1%tile             | 7.4     | 0.025  | 0.155                 |
| 1%tile               | 9.6     | 0.034  | 0.218                 |
| 99%tile              | 33.6    | 0.242  | 0.756                 |
| 99.9%tile            | 41.3    | 0.355  | 0.892                 |
| cut off( $\mu$ M)    | 7 or 40 | 0.32   | 0.75                  |

※1 Met/Phe 指標導入は10月1日受付検体からだが、平均値等は4月1日受付分から算出した。

※2 初回検体数を示す。

表 5 HCU スクリーニング 1 次検査結果

| カットオフ値                        | Met > 50 $\mu$ M | Met > 40 $\mu$ M かつ<br>Met/Phe > 0.75 <sup>※2</sup> | C3/Met > 0.32 | Met < 7 $\mu$ M | 合計 <sup>※4</sup> |
|-------------------------------|------------------|---|---------------|-----------------|------------------|
| 期間内検体数 <sup>※1</sup>          | 12,659           | 6,054   | 12,659        | 12,659          | 12,659           |
| 1 次カットオフ値超過検体数 <sup>※3</sup>  | 5                | 7   | 21            | 10              | 40               |
| 1 次カットオフ値超過率(%)               | 0.04             | 0.12  | 0.17          | 0.08            | 0.32             |
| 新規指標導入時推定の<br>1 次カットオフ値超過率(%) | —                | 0.06  | 0.09          | 0.09            | —                |

※1 初回検体数を示す。

※2 指標導入が 10 月 1 日受付以降検体のため、期間内検体数が異なる。

※3 複数カットオフ値を同時に超過した検体については、それぞれに計上している。

※4 ※3 の複数カットオフ値超過検体をまとめた 2 次検査実施検体数を示す。

表 6 HCU スクリーニング 2 次検査結果及び再採血率等

|                     |                  |              |      |
|---------------------|------------------|--------------|------|
| カットオフ値              | tHcy > 9 $\mu$ M | HCU 疑い再採血判定数 | 5    |
| 期間内検体数              | 40               | 再採血率(%)      | 0.04 |
| 2 次カットオフ値<br>超過検体数  | 0                | HCU 疑い精査判定数  | —    |
| 2 次カットオフ値<br>超過率(%) | —                | 精査率          | —    |