

## 新生児マススクリーニング代謝異常症検査結果 (2018年度)

石川貴雄 手塚美智子 吉永美和 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

2018年4月から2019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15,038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、6名を要精密検査とし、うち1名が良性高フェニルアラニン血症、1名が軽症型シトルリン血症I型、1名が3-メチルクロトニルグリシン尿症、1名がカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼII欠損症と診断された。

### 1. 結 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<sup>1)</sup>。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、2018年4月から2019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。

また、本稿におけるカットオフ値及び測定値については、乾燥ろ紙血より得られた全血による値を示す。

### 2. 方法及び対象

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<sup>5)</sup>。

また、2016年10月以降の非誘導体化法による測定値分布及び要再採血数を鑑みて、グルタル酸尿症I型指標であるC5-DCアシルカルニチンのカットオフ値を表1のとおり変更した(4-2にて詳述)。

なお、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼII(CPT2)欠損症がタンデムマス法の一次対象疾患とされたことと併せ、日本マススクリーニング学会から高い検査精度が得られる指標が提示された。

札幌市においては同疾患を従来対象疾患としていたが、これを受けて表2のとおり指標及びそのカットオフ値を変更した(4-3にて詳述)。

表1 C5-DC指標カットオフ値

	指標	カットオフ値
変更前	C5-DC	≥0.25 μM
変更後	C5-DC	≥0.35 μM

\*1 国立病院機構北海道医療センター小児科 \*2 北海道大学病院小児科

表 2 CPT2 欠損症変更指標及びカットオフ値

	指標	カットオフ値
変更前	C16	$\geq 3.0 \mu\text{M}$
	(C16+C18:1)/C2	$\geq 0.62$
変更後	C14/C3	$\geq 0.48$
	(C16+C18:1)/C2	$\geq 0.40$

### 3. 結 果

#### 3-1 受検者数

2018年4月から2019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15,038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、14,466件(96.2%)であった。

#### 3-2 検査結果

2018年度における代謝異常症検査結果を表3にまとめた。

アミノ酸代謝異常症における要再採血数は14例で、要精密検査数は3例であった。なお、精密検査例のうち1例は初回検査の結果、即精密検査とした。

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1例であった。要再採血例のうち、9例がC5-DCを指標とするグルタル酸尿症1型疑いによるものであった。また、2例はイソ吉草酸血症疑いによるものであったが、母のピボキシル基を有する抗生物質の使用が確認され、再採血の結果正常判定となった。C5-OHアシルカルニチン高値による再採血は1例であったが、当該例は低出生体重児であり、初回検査結果正常の後にC5-OHアシルカルニチンが上昇した例であった。また、C5-OHアシルカルニチン指標については、1例を後述のとおり即精密検査とした。

脂肪酸代謝異常症における要再採血数は24例で、うち9例がカルニチントランスポート欠損症疑いによるものであり、10例が極長鎖アシル CoA 脱水

素酵素欠損症疑いによるものであった。要精密検査数は1例であり、初回検査の結果より即精密検査とした。

ガラクトース血症検査の要再採血数は9例で、要精密検査数は1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6例について、表4にまとめた。

症例①は、初回検査及び再検査時共にPheがカットオフ値を超えたため、フェニルケトン尿症疑いとして精密検査とした例である。

その後依頼検査によるフォローにおいては概ねカットオフ値を下回る傾向にあった。また、正常発達を示し、良性高フェニルアラニン血症と診断された。

症例②は初回検査時にCit及びCit/AA比の著明高値を認め、特にCit値によりシトルリン血症I型及びシトルリン欠損症を疑い、即精密検査とした例である。その後のフォローにおいても現時点まで同指標は高値で持続している。当該児について遺伝子検査を実施したところ、ASS遺伝子にp.V18F/p.R304Wの変異が同定された。なお、p.R304W変異は既報<sup>7)</sup>のものであるが、p.V18F変異は新規のものである。この遺伝子変異及びこれまでのCit値の経過より、軽症型シトルリン血症I型と診断された。

症例③は、初回検査及び再検査時共にMetがカットオフ値を超えたため、ホモシスチン尿症疑いとして精密検査とした例である。その後の依頼検査でのホモシステイン測定によりホモシスチン尿症は否定され、経過観察によってMet値がカットオフ値を下回り、正常発達も見られることから、一過性高メチオニン血症と診断された。

症例④は、初回検査においてC5-OHアシルカルニチンが著明高値のため精密検査とした例である。また、当該例については同時に当係依頼検査における履歴及びコンサルタント医との連携により、兄が北海道のスクリーニングにおいて同指標の精密検査判定となり、3-メチルクロトニルグリシン尿症

と診断されていたことが判明した。その後当該児の尿中有機酸分析において 3-メチルクロトニルグリシンを検出した。児の兄の遺伝子変異はヘテロのみ同定され、同疾患については生化学的に診断されており、当該児についても同様に生化学的及び家族歴から 3-メチルクロトニルグリシン尿症と診断された。

