

新生児マススクリーニング代謝異常症検査結果 (2020年度)

石川貴雄 吉永美和 和田光祐 野町祥介 細海伸仁
山口 亮 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、2020年4月から2021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²⁻⁴⁾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⁾。

また、CPT2欠損症の指標について2018年4月から2020年1月の測定値分布より当該指標の再評価を行い、2020年度よりカットオフ値を表1のとおり変更した。

表1 CPT2欠損症指標カットオフ値

指標	カットオフ値	
	(変更前)	(変更後)
(C16+C18:1)/C2	0.4	0.38
C14/C3	0.48	0.41

3. 結 果

3-1 受検者数

2020年4月から2021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13,910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、13,438件(96.6%)であった。

3-2 検査結果

2020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9例で、要精密検査数は3例であった。要精密検査例のうち、2例はフェニルケトン尿症疑いによるものであり、1例はアルギニノコハク酸尿症疑いであった。なお、後者については初回検査の結果、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14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があった。要精密検査例はプロピオン酸血症またはメチルマ

*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

ロン酸血症疑いによるものであった。

脂肪酸代謝異常症における要再採血数は 12 例で、うち 7 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タ欠損症疑いによるものであった。

ガラクトース血症検査の要再採血数は 8 例であった。要精密検査数は 2 例であり、うち 1 例を初回検査の結果をもって即精密検査とした。

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 2 にまとめた。

症例①は、Phe 値が継続してカットオフ値を超えていたため、フェニルケトン尿症疑いとして精密検査判定とした例である。なお、本件については測定値がカットオフ値近傍であったため、1 か月健診の際 3 回目採血を実施した。その後、精密検査時（日齢 42）の札幌市マスキング関連疾患依頼検査（以下「依頼検査」という。）による Phe 値も僅かにカットオフ値超過が認められた。本例についてはフェニルアラニン水酸化酵素遺伝子に R53H ヘテロ変異が確認されており、現在軽症型フェニルケトン尿症疑いとしてフォローされている。

症例②も Phe 値が継続してカットオフ値を超え、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。当該例についても Phe 値の推移から 1 か月健診時に 3 回目採血を実施した。本例は精密検査時（日齢 45）の依頼検査では Phe 値がカットオフ値を下回っていた。本例についてはプテリジン分析、ジヒドロプテリジン還元酵素（DHPR）活性測定結果が正常であり、軽症高フェニルアラニン血症と診断された。

症例③は、初回検査時に ASA 値がカットオフ値を超過した。ASA 値がカットオフ値を超過した例は当所において初の事例（3-4 及び 4-2 で詳述）であったため、コンサルタント医と相談の上、初回検査結果をもって即精密検査とした。精密検査時（日齢 12）の依頼検査においても ASA 値は高値であった。その後アルギニノコハク酸リアーゼ遺伝子に V178M 及び Y375C の変異が確認され、遺伝学的にアルギニノ

コハク酸尿症と診断された。なお、児の発達は正常であり、現在のところ極軽症型と考えられている。

症例④については初回、2 回目採血の検査において C3 アシルカルニチン値及び C3/C2 比がカットオフ値を超過し、精密検査とした。精密検査受診時（日齢 15）の依頼検査においても同指標高値は継続していた。なお、ろ紙血検体のホモシステイン測定ではホモシステインは高値検出されなかった。尿中有機酸分析では 3-ヒドロキシプロピオン酸、メチルクエン酸が高値検出されたのに比して、メチルマロン酸は高値検出されなかった。このことからプロピオン酸血症が疑われた。後の遺伝子検査によってプロピオニル CoA カルボキシラーゼβサブユニット（PCCB）遺伝子に Y435C 及び A468P の複合ヘテロ変異が確認され、プロピオン酸血症と診断された。

症例⑤は初回検査にてガラクトース-1-リン酸（Gal-1-P）の値が高値を示した。二次検査として実施した UDP-ガラクトース 4' エピメラーゼ（EP）活性測定において活性が確認されなかったため、即精密検査とした。精密検査時（日齢 13）の依頼検査においても Gal-1-P 高値は継続していた。児に臨床症状は認められず、末梢型のガラクトース血症Ⅲ型と診断された。

