

IV. マス・スクリーニングの新しい対象疾患とその実施年齢およびスクリーニング法に関する研究

分担研究者 成 澤 邦 明

研究協力者 青 木 継 稔 浅 見 直 荒 島 新 一 郎
岡 田 伸 太 郎 折 居 忠 夫 北 川 照 男
小 林 正 紀 鈴 木 義 之 須 藤 正 克
多 田 啓 也 牧 一 郎 松 田 一 郎

I 研究目的

現行のマス・スクリーニング対象疾患に加えるべき新しい疾患を選択し、その実施年齢や方法を検討するのが目的である。また、全く新しい視点に立って、スクリーニング法を開発し、新たな対象疾患を掘り起こすのも本分担研究の目的である。現在マス・スクリーニングが行われている疾患は通常の臨床的方法では発見し難く、発見が遅れると障害を残す疾患で、マスを対象にした検査法、効果的治療法があり、発生頻度がある程度高い疾患が対象となっている。今回、新しい対象疾患としてウイルソン病、高コレステロール血症、ビオチナーゼ欠損症、有機酸代謝異常症を検討した。なかでもウイルソン病はWHOがまとめた報告で、すでにスクリーニングの対象疾患として認められており、上記の条件を満たした重要な疾患である。高コレステロール血症は頻度の高い疾患で、動脈硬化症や冠動脈心疾患の主要危険因子の一つであることから、出来るだけ早期に発見し、治療することが極めて重要である。ウイルソン病や高コレステロール血症は現在予備的スクリーニングがすでにすすめられているが、両者とも新生児期のスクリーニングが難しいとの難点が残され、施行時期の検討が大きな問題となっている。更に、見いだされた患者の管理、指導基準の作成も重要である。

ビオチナーゼ欠損症は重篤な神経症状を呈し、アメリカやオーストラリアで高頻度にみられる疾患であるが、本邦での頻度調査が必要であった。有機酸代謝異常症は簡易スクリーニング法の開発が望まれる疾患である。

従来、簡易スクリーニング法がなかったために、発症前診断が出来なかった疾患も少なくない。FAB-MS/MSを使用しての有機酸分析や遺伝子診断法などの新しい手法を用いて、スクリーニング対象疾患を検討することも重要であろう。以下に順を追って各研究協力者の研究成果を要約する。

II 研究成果

1) ウイルソン病

青木継稔氏ら(東邦大); 新生児から成人まで約21,600名を対象に血中セルプラスミンを指標にウイルソン病のスクリーニングを行った。その結果、①実施時期は3才、遅くと

も5才が望ましく、4ヶ月未満は不適當、②検体は乾燥濾紙血液と毛細管血液とちらでも可、測定法はPCFIA法が大量処理の点から推奨される、③血中cut off値15.0mg/dl以下がよい、④同胞例2例を発見した。発見された陽性者に対する確定診断への精密検診のあり方を検討した。尿中銅(μg)/尿中クレアチニン(mg)が有用で3才以上の患者では明らかに確定診断法として用いられる。3才以下の患者で尿中銅の排泄増加を見るかどうかは今後の検討を待たねばならない。

荒島真一郎氏ら(北海道教育大)；濾紙血液中のセルロプラスミンを測定するサンドイッチ法ELISAを開発し、新生児から12ヶ月までを測定した結果、6ヶ月ではほぼ一定値になることを明らかにした。患者15例についてELISA法、SRID法、レーザーネフュロ法、PPD-オキシダーゼ法で検討したところ、ELISA法が最もすぐれており、全例が15mg/dl以下を示した。

北川照男氏ら(日大)；これまでの研究で、濾紙血液のセルロプラスミンをELISA法で測定するのが有用で、生後3ヶ月のセルロプラスミン値はほぼ幼児期の値に達し安定することを明らかにした。本年度は濾紙血液中のセルロプラスミンの安定性を検討した。室温10日間保存で保存開始時の70%、4℃10日間保存で85%、-40℃10日保存で85%に低下することを見だし、濾紙血中ではセルロプラスミンは不安定であることを明らかにした。

多田啓也氏ら(東北大)；濾紙血液中のセルロプラスミンの安定性を検討した。①採血後濾紙血液を半日以上室温で乾燥しないとセルロプラスミン値は低下する。②48時間以上室温に放置するとセルロプラスミン値は低下する。③37℃ではセルロプラスミン値は急速に低下する。④凍結融解を繰り返すとセルロプラスミン値は低下する。以上のようにセルロプラスミンは保存条件に影響を受けやすく、濾紙血液の保存、輸送に関しては厳密な条件設定が必要である。

2) 高コレステロール血症

浅見直氏ら(新潟大)；新生児(生後5~7日)2,954名について濾紙血により高コレステロール血症のスクリーニングを行った。1才6~8ヶ月時に新生児期に高コレステロール血症と診断された47例とその両親を精査し、家族性高コレステロール血症の4家系を見いだした。

