

図1. メチルマロニルCoAムターゼ活性測定結果 (*今回報告症例)

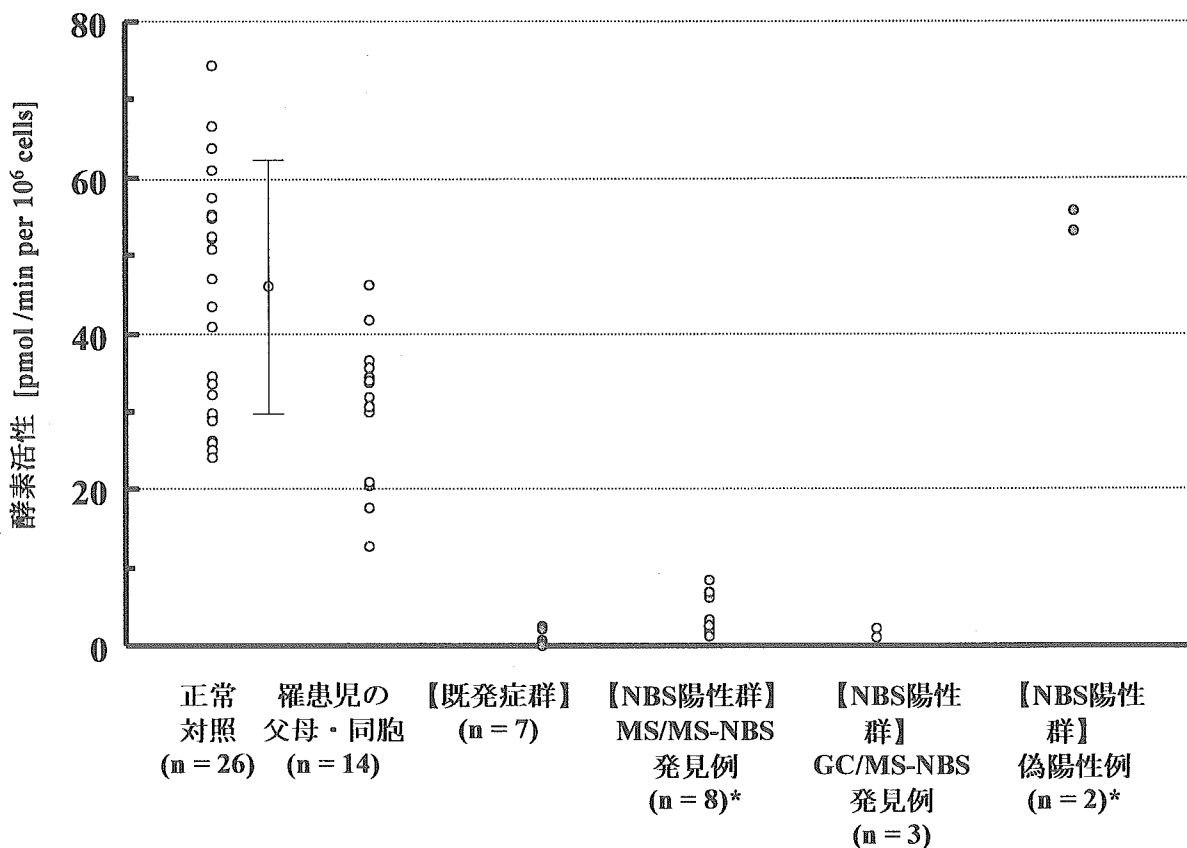


図2. プロピオニルCoAカルボキシラーゼ活性測定結果 (*今回報告症例)

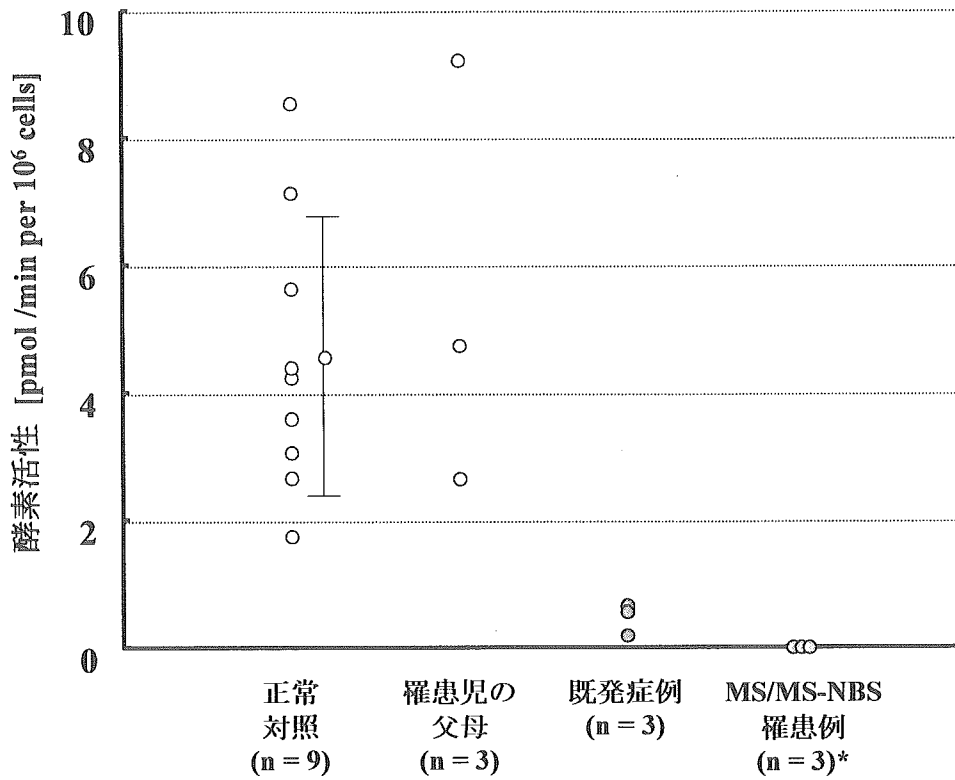


図3. グルタリルCoA脱水素酵素活性測定結果 (*今回報告症例)

