

総説

タンデムマスを導入した新生児スクリーニングの新時代

山口 清 次

I. はじめに

小児保健の中で、乳幼児健診、予防接種および新生児マススクリーニングは、疾病予防を目的とした小児保健事業の3本柱である。このうち新生児マススクリーニングは、知らずに放置するとやがて障害の出てくるような先天性代謝疾患を発症前に見つけて治療して、障害を予防する事業である。わが国では昭和52年に始まり29年が経過した。この間少なくとも8,000人以上の小児が障害から救われたといわれている¹⁾²⁾。

新生児スクリーニングの検査法として開発された「ガスリーテスト」という用語は、いまや新生児スクリーニングの代名詞となっている。母子保健にかかわる人や、一般社会に浸透している。一方、数年前からタンデム型質量分析(タンデムマス)という検査技術が開発され、新生児スクリーニング領域に大きな変化をもたらそうとしている。近い将来「ガスリーテスト」から「タンデムマス」という用語に置き換えられるかもしれない。そこでタンデムマスによる新生児マススクリーニングについて述べたい。

II. ガスリーテストとタンデムマスのちがい

1) ガスリーテスト

ガスリーテストは1960年代に開発され、現在も行われているスクリーニング検査法である。図1に示すように、フェニルアラニンの代わりにチエニルアラニンの添加された培地に枯草菌を入れた寒天培地を使用する。このままの状態では枯草菌は増殖することができない。培地の上に血液ろ紙のパンチをおくと、パンチにフェ

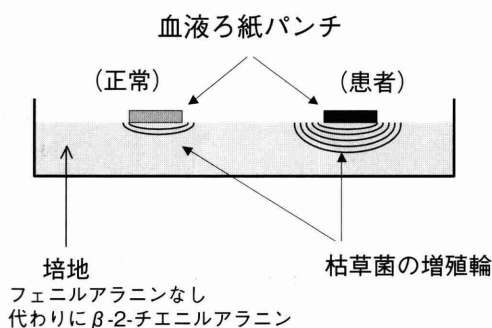


図1 ガスリーテストの原理

血液ろ紙パンチの中のフェニルアラニンの濃度に比例して枯草菌の増殖輪が大きくなることを利用している。

ニルアラニンが含まれているのでその周囲で枯草菌が増殖する。血液ろ紙に含まれるフェニルアラニンの量に比例して枯草菌の増殖輪は大きくなる。このようにしてフェニルアラニンの血中濃度の高い新生児が発見される³⁾。

同じ原理でフェニルアラニンをロイシンに置き換えればロイシン高値(すなわちメープルシロップ尿症)をスクリーニングできる。これをバイオアッセイと呼び、枯草菌の増殖輪の直径によって半定量する。あくまでも半定量によるスクリーニングであるので、偽陽性、偽陰性も少なからずある。

2) タンデムマス

タンデムマスとは質量分析計が直列に並んだ質量分析装置である。血液ろ紙からの抽出液の代謝産物を誘導体化(ブチルエステル化)して、オートサンプラーでタンデムマスに注入する。

図2に示すように、ESI法でイオン化された粒

島根大学医学部小児科

別刷請求先: 山口清次 島根大学医学部小児科 〒693-8501 島根県出雲市塩冶町89-1

Tel: 0853-20-2220 Fax: 0853-20-2215 E-mail: seiji.yam@med.shimane-u.ac.jp

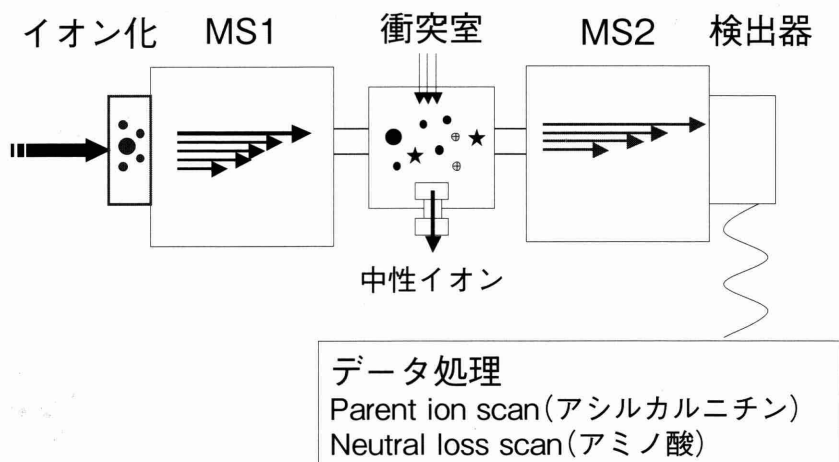


図2 タンデムマスの原理

MS1で質量分析して、衝突室でアルゴンガス分子に衝突してさらに断片化して、MS2でもう一度質量分析する。MS2に入ってきたイオンの親イオンをプロファイリングしてアシルカルニチン、アミノ酸を一斉に測定する。