症例⑤は、初回検査において(C16+C18:1)/C2 比及び C14/C3 比がカットオフ値を大きく上回り、CPT2 欠損症等疑いとして精密検査とした例である。同疾患判定に要する指標及びカットオフ値は 2018 年度より変更されていたが、検出した数値は旧指標及びカットオフ値においても陽性判定となる数値であった。当該児は連絡時出生病院において長引く黄疸のため入退院を 3 回繰り返していたところであった。その後遺伝子検査により CPT2 遺伝子に p. E174K/c. 1737delC の複合ヘテロ変異が認められ、2 変異とも報告されている変異であるため、CPT2 欠損症と診断された。当該児の生育は順調であり、本市での出産は里帰り出産であったため、現在は市外医療機関にフォローが引き継がれている。なお、同疾患については市内初の発見例である。

症例⑥は TR, EP 酵素活性正常であるものの、初回検査及び再検査時共に Gal 著明高値のため精密検査とした例である。当該児は乳糖除去を行いながらフォローされており、Gal はカットオフ値付近まで低下している。現在も GALM 欠損症疑いを筆頭として原因疾患の検索中である。なお、GALM 欠損症についてはこれまでのガラクトース血症 I～III 型の病因とは異なる酵素の遺伝子変異が原因として 2018 年に新たに報告された<sup>6)</sup>。

## 4. 考 察

### 4-1 検査結果全般

2018 年度の代謝異常検査における要再採血数は 61 例(要再採血率 0.41%)であり、要精密検査数は 6 例(要精密検査率 0.04%)であった。

精密検査例(症例④)については、当所における

依頼検査例の積み重ね及びコンサルタント医との連携が十全に活用された事例と考えられた。

### 4-2 C5-DC アシルカルニチンカットオフ値変更

グルタル酸尿症 I 型の指標として用いている C5-DC アシルカルニチンのカットオフ値については、2016 年 10 月の測定機器変更及び非誘導体化法への測定法変更に伴い検討を行った際に設定したものである。

測定機器変更時点においては測定値の分散(SD)が平均値に比して大きく(平均値  $0.087 \mu\text{M}$ 、SD  $0.045$ )、カットオフ値は安全側として低め ( $0.25 \mu\text{M}$ 、平均値+3.62 SD) に設定していた。

しかし、その後 1 万件以上の検査結果の再評価を行ったところ、分散が小さくなった(平均値  $0.096$ 、SD  $0.040$ )。これは測定値が安定してきたことを示すと考えられたため、表 1 のとおりカットオフ値を変更することとした。

なお、変更後のカットオフ値は平均値+6.35 SD で示される。全国その他施設における当該指標のカットオフ値は  $0.15 \mu\text{M}$ ～ $0.35 \mu\text{M}$  の間であり、また、平均値+ (2.67～11.07 SD) の間で示されるが、その平均は平均値+6.37 SD であり、当所の変更後のカットオフ値と同様の値であると考えられた。

今後も各疾患指標に設定しているカットオフ値が適正であるかは常に検討していきたいと考えている。

### 4-3 CPT2 欠損症等指標及びカットオフ値変更

CPT2 欠損症は検査精度上の課題から、新生児マススクリーニングの二次対象疾患とされてきた。しかし、タンデムマス法により発見可能な疾患が原因となった乳幼児突然死事例を収集したところ、20 例中 15 例が同疾患によるものであったこと、高い検査精度が得られる指標が開発されたことを踏まえ、一次対象疾患に追加された(厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長通知 平成 29 年 7 月 7 日付雇児母発 0707 第 2 号)。

同疾患に対する指標及びカットオフ値については日本マススクリーニング学会の推奨として、指標を(C16+C18:1)/C2比及びC14/C3比のアンド判定とすること、カットオフ値を各検査施設の測定値分布の99.9%値とすることが挙げられた。

札幌市としては従前より同疾患を対象疾患としてきたものの、当該通知等により2018年4月より表2のとおり指標及びカットオフ値を推奨のものとする事とした。

指標変更後、3-3症例⑤に示すとおり、CPT2欠損症患者を発見した。当該児のタンデムマス検査における測定値は表5に示すとおりであり、当所における新指標カットオフ値が有効に機能しているものと考えられた。

## 5. 結 語

2018年度の代謝異常症検査の結果、良性高フェニルアラニン血症1例、軽症型シトルリン血症I型1例、3-メチルクロトニルグリシン尿症1例、CPT2欠損症1例の合計4例の患者を発見し、またガラクトース血症1例が診断中である。