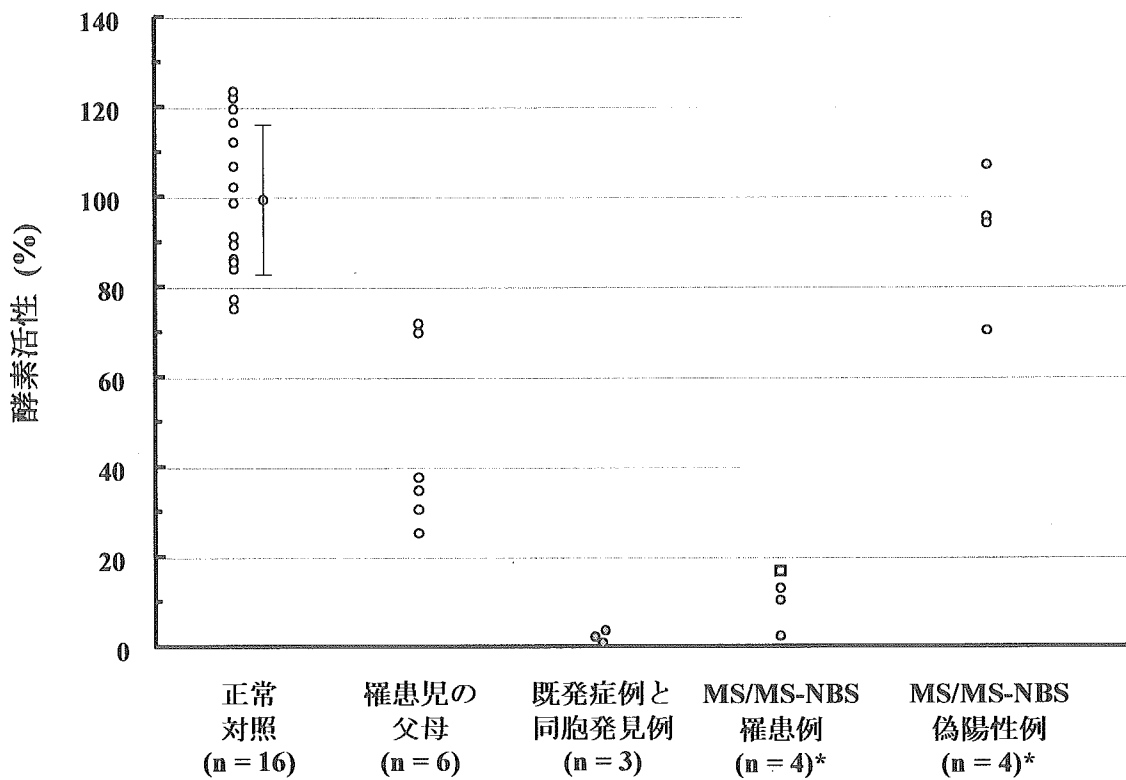


図4. 中鎖アシルCoA脱水素酵素活性測定結果

(*今回報告症例: 但し、罹患者のうち最も活性値の高い一例 (□) は、国外 MS/MS-NBS 陽性症例)

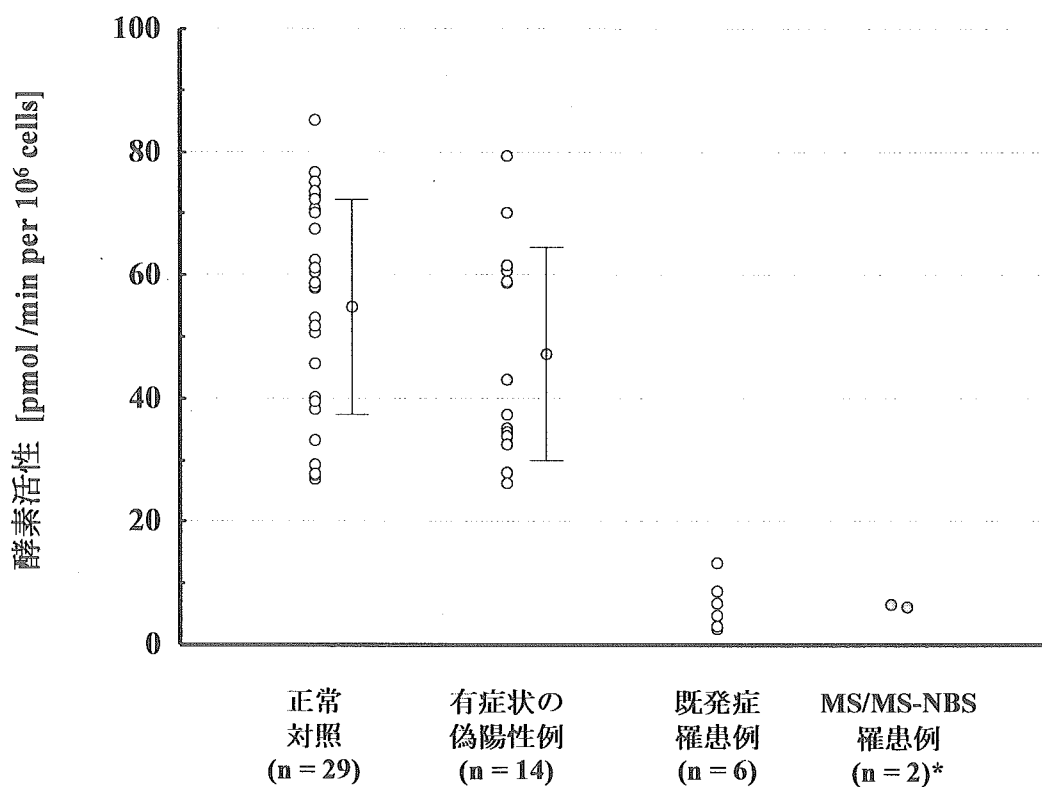


図5. 極長鎖アシルCoA脱水素活性測定結果 (*今回報告症例)

表. MS/MS-NBSで発見されたその他の症例

疑われる疾患	MS/MSデータ (濾紙血)	GC/MSデータ (尿)	酵素診断結果	遺伝子解析結果
ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症	OH-C5 = 1.56 (<0.5)	乳酸 3-OH-イソ吉草酸 メチルクエン酸 3-メチルクロトニルグリシン	非確定的	複合ヘテロ
グルタル酸尿症 II 型	Elevation of C2 - C14, C5	エチルマロン酸 2-OH-グルタル酸	未検	未検
CPT-I 欠損症	C0/(C16+C18) = 127 (<100)	著変なし	正常対照の約50%	複合ヘテロ
SCAD 欠損症	C4 = 2.3 (0.15 - 0.33)	エチルマロン酸	正常対照の約50%	未検
SCAD 欠損症	C4 = 2.1 (0.15 - 0.33)	エチルマロン酸	未検	未検

分担研究課題:新しい新生児マス・スクリーニング体制に関する研究

先天性ケトン体代謝異常症の遺伝子診断

研究要旨

先天性ケトン体代謝異常症には大きくケトン体産生障害をきたすミトコンドリア HMG-CoA 合成酵素 (HMGS) 欠損症と HMG-CoA lyase 欠損症があり, ケトン体利用障害をきたす疾患には, ミトコンドリアアセトアセチル-CoA チオラーゼ (T2) 欠損症とサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ(SCOT)欠損症がある. 我々はこれまで後者2疾患の遺伝子診断をおこなってきており, T2 欠損症については50例以上, SCOT 欠損症については17例の遺伝子診断を行ってきた. 今回有機酸分析, アシルカルニチン分析では特徴的な所見のない HMGS 欠損症の遺伝子診断も開始した. 非ケトン性低血糖症をきたす症例で, 有機酸分析, アシルカルニチン分析で診断がつかない症例の中に HMGS 欠損症が見逃されている可能性があり, 解析をすすめたい

研究協力者 深尾 敏幸
岐阜大学大学院医学研究科
小児病態学 助教授

を増幅して塩基配列を決定する方法を用いた.
(倫理面への配慮) 当該遺伝子解析は岐阜大学医学倫理委員会の承認を得て行っている.