子が第1マス (MS1) で質量スキャンされ、次いで粒子はCollision cell (衝突室) に充満しているアルゴンガスの粒子に衝突して一定の法則によって断片化が起こる。さらに次の第2マス (MS2) に入り質量スキャンされる⁴⁾。

アシルカルニチンが衝突室で断片化されるとき、カルニチン由来の m/z 85のフラグメントイオンを生成する。MS1でスキャンされた分子のうち、MS2で m/z 85の検出された分子イオンのプロファイルを描かせる。これを親イオンスキャン法といい、アシルカルニチンを選択的に高感度に測定することができる。図3に、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症のアシルカルニチンプロファイルを示している。

本症では3-ヒドロキシイソバレルカルニチン (C5-OHと表示) が上昇するので、スクリーニングできる。しかし分子量しかわからないので、異性体はわからない。C5-OHの上昇は、 β ケトチオラーゼ欠損症 (2-メチル-3-ヒドロキシブチリルカルニチン)、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸血症でも上昇がみられる。このような一部の疾患ではタンデムマススクリーニングの後、尿中有機酸分析などで鑑別診断が必要である。

アミノ酸の分子イオンは、衝突室で断片化したとき質量数102の中性分子を失う性質がある。

MS1とMS2を比較してMS1の分子イオンのうち、質量数102を失った分子をプロファイリングする。これによってアミノ酸が選択的に高感度に測定できる。これをニュートラルロススキャン法という。

3) タンデムマスのスクリーニング能力

タンデムマスでは、血液ろ紙のパンチ一つを用いた1回の分析で20種類以上の疾患をスクリーニングできる。分析時間は検体あたり2～3分で、1日300～400検体の分析が可能であり、年間少なくとも5万検体の処理が可能である。さらにガスリーテストと比較して、ランニングコストは同程度で、感度の面でもすぐれ、偽陰性、偽陽性は1ケタ少ないといわれている。こうした利点から、タンデムマスは最近ガスリーテストに代わって世界的に普及しつつあり、わが国でも近い将来に導入されるであろう。

Ⅲ. タンデムマスによる新生児マススクリーニングの対象疾患

1) スクリーニング対象疾患の要件

公的事業として行うスクリーニングの対象疾患には一定の要件がある⁵⁾。表1に示すように、a) 一定頻度の疾患、b) 再現性のある検査法が用意されること、c) 非侵襲的な検査である

