

平成 16 年度福島県における先天性代謝異常等 新生児マス・スクリーニングの実績

遠山ゆり子 菅井正子 吉田加寿子 柏原尚子 渡部啓司
微生物グループ

はじめに

福島県における先天性代謝異常等マス・スクリーニング事業は福島県先天性代謝異常等検査事業実施要綱¹⁾に基づきアミノ酸代謝異常症 3 疾患、ガラクトース血症、先天性副腎過形成症 (CAH) および甲状腺機能低下症 (CH) の 6 疾患を対象に実施している。

本報告では、平成 16 年度（平成 16 年 4 月 1 日から平成 17 年 3 月 16 日受付け分）に実施した福島県における新生児マス・スクリーニング検査業務の実績について、若干の考察を加えて報告する。

材 料

検体は県内の協力医療機関（主に出生医療機関）でのインフォームド・コンセント後、保護者の同意、希望により新生児の足蹠から専用ろ紙に採血され、自然乾燥後当所に郵送される。採血時期は、日齢 4 ~ 6 日を推奨している。

検査には、乾燥したろ紙血液を直径 3mm に打ち抜いたディスクを使用した。

方 法

検査は概ね検査実施要綱¹⁾に則って行った。各項目の検査方法および検査に使用した試薬

等は次に記載するとおりである。

1 アミノ酸代謝異常症

検査対象とする疾患はフェニルケトン尿症 (Phenylketonuria : PKU)、メープルシロップ尿症 (Maple syrup urine disease : MSUD) およびホモシスチン尿症 (Homocystinuria : HCU) の 3 疾患である。これらの疾患はアミノ酸の代謝過程における酵素または補酵素の欠損により、PKU ではフェニルアラニン、MSUD ではロイシン、イソロイシンおよびバリン、HCU ではメチオニンの血中濃度がそれぞれ高値となることから、検査ではそれぞれのアミノ酸 (MSUD ではロイシン) を指標とする Bacterial inhibition assay (BIA 法) を用いている。即ちそれぞれ 2-thienyl-alanin, 4-aza-DL-leucine および L-methionine sulfoximine を阻害剤として加えた Demain 修正培地²⁾、枯草菌、芽胞懸濁液および寒天を表 1 で示した組成を含む培地を用い、直径 3 mm 乾燥ろ紙血液ディスクを試料とし、表 1 に示した条件で培養後、枯草菌の発育帯の大きさを標準ろ紙血液と比較し判定した。

確認検査、二次検査としては平成 11 年から直径 3mm 乾燥ろ紙血液ディスクからの抽出液を用い HPLC 法で定量している。

表 1 Demain 修正培地 (BIA) 培地組成およ培養条件

疾患名	培地組成				培養
	Demain 修正培地	芽胞懸濁液	寒天	阻害剤	
フェニルケトン尿症	栄研化学 15mL	ATCC6633 2×10 ⁸ /mL 0.30mL	oxoid 1.2g	2.5mM β-2TA 0.20mL	37°C
メープルシロップ尿症	栄研化学 15mL	ATCC6051 2×10 ⁸ /mL 0.25mL	oxoid 1.2g	10mM 4-AL 0.25mL	37°C
ホモシスチン尿症	栄研化学 15mL	ATCC6633 2×10 ⁸ /mL 0.18mL	oxoid 1.2g	0.2mM MSO 0.32mL	37°C

注1 β-2TA : β-2thienyl-alanine, 4-AL : 4-aza-leucine, MSO : L-methionine-DL-sulfoximine

注2 培地の組成は精製水 135mLあたりの添加量を示す。

2 ガラクトース血症

ガラクトース血症は欠損酵素の種類により3型に分類されるが、本事業では、Galactose-1-phosphate uridylyltransferase 欠損症（I型）³の検出を目的として以下の2法を実施している。

① Beutler法⁴はGal-1-P uridylyltransferaseが欠損していると反応系に加えたG-1-Pが変換せず最終的に蛍光を発しないことを利用した方法で直径3mm乾燥ろ紙血液ディスクに試薬を加え37℃で4時間放置後、365nmで蛍光の有無を判定した。