症例⑥は双胎第 2 子として出生した児で、初回検査検体は採血時体重 1,619 g の低出生体重児の検体として送付されていた。初回検査においてカットオフ値超過は認められなかったが、その後低体重出生児の採血指針⁶⁾による再採血検体（日齢 40）の検査においてガラクトースが高値を示した。日齢が進んでいたこともあり、コンサルタント医へ相談の上、精密検査とした。精密検査時（日齢 47）の依頼検査においても Gal 値は高値となっていた。また、同時に行ったタンデムマス検査において Met 値（35.7 μM）、Arg 値（60.2 μM）、Cit 値（27.2 μM）等が高値傾向にあった。これによりシトリン欠損症等も疑われ、遺伝子検査が施行されたが、関連遺伝子（SLC25A13、ASS、ASL）は正常であった。現在門脈体循環シャント疑いとしてフォロー中である。

3-4 当所で初となった ASA のカットオフ値超過事例 (表 2 症例③)

症例③の初回検体は出生体重 3,218 g、日齢 5、採血時体重 3,030 g、哺乳状況良好の検体として受け付けた。タンデムマス検査を実施したところ、ASA 値がカットオフ値を超過していた。測定不良等の可能性を排除するため、検体複数個所からサンプリングして再測定を行ったが、いずれも再現性良く高値を示した。また、旧測定法である誘導体化法による測定も実施し、高値であることを確認した。

当所新生児マススクリーニングにおける ASA 測定値のヒストグラム(集計期間は非誘導体化法導入後である 2017 年 4 月 1 日～2021 年 3 月 31 日、n=59,480、機器不調時のデータ 166 件は除く)を図 1 に示した。ASA のカットオフ値 $0.5 \mu\text{M}$ を超過した事例は症例③のみであった。

症例③のアルギニノコハク酸尿症関連指標の測定結果を表 3 に示した。また、新生児平均値等及び参考値として当所にてフォローしているアルギニノコハク酸尿症患者の最新測定値 (23 歳時点採血ろ紙) も併せて示した。症例③については ASA 値が新生児平均値の 10 倍程度の高値を示しているものの、Cit 値の上昇、Arg 値の低下というアルギニノコハク酸尿症の特徴は顕著には認められなかった。また、症例③の ASA 値は参考としたフォロー患者測定値の 1/10 程度の値であった。

これらより当所で経験のない事例であったため、コンサルタント医に相談の上、初回検査結果を以て要精密検査判定とした。

日齢 12 の精密検査時には、全身状態は良好とのことであった。精密検査時のタンデムマス検査では表 3 のとおり初回検査同様 ASA 値が高値であった。また、尿中オロト酸測定の結果 (表 4)、オロト酸は高値検出されなかった。同様に尿中有機酸分析においてもオロト酸、ウラシルの排泄増多は認められなかった。

4. 考 察

4-1 検査結果全般

2020 年度の代謝異常症検査における要再採血数は 43 例 (要再採血率 0.31%) であり、要精密検査数は 6 例 (要精密検査率 0.04%) であった。

要再採血率、要精密検査率共に大きな変動は無かった。

再採血事例では C5 高値による再採血例が 9 例と前年度 4 例 (うち 2 例に母の抗生剤使用あり) に比して高くなった。いずれの例も測定値はカットオフ値近傍 ($1.0 \mu\text{M}$ ～ $1.3 \mu\text{M}$) であり、検体情報では児への抗生剤使用が「無」として送付されていた。確認のため採血医療機関へ問合わせしたところ、4 例で出産に伴い母にピボキシル基含有抗生剤を適用していたことが判明し、母から児への影響が考えられた。いずれも再採血結果で正常判定となっており、今後とも当該指標と抗生剤の関係については注視していきたい。

4-2 当所で初となった ASA のカットオフ値超過事例 (表 2 症例③)

アルギニノコハク酸尿症は尿素回路異常症の一つであり、アルギニノコハク酸をアルギニンとフマル酸に分解するアルギニノコハク酸リアーゼ (ASL) の障害を原因とする。患者では ASL の活性低下により尿中に ASA が大量に排出され、血中では ASA、Cit が上昇し、Arg が低下する。また、尿中のオロト酸、ウラシルの排泄増加が認められる場合もある。臨床症状は主に尿素回路の異常による高アンモニア血症によって生じ、重症型から無症候性のものまで幅があるとされる⁷⁾。

新生児マススクリーニングではアルギニノコハク酸尿症の疑い判別の指標として、中等度 (50 ～ $300 \mu\text{M}$) に増加する Cit 値を用いることが多い⁸⁾。当所でも Cit を測定しているが、アルギニノコハク酸尿症の疑い判別には ASA 値を用いている。

症例③は ASA 値が上昇しているものの、Cit 値の著明な上昇等が認められず、ASA 値の上昇度合いも新生児平均の 10 倍程度、参考としたフォロー患者測定値の 1/10 程度であり、判断に苦慮した例であ