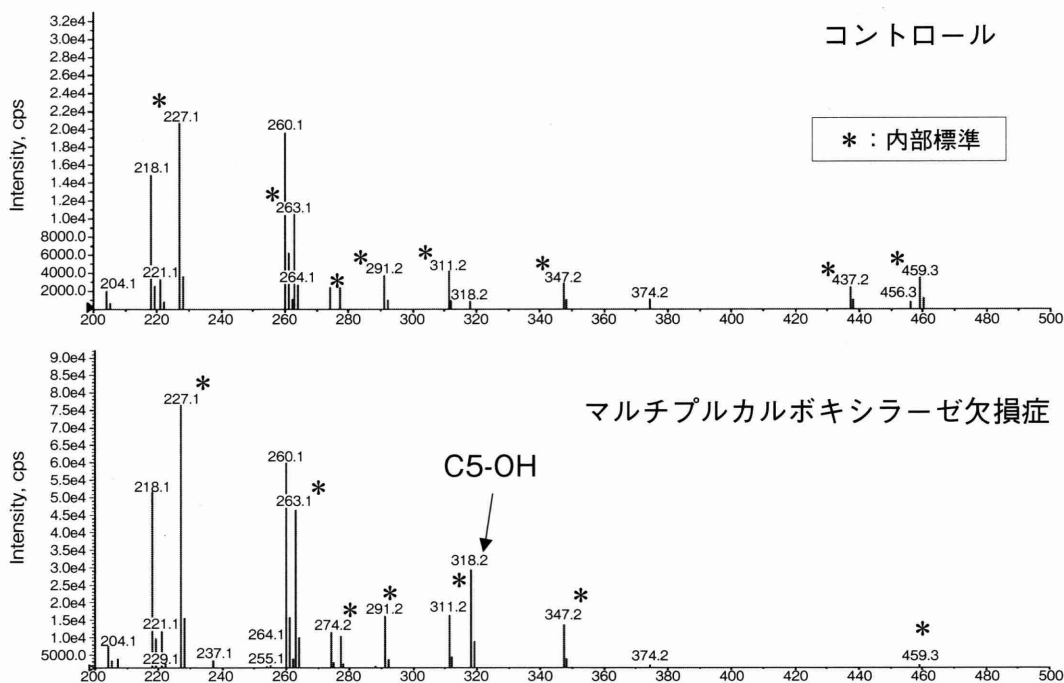


図3 タンデムマスによるアシルカルニチンプロフィール

上段：コントロールの血液ろ紙の分析。下段：マルチプルカルボキシラーゼ欠損症患者。* = 安定同位体でラベルした内部標準物質。下段の患者では，C5-OH（ヒドロキシバレリルカルニチン）に相当するアシルカルニチンの上昇がみられる。

こと，d) 検査コストが安価なこと，e) 有効な治療法のあること，f) 発症前診断が可能なことなどがあげられる。

2) 現行の新生児スクリーニング対象疾患

現行スクリーニングの対象疾患は，表2の左に示すように6疾患である。このうちアミノ酸代謝異常は3疾患である（PKU，メープルシロップ尿症MSUD，ホモシスチン尿症）。これらの3疾患をガスリーテストでスクリーニングされているが，3種類のプレートを使用しなければならない。しかし例えばMSUDの場合，発見頻度は約50万人に1人の頻度で，年間3名程度しか発見されないという計算になり，疾患頻度という点から問題となる。

3) タンデムマスの対象疾患

タンデムマスでは1回の分析で，現行のアミノ酸代謝異常3疾患を含む20種類以上の疾患がスクリーニングできる。従ってタンデムマスが

表1 マスクリーニング対象疾患の満たすべき要件

- | | |
|----|----------------|
| a) | 一定の頻度で疾患が発見できる |
| b) | 再現性のある検査法である |
| c) | 検査コストが安価である |
| d) | 非侵襲的な検査である |
| e) | 有効な治療法がある |
| f) | 発症前に発見できる |

導入されれば「頻度の低い疾患を対象疾患から外す」という議論は回避できることになる。

表2に示すように，タンデムマスではアミノ酸代謝異常のほか，尿素回路異常症，有機酸代謝異常症，脂肪酸代謝異常症などがスクリーニングできる。このうち特に脂肪酸代謝異常は，正常に生活していながら突然死したり，急性脳症のような形で発症することが多い疾患である。発症前に発見して生活指導，治療を行えば突然死，急性脳症を予防できる可能性が高い。これらの疾患は，感染症を克服した先進諸国では特に社会的関心が高く，新生児マススクリー