A 研究目的

先天性ケトン体代謝異常症には大きくケトン体産生障害をきたすミトコンドリア HMG-CoA 合成酵素 (HMGS) 欠損症と HMG-CoA lyase 欠損症があり, ケトン体利用障害をきたす疾患には, ミトコンドリアアセトアセチル-CoA チオラーゼ (T2) 欠損症とサクシニル-CoA:3-ケト酸 CoA トランスフェラーゼ(SCOT)欠損症がある. これら疾患のうち特に HMGS 欠損症と SCOT)欠損症は尿有機酸分析, 血液尿アシルカルニチン分析にて特異的な所見はなく, 臨床像から疑って酵素診断, 遺伝子診断を行わない限り診断できない有機酸代謝異常症ということが出来る. また T2 欠損症においても発作時でないとう有機酸分析やアシルカルニチン分析では見逃される軽症変異型の症例が存在する. このため臨床的にこれらの疾患をいかに疑い, 確定診断に結び付けることは非常に重要である. 今回その遺伝子診断の有用性について報告する.

B 研究方法

これら3疾患を臨床的に疑われ, 診断を依頼された症例について遺伝子解析を行った. 各エクソン(その両端のイントロン少なくとも50塩基含む)

C 研究結果

T2 欠損症および SCOT 欠損症については最初に酵素診断を行ったのちに遺伝子解析を行っている. 55例の T2 欠損症のうちゲノム PCR 遺伝子変異の同定できないのは, 110アリアル中7アリアル of 6.3% (最近そのうち2アリアルが T2 遺伝子のかかなり大きな欠失であることが明らかになった)であった. 一方17例の SCOT 欠損症においてはこれまでのところすべてのアリアル of 遺伝子変異を同定できている. HMGS 欠損症については非ケトン性低血糖で FFA が高いという臨床像の症例が1例しかなく, 3例解析してまだ変異を確定できた症例はいない.

D 考察

酵素診断が難しく遺伝子診断を最初に行う HMGS 欠損症においては症例の蓄積が必要と考えられる.

E 結論

ゲノムレベルでのダイレクトシーケンシングによる変異解析は, T2 欠損症および SCOT 欠損症と酵素診断された症例においてはほぼ95%程度は変異を同定することができた. HMGS 欠損症においてはまだ解析をはじめたばかりであるが, 臨床的に疑いのある症例を集め, 効率的に解析する必要がある.

G 研究発表

1 論文発表

Kursula P, Sikkila H, **Fukao T**, Kondo N, Wierenga RK: High resolution crystal structures of human cytosolic thiolase (CT). A comparison of the active sites of human CT, bacterial thiolase, and bacterial KAS I. *J Mol Biol.* 347:189-201, 2005

Mrazova L, **Fukao T**, Halovd K, Gregova E, Kohut V, Pribyl D, Chrastina P, Kondo N, Pospisilova E. Two novel mutations in mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 28:235-236, 2005

2 学会発表

Fukao T, Haapalainen A, Sakurai S, Zhang G-X, Wierenga RK, Kondo N. Molecular and structural analysis of mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase. 6th International congress on fatty acid oxidation, 2005 (June), Egmond aan Zee

Fukao T, Hasegawa Y, Ohashi Y, Nishino I, Shigematsu Y, Kondo N, Yamaguchi S. Clinical and molecular aspects of VLCAD deficiency in Japan. 6th International congress on fatty acid oxidation, 2005 (June), Egmond aan Zee

Yamaguchi S, Hasegawa Y, Kobayashi H, Uchida Y, Yotsumoto Y, Takayanagi A, Kimura M, Tajima G, Sakura N, **Fukao T**, Takayanagi M, Shigematsu Y. Survey of mitochondrial fatty acid oxidation disorders (FAODS) in Japanese. 6th International congress on fatty acid oxidation, 2005 (June), Egmond aan Zee

Yamaguchi S, Hasegawa Y, Kobayashi H, Yotsumoto Y, Kimura M, **Fukao T**, Shigematsu Y: Clinical and Molecular Aspects of VLCAD Deficiency and Glutaric acidemia Type II in Japanese, 42st Annual symposium of SSIEM, Paris, France, 2005 (September)

Fukao T, Sakurai S, Yamada K, Zhang G-X, Kondo N. Recent Advances in the study for inborn errors of ketone body metabolism. 1st Congress of Asian Society for Pediatric Research, 2005 (November), Tokyo

深尾敏幸: ケトン体代謝とその異常症の臨床と分子病態. 第11回山形小児内分泌・代謝研究会. 平成17年6月3日, 山形.

深尾敏幸: ケトン体の臨床的意義-ケトン体代謝を中心に-第33回大垣小児科医会. 平成17年2月26日, 大垣

桜井里美、深尾敏幸、張改秀、山田桂太郎、近藤直実 ミトコンドリアアセトアセチル-CoA チオラーゼ欠損症: 252-256 アミノ残基に認められた遺伝子変異の解析. 第48回日本先天代謝異常学会 2005年11月16-18日、熊本

張改秀、深尾敏幸、桜井里美、山田桂太郎、小澤 亮、近藤直実 Exon 2, 3, 4 を含めて長い T2 遺伝子の欠失がみられた T2 欠損症の1例. 第48回日

本先天代謝異常学会 2005年11月16-18日、熊本

深尾敏幸、桜井里美、張改秀、山田桂太郎、松尾直樹、近藤直実. 非ケトン性低血糖発作をきたす児に対するミトコンドリア HMG-CoA 合成酵素遺伝子解析の試み.

第48回日本先天代謝異常学会 2005年11月16-18日、熊本

山田桂太郎、深尾敏幸、張改秀、桜井里美、近藤直実. SCOT 遺伝子のエクソン6最後の塩基 c. 617G>A 変異はエクソン6スキップ、エクソン6と7のスキップをきたす. 第48回日本先天代謝異常学会 2005年11月16-18日、熊本

山田桂太郎、深尾敏幸、張改秀、桜井里美、近藤直実. SCOT 遺伝子における c. 671G>A 変異は複数の異常 mRNA を産生する. 第108回日本小児科学会学術集会 2005年4月22-24日、東京

桜井里美、深尾敏幸、張改秀、山田桂太郎、近藤直実. β -ケトチオラーゼ (T2) における 252Ede1 変異蛋白の温度不安定性. 第108回日本小児科学会学術集会 2005年4月22-24日、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況特になし.