った。

タンデムマス検査に採用している内部標準物質のセットに ASA は含まれておらず、定量には Arg の内部標準物質の値を代用している。現在当所の検査系では Arg の感度及び S/N 比は良好であるが、ASA は感度及び S/N 比が高くなく、定量に用いる両者のシグナル値に開きがある。特に ASA はバックグラウンドノイズの影響を受けやすく、参考としたフォロー患者検体のように、典型的な患者検体は高値検出できるものの、血中濃度の低い通常の新生児検体についてはシグナル検出が困難な測定項目である。症例③の測定結果については、現行法の新誘導体化法でのシグナルがコンタミネーションやバックグラウンドノイズの影響等でないことを推定するため、カルボキシル基をブチル基修飾する誘導体化法も用いて測定した。観測するフラグメントイオンが異なる両方法にて高値を得たことから、バックグラウンドノイズやコンタミネーションによる別物質の誤検出の可能性は低いと考え、陽性検体と判断した。

本例は Cit 値からはアルギニノコハク酸尿症疑いと判定できなかつたと考えられる。これにより ASA 測定は同疾患の疑い判別に有用であると考えられた。ただし、新生児検体で得られる ASA シグナル値が低いため、今後感度増加の検討や、ノイズ増減の原因の検証等を行い、測定系の安定化を図り、同様のケースの発生に備えたい。

5. 結 語

2020 年度の代謝異常症検査の結果、軽症高フェニルアラニン血症 1 例、アルギニノコハク酸尿症 1 例、プロピオン酸血症 1 例、ガラクトース血症Ⅲ型 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。

今後も適正なカットオフ値の検討や測定系の改良、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) 日本小児内分泌学会, 日本マス・スクリーニング学会, 日本未熟児新生児学会: 新生児マス・スクリーニングにおける低出生体重児の採血時期に関する指針, 日本マス・スクリーニング学会誌, **16**, 6-7, 2006
- 7) 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 (改訂第 2 版), 67-92, 株式会社診断と治療社, 2019
- 8) 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), 38-41, 株式会社診断と治療社, 2019

表1 2020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
	Leu	≧350 μM	メープルシロップ尿症	1	0
	ASA	≧0.5 μM	アルギニノコハク酸尿症	0	1(1)
	Cit/AA	≧0.025	シトルリン血症1型 シトルリン欠損症	2	0
	小計			9	3(1)
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	3	1
	C5	≧1 μM	イソ吉草酸血症	9*2	0
	C5-DC	≧0.35 μM	グルタル酸尿症1型	2	0
	小計			14	1
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	7	0
	C8 かつ C10	≧0.3 μM ≧0.5 μM	グルタル酸尿症2型	4*3	0
	C14:1 かつ C14:1/C2	≧0.4 μM ≧0.013	極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症	2*3	0
	小計			12*4	0
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	8	2(1)
合計				43	6(2)

*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4例母のピボキシル基含有抗生剤使用あり

*3 うち1例はC8、C10高値かつC14:1、C14:1/C2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

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; 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 2 2020 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)	診断結果 (精密検査時依頼検査測定値,受診日齢)
①	2,595g	フェニルケトン尿症	Phe ; 127.1 μ M (4d ; 2,475 g)	2 回目採血 Phe ; 121.0 μ M (10d ; 2,614 g)	軽症型フェニルケトン 尿症疑い (Phe ; 125.7 μ M, 42d)
				3 回目採血 Phe ; 132.0 μ M (31d ; 3,554 g)	
②	2,732g	フェニルケトン尿症	Phe ; 135.5 μ M (5d ; 2,616 g)	2 回目採血 Phe ; 143.3 μ M (10d ; 2,888 g)	軽症高フェニルアラニ ン血症 (Phe ; 112.9 μ M, 45d)
				3 回目採血 Phe ; 127.7 μ M (38d ; 4,194 g)	
③	3,218g	アルギニノコハク酸 尿症	ASA ; 0.74 μ M (5d ; 3,030 g)	—	アルギニノコハク酸尿症 (ASA ; 0.74 μ M, 12d)
④	3,254g	メチルマロン酸血症 プロピオン酸血症	C3 ; 5.9 μ M C3/C2 ; 0.39 (4d ; 2,984 g)	C3 ; 7.1 μ M C3/C2 ; 0.70 (10d ; 3,120 g)	プロピオン酸血症 (C3 ; 6.7 μ M C3/C2 ; 0.77, 15d)
⑤	3,340g	ガラクトース血症	Gal ; 1.4 mg/dL Gal-1-P ; 36.1 mg/dL TR 活性あり EP 活性なし (5d ; 3,254 g)	—	ガラクトース血症Ⅲ型 (Gal ; 1.6 mg/dL Gal-1-P ; 39.0 mg/dL TR 活性あり EP 活性なし, 13d)
⑥	1,619g	ガラクトース血症	Gal ; 4.4 mg/dL Gal-1-P ; 11.1 mg/dL (8d ; 1,558 g) ※正常判定	Gal ; 16.5 mg/dL Gal-1-P ; 3.7 mg/dL TR,EP 活性あり (40d ; 2,540 g)	門脈体循環シャント疑い (Gal ; 16.1 mg/dL Gal-1-P ; 4.1 mg/dL TR, EP 活性あり, 47d)