表2 タンデムマスによるスクリーニング対象疾患

	現行マススクリーニングの対象疾患	タンデムマスの対象疾患	発症時期	主な臨床症状	適切性
有機酸代謝異常		1) メチルマロン酸血症	新～乳	アシドーシス、発達遅滞	○
		2) プロピオン酸血症	新～乳	アシドーシス、発達遅滞	○
		3) 3-ケトチオラーゼ欠損症	新～乳	ケトアシドーシス発作	◎
		4) イソ吉草酸血症	新～乳	アシドーシス、体臭	◎
		5) メチルクロトニルグリシン尿症	新～乳	筋緊張低下、ライ症候群	○
		6) HMG 血症	新～乳	ライ症候群、低血糖	◎
		7) マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	新～乳	湿疹、乳酸アシドーシス	◎
		8) グルタル酸血症 1 型	新～幼	アテトーゼ、発達遅滞	○
β酸化異常症		9) MCAD 欠損症	乳～幼	ライ症候群、SIDS	◎
		10) VLCAD 欠損症	乳～成	低血糖、筋肉、心障害	○
		11) TFP (LCHAD) 欠損症	新～成	ライ症候群、SIDS	○
		12) CPT 1 欠損症	新～乳	ライ症候群、肝障害	○
		13) CPT 2 欠損症	新～成	ライ症候群、筋肉症状	◎
		14) TRANS 欠損症	新～乳	ライ症候群、SIDS	○
		15) 全身性カルニチン欠乏症	乳～幼	ライ症候群、SIDS	◎
		16) グルタル酸血症 2 型	新～乳	ライ症候群、低血糖	○
アミノ酸代謝異常		17) 高チロジン血症 1 型	新～乳	肝・腎不全	○
		18) シトルリン血症 (1 型)	新～乳	興奮、多呼吸、昏睡	○
		19) アルギニノコハク酸尿症	新～乳	興奮、多呼吸、昏睡	○
現行の対象疾患	フェニルケトン尿症	20) フェニルケトン尿症	新～乳	けいれん、発達遅滞	◎
	メープルシロップ尿症	21) メープルシロップ尿症	新～乳	多呼吸、アシドーシス	○
	ホモシスチン尿症	22) ホモシスチン尿症	新～乳	発育異常、発達遅滞	○
	クレチン症*	—	新～乳	発達遅滞	◎
	ガラクトース血症*	—	新～乳	肝障害、肝不全	○
	先天性副腎過形成*	—	新～乳	ショック、男性化	○

略字 (疾患名) : HMG=3-OH-3-メチルグルタル酸 ; 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 ; LCHAD=長鎖3-OH-アシル-CoA脱水素酵素 ;
CPT=カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ。
TRANS=トランスロカーゼ。*: タンデムマスでは検査できない (3 種類)。現行の方法を続ける必要がある。
新～乳 : (発症時期が) 新生児から乳児期。適切性 : スクリーニングによる障害予防の期待度 (現時点での予想)
◎ : スクリーニングの効果がきわめて大きいと思われるもの。○ : 発症前発見による障害予防が期待できる。

ニングによる発症予防に期待がかけられている。

現行スクリーニングの対象疾患のうち、クレチン症、先天性副腎過形成、およびガラクトース血症については、現時点ではタンデムマスによるスクリーニングはできないので、これらについては現行の検査が必要である。しかしこれらもタンデムマスによる新生児スクリーニングが研究段階にある。

Ⅳ. タンデムマスによる新生児マススクリーニングの状況

世界的には1990年代後半から、オーストラリア、米国の一部の州などで公的事業としてタンデムマスが導入され始めた。2000年以降、ドイツ、台湾、韓国などでも公的事業としてタンデ

ムマススクリーニングが始まった。日本、英国、イタリア、オランダを含む多くの欧米先進国でもパイロットスタディーが行われている⁶⁾。わが国では1997年より福井大学でパイロット研究が始まりこれまでに約30万検体をスクリーニングしている⁷⁾。厚生労働省科学研究班でも、図4に示すように、平成17年度より福井大学を含む全国5カ所でパイロットスタディーが始まったところである⁸⁾。

表3に日本 (福井大学) 約30万人、米国約120万人、ドイツ約50万人でのスクリーニング結果を示した。発見頻度は、日本ではおおよそ8,000人に1人、米国、ドイツではともに約5,000人に1人であった。日本に比べ欧米で発見頻度が高いのは、フェニルケトン尿症とMCAD欠損症が約1～2万人に1人の頻度で発見されるため

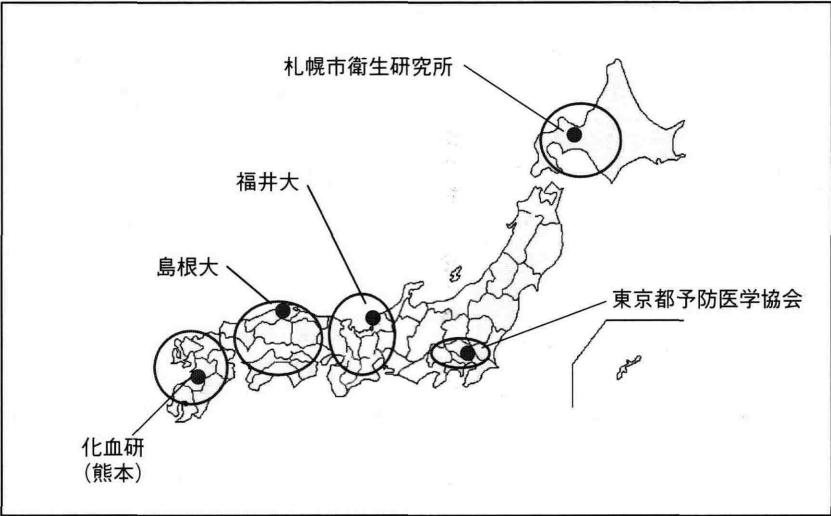


図4 わが国でタンデムマスパイロット研究を行っている施設 (2005年時点)