今後も適正なカットオフ値の検討や、コンサルタント医との緊密な連携体制の維持など十分に配慮を行いながら事業を実施していきたい。

## 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) Yoichi Wada, Atsuo Kikuchi, Natsuko Arai-Ichinoi, Osamu Sakamoto et al : Biallelic GALM pathogenic variants cause a novel type of galactosemia, Genet. med. **21**, 1286-1294, 2019
- 7) K Kobayashi, M J Jackson, D B Tick, W E O'Brien et al : Heterogeneity of mutations in argininosuccinate synthetase causing human citrullinemia, J. Biol. Chem. **265**(19), 11361-11367, 1990

表3 2018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 (うち初回要精密検査数)
アミノ酸 代謝異常症	Phe	≧120 μM	フェニルケトン尿症	6*2,3	1
	Leu	≧350 μM	メープルシロップ尿症	4*3	0
	Met	≧50 μM	ホモシスチン尿症	7*2,3	1
	Cit/AA	≧0.025	シトルリン血症1型 シトルリン欠損症	2	1(1)
	小計			14*4	3(1)
有機酸 代謝異常症	C3 かつ C3/C2	≧4.0 μM ≧0.25	メチルマロン酸血症 プロピオン酸血症	4	0
	C5	≧1.0 μM	イソ吉草酸血症	2*5	0
	C5-OH	≧1.0 μM	マルチプルカルボキシ ラーゼ欠損症 他	1	1(1)
	C5-DC	≧0.35 μM	グルタル酸尿症1型	9*2,6	0
	小計			16	1(1)
脂肪酸 代謝異常症	C0	≧8.0 μM	カルニチントランスポータ 欠損症	9	0
	C8 かつ C10	≧0.3 μM ≧0.5 μM	グルタル酸尿症2型	4*6	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	10	0
	C14/C3 かつ (C16+C18:1)/C2	≧0.48 ≧0.40	カルニチンパルミトイルトラ ンスフェラーゼII欠損症 他	1	1(1)
	小計			24	1(1)
糖 代謝異常症	Gal Gal-1-P TR EP	≧6.0 mg/dL ≧18.0 mg/dL 活性無し 活性無し	ガラクトース血症	9	1
合計				61*7	6(3)

\*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1例はPhe高値かつMet高値、1例は初回Met高値かつC5-DC高値、2回目採血Met高値かつPhe高値 \*3 うち1例はLeu, Val高値かつMet高値、1例はLeu, Val高値かつPhe高値かつMet高値 \*4 複数指標で要再採血判定となった場合1と計上する \*5 2例とも母の抗生物質使用あり \*6 うち1例はC5-DC高値かつC8, C10高値 \*7 小計間をまたぐ複数指標で要再採血判定となった場合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; glutarylcarnitine C8; octanoylcarnitine C10; decanoylcarnitine C14; tetradecanoylcarnitine C14:1; tetradecenoylcarnitine C16; palmitoylcarnitine C18:1; octadecanoylcarnitine Gal; galactose Gal-1-P; galactose-1-phosphate TR; galactose-1-phosphate-uridylyltransferase EP; uridine di-phosphate-galactose-4-epimerase

表 4 2018 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	3,480g	フェニルケトン尿症	Phe；151.6 μM (6d；3,420g)	Phe；140.8 μM (16d；3,710g)	良性高フェニルアラニン血症
②	2,814g	シトルリン血症 1 型 シトルリン欠損症	Cit/AA；0.153 Cit；381.5 μM (5d；2,596g)	—	軽症型シトルリン血症 1 型 ASS 遺伝子 p.V18F/p.R304W
③	2,836g	ホモシスチン尿症	Met；57.6 μM (4d；2,786g)	Met；79.1 μM (13d；3,272g)	一過性高メチオニン血症
④	2,692g	マルチプルカルボキシ ラーゼ欠損症 他	C5-OH；6.4 μM (5d；2,510g)	—	3-メチルクロトニルグリシン 尿症
⑤	3,506g	カルニチンパルミトイ ルトランスフェラーゼ II 欠損症 他	(C16+C18:1)/C2；4.60 C14/C3；8.39 (4d；3,422g)	—	カルニチンパルミトイルトラン スフェラーゼ II 欠損症 CPT2 遺伝子 p.E174K/c.1737delC 複合ヘテロ変異
⑥	3,036g	ガラクトース血症	Gal；25.0 mg/dL Gal-1-P；0.4 mg/dL TR EP 活性あり (5d；2,838g)	Gal；32.7 mg/dL Gal-1-P；<0.1 mg/dL TR EP 活性あり (14d；3,048g)	ガラクトース血症 (GALM 欠損症疑い)

表 5 CPT2 欠損症患者測定結果

指標	測定値	カットオフ値 (変更前)	カットオフ値 (変更後)
C16	17.8 μM	≥ 3.0 μM	—
(C16+C18:1)/C2	4.60	≥ 0.62	≥ 0.40
C14/C3	8.39	—	≥ 0.48