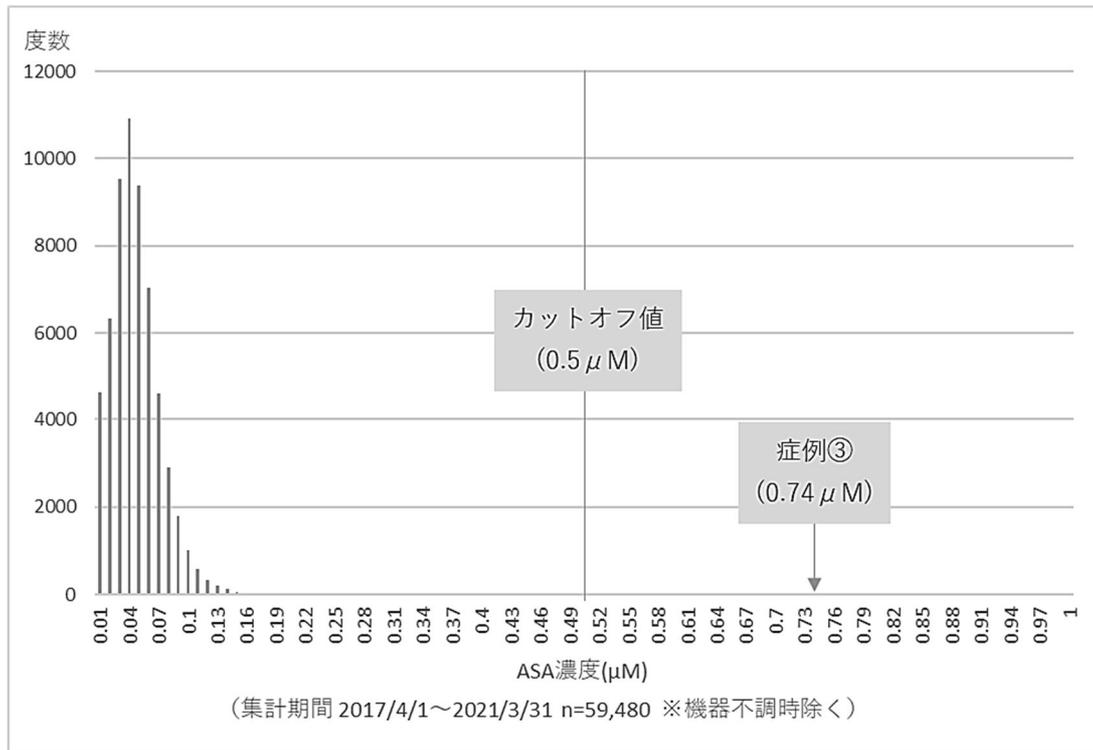


図1 新生児初回検体 ASA 値ヒストグラム

表3 症例③及び新生児平均値等のタンデムマス測定値比較

指標	ASA (μM)	Cit (μM)	Arg (μM)
症例③測定値 (初回検査時, 5d)	0.74	18.9	6.3
症例③測定値 (精密検査時, 12d)	0.74	29.6	7.2
新生児平均値(mean) 及び標準偏差値(SD)	Mean : 0.04 SD : 0.02	Mean : 11.2 SD : 3.2	Mean : 10.4 SD : 5.3
アルギニノコハク酸尿 症フォロー患者測定値 (参考値:23y)	10.20	129.5	9.8

表4 症例③尿中オロト酸測定値

	症例③ (精密検査時, 12d)	Normal control (n=34,1m-11y)
尿中オロト酸測定値 (μg/mmol Cre)	8.7	Mean: 25.2 SD: 14.3