牧一郎氏(市立池田病院)；1才~5才の幼児275名を毛細管法で、試験的スクリーニングを行った。総コレステロール値200mg/dl以上のもの16名でその内、HDLCH値が85mg/dl以上の者は3名みられた。高HDLCH血症患者は疑陽性として含まれるが、適切なcut off値を設定すれば本法は家族性高コレステロール血症のスクリーニングに有用であろう。

松田一郎氏ら(熊本大)；保健所、保健センターの協力を得て予備的スクリーニングを行った。乾燥濾紙血液中のアポB及びアポA-1を測定することで1万名のスクリーニングが終了し、高LDL血症児93名、低HDL血症児82名を見いだした。高LDL血症患児に対し

て食事療法を行ったところ、15～20%のLDLコレステロールの低下が見られ、食事療法の有効性を示した。

3) ビオチニダーゼ欠損症

小林正紀氏ら（名市大）；本邦における頻度を明らかにするために、全国の小児科(1000施設)および皮膚科(800施設)を対象にアンケート調査を行った。結果は皮膚炎症状のみの部分欠損症が約10例報告された。マス・スクリーニングの対象となる重篤な症例の頻度は本邦では極めて低いと考えられ、対象疾患として直ちに取り入れる必要はないであろう。

4) 有機酸代謝異常症

折居忠夫氏ら（岐阜大）；乳幼児突然死症候群（SIDS）の中にも有機酸、脂肪酸代謝異常症が含まれていることを3症例を呈示して明らかにした。従って、これらの代謝異常症を発症前に診断することが重要であり、そのスクリーニング法の開発が望まれる。有機酸分析安定同位元素法やFAB/MSなどによるアシルグリシン、アシルカルニチン分析、DNA診断などが可能になってきている。

須藤正克氏ら（福井医科大）；有機酸代謝異常症の発症前診断にはカルニチンやグリシン抱合体の測定が有用である。FAB-MS/MS法は高感度にまた特異的にこれらの物質が測定できるので、同方法の出生前診断やスクリーニングへの応用を試みた。正常羊水中のisovalerylcarnitineとisovalerycineが十分感度よく測定され、正確に診断されることを明らかにした。また、軽症型プロピオン酸血症の無症状時の濾紙血液でpropionylcarnitineが同定され、この方法がスクリーニングに使用しうることを明らかにした。

5) 新しいスクリーニング法の開発

岡田伸太郎氏ら（阪大）；PCR法を用いてpERT87座3組とジストロフィン遺伝子両端のCAリピート部位4組のプライマーを用いて、多型分析を行い、DMDまたはBMDの保因者診断、出生前診断を試みた。17家系で検討した結果、少なくとも1組のプライマーでヘテロを示した女性は96%であった。保因者診断12例（保因者9例、非保因者3例）と出生前診断2例（非患者1例、非保因者1例）を行った。PCR法による多型分析は保因者診断、出生前診断に有効な方法である。

鈴木義之氏ら（東京都臨床研）；DMA/BMDでは高率にジストロフィン遺伝子の部分欠失が見られる。この欠失部分に相当する遺伝子断片と対照部分を同時に増幅し、コンピューターを利用したイメージ分析で定量することによって、保因者診断を試みた。確定ヘテロ接合群では正常群の約1/2であり、この方法は少なくとも1部のDMD/BMD保因者の診断に使用可能である。

成澤邦明ら（東北大）；しばしばライ症候群と誤診されたり、乳児突然死症候群の原因となることから、発症前診断が望まれる中鎖アシルCoA脱水素酵素（MCAD）欠損症の遺伝子診断法を検討した。本症は欧米では極めて頻度の高い疾患であり、昨年度報告の保因者頻度から約1万5千人に1人と推定される。従来、本症の確定診断法はきわめて難しく、マ

ス・スクリーニングの対象として考えられなかった疾患である。本研究でK329E変異が本症の90%の患者の病因であることを明らかにし、この変異を検出することによってマス・スクリーニングが可能であることを示した。K329E変異によるMCAD欠損症のスクリーニング法として、乾燥濾紙血を検体とし、蛍光標識プライマーを用いた方法を開発した。

Ⅲ 3年間の要約と今後の方針

1) ウイルソン病のマス・スクリーニング

本症は出生3～3.5万人に一人と頻度が高い疾患である。青木継稔氏らの全国実態調査によれば、初診時すでに劇症肝炎や肝不全を呈しており救命率は極めて低い。従って、発症前に診断し治療することが極めて重要で、出来るだけ早くマス・スクリーニングを実施する必要がある。スクリーニング法として血中セルロプラスミンを測定するPCFIA法とELIZA法が確立された。いずれも信頼性のある方法で、大量処理能力に優れており、比較的安価でマス・スクリーニングを行うための方法として有用である。これらの方法を用いて、生後3ヶ月～6才児（乳検児、保育園児、および幼稚園児）を対象に予備的スクリーニングをすすめている。現在まで、約10,000名以上がスクリーニングされ、ウイルソン病2例が見いだされた。治療法（銅キレート剤であるD-ペニシラミン療法）は確立しており、スクリーニング方法の基本条件は整った。残っている検討課題として、①これまでの研究から実施時期は生後4週から3才までとなっている。検体採取時期を新生児期以外にしても良いか、②濾紙血液中のセルロプラスミンの不安定性に対してどう対処するか、③3～5%存在するセルロプラスミン正常ウイルソン病をどうするか、などがある。

2) 高コレステロール血症のマス・スクリーニング

高コレステロール血症は動脈硬化症や冠動脈心疾患の主要危険因子であり、動脈硬化病変がすでに小児期に始まっていることが明らかにされている。従って、その予防の為に小児期から治療することが重要である。これまでの研究から、スクリーニング法が確立され、予備的スクリーニングが行われて、高頻度に患者が見いだされた。食事療法や薬物療法による治療が可能であり、マス・スクリーニングの対象疾患にすべきで、継続して検討が必要である。今後の残された課題として、①新生児期のスクリーニングは不適とされていることから、具体的実施時期の決定、②見いだされた患者の管理、指導基準の作成、③管理、指導基準に基づいた長期経過観察、などがある。

3) ビオチニダーゼ欠損症

神経症状を伴う完全欠損症の頻度は本邦では極めて少ないので、今後の検討は不必要であろう。

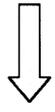
4) 新しいスクリーニング法の開発

有機酸代謝異常症や脂肪酸代謝異常症の発症前診断は従来の方法では極めて困難であったが、DNA診断法やFAB-MS/MSの導入によってマス・スクリーニングの可能

性が出てきた。MCAD欠損症は発症前診断が強く望まれていたが、これまで良い方法がなかった疾患である。本研究で患者の変異形質の約90%がK329E変異であることを明らかにし、それを利用したDNA診断法を開発した。これによりスクリーニングが可能となった。一方、FAB-MS/MSによるカルチニンおよびグリシン抱合体の測定によって、無症状時のプロピオン酸血症のスクリーニングが可能となった。今後とも、これらの新しいスクリーニング法の適用となる疾患を数多く見いだすことが必要であり、更には実際にそれらの疾患をスクリーニングするに当たっての具体的諸問題の検討を続ける必要がある。

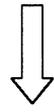
5) 根本的治療法がない疾患への対応

スクリーニングについてのクライテリアは変わりつつあり、根本治療のない疾患もその対象にすべきと考える。これらの疾患では早期診断によって患児の生活の質をあげることが可能となる。また、疾患の発症予防の面から出生前診断、保因者診断は重要である。出生前診断や保因者診断には最近DNA診断法が注目されている。本研究ではDMD/BMDについて簡易DNA診断法を確立した。今後ともより多くの疾患で検討が必要であろう。



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



研究目的

現行のマス・スクリーニング対象疾患に加えるべき新しい疾患を選択し、その実施年齢や方法を検討するのが目的である。また、全く新しい視点に立って、スクリーニング法を開発し、新たな対象疾患を掘り起こすのも本分担研究の目的である。現在マス・スクリーニングが行われている疾患は通常の臨床的方法では発見し難く、発見が遅れると障害を残す疾患で、マスを対象にした検査法、効果的治療法があり、発生頻度がある程度高い疾患が対象となっている。今回、新しい対象疾患としてウィルソン病、高コレステロール血症、ピオチニターゼ欠損症、有機酸代謝異常症を検討した。なかでもウィルソン病はWHOがまとめた報告で、すでにスクリーニングの対象疾患として認められており、上記の条件を満たした重要な疾患である。高コレステロール血症は頻度の高い疾患で、動脈硬化症や冠動脈心疾患の主要危険因子の一つであることから、出来るだけ早期に発見し、治療することが極めて重要である。ウィルソン病や高コレステロール血症は現在予備的スクリーニングがすでにすすめられているが、両者とも新生児期のスクリーニングが難しいとの難点が残され、施行時期の検討が大きな問題となっている。更に、見いだされた患者の管理、指導基準の作成も重要である。ピオチニターゼ欠損症は重篤な神経症状を呈し、アメリカやオーストラリアで高頻度に見られる疾患であるが、本邦での頻度調査が必要であった。有機酸代謝異常症は簡易スクリーニング法の開発が望まれる疾患である。

従来、簡易スクリーニング法がなかったために、発症前診断が出来なかった疾患も少なくない。FAB-MS/MS を使用しての有機酸分析や遺伝子診断法などの新しい手法を用いて、スクリーニング対象疾患を検討することも重要であろう。以下に順を追って各研究協力者の研究成果を要約する。