

## 新しい対象疾患に関する研究

分担研究者 青木 継稔

研究協力者 荒島真一郎、大浦 敏博、高田 五郎、北川 照男、春木 英一、  
重松 陽介、小林 正紀、伊藤 道徳、遠藤 文夫、折居 忠夫、  
田中あけみ、成澤 邦明、松 井 陽、久原とみ子、山口 清次、  
吉田 一郎、三笠 洋明、清水 教一、祐川 和子、高柳 正樹

### 研究目的

本研究は、新しいマスキング対象疾患について、スクリーニング方法の開発・研究、スクリーニング実施時期、パイロット・スタディなどを実施し、さらにスクリーニング導入に関する色々な実施条件および倫理的問題を検討するものである。新しい対象疾患は、ウイルソン病、ムコ多糖症、胆道閉鎖症および有機酸代謝異常症である。また、現行マスキング対象疾患のより迅速な確定診断法の確立と早期治療開始のための方略を検討する。さらに、現行の新生児を中心とするマスキングが導入されて満20周年となったことを記念して、日本マスキング学会と協力して検査マニュアルあるいはガイドラインの作成を行うものである。

以下、4つのリサーチクエスチョンを示す。

1. 迅速な確定診断法の確立
2. ウイルソン病、ムコ多糖症、胆道閉鎖症、有機酸代謝異常症のスクリーニング方法
3. 検査マニュアルの作成
4. 新しいスクリーニング導入に関する実施条件及び倫理的条件

### 研究方法

#### 1. 迅速な確定診断法の確立

本研究班の分担研究者および各研究協力者、さらには専門家を加えて数次の会議を開催し、現行マスキング対象疾患の迅速な確定診断法の確立をめざす。今年度は、フェニルケトン尿症（PKU）とその辺縁疾患、ピオプテリン代謝異常（BH<sub>4</sub>欠損症）や高フェニルアラニン血症、についての迅速な確定診断法を検討する。とくに、遺伝子変異の検索を行い鑑別診断の有用性をみる（呉、侯、大浦、松原、成澤）。

#### 2. ウイルソン病、ムコ多糖症、胆道閉鎖症および有機酸代謝異常症のスクリーニング方法

- (1)ウイルソン病：6ヵ月児から学童前期、主に幼児期を対象とした。①方法；濾紙血あるいは

は血清を用いて、活性型セルロプラスミン(Cp)測定 (ELISA 法)、さらに、一部は新鮮尿を用いて、活性型Cpを測定することも検討した。②システムの構築；各研究協力者により工夫した。保健所あるいは市町村保健センターにおける3歳児健診、地域の開業医(医師会・小児科医会)の協力、研究協力者所属機関およびその関連病院小児科医などの協力により採血した。ポスター等による宣伝、説明文の配布、具体的な説明などにより同意の得られたものみに採血を行った。一方、尿については3歳児健診、就学時あるいは入学時健診における提出尿、研究協力者所属機関やその関連病院を訪れた幼児など小児を対象とし、いずれも同意の得られたもののみを検査した。③パイロットスタディ：全国約10施設の研究協力者(荒島、大浦、高田、北川、春木、重松、小林、伊藤、遠藤、青木)により、パイロットスタディを実施した。一部は尿を用いたが、多くは血液濾紙を用いて実施した。④確定診断法としての遺伝子診断法：ウイルソン病患者の遺伝子解析を行った(山口、福土、荒島、清水、中園、青木ら)。

(2)ムコ多糖症：①基礎的検討；ジメチルメチレンブルー(DMB)呈色反応によるムコ多糖症スクリーニングにおいて、偽陽性が多い欠点を避けるために、コンドロイチナーゼA/C消化操作を加えて、原尿と濾紙尿について比較検討した(横田、田中、一色)。②採尿時期；新生児尿について検討した。③6ヵ月児尿によるパイロットスタディ：岐阜県下において実施した(岩田、祐川、折居ら)。