表3 タンデムマスによるスクリーニングの現状

	日本*	米国**	ドイツ**
スクリーニング検体数	29.9万	120万	49万
アミノ酸代謝異常			
フェニルケトン尿症	1：10.5万	1：1.0万	1：1.3万
メーブルシロップ尿症	—	1：8.0	1：12.0
シトリン血症	1：4.3万	—	—
アルギノコハク酸血症	1：30.0万	1：32.0万	—
有機酸血症			
プロピオン酸血症	1：3.8万	1：15.0万	1：10.5万
メチルマロン酸血症	1：10.0万	1：13.0万	1：13.0万
MCC欠損症	—	1：11.0万	—
MCD	15.0万	1：30.0万	—
グルタル酸尿症1型	1：10.0万	1：8.6万	1：16.0万
グルタル酸尿症2型	1：15.0万	1：120.0万	1：40.0万
脂肪酸代謝異常症			
MCAD欠損症	1：7.0万	1：2.1万	1：0.9万
VLCAD欠損症	1：21.0万	1：40.0万	1：12.0万
CPT1欠損症	1：30.0万	—	—
CPT2欠損症	1：30.0万	—	—
疾患全体	1：8,500	1：5,000	1：5,000

*福井大学2005年までのデータ。 **2004年までのデータ。

であろう。

V. 予想される新生児スクリーニングの今後の方向性

1) 患者発見頻度の変化

現行スクリーニングとタンデムマス導入後に予想される新生児スクリーニング患者発見数を

表4に示している。ガラクトース血症，副腎皮質過形成，クレチン症の3疾患はタンデムマスの対象疾患ではないのでの変化はないものとする。

現行のスクリーニングで発見されるアミノ酸血症3疾患の患者数は全体で年間20～30名で，発見頻度は約1：46,000である。タンデムマス

表 4 タンデムマス導入後に予想される患者発見数

現行の新生児スクリーニング (2004年)				タンデムマス導入後			
疾患	発見数	頻度	P	疾患	発見数	頻度	P
フェニルケトン尿症 ホモシスチン尿症 メーブルシロップ尿症 (計)	18 3 4 (25)	1 : 65,000 1 : 390,000 1 : 310,000 (1 : 46,000)	● ● ●	アミノ酸血症* 有機酸血症 脂肪酸代謝異常	(120)	(1 : 8,000)	●
ガラクトース高値患者 先天性副腎過形成 クレチン症 (計)	36 51 590 (677)	1 : 37,000 1 : 23,000 1 : 2,200 (1 : 16,000)	● ● ●	<同左>	(700)	(1 : 1,600)	● ● ●

数値は2004年時点のものである。*現行のアミノ酸代謝異常3疾患を含む6疾患。P=検査に使用する血液ろ紙のパンチの数。表下段の3疾患は、現時点ではタンデムマスで検査できないため、現行と同じ方法で行われる。

表 5 予想される新生児マススクリーニングの方向性

	現 行	これから
検査法	ガスリー法 (一部 HPLC) ELISA Beutler, Peigen	タンデムマス導入 ELISA, Beutler, Peigen 等は同じ
対象疾患	6 疾患 放置するとほぼ確実に障害の発生する疾患	約25疾患 障害発症のみならず、有機酸・脂肪酸代謝異常などが加わり、急性発症のポテンシャルのスクリーニングを行う
検査施設 一施設当り検査件数	自治体単位 年間5,000～10万	広域検査施設 年間 3 ～ 5 万以上
診療指針	特殊ミルク、薬剤など	特殊ミルク、薬剤などの他に生活指導主体の治療も重要になる
ネットワーク	自治体主体	ネットワークの集中化 (稀少疾患追跡, 診断・診療支援, 精度管理の強化など)
発見される全体の患者数 全体発見頻度 (クレチン症) (アミノ酸血症等)	600～700 1 : 1,600 (1 : 2,200) (1 : 46,000)	800～900 1 : 1,300 (1 : 2,200) (1 : 8,000)