② Paigen-吉田法⁵は血液中のガラクトースが高値となる3型全て（I型、II型：Galactokinase欠損症、III型：Uridine diphosphate galactose-4-epimerase欠損症）の検出を目的とした検査法で、ガラクトース存在下ではファージC-21による大腸菌Q396株の溶菌が起こらないことを利用している。BIA法と同様、直径3mm乾燥ろ紙血液ディスクを試料とし、37℃18時間培養後、大腸菌の発育帯の大きさを標準ろ紙血液比較し、判定した。

3 先天性副腎過形成症

表2 先天性代謝異常検査疾患別検査基準

平成16年4月1日現在

疾患名	指標物質名	判定基準
フェニルケトン尿	Phenylalanine(Phe)	初回採取検体の一次検査(BIA)によりPhenylalanine濃度が4mg/dL以上の検体につき確認検査および二次検査(HPLC)を行い、再度4mg/dLであった場合再採取検査を実施する。その結果、4mg/dL以上を検査陽性と判定する。
メープルシロップ尿	Leucine(Leu)	初回採取検査によりLeucine濃度が4mg/dL以上の検体についてPKUと同様に取り扱う。
ホモシスチン尿	Methionine(Met)	初回採取検査によりMethionine濃度が1mg/dL以上の検体についてPKUと同様に取り扱う。
ガラクトース血症	Beutler法： Galactose-1-P uridylyltransferase活性	初回採取検査により蛍光(-)の検体について確認検査を行い、再度蛍光(-)であった場合再採取検査を実施する。その結果蛍光(-)を検査陽性と判定する。
	Paigen法： Galactose(Gal)	初回採取検査によりGalactose濃度が8mg/dL以上の検体についてPKUと同様に取り扱う。
先天性副腎過形成症	17α-hydroxyprogesterone(17-OHP)	初回採取検査(直接法)により17-OHP濃度が3.5ng/mL以上または同一測定系上位5percentileの検体について確認検査および二次検査(抽出法)を行い、二次検査で3ng/mL以上あった場合再採取検査を実施する。再採取二次検査の結果が3ng/mL以上を検査陽性とする。ただし、初回採取二次検査の結果が10ng/mL以上の場合は初回陽性とする。
先天性甲状腺機能低下症	Thyroid stimulating hormone(TSH)	初回採取検査によりTSH濃度が9μU/mL以上または同一測定系上位3percentileの検体について確認検査を行い、再度10μU/mL以上あった場合再採取検査を実施する。再採取確認検査の結果が10μU/mL以上を検査陽性とする。ただし、初回採取確認検査の結果が30μU/mL以上の場合は初回陽性とする。

本症は、欠損酵素の種類により数種の亜型が知られている⁶。本事業ではこれらのうち最も高頻度に見出される21-hydroxylase欠損症を対象とし、本酵素の欠損で血中濃度が高値となる17α-hydroxyprogesterone(17-OHP)を指標として検査を行っている。17-OHPの測定は、直径3mm乾燥ろ紙血液ディスク1枚を試料とし、競合ELISA法⁷で行った。平成16年4月より、使用キットを3位抗体測定用から、7位抗体測定用に変更し、それに伴い基準値も変更した。

4 先天性甲状腺機能低下症

本症は、甲状腺機能低下により血中の下垂体前葉から分泌される甲状腺刺激ホルモン(Thyroidstimulating hormone : TSH)が高値となることから、本事業ではTSHを指標として検査を実施している⁸。測定は直径3mm乾燥ろ紙血液ディスク1枚を試料とし、サンドイッチELISA法⁹で行った。

5 判定基準

收受した検体は、初回採取検体として一次検査を実施し、表2に示した基準値により判定した。基準値を上回った検体については確認検査を行い、再度同様の結果が得られた場

合は再採取血を依頼し、これを再採取検体として再検査を実施した。再採取検査の結果が基準値を上回った場合は、専門医による精密検査を受診するよう採血医療機関を通して指導する体制をとった。ただし、対象となっているのはいずれも対処に急を要する疾患であることから、初回採取検体において高値を示し明らかに陽性と判定された場合は、初回陽性として速やかに精密検査を受けられるよう連絡をとった。

結果及び考察

1 検体数

平成 16 年度に收受した初回採取検体数は、平成 17 年 3 月 16 日受付分まで 19,196 件で、平成 15 年度の同日受付分に比較し、433 件減で 2.2 % 減少した。昨年度の減少率 2.9 % に比較し、わずかな減少率の低下がみられた。

出生時体重 2,000g 以下の検体数は 354 件で全体の 1.8 % を占めていた。さらに出生時体重 1,500g 以下の児は 138 人と低出生体重児のほぼ 40 % であり、平成 15 年度と比較し、同様の結果であった。

6 疾患 8 項目の初回採取件数、確認検査件

表 3 先天性代謝異常等検査の検出状況

(平成 16 年度收受件数 19,196 件)

検査項目	疑陽性件数	陽性件数	確定件数
フェニルケトン尿症	0	0	0
メープルシロップ尿症	1(0.005)	0	0
ホモシスチン尿症	1(0.005)	1(0.005)	0
ガラクトース血症（ペイゲン法）	3(0.016)	0	0
ガラクトース血症（ボイトラー法）	4(0.021)	2(0.010)	0
先天性副腎過形成症	155(0.807)	19(0.099)	2(1/9, 598)
先天性甲状腺機能低下症	175(0.912)	13(0.068)	2(1/9, 598)

注 1 疑陽性および陽性件数欄（）内は全件数に対する パーセンテージを示す。

注 2 確定件数欄（）内は発生頻度を示す。

表 4 ホモシスチン尿症スクリーニングにおける陽性例の検査成績および精密検査

陽性者 No.	性別	出生時 体重(g)	初回採血 年月日	初回検査値(mg/dL)		再採血 年月日	再検査値(mg/dL)		
				BIA	HPLC		BIA	HPLC	
1	女	2,776	H16.5.17	2	1.89	H16.5.25	4	2.64	高メチオニン血症

4) ガラクトース血症

Paigen-吉田法は血中 Gal 8mg/dL をカットオフ値として判定した。確認検査は 622 件

数、再採取検査件の総和は 147,641 件であった。

2 先天性代謝異常症

1) フェニルケトン尿症

血中フェニルアラニン 4mg/dL をカットオフ値として判定した。初回陽性例は無かった。確認検査は 374 件 1.9 % 実施したが、全て正常と判定され、疑陽性例はなかった（表 3）。

2) メープルシロップ尿症

血中ロイシン 4mg/dL をカットオフ値として判定した。初回陽性例は無かった。確認検査は 602 件 3.1 % 実施した。再採取を必要とした疑陽性例は 1 例あったが、再採取検査では正常と判定され、精密検査を必要とする陽性はなかった（表 3）。

3) ホモシスチン尿症

血中メチオニン 1mg/dL をカットオフ値として判定した。初回陽性例は無かった。確認検査は 1,632 件 8.5 % 実施し、再採取を必要とした疑陽性例は 1 例であった。再採取検査の結果陽性と判定されたが、精密検査の結果、高メチオニン血症と診断され、ホモシスチン尿症と診断された例はなかった（表 4）。

Beutler 法は 4 時間反応後、蛍光の有無を 350nm で検出し、蛍光有を正常、蛍光無を陽性とした。確認検査は 80 件 0.42 % 実施し、再採取を必要とした例は 4 例であった。再採取検査の結果 2 例が正常、2 例が陽性であったが、精密検査の結果、2 例とも正常であった（表 5）。

3 先天性副腎過形成症

本症は平成元年度からマス・スクリーニングが開始された疾患で副腎皮質ホルモン生合成に関する酵素の欠損症である。検査は表 2 に示した基準により判定しているが、塩喪失型では生後まもなくか、または数週間後に

急性経過を辿り生命予後不良に至る重篤な状態をきたす例が少なくないことから、初回採取検体の 17-OHP が抽出法による検査で 10 ng/mL を越したものについては再採取検査をせずに初回陽性と判定し、直ちに精密検査を勧める体制をとった。

また、出生時体重が 2,000g 以下の低出生体重児や感染症など外的侵襲の多い例では非特異的に血中 17-OHP の上昇を示すことが多く、この種の原因で陽性と判定されたものについては担当医による経過観察を依頼するとともに、体重増加後の再採取検査を行った。