(3)胆道閉鎖症：松井の考案した便色調カラーカード法によった。栃木・茨城両県において1ヵ月健診時に母親が便色調番号を記入し提出して貰う方法である(牧、松井ら)。

(4)有機酸代謝異常症：全国4施設において、①新生児尿および②ハイリスク児の尿を用いてGC/MS法によりパイロットスタディを実施した(吉田、山口、重松、久原ら)。

### 3. 検査マニュアル(ガイドライン)の作成

日本マススクリーニング学会と協力して、専門家による数次の会議を開催し、現行新生児マススクリーニングについての検査マニュアルを作成した。

### 4. 新しいスクリーニング導入に関する実施条件及び倫理的条件

①わが国において現在実施している新生児マススクリーニングに対し、インフォームド・コンセントの条件についてアンケート調査を実施し集計した。②新しい対象疾患の上記4疾患群について、生活の質と負担に関するアンケート調査を実施した。

### 研究班の組織と担当区分

分担研究者 青木 継稔(東邦大・2小児)

研究協力者

#### (1)ウイルソン病のスクリーニング

荒島真一郎(北海道教育大)

高田 五郎(秋田大・小児)

大浦 敏博(東北大・小児)

北川 照男(国際学院埼玉短大)

- 春木 英一 (神奈川県リハビリテーション病院)  
 重松 陽介 (福井医大・小児)  
 小林 正紀 (名古屋市大・小児)  
 伊藤 道德 (徳島大・小児)  
 遠藤 文夫 (熊本大・小児)
- (2)胆道閉鎖症のスクリーニング  
 松井 陽 (筑波大・小児)
- (3)ムコ多糖症のスクリーニング  
 折居 忠夫 (中部女子大)  
 田中あけみ (大阪市大・小児)
- (4)有機酸代謝異常症のスクリーニング  
 山口 清次 (島根医大・小児)  
 久原とみ子 (金沢医大)  
 吉田 一郎 (久留米大・小児)  
 重松 陽介 (福井医大・小児)
- (5)迅速な確定診断法の確立・遺伝子診断法など  
 成澤 邦明 (東北大医・病態代謝)  
 清水 教一 (東邦大医・2小児)
- (6)新しいスクリーニング導入に関する実施条件及び倫理条件  
 三笠 洋明 (徳島大医・衛生)  
 清水 教一 (東邦大医・2小児)  
 祐川 和子 (岐阜大医・小児)  
 高柳 正樹 (千葉県こども病院)

## 研究成果と考察

### 1. 迅速な確定診断法の確立・遺伝子診断

(1) PKU/高フェニルアラニン血症/BH<sub>4</sub> 欠損症: 高Phe 血にてスクリーニング陽性例に対し、BH<sub>4</sub> 投与により血中Phe 値の低下をきたす症例が存在すること、これらの症例の尿中プテリジン分析などからBH<sub>4</sub> 欠乏症とは考えられない症例が存在することが判明した。これらの症例に、フェニルアラニン水酸化酵素 (PAH) 遺伝子変異を認めたため、PKUの確定診断には留意する必要がある。また、BH<sub>4</sub> 投与はマターナルPKU予防時などの食事療法が困難なときの補助療法になる可能性を示唆した (成澤ら)。

(2) 日本人ウイルソン病の遺伝子変異とマススクリーニングへの応用: 日本人ウイルソン病患者62/72 アリル (93%)、28/40 アリル (70%) の遺伝子変異が同定され、また、日本人特有の遺伝子型が示された。ウイルソン病発症前診断が難しいことから遺伝子解析が確定診断に極めて有用であることが示された (荒島・山口ら、青木・清水ら)。

(3)メープルシロップ尿症 (MSUD) 古典型：新生児早期に発症するため、早期診断・早期治療のシステム・ネットワーク構築が各都道府県に必要であることが確認された。