を導入すると、これに有機酸・脂肪酸代謝異常等が加わり対象疾患は20種類以上となる。発見頻度を約 1 : 8,000 とすると全体で年間100～150名の患者が発見されると予想される。また検査に使用する血液ろ紙のパンチの数もタンデムマスでは 1 個だけですむ。すなわち現在スクリーニング全体で血液ろ紙のパンチ 6 個使用しているが、4 個ですむことになる。

2) 新生児スクリーニングのこれからの方向

表 5 に示すように、新生児スクリーニングの検査法にタンデムマスが導入されてガスリーテ

ストに置き換わる可能性が高い。またスクリーニング対象疾患は放置すると障害が出る疾患であったが、タンデムマスによる対象疾患は、従来の疾患の他に、ふだんは正常に生活していながら、何らかのストレスを契機に急性脳症、突然死などの発生する心配のある疾患も含まれる。すなわちポテンシャルティーをスクリーニングするような意味合いが加わる。

3) 検査施設

タンデムマスは、質量分析計で高精度分析法であり、年間少なくとも 5 万検体の検査が可能

である。これまでは自治体単位で行われてきたので、出生数数千の自治体も少なくない。スケールメリット、精度管理の面からも、タンデムマスを持つ検査施設では年間3～5万検体を対象とできるよう検査施設をある程度集約化すべきである。

4) 対象疾患の治療

有機酸代謝異常は特殊ミルクやカルニチンで治療することが多い。脂肪酸代謝異常では、長時間の空腹時間をさける、感染などのときブドウ糖輸液を早めにするなどの生活指導だけで発症予防できる疾患も少なくない。

5) スクリーニング支援ネットワーク

これまで、自治体がスクリーニング事業の主体となっている。しかしスクリーニングに対する考え方、患者追跡、精度管理などに温度差がある。全国レベルで患者登録・追跡体制、診断・診療支援、精度管理のできる体制を確立すべきである。

6) 発見される患者数

前述のように、現行スクリーニング全体で年間約700、タンデムマス導入後は約800前後と予想される。新生児スクリーニング全体で患者発見頻度は1:1,600から1:1,300になることが予想される。

VI. タンデムマス導入にあたって検討すべきこと

マススクリーニングでは「ただ病気を見つけただけ」で終わるべきものではない。マススクリーニングによって、小児は障害から守られるべきである⁹⁾。新しい新生児スクリーニング導入にあたって検討すべきことを以下にあげる。

1) 確定診断体制

タンデムマススクリーニングによって対象疾患が拡大すると、他の方法による診断支援体制の整備も必要である。例えば、GC/MSによる尿中有機酸分析、酵素診断、あるいは遺伝子診断などである。疾患の種類が多いので検査施設ですべてを行うことは困難であり、これらの技術を持つ施設のネットワークが重要になる。

2) 診療支援体制

新生児マススクリーニングで発見される疾患は、一般小児診療の場ではなじみのうすい稀少疾患が多い。このような疾患が日本のどこで発見されても、一定レベルの治療が受けられるよう診療ガイドラインが用意されるべきである。必要に応じて特殊ミルクや治療薬の開発供給も必要である^{10)~12)}。

3) 発見された患者の追跡体制

わが国で新生児マススクリーニングが開始された当初、患者追跡率は100%近かったが、最近、厚労省班研究によると40%台に低下している。これではスクリーニングが小児の障害予防に役立っているのか、適切な治療、診療を受けているのか不明である。新生児マススクリーニングが公的事業として行われる以上、治療法向上のためにも、患者追跡体制は不可欠であり、立て直す必要がある。

4) スクリーニング事業の効率化

現行の新生児スクリーニングでは、都道府県単位で検査施設が設置されてきた。年間出生が数千の自治体から年間10万の自治体（東京都）までである。検査施設はできるだけ集約化した方がコスト面でも、精度管理の面でも効率的である。一方検査施設がある地域にあまりに集中すると、診療の場と検査施設の距離が遠くなり、スクリーニングをサポートする小児科医のかかわりが希薄になり、新生児スクリーニングが形骸化する可能性もある。そこである程度の地域化を残して、検査施設の集約化も検討すべきである。タンデムマスでは少なくとも年間5万検体の検査が可能である。出生数を考慮して道州制を想定したような検査施設の広域化も考えてよい。