本年度、初回陽性は 17 例で、1,000g 以下の

表 5 ガラクトース血症スクリーニングにおける陽性例の検査成績および精密検査

陽性者 No.	性別	出生時 体重(g)	初回採血日	初回検査値(mg/dL)		再採血日	再検査値(mg/dL)		精密検査結果
				ペイゲン	ボイトラー		ペイゲン	ボイトラー	
1	男	3,225	H16.5.16	4	蛍光無	H16.6.4	2	蛍光無	正常
						再々採血 H16.6.13	2	蛍光無	
2	男	3,088	H16.6.18	2	蛍光無	H16.6.26	2	蛍光無	正常

表 6 先天性副腎過形成症スクリーニングにおける陽性例の検査成績および精密検査

陽性者 番号	性別	出生時 体重(g)	初回採血 年月日	初回検査値 17α-OHP		再採血 年月日	再検査値 17α-OHP		精密検査結果
				直接法 ng/mL	抽出法 ng/mL		直接法 ng/mL	抽出法 ng/mL	
1	男	2,470	H16.4.14	23.9	14.5		初回陽性		経過観察
2	男	2,222	H16.4.21	25.8	17.6		初回陽性		正常
3	男	1,712	H16.5.13	52.4	15.5		初回陽性		正常
4	女	992	H16.6.4	30.1	18.7		初回陽性		正常
5	不明	3,660	H16.7.22	100以上	100以上		初回陽性		先天性副腎過形成症（疑）
6	男	844	H16.7.20	21.2	16.7		初回陽性		正常
7	男	964	H16.8.2	46.3	38.6		初回陽性		
8	女	756	H16.9.3	60.5	15.4		初回陽性		経過観察
9	男	648	H16.9.8	32.6	21.3		初回陽性		経過観察
10	女	1,816	H16.10.20	100以上	36.2		初回陽性		正常
11	男	2,676	H16.10.20	100以上	100以上		初回陽性		先天性副腎過形成症
12	男	2,614	H16.10.23	16.7	9.4	H16.11.4	10.9	7.5	正常
13	男	1,600	H16.12.15	21.0	14.0		初回陽性		正常
14	男	2,888	H16.11.29	13.0	9.3	H16.12.6	8.2	6.0	正常
						再々採血 H16.12.21	10.7	5.2	
15	男	734	H17.1.4	13.1	11.5		初回陽性		正常
16	男	1,498	H17.1.4	26.2	15.8		初回陽性		正常
17	男	586	H17.1.5	21.0	12.8		初回陽性		H17.1.25 死亡（腎不全）
18	男	938	H17.1.26	48.5	34.2		初回陽性		
19	不明	2,980	H17.3.5	100以上	100以上		初回陽性		先天性副腎過形成症

超未熟児が 8 例、2,000g 以下が 4 例と低出生体重児が 70 %を占めた。精密検査の結果、2 例が本症と診断され、1 例が本症疑いと診断された。

本検査は表 2 に示したように、毎回の測定集団中上位 5 パーセンタイルあるいは直接法 3.5 ng/mL 以上の検体について抽出法を行い、測定値が 3ng/mL 以上であったものについて再採取検査を行うとしているため、確認検査数は 1,368 件 7.1 %とアミノ酸代謝異常症等と比べ高率である。疑陽性は 155 件 0.81 %であった。陽性と判定されたのは、表 6 に示すように、初回陽性も含め 19 例であったが、精密検査の結果、本症と確定診断されたのは 2 例、本症疑い 1 例、死亡 1 例、経過観察 3 例、正常 10 例、不明 2 例であった。

4 先天性甲状腺機能低下症

表 2 に示したように、本検査は毎回の測定群中上位 3 パーセンタイルあるいは TSH 値 9μU/mL 以上であった検体について確認検査

をし、再度 10μU/mL 以上であった場合は疑陽性として再採取検査を行う。再採取検査の結果 10μU/mL 以上を陽性と判定し、精密検査を受診するよう連絡体制をとった。ただし、初回採取検査の結果が 30μU/mL 以上の場合は初回陽性として再採取検査をせず、速やかに専門医を受診するよう勧めた。

本年度の確認検査数は 783 件 4.1 %で、このうち疑陽性のため再採取を依頼した検体は 175 件で 0.91% であった。初回陽性 6 例と、再採取検査後陽性と判定された 7 例、計 13 例の成績および精査結果について表 7 に示した。本症と確定診断されたのは 2 例、経過観察 4 例、正常 4 例、高 TSH 血症 1 例、不明 2 例であった。