## 2. ウイルソン病、ムコ多糖症、胆道閉鎖症、有機酸代謝異常症のスクリーニング

(1)ウイルソン病：生後6ヵ月から6歳ころ、とくに3歳を中心とする幼児を対象にウイルソン病スクリーニング検査システムの確立および可能な限りのパイロット・スタディを実施した。濾紙血あるいは血清中セルロプラスミン (Cp) を指標として、とくに活性型CpをELISA法にて測定する方法を主に採用した。全国約10施設にて、それぞれの地域にて、採血協力機関、採血から検査までの流れのシステム、検査機関、再採血などのシステム構築およびインフォームドコンセントや宣伝 (PR) などを行い、同意の得られた検体についてパイロット・スタディを実施した。現在までに、約5万名が受診し5例のウイルソン病症例が発見された。幼児期は、新生児期の生理的低Cp血状態ではなくなり成人値に近い値となるため、カットオフ値が明確となること、確定診断がし易くなるとともに、3歳ころからの治療開始がよいとの結論である。一方、3～7歳児を対象とした尿中活性型CpをELISA法にて測定して本症をスクリーニングする試みが数年前から実施されてきた。尿中活性型Cp測定法にて、現在まで約2万名の検査が実施され、1名の患児が発見されている。尿中活性型Cp測定法は、非侵襲的であり極めて有用であるが、患者と正常者とのカットオフ値設定が難しく、患者を見逃す例と正常者の再検率が高くなることが指摘され、今後の検討課題である (荒島、高田、大浦、北川、青木、春木、重松、小林、伊藤、遠藤ら)。

(2)ムコ多糖症：新生児尿を用いてムコ多糖症をスクリーニングするために、グリコサミノグリカンとクレアチニン比を測定し、日齢3以内の変動幅が大きいため日齢4・5が適当であると判断した (折居ら)。さらに、濾紙尿によるコンドロイチナーゼA/C消化法・DMB呈色反応の有用性を示した (田中ら)。6ヵ月児尿によるパイロットスタディを岐阜県を中心に実施し、現在までに約6万名に達したがムコ多糖症患者の発見に至っていない (折居、祐川ら)。

(3)胆道閉鎖症：栃木県と今年度から茨城県を含めて便色調カラーカード法により、引き続きパイロット・スタディを実施した。出産予定の父母に便色調カラーカードを母子手帳とともに配布し、1ヵ月健診時に親が児の便と便色調カードと対比した色調番号を記入して提出してもらう方法である。茨城県では、この便色調カードを2枚配布し、1ヵ月時と2ヵ月時に郵送する方式を採用した。栃木県では現在までの約3年間に出生した児の87.2%に当たる50,931名が受診した。10例の本症患者中8例が本法にて発見され感度80.0%、特異度99.9%、陽性適中率22.9%、陰性適中率100%であった。検査にて発見された患児8例中7例は、生後60日以内に手術を受け6例で黄疸が消失した。1ヵ月健診時に本法によるスクリーニングでは遅発例の発見が困難であるが、本法は極めて有用な方法であると考えられる (松井ら)。

(4)有機酸代謝異常症：昨年度に引き続き、新生児尿を用いたGC/MS法による有機酸代謝異常スクリーニングのパイロット・スタディが全国4施設で実施された。また、ハイリスク新生児によるスクリーニングとそのシステムの確立をめざすことも検討された。この数年間にて約2万名の検査が実施され、メチルマロン酸尿症、ハートナップ病、シスチン尿症、シトルリン血症、グリセロール尿症などが発見された (吉田ら、重松ら、久原らおよび山口ら)。治療可能

な有機酸代謝異常症の早期発見に有用であることが示された。

### 3. 検査マニュアルの作成

日本マススクリーニング学会と協力して現行新生児マススクリーニングについての検査マニュアルを作成した。この検査マニュアルについては、平成10年前半期に刊行予定であり、行政的に新生児マススクリーニング事業開始20周年ということもあり意義のある内容とした。

### 4. 新しいスクリーニング導入に関する実施条件及び倫理的条件

現行の新生児マススクリーニングの受診児の両親に対するインフォームド・コンセントの内容と方法に関するアンケート調査を実施した。対象は、母親、スクリーニング専門家の両方であり、約65%の母親は情報提供されていないとの認識であり、約67%に同意を求められなかったとの結果であり、受診の説明と同意の必要性が認識された。