5) 費用対効果

公的事業である以上、スクリーニング開始前と開始後の費用対効果を検証する必要がある。スクリーニングにかかる費用と発見された患者の診療費用、これに対して障害予防によって節約できる費用とを比較検討する。投入された税金が国民福祉向上に役立っているかどうかを評

価するシステムが不可欠である¹³⁾。このためには、疾患の頻度、治療費用、検査費用、自然歴の調査が必要である。欧米で頻度の高い疾患でも日本で頻度が高いとは限らない。

6) 精度管理体制の充実

新生児スクリーニングは数千人に1人の患者を見つける事業であり、「見逃し」はスクリーニングの根幹に関わる問題である。また微量検体を用いて多数検体を処理しなければならない。偽陽性、偽陰性が多いと家族に負担を与えることになり、またスクリーニング検査コストも高くなる。標準機関による定期的な精度管理を受ける必要がある。また検体の取り違い、検体の発送もれなどスクリーニング体制自体の精度管理についても充実しなければならない¹⁴⁾。

7) その他

現行のスクリーニングで、当初予想しなかった問題もいくつかある¹⁵⁾。例えば、マススクリーニングで発見された小児の生命保険などへの加入拒否の問題、スクリーニングで発見された患者の何十年にわたる長期予後、QOLについても不明の点が多い。患者が成人して結婚年齢になりマターナルPKUのような問題もある。新しい対象疾患についても検討しておく必要があるだろう。

VII. おわりに

新生児スクリーニングが始まってから約30年が経過する。多くの子どもが障害から救われたが、いろいろな問題も提起された。タンデムマスという新技術の導入を機に、効率的に母子保健に貢献するために新生児マススクリーニング体制を立て直す時期にきている。

文 献

- 1) 成瀬 浩, 山口清次. 新生児スクリーニングの30年. 臨床精神医学 33(11):1453-1460, 2004.
- 2) 黒田泰弘. わが国における新生児マス・スクリーニングのあゆみ. 小児科診療 63:1293-1302, 2000.

- 3) 成瀬 浩, 松田一郎(編集): 新生児マススクリーニングハンドブック. 南江堂, 東京, 1989.
- 4) 重松陽介, 布瀬光子, 畑郁江, 真弓光文, 須藤正克: Electrospray tandem mass spectrometry による有機酸およびアミノ酸代謝異常症の新生児マススクリーニング. 日本マス・スクリーニング学会誌 8:13-20, 1998.
- 5) Wilson JMG., Jungner G: Principles and practice of screening for disease, Public Health Papers 34, World Health Organization, Geneva, 1968.
- 6) 重松陽介, 畑 郁江. タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニング—有機酸・脂肪酸代謝異常症を中心に—. 特殊ミルク情報 (有機酸・脂肪酸代謝異常症特集) 39:20-23, 2003.
- 7) 重松陽介: 私信
- 8) 厚生労働科学研究所子ども家庭事業「わが国の21世紀におけるマススクリーニングのあり方に関する研究」(主任研究者 山口清次) 平成17年度報告書, 2006年4月.
- 9) 山口清次. 新生児マススクリーニングの新しい動き—質量分析の導入による新展開—日本医事新報 4175 (2004.5.1):19-25, 2004.
- 10) 青木菊麿. 特殊ミルク使用から追跡調査されている有機酸血症および脂肪酸酸化酵素異常症. 特殊ミルク情報 41:45-48, 2005 (11月).
- 11) 北川照男. 先天代謝異常症治療の歴史. 小児内科 33:901-910, 2001.
- 12) 北川照男, 松田一郎, 多田啓也, 大浦敏明, 大和田操, 青木菊麿, 山口清次, 高柳正樹, 重松陽介, 大浦敏博. 有機酸代謝異常症および脂肪酸代謝異常症の治療ガイドラインの検討専門委員会報告(平成18年度特殊ミルク改良開発部会). 特殊ミルク情報, 2006 (11月) 印刷中.
- 13) 黒田泰弘, 松田純子: マス・スクリーニングの費用便益—新生児マス・スクリーニングを中心に—. 小児内科 36:1858-1863, 2004.
- 14) 原田正平: 新生児マススクリーニングの現状と21世紀における課題. 小児保健研究 65:391, 2006.
- 15) 松田一郎. 新生児スクリーニング今後の課題. 特殊ミルク情報 (有機酸・脂肪酸代謝異常症特集) 39:7-11, 2003.