本症のわが国における発生頻度は 6 疾患中最も高く、昭和 54 年の検査開始以来平成 15 年度までの 24 年間の患者発見率は 1/ 3,700 であるが、本年度の県内の発見率は 1/9,598 であった。

表 7 先天性甲状腺機能低下症スクリーニングにおける陽性例の検査成績および精密検査

陽性者番号	性別	出生時体重	初回採血年月日	初回検査値 TSH(μU/mL)	再採血年月日	再検査値 TSH(μU/mL)	精密検査結果
1	男	3,030	H16.3.26	13.9	H16.4.6	14.8	経過観察
2	男	3,050	H16.7.5	16.5	H16.7.14	23.3	経過観察
3	男	1,862	H16.7.20	80以上	初回陽性		先天性甲状腺機能低下症
4	女	2,346	H16.8.29	80以上	初回陽性		
5	男	3,674	H16.9.1	80以上	初回陽性		先天性甲状腺機能低下症
6	女	2,886	H16.10.14	80以上	初回陽性		正常
7	女	3,294	H16.10.2	11.4	H16.10.14	16.8	高TSH血症
8	女	3,128	H16.12.2	10.7	H16.12.14	25.7	正常
9	男	1,332	H16.12.21	46.3	初回陽性		経過観察
10	女	3,020	H17.2.27	53.8	初回陽性		正常
11	女	3,282	H17.2.15	13.7	H17.3.1	15.0	経過観察
12	女	1,994	H17.2.16	8.5	H17.3.3	34.9	正常
13	男	3,772	H17.3.4	15.0	H17.3.11	22.8	

まとめ

1 平成 16 年度に収受した初回採取検体は 19,196 件で、6 疾患 8 項目の一次検査数は 137,333 件であった。確認検査数は 9,946 件、確認検査の結果疑陽性で再採取検査を要した

のは 362 件 0.26 %、陽性と判定されたのは 35 件 0.03 % であった。

2 先天性代謝異常症

本年度はフェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症については陽性例はなかった。ホ

モシスチン尿症陽性は1例で、精査の結果、高メチオニン血症と診断された。ガラクトース血症 Beutler 法陽性の2例は、精査の結果2例とも正常と診断された。

3 先天性副腎過形成症

本年度の検査陽性例は19例で、精査の結果、本疾患と診断されたのは2例であった。

4 先天性甲状腺機能低下症

本年度の検査陽性例は13例で、精査の結果、本疾患と診断されたのは2例であった。

スクリーニングの検討. 基礎と臨床 1982 ; 31 : 69-76

引用文献

- 1) 福島県. 福島県先天性代謝異常等検査事業実施要綱 (15児 1517号, 平成15年4月1日, 保健福祉部長)
- 2) Guthrie R. Blood screening for phenylketonuria. J. Am.med. Assoc. 1961 ; 178 : 863
- 3) Segel S. Disorders of galactose metabolism. In Stanbury et al. eds. The metabolic basis of inherited disease 5th edn. New York : McGraw-Hill, 1983 ; 167-191
- 4) Beutler E, Baluda MC. Improved method for measuring galactose-1-phosphate uridylyltransferase activity of erythrocytes. Clin. Chim. Acta. 1966 ; 13 : 369-379
- 5) 吉田篤子, 田所雄次, 他. ペイゲ・ファージ法の改良. 代謝異常スクリーニング研究会会報 1979 ; 4 : 121-123
- 6) Maria IN, Dupont B, et al. Disorders of steroid metabolism. In Stanbury et al. eds. The metabolic basis of inherited disease. 5th edn. New York : McGraw-Hill, 1983 ; 973-1042
- 7) 福士勝, 荒川修, 他. 先天性副腎過形成 (21-水酸化酵素欠損症のマス・スクリーニングに関する研究) 第3報—マイクロプレートを用いる乾燥濾紙血液中の 17 α -hydroxyprogesterone の酵素免疫測定法の開発—. 日内分泌誌 1987 ; 63 : 113-122
- 8) 中島博徳. 先天性甲状腺機能低下症. 新生児マス・スクリーニングハンドブック. 成瀬浩, 松田一郎 編. 東京 : 南江堂, 1989 : 100-114
- 9) 水島好清, 福士勝, 他. 甲状腺刺激ホルモンの酵素免疫測定法によるクレチニン症マス・