新しいスクリーニング導入に当たっての臨床的有効性と経済的効率を評価した。ムコ多糖症、ウイルソン病、有機酸代謝異常症・高アンモニア血症について検討した。それぞれの疾患と有用性と問題点が明らかにされた。

マススクリーニングを実施する上での生命倫理的問題について、日本マススクリーニング学会員に調査を行った。口頭・文書による説明が望ましく、文書での確認・同意を必要とする者が多かった。検査検体の目的外利用は80%が認めてよとし、条件として同意あるいは第三者機関の判断が必要であるとした。

## 結 論 と 今 後 の 研 究 方 針

### 1. 迅速な確定診断法の確立および遺伝子診断のマススクリーニングへの応用

(1)現行マススクリーニング対象疾患：PKU、MSUD、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症の先天代謝異常症は、マススクリーニングの進展とともに新しい疾患の発見があった。例えば、PKUにおけるBH<sub>4</sub>欠乏症、ガラクトース血症におけるエピメラゼ欠損症やガラクトトキナーゼ欠損症などである。また、MSUDの古典的な新生児早期に発症することが多く、現状のシステムでは間に合わないことがある。さらに、近年の遺伝子解析技術の進歩により、これらの疾患の遺伝子変異も明らかにされる例が多くなった。これらのことから、一次スクリーニングから確定診断に至るまでをより迅速化するとともに、早期に正しい治療を行う必要がある。そのために、現行マススクリーニング対象疾患であっても絶えず確定診断への道を見直し継続することが重要である。一方、クレチン症、副腎過形成症においても、確定診断に至るまで問題点が多い。一次スクリーニングにて陽性ということと、可能な限り早く治療を開始し症状発現を抑制することの必要性から治療を早期に行うことは重要であるが、過剰な治療は避ける必要もある。これらの諸問題とともに、検査システムと治療機関との連携をさらに強めてゆかねばならない。

(2)新しい対象疾患を含めた遺伝性代謝性疾患の遺伝子解析によるスクリーニングへの応用：

当面、ウイルソン病、ムコ多糖症、有機酸代謝異常症、高アンモニア血症などが対象となろう。また、将来治療法の確立されるであろう疾患についても吟味しておく必要がある。

本研究班において、ウイルソン病の遺伝子診断への応用が目安として示された成果は大きいものがあり、症例の蓄積により簡便な方法がさらに開発され得る期待が高まったといえる。

## 2. ウイルソン病、ムコ多糖症、胆道閉鎖症、有機酸代謝異常症

(1)ウイルソン病：結論として、新生児濾紙血による低活性型Cp測定を指標とするスクリーニングは困難と思われる。したがって、①実施時期は、3～5歳が適当とする。②方法は採血による、活性型Cp測定ELISA法とするが、尿中活性型Cp測定ELISA法も採用してもよい（但し、尿による場合は、カットオフ値を高く設定して見逃し例を少なくするが、偽陽性例が多くなる）。③採血する場合の採血料を受益者負担としてもよいが検査料等は公費負担とするとよいと思う、ただし採尿の場合は受益負担はなくともよいであろう。④採血する施設や医療機関との連携と受益者への広告やインフォームドコンセントの必要性がある。⑤検査機関は、現行の各都道府県検査機関にて実施する。⑥陽性者の二次スクリーニングや確定診断法および治療開始基準などのマニュアルを作成する必要がある。⑦パイロットスタディの結果、約1万名に1人の割合にて患児発見があり行政的に実施する必要がある。今後、引き続きパイロットスタディやシステム構築、費用便益等について研究する必要がある。

(2)ムコ多糖症：また基礎的研究段階にある。方法は尿によるDMB法を基本としてよいが、①新生児尿か6ヵ月尿か、採尿時期を再検討しなければならない。②パイロット・スタディにて患児の発見に努める。③二次スクリーニング法・確定診断法および骨髄移植等の治療実施時期などの検討が必要である。さらに、治療法の有効性や費用便益等の吟味も必要と考える。

(3)胆道閉鎖症：松井らの開発した便色調カラーカード法による1ヵ月健診時記入提出してもらう方法は、極めて高い費用便益があり有効なものである。今後は、複数以上の地域におけるパイロット・スタディの実施および発見例の手術後の成績、肝移植を必要とする例の頻度などを調査する必要があり、本法にて発見された早期手術例により肝移植の頻度が減少したかどうかも検討することも大切である。また、遅発例における発見対策を講ずる必要がある。今後検討を継続する問題も多い。

(4)有機酸代謝異常症：研究が始まって2年が経過したところであり、今後パイロットスタディを実施し症例の発見や頻度を求める必要がある。治療可能なプロピオン酸血症、メチルマロン酸血症、高アンモニア血症など早期発見のための方略の一つとして、ハイリスク新生児に対する迅速な検査システムの構築も必要である。さらに、確定診断から治療開始基準などの策定を行うことも大切である。したがって、今後継続検討の必要がある。

## 3. 検査マニュアル・ガイドラインの作成

現行マススクリーニングに対する社会的認識を高めるためのガイドラインを5年毎ぐらいに改訂して発行し、PRに努める必要がある。さらに、新しい検査法の導入や精度管理など、やはり5年毎ぐらいにリニューアルして発行し、検査のバイブルとしてのマニュアルを位置づける必要がある。日本マススクリーニング学会と連携して改訂してゆく努力を重ねてゆかねばならない。

## 4. 新しいスクリーニング導入に関する実施条件及び倫理条件

(1)現行の新生児マススクリーニングに関して、受診時の両親に対するインフォームド・コン

セントの内容と方法について見直す必要があることが示され、父母に対する情報提供の徹底と受診の説明と同意を十分に行うことが大切である。採血医療機関への啓蒙が極めて重要と考える。

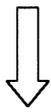
(2)新しいスクリーニング疾患の導入に当っては、①臨床的有効性と、②経済的効率の両面から評価する必要がある。パイロット・スタディによる疾患の発見と頻度を知ることと、スクリーニングしたことによる効果の比較検討を継続して評価してゆくことであろう。

(3)検査検体の目的外使用は、新しいスクリーニング対象疾患の開発、現行スクリーニング対象疾患のより有効な検査法の開発などに重要である。同意あるいは第三者機関の許認可の判断が必要と考えられ、日本マススクリーニング学会などを中心に、許認可のための生命倫理委員会を設置してゆくことも重要であり、今後の検討課題となろう。



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



### 結論 と 今 後 の 研究方針

#### 1. 迅速な確定診断法の確立および遺伝子診断のマススクリーニングへの応用

(1) 現行マススクリーニング対象疾患: PKU、MSUD、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症の先天代謝異常症は、マススクリーニングの進展とともに新しい疾患の発見があった。例えば、PKUにおけるBH4欠乏症、ガラクトース血症におけるエピメラーゼ欠損症やガラクトキナーゼ欠損症などである。また、MSUDの古典的な新生児早期に発症することが多く、現状のシステムでは間に合わないことがある。さらに、近年の遺伝子解析技術の進歩により、これらの疾患の遺伝子変異も明らかにされる例が多くなった。これらのことから、一次スクリーニングから確定診断に至るまでをより迅速化するとともに、早期に正しい治療を行う必要がある。そのために、現行マススクリーニング対象疾患であっても絶えず確定診断への道を見直し継続することが重要である。一方、クレチン症、副腎過形成症においても、確定診断に至るまで問題点が多い。一次スクリーニングにて陽性ということと、可能な限り早く治療を開始し症状発現を抑制することの必要性から治療を早期に行うことは重要であるが、過剰な治療は避ける必要もある。これらの諸問題とともに、検査システムと治療機関との連携をさらに強めてゆかねばならない。

(2) 新しい対象疾患を含めた遺伝性代謝性疾患の遺伝子解析によるスクリーニングへの応用: 当面、ウイルソン病、ムコ多糖症、有機酸代謝異常症、高アンモニア血症などが対象となろう。また、将来治療法の確立されるであろう疾患についても吟味しておく必要がある。

本研究班において、ウイルソン病の遺伝子診断への応用が目安として示された成果は大きいものがあり、症例の蓄積により簡便な方法がさらに開発され得る期待が高まったといえる。

#### 2. ウイルソン病、ムコ多糖症、胆道閉鎖症、有機酸代謝異常症

(1) ウイルソン病: 結論として、新生児濾紙血による低活性型Cp測定を指標とするスクリーニングは困難と思われる。したがって、実施時期は、3~5歳が適当とする。方法は採血による、活性型Cp測定ELISA法とするが、尿中活性型Cp測定ELISA法も採用してもよい(但し、尿による場合は、カットオフ値を高く設定して見逃し例を少なくするが、偽陽性例が多くなる)。採血する場合の採血料を受益者負担としてもよいが検査料等は公費負担とするとういと思う、ただし採尿の場合は受益負担はなくともよいであろう。採血する施設や医療機関との連携と受益者への広告やインフォームドコンセントの必要性がある。検査機関は、現行の各都道府県検査機関にて実施する。陽性者の二次スクリーニングや確定診断法および治療開始基準などのマニュアルを作成する必要がある。パイロットスタディの結果、約1万名に1人の割合にて患児発見があり行政的に実施する

必要がある。今後、引き続きパイロットスタディやシステム構築、費用便益等について研究する必要がある。

(2)ムコ多糖症:また基礎的研究段階にある。方法は尿による DMB 法を基本としてよいが、新生児尿か 6 ヶ月尿か、採尿時期を再検討しなければならない。パイロット・スタディにて患児の発見に努める。二次スクリーニング法・確定診断法および骨髄移植等の治療実施時期などの検討が必要である。さらに、治療法の有効性や費用便益等の吟味も必要と考える。

(3)胆道閉鎖症:松井らの開発した便色調カラーカード法による 1 ヶ月健診時記入提出してもらう方法は、極めて高い費用便益があり有効なものである。今後は、複数以上の地域におけるパイロット・スタディの実施および発見例の手術後の成績、肝移植を必要とする例の頻度などを調査する必要がある、本法にて発見された早期手術例により肝移植の頻度が減少したかどうかとも検討することも大切である。また、遅発例における発見対策を講ずる必要があろう。今後検討を継続する問題も多い。

(4)有機酸代謝異常症:研究が始まって 2 年が経過したところであり、今後パイロットスタディを実施し症例の発見や頻度を求める必要がある。治療可能なプロピオン酸血症、メチルマロン酸血症、高アンモニア血症など早期発見のための方略の一つとして、ハイリスク新生児に対する迅速な検査システムの構築も必要である。さらに、確定診断から治療開始基準などの策定を行うことも大切である。したがって、今後継続検討の必要がある。

### 3. 検査マニュアル・ガイドラインの作成

現行マススクリーニングに対する社会的認識を高めるためのガイドラインを 5 年毎ぐらいに改訂して発行し、PR に努める必要がある。さらに、新しい検査法の導入や精度管理など、やはり 5 年毎ぐらいにリニューアルして発行し、検査のバイブルとしてルマニュアルを位置づける必要がある。日本マススクリーニング学会と連携して改訂してゆく努力を重ねてゆかねばならない。

### 4. 新しいスクリーニング導入に関する実施条件及び倫理条件

(1)現行の新生児マススクリーニングに関して、受診時の両親に対するインフォームド・コンセントの内容と方法について見直しする必要があること、とが示され、父母に対する情報提供の徹底と受診の説明と同意を十分に行うことが大切である。採血医療機関への啓蒙が極めて重要と考える。

(2)新しいスクリーニング疾患の導入に当っては、臨床的有效性と、経済的効率の両面から評価する必要がある。パイロット・スタディによる疾患の発見と頻度を知ることと、スクリーニングしたことによる効果の比較検討を継続して評価してゆくことであろう。

(3)検査検体の目的外使用は、新しいスクリーニング対象疾患の開発、現行スクリーニング対象疾患のより有効な検査法の開発などに重要である。同意あるいは第三者機関の許認可の判断が必要と考えられ、日本マススクリーニング学会などを中心に、許認可のための生命倫理委員会を設置してゆくことも重要であり、今後の検討課題となろう。