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制に関する研究

日本人グルタル酸血症 2 型(GA2)患者の臨床的・遺伝的特徴

研究要旨

グルタル酸血症 2 型 (GA2) は、ミトコンドリアの複数のアシル CoA 脱水素酵素反応が同時に障害される有機酸・脂肪酸代謝異常である。臨床病型は 1) 新生児型 (生後早期から致死経過をとる重症型) と、2) 遅発型 (乳児期以降に間欠的発作で発症) に大別され、欠損タンパクとして ETF α 、ETF β および ETFDH の 3 つが知られている。

これまでに当科で診断した GA2 日本人患者 13 例 (男児 8 名、女児 5 名) の臨床的検討を行い、このうち 11 例について分子生化学的に検討を行った。この 11 例の臨床病型は新生児型 3 例、遅発型 8 例であり、半数が死亡転帰をとっていた。ETF のイムノブロット解析では、11 例中 7 例に ETF タンパクの欠損を認め、これらの症例は ETF α または β の欠損と考えられた。遺伝子解析によって最終的に ETF α 欠損 3 例、ETF β 欠損 4 例、ETFDH 欠損 4 例を同定した。全 11 例中、複合ヘテロ変異症例が 9 例、ホモ変異が 2 例であった。これらの変異のうち 10 カ所は novel mutation であった。これらの変異と臨床病型には、特に関連は認められなかった。

海外の報告例では、これまでに約 20 症例、40 個余の遺伝子変異が報告されているが、高頻度変異はみられていない。今回の我々の検討でも日本人に特有の変異の集積性は認められなかった。また遺伝子変異は海外報告例と異なり、民族的な差であるかどうかは、今後さらに検索する必要がある。

研究協力者

四本 由郁、長谷川 有紀、小林 弘典、遠藤 充、
山口 清次 (島根大学小児科)

2) イムノブロット

皮膚線維芽細胞を用いて、アルカリフォスファターゼ発色法で行った。

A.研究目的

タンデムマスの普及により我が国で発見される有機酸、脂肪酸代謝異常症患者数が増加しつつある。臨床的・遺伝的特徴を解析することは、早期発見による発症予防効果と比較する上で重要である。そのうちのひとつである GA2 日本人患者の臨床的、生化学的検討を行った。

3) 遺伝子解析

皮膚線維芽細胞より genome DNA を抽出し、PCR、ETFA、ETFB、ETFDH 遺伝子のシーケンスを行った。

(倫理面への配慮) 遺伝子解析に当たり、各患者および両親に説明を行い、解析への同意を得た。

B.研究方法

1) 臨床病型の解析

日本人 GA2 患者 13 例の発症年齢と初発症状、検査データの特徴を検討した。

C.研究結果

1) 臨床病型 (表 1)

13 例の日本人患者のうち、男児は 8 名、女児は 5 名であった。なお、症例 3 と症例 4、症例

5 と症例 6 は同胞例であった。臨床病型では、新生児型が 4 例、遅発型は 9 例であった。全 13 症例中 8 例に突然死の家族歴があり、3 例に多発性嚢胞腎、1 例に先天性心疾患、骨系統疾患の合併を認めた。新生児型では、4 症例全例が生後より呼吸障害、低血糖や高アンモニア血症を呈し、日齢 5 までに死亡していた。また、遅発型では 4 か月から 1 歳までに哺乳不良、筋緊張低下、痙攣発作で発症し、増悪期低血糖や高アンモニア血症を呈し、9 例中 4 例が 3 歳までに死亡していた。

2) イムノブロット

日本人患者全 13 症例のうち、11 例の線維芽細胞が得られた。これらの線維芽細胞を用いて、イムノブロット解析を行った。11 例中 7 例で ETF タンパクの欠損がみられた。他 4 例では ETF タンパクの発現を認め、ETFDH タンパクの欠損を予想させた。臨床的重症度との相関はみられなかった。(データは示していない)

3) 遺伝子解析 (表 2)

日本人患者 11 例の線維芽細胞を用いて、遺伝子解析を行った。遺伝子変異の判明した日本人患者 11 例のうち、ホモ変異は 2 例、複合ヘテロ変異は 9 例であった。既に遺伝子異常を報告されている症例が 11 例中 4 例にみられた。我々は、他 7 例から新たに 10 カ所の novel mutation を同定した。ミスセンス変異 5 カ所 (*ETFA* 1 カ所 (L95V)、*ETFDH* 4 カ所 (G362R, L366F, A403V, P534L)、ナンセンス変異 3 カ所 (*ETFB* 2 カ所 (K19stop, R165stop)、*ETFDH* 1 カ所 (R559stop))、フレームシフト 2 カ所 (*ETFB* 2 カ所 (77delG, 80delC)) であった。これらの変異は、すべて既に報告された変異とは異なるものであった。また、同胞例を除き、日本人患者内においても同じ変異を認めた例はなかった。欧米人患者を中心とする海外例では、これまでに *ETFA*, *ETFB*, *ETFDH* あわせて 40 カ所余の遺伝子変異が報告されているが、特に高頻度変異の報告はなかった。

D. 考察と結論

今回我々は、GA2 日本人患者 13 症例の検討を行った。臨床病型としては、新生児型 4 例、遅発型 9 例と、診断した例では遅発型の方が多かったが、半数以上は小児期に死亡した。また、線維芽細胞の得られた 11 例は分子学的所見では、ETF α 欠損 3 例、ETF β 欠損 4 例、ETFDH 欠損 4 例が同定された。11 例のうち、遺伝子変異のホモ接合体は 2 例、複合ヘテロ接合体は 9 例であった。(表 3)

原因不明の低血糖、高アンモニア血症や意識障害、痙攣を呈する患者の中からも、本症の発見例が増加している。今回の検討でも原因不明の突然死とされていた症例から発見された例もある。海外の報告例では、これまでに約 20 症例、40 個余の遺伝子変異が報告されているが、変異の集積性はみられていない。今回の我々の検討でも変異の集積性は認められなかった。また遺伝子変異は海外報告例と異なる部位であり、民族的な差についても今後さらに検索が必要である。

新生児マススクリーニングが実現すれば、新生児期発症例の発見と早期治療が可能となり、社会的貢献度は高いと考える。ただ、本症の正確な診断は現在でも容易でないケースが多い。今後も精査、診断技術の向上が望まれる。

E. 学会発表

- 1) 四本由郁、内田由里、長谷川有紀、山口清次：新生児・乳児期に発症したグルタル酸血症 2 型の臨床的検討。第 49 回日本未熟児新生児学会学術集会、2004 年 12 月、横浜。
- 2) 四本由郁、長谷川有紀、内田由里、小林弘典、木村正彦、山口清次：グルタル酸血症 2 型日本人患者の臨床像と病因の検討。第 108 回日本小児科学会学術集会、2005 年 4 月、東京。
- 3) 四本由郁、小林弘典、長谷川有紀、木村正彦、山口清次：グルタル酸血症 2 型患者 17 例の臨床像と病因の検討。第 48 回日本先天代謝異常学会総会、2005 年 11 月、熊本。

表 1. 日本人 GA2 患者 13 例の臨床像

患者	発症年齢	臨床病型	突然死の家族歴	合併奇形	転帰	発症時の主要徴候
1	M	日齢 0 新生児型	+	多発性嚢胞腎	死亡 (日齢 3)	呼吸障害, 嘔吐, 意識障害, 低血糖, 高アンモニア血症
2	F	日齢 0 新生児型	+	多発性嚢胞腎、先天性心疾患	死亡 (日齢 3)	呼吸障害, 筋緊張低下, 意識障害, 低血糖, 肝機能異常
3	F	日齢 0 新生児型	+	不明	死亡 (日齢 5)	原因不明の突然死 症例 4 の姉
4	F	日齢 0 新生児型	+	多発性嚢胞腎	死亡 (日齢 4)	呼吸障害, 筋緊張低下, 意識障害, 低血糖, 高アンモニア血症
5	M	4 か月 遅発型	+	-	死亡 (3 歳)	原因不明の突然死 症例 6 の弟
6	M	5 か月 遅発型	+	-	死亡 (2 歳)	哺乳不良, 筋緊張低下, 低血糖, 高アンモニア血症, 肝機能異常
7	M	6 か月 遅発型	-	-	生存	筋緊張低下, 発達遅滞, 高アンモニア血症, 肝機能異常
8	M	7 か月 遅発型	-	-	死亡 (1 歳)	痙攣, 高 CK 血症, 低血糖, 高アンモニア血症, 肝機能異常
9	M	8 か月 遅発型	-	-	死亡 (1 歳)	哺乳不良, 筋緊張低下, 心筋症, 高 CK 血症, 肝機能異常
10	M	1 歳 遅発型	-	-	生存	筋緊張低下, 高 CK 血症, 低血糖, 高アンモニア血症, 肝機能異常
11	M	1 歳 遅発型	+	骨形成不全症	生存	筋緊張低下 低血糖, 高アンモニア血症
12	F	1 歳 遅発型	-	-	生存	痙攣, 低血糖, 高アンモニア血症, 肝機能異常
13	F	1 歳 遅発型	+	-	生存	痙攣, 高 CK 血症, 低血糖, 高アンモニア血症, 肝機能異常

表 2. 日本人 GA2 患者 11 例のイムノブロット、遺伝子解析結果

症例	臨床病型	合併症	転帰	ETF イムノブロット	遺伝子変異	
1	M	新生児型	多発性嚢胞腎	死亡 (日齢 3)	-	<i>ETFA</i> / exon 1 7C>T truncated (R3stop) <i>ETFA</i> / exon 9 799G>A G267R
2	F	新生児型	多発性嚢胞腎 先天性心疾患	死亡 (日齢 3)	-	<i>ETFB</i> / exon 2 77delG truncated (frame shift) <i>ETFB</i> / exon 5 490C>T truncated (R174stop)
3	F	新生児型	不明	死亡 (日齢 5)	-	<i>ETFB</i> / exon 1 55A>T truncated (K19stop) <i>ETFB</i> / exon 2 80delC truncated (frame shift)
5	M	遅発型	-	死亡 (3 歳)	-	<i>ETFB</i> / exon 5 491G>A R174Q <i>ETFB</i> / intron 5 IVS5+1G>C G148-M200del
6	M	遅発型	-	死亡 (2 歳)	-	<i>ETFB</i> / exon 5 491G>A R174Q <i>ETFB</i> / intron 5 IVS5+1G>C G148-M200del
7	M	遅発型	-	生存	+	<i>ETFDH</i> / exon 10 1208C>T A403V <i>ETFDH</i> / exon 10 1208C>T A403V
9	M	遅発型	-	死亡 (1 歳)	-	<i>ETFA</i> / exon 4 283T>G L95V <i>ETFA</i> / exon 4 283T>G L95V
10	M	遅発型	-	生存	-	<i>ETFA</i> / exon 6 478delG truncated (frame shift) <i>ETFA</i> / exon 9 764G>T G255V
11	M	遅発型	骨形成不全症	生存	+	<i>ETFDH</i> / exon 9 1084G>A G362R <i>ETFDH</i> / exon 12 1601C>T P534L
12	F	遅発型	-	生存	+	<i>ETFDH</i> / exon 9 1096C>T L366F <i>ETFDH</i> / exon 12 1675C>T truncated (R559stop)
13	F	遅発型	-	生存	-	<i>ETFDH</i> / exon 9 1096C>T L366F ?

表 3. 日本人 GA2 患者 11 例の臨床病型と分子学的解析結果のまとめ

	新生児型 (3 例)	遅発型 (8 例)		<i>ETFA</i> (3 例)	<i>ETFB</i> (4 例)	<i>ETFDH</i> (4 例)
<i>ETFa</i> (3 例)	1	2	homozygote (2 例)	1	0	1
<i>ETFβ</i> (3 例)	2	2	heterozygote (9 例)	2	4	3
<i>ETFDH</i> (4 例)	0	4				

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制に関する研究

カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II (CPTII) 酵素欠損症の20例について

研究要旨

われわれは1992年に最初のCPTII欠損症の診断を行ってから、これまで合計20例の診断に関わってきたのでまとめて報告する。

診断方法は酵素活性測定(線維芽細胞、EB transformedリンパ芽球様細胞、肝臓、筋肉)を行ったもの18例、遺伝子検索のみによるもの2例である。アシルカルニチンプロファイル分析に異常が大多数の症例で認められた。発症年齢は全身型の11例は小児症例のみで、筋型5例の成人例4例、小児例1例である。マススクリーニング発見例は1例、家族内検索で3例の発症前症例が発見されている。マススクリーニングにて発見された症例が1例あった。タンデムマスを使用したスクリーニングにてCPTII欠損症が的確にスクリーニングされることが証明された事になる。

研究協力者

高柳正樹

千葉県こども病院小児救急総合診療科部長

A. 研究目的

CPTII欠損症はTamaoki 1)らの日本の脂肪酸代謝異常症の集計(Brain & Dev. 24:675,2002)によれば、一番報告の多い疾患とされている。われわれは1992年に最初のCPTII欠損症の診断を行ってから、これまで合計20例のCPTII欠損症の診断に関わってきたのでまとめて報告する。

B. 研究方法

CPTII欠損症の診断法は酵素活性測定(線維芽細胞、EB transformedリンパ芽球様細胞、肝臓、筋肉)のみによるもの8例、酵素活性測定と遺伝子検索を両方行ったもの10例、遺伝子検索のみによるもの2例

である。アシルカルニチンプロファイル分析はMS/MS分析により行った。酵素活性はDemaugre 2)らの方法に準じて行った。遺伝子検索はYamamoto 3)らの方法に準じておこなった。アシルカルニチンプロファイル分析はSigematsuら4)の方法にてMS/MS分析により行った。血中カルニチンの測定方法はカイノス社の総および遊離カルニチン測定試薬を用い、日立自動分析器8070に組み込み測定した。測定原理は酵素サイクリング法である。

C. 研究結果

発症年齢は全身型の11例は小児症例のみで、筋型5例のうち成人4例、小児例1例であった。マススクリーニングで発見された症例が1例発見され、家族内検索で3例の発症前症例が発見されている。

全身型の1例はインフルエンザ脳症と診

断されていた症例であった。全身型の家族歴があり乳児期に発症前に診断した症例は、年長になるにつれ全身型の症状より筋症状が明らかになってきている。

図1に各症例酵素活性を測定材料別に示した。全身型の症例の酵素活性は数%から30%の残存活性を示した。筋型は多くは30%から50%の活性を示したが、数%の残存活性のない症例が1例認められた。図2にCPTII欠損症の血中カルニチン測定値を示した。全身型の全症例においてフリーカルニチンは低値を示した。アシルカルニチンは正常からやや高値を示した。筋型症例は全くの正常値を示す症例と低フリーカルニチン高アシルカルニチンを認める症例があった。

遺伝子変異は検索を行ったほとんどの症例において何らかの遺伝子異常が認められた。しかし1アレルのみにしか遺伝子異常が検出できない症例も多く、本疾患の発症メカニズムについては、遺伝子変異の面からさらなる検討が必要なものと考えられた。表1に各症例の遺伝子変異の概略を示した。

D. 考案

マススクリーニングにて発見された症例が1例あった。この症例は遺伝子変異も確認されている。タンデムマスを使用したスクリーニングにてCPTII欠損症が的確にスクリーニングされることが証明された事になる。またインフルエンザ脳症と診断された症例が1例あったことは、インフルエ

ンザ脳症の発症機序の解明の一助になりうるのではないかと考えられた。新生児期にマススクリーニングにて診断が行われれば、このようにインフルエンザ罹患により死亡することは回避できると考えられる。この意味からもタンデムマスを使用したスクリーニングは非常に有益なものと考えられる。酵素活性は全身型においてもある程度の残存活性があることが多く、今後確定診断は酵素診断と遺伝子診断と組み合わせて行っていくことが必要と考えられた。

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

文献：

1. Tamaoki et al. Brain & Dev. 24:675,2002
2. Demaugre et al. J Clin Invest 87:859, 1991
3. Yamamoto et al. Human genetics 98:116,1996
4. Shigematsu et al. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.792:63, 2003.

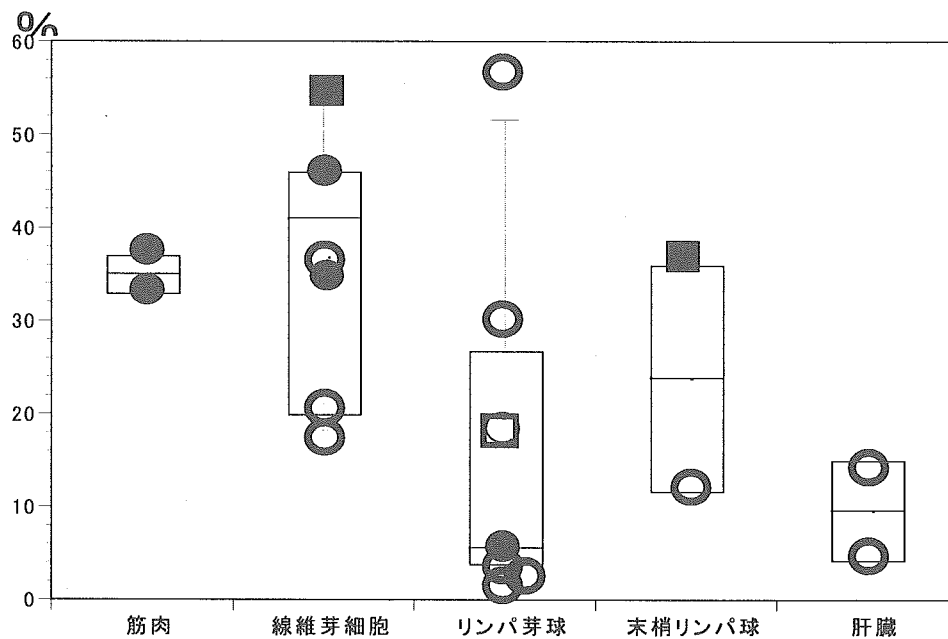


図1. CPT II 欠損症の酵素活性

○は全身型症例、●は筋型症例、■は家族内検索症例、□はマスククリーニング症例
 活性は正常対照との比 (%) にて表示した

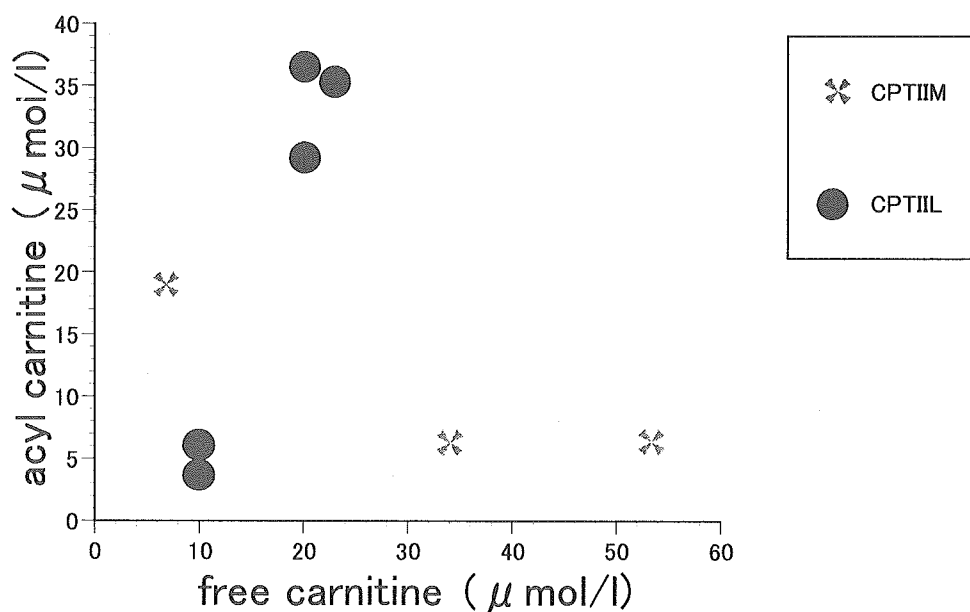


図2 CPT II 欠損症の血中カルニチン値

症例番号	家系	主訴	遺伝子異常	
16	N	家族内検査		
9	G	全身症状	遺伝子異常あり	
2	B	全身症状		
3	B	家族内検査		
5	D	全身症状	E174K G621A	F383Y T1249A
6	D	全身症状	E174K G621A	F383Y T1249A
7	E	全身症状	遺伝子異常あり	
8	F	全身症状	遺伝子異常あり	
10	H	全身症状	遺伝子異常あり	
11	I	全身症状	遺伝子異常あり	
15	M	全身症状		
20	R	全身症状		
1	A	全身症状	V605L	F383Y T1249A
12	J	マススクリーニング	遺伝子異常あり	
4	C	横紋筋融解		
13	K	横紋筋融解		
17	O	横紋筋融解		
18	P	横紋筋融解	A631C C1891T	Y408 1223delCT
19	P	家族内検査	A631C C1891T	Y408 1223delCT
14	L	横紋筋融解	遺伝子異常あり	

表1 CPTII 欠損症の遺伝子変異

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制に関する研究

尿メタボローム解析による新生児スクリーニング試験研究と迅速化学診断

研究要旨

金沢医科大（人類遺伝学）ではろ紙尿ウレアーゼ GC/MS を用いメタボローム解析法による新生児マススクリーニング試験研究を開始して 10 年を経た。この間、2 万児をスクリーニングし、計 14 疾患、19 例を発見、罹患児発見率は 1,100 人に 1 人であった。一方、我々の 1 生月未満ハイリスク児の先天性代謝異常症該当率は 304 例中 25 人で 1/12 人であった（1 ヶ月未満児の疾患該当者合計は 44 例）。当研究グループの 30 年間にわたるハイリスク患者化学診断成績と試験研究成績より、日本人にはプロピオン酸血症、メチルマロン酸尿症、OTC 欠損症等が高頻度でおきることが分かってきた（2 万人に 1 人）。今後、この日本人の遺伝特性をも視野にいれたスクリーニング法の改革案が望まれる。現在、プロピオン酸血症 2 例を含む 5 例の追跡調査を行なっているが、尿 methylcitrate をモニターとした追跡調査の結果、日本人に多い軽症型 Y435C（ β 鎖）でも食餌療法の必要性が明らかになった。orotate の高感度定量により OTC 欠損症を含む尿素回路異常症の化学診断も迅速化される。

研究協力者

久原とみ子

（金沢医科大学総合医学研究所）

共同研究者

大瀬守眞

（ 同上 ）

井上義人

（ 同上 ）

新家敏弘

（ 同上 ）

哲翁正博

（博愛会哲翁病院）

研究結果と考察

1. 計測、異常度の定義

金沢医科大ではメタボロームの概念を先取りした、ろ紙尿 ウレアーゼ GC/MS 法 を用い、現在、200 種の化合物を計測し、診断指標物質の被検者における異常度を対数変換後の $\text{mean} + n * \text{SD}$ の n 値で表示し、130 種以上の疾患を化学診断している²⁾。

2. スクリーニング成績

新生児マススクリーニングでこれまで 2 万児を対象に、軽症メチルマロン酸尿症 4 例、 α -アミノアジピン酸/ α -ケトアジピン酸尿症 2 例、シスチン尿症 2 例、PCCD、高乳酸血症 (PDH α)、 β -ウレイドプロピオナーゼ欠損症、ハートナップ病、オロット酸尿症、シスタチオニン尿症、ガラクトース尿症/チロシン尿症、チロシン血症、プロリン尿症、5-オキソプロリン尿症、および神経芽細胞腫が各 1 例、14 疾患、19 例を発見し、その検出率は 1 人/1,100 人であった（久留米大との合同では 7.8 万児を対象に 21 疾患、65 例を発見した）。一方、ハイリスクスクリーニングでは 4,000 名を対象に 31 疾患 135 名、1 人/30 人の、このうち新生児では 1 人/12 人の割合で、該当患者が発見された。

3. 日本人に多い PCCD、メチルマロン酸血症の発見からモニタリングまで

表 1 に現在、国内で用いられているスクリーニング手法とその特徴を示した。手法 1 の尿 urease 法では PCCD の第 1 指標物質 methylcitrate

研究目的

ろ紙尿 ウレアーゼ GC/MS 法 を用い、新生児マススクリーニング試験研究とハイリスクスクリーニングを行い、日本人に多い疾患とその発生率、本法の検出率、化学診断の精度を明らかにする。日本人に最も多いプロピオン酸血症 (PCCD)、メチルマロン酸血症、オルニチントランスカルバミラーゼ (OTC) 欠損症の高精度のスクリーニングと迅速化学診断、化学診断後の治療効果のモニタリングについて検討する。

研究方法

ろ紙尿を用いる 22 項目の新生児スクリーニング試験研究は原則として、両親のインフォームドコンセントを得、郵送されてきたろ紙尿を検体として用いた。長崎、熊本、石川、兵庫の 6 医療機関の協力を得た。分析は簡易ウレアーゼ法・安定同位体希釈法・GC/MS 法^{1,2)}で行った。国内のハイリスク患者の化学診断も同手法で行った。orotate 高値例に対する難揮発性アミノ酸計測はソフトイオン化タンデムマス法によった。

の高感度、高精度分析ができる。また、PCCD、メチルマロン酸血症、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症全てが一回の検査でほぼ確定できる(表2)。新生児マススクリーニング試験研究で初めて発見され、日本人に多いことが証明された propionyl-CoA carboxylase β subunit の Y435C 変異はこれまでに、日本人で見つかった PCCD の遺伝子変異より軽症である。この Y435C 変異に対し、医学的介入が必要かどうかを見るために、新生児期に発見した2例について追跡調査を行っている。尿 methylcitrate を指標に5歳10ヶ月まで追跡した児は、普通食を多量に摂取した1歳時にアシドーシス発作を起こしている。この時の methylcitrate も著増していた。従って、Y435C でも食餌療法は必要であると考えられる。

Y435C のスクリーニング初回検査に用いた尿を国内の主要な有機酸分析施設に送り、methylcitrate の有意増加を認め得るか調査したところ、殆どの施設で見逃していた。このことは、表1.手法2の有機溶媒抽出法を採用しているこれらの施設では、methylcitrate をモニターとする追跡調査も、治療により低値化している故、フォローができない。PCCD のスクリーニング法に言及すれば、例えば一次スクリーニングに表1.手法3のろ紙血のタンデム MS 法を採用し、二次に手法2を採用する場合は、まず一次の手法3で陽性とされた児に対し、二次スクリーニング(手法2の有機溶媒抽出法)では陰性と判断される危険性が少なくないことを示唆している。一次陽性者が真に PCCD であれば、酵素法を二次とした場合では、二次で見落とす可能性は殆どないと思われる。但し、酵素法では、対象疾患は予め特定されていることが必要である。特定に誤りがあれば、特定した一つの疾患が否定されたという結論が得られるのみである(表3)。monitoring の指標に methylcitrate が使えるが、propionylcarnitine は適さないと考えられる。表3に示したように、血中により指標がないため、いわゆるメチルマロン酸血症であっても、見逃されることが国内外で明らかになっている。

4. Orotate の値から尿素回路異常症をスクリーニングする

表4に示すように methylcitrate 同様、極性の高い orotate も urease 法では有機溶媒抽出法より3倍回収率が高く、感度が高い。安定同位体希釈法による高精度定量により、OTC 欠損症のみならず、尿素回路異常症や、その他の原発性高アンモニア血症がスクリーニングできる。我が

国では従来、30万人に1人しか発見されず、見逃しが多かったと推測される CPS 欠損症についても、orotate 増加なしを指標にスクリーニングできるものと考えられる。実際に、金沢医大のハイリスクスクリーニングで発見、化学診断されたカルバミルリン酸合成酵素(CPS)欠損症の2例は、その後遺伝子の異常も速やかに確認された。

5. 21世紀の日本人のための新生児スクリーニングと個別化医療

手法1ではピリミジン代謝異常症なども含め、多くの疾患が検出されるため、インフォームド・コンセントが特に必要である。手法1で治療法が十分に確立していない疾患が発見されることを問題視する意見も強いが、いずれ発症すれば診断を要する。その際に速やかに診断に至るとは限らないことが現状から明らかである。また治療法の研究は診断されることで加速される。米国で「もし、あなたの子どもが今は治療不可能な遺伝性疾患を有していたとして、その事実を知りたいですか?」とアンケート調査をしたところ、予想以上に Yes と答えた人が多かったそうである。希望者には手法1の尿メタボローム解析法を一次スクリーニングに認めることが、特に手法1を開発できた日本では意義が高いと思われる。

手法1では殆どの疾患の診断精度が確定診断に近い。さらに対象疾患に該当しなかった場合でも、対象とする多種類の疾患の可能性を否定できたということであり、その情報を有する被験者はその生涯にわたり、個別化医療の恩恵を受けることができる。

30年ぶりの大変革期にある日本の新生児マススクリーニング事業が日本人の遺伝特性をふまえ、日本人のための、また、患者中心の、21世紀にふさわしいシステムに移行するのを願ってやまない。

結論

日本ではフェニルケトン尿症・高フェニルアラニン血症や、中鎖脂肪酸代謝異常症が海外の1/3~1/4と低く、PCCD、メチルマロン酸血症、OTC 欠損症が多い。長鎖脂肪酸代謝異常症にはろ紙血のタンデム MS 法は優れているが、ろ紙尿の urease・GC/MS 法を一部でも活用することが、日本人の遺伝特性を考慮した、将来性のあるスクリーニングのあり方と考えられる。

文献

- 1) Matsumoto I, Kuhara T: A new chemical diagnostic method for inborn errors of metabolism by mass spectrometry. *Mass Spectrom Rev* 15: 43-57, 1996.
- 2) Kuhara T: Gas chromatographic-mass spectrometric urinary metabolome analysis to study mutations of inborn errors of metabolism. *Mass Spectrom Rev* 24: 814-827, 2005.

グ試験研究とハイリスクスクリーニング.
第33回日本マス・スクリーニング学会(第28回技術部会). 久留米市, 2005年10月.

研究発表

1. 論文発表

- 1) Kuhara T: Gas chromatographic-mass spectrometric urinary metabolome analysis to study mutations of inborn errors of metabolism. *Mass Spectrom Rev* 24: 814-827, 2005.
- 2) Shinka T, Ohse M, Inoue Y, Kuhara T: Stability of 5-aminolevulinic acid on dried urine filter paper for a diagnostic marker of tyrosinemia type I. *J Chromatogr B* 823: 44-46, 2005.
- 3) Inoue Y, Shinka T, Ohse M, Kuhara T: Differential chemical diagnosis of primary hyperoxaluria type II. Highly sensitive analysis of optical isomers of glyceric acid by GC/MS as diastereoisomeric derivatives. *J Chromatogr B* 823: 2-6, 2005.
- 4) Kuhara T: Metabolome Profiling of Human Urine with Capillary Gas Chromatography/ Mass Spectrometry. Tomita M and Nishioka T (eds), *Metabolomics-The Frontier of Systems Biology*, Springer-Verlag Tokyo, Tokyo, 2005, p53-74.
- 5) Kuhara T: Chemical Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism and Metabolome Analysis of Urine by Capillary Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Tomita M and Nishioka T (eds), *Metabolomics-The Frontier of Systems Biology*, Springer-Verlag Tokyo, Tokyo, 2005, p167-192.

2. 学会発表

- 1) Kuhara T, Ohse M, Inoue Y, Shinka T, Tetsuo M: Urine metabolome analysis for chemical diagnosis of metabolic diseases, newborn screening, and tailor-made medicine. The First International Conference of the Metabolomics Society. Tsuruoka, June 2005.
- 2) 久原とみ子: ガスクロマトグラフィー質量分析法を用いたヒトメタボローム解析法の確立. 第30回日本医用マススペクトル学会年会. 豊中市, 2005年9月.
- 3) 大瀬守眞、井上義人、新家敏弘、猪口隆洋、吉田一郎、哲翁正博、久原とみ子: 簡易 urease GC/MS 法を用いる新生児マススクリーニン

表 1. 手法の違いによるスクリーニングの特徴

手法	試料	分析機器	前処理法	対象化合物	計測可能な化合物数
1	尿	GC/MS	ウレアーゼ処理	有機酸, アミノ酸, 糖, 糖アルコール, プリン, ピリミジン 他	+++++
2	尿	GC/MS	有機溶媒抽出法	有機酸	++
3	血液	MS/MS (タンデム MS)	短時間に多数検体 処理ができる	アミノ酸 アシルカルニチン	+

表 2. 手法の違いによるプロピオン酸血症のスクリーニングの特徴と迅速化学診断

手法	指標物質	対象疾患あるいは酵素	特徴	適性
1	methylcitrate その他	プロピオン酸血症	ほぼ見逃しなく、一回の検査でわかる [理由] methylcitrate の回収率が高い	◎
2	methylcitrate その他	プロピオン酸血症	日本人に多い軽症型を見逃す可能性あり [理由] methylcitrate の回収率が 1/3 と低く、感度が悪い	○
3	propionyl- carnitine	プロピオン酸血症 (メチルマロン酸血症, マルチプルカルボキシラーゼ欠損症との鑑別が別に必要)	偽陰性、偽陽性の可能性あり [理由] カットオフ値を上げると、見逃しが増え、下げると、偽陽性者が多くなるというジレンマがある	○
4	酵素 DNA	propionyl・CoA carboxylase (methylmalonyl・CoA mutase, holocarboxylase synthase, biotinidase)	対象疾患は予め特定されていることが必要 特定に誤りがあれば、特定した唯一つの疾患が否定されたという結論が得られるのみ	

表 3. 手法の違いによるメチルマロン酸血症のスクリーニングの特徴

手法	指標物質	対象疾患	疾患の見逃し	スクリーニング適性
1	methylmalonate	メチルマロン酸血症	少ない	良 (*) ○
2	methylmalonate	メチルマロン酸血症	少ない	良 ○
3	propionyl-carnitine	表 2 の 3 同様、3 疾患の鑑別が次に必要	75%を見逃す可能性があることが国内外のデータよりほぼ確定	不良 ×

* ホモシスチン尿症やコバラミン代謝異常症のスクリーニングと迅速化学診断ができる。

表 4. 日本人に多いオルニチンカルバミルトランスフェラーゼ (OTC) 欠損症の迅速化学診断法

手法	指標物質	第 2 指標物質	orotate 回収率	適性	二次検査
1	orotate	glycine glutamine glutamate pyroglutamate alanine lysine	90%と高い	感度、定量性が高く、適する ◎	必要*1, *2, *3
2	orotate	pyroglutamate	30%と低い	1 より感度が落ちる ○	必要*1
3				スクリーニングできない ×	

*1：二次検査では Citrulline, Argininosuccinate, Arginine を尿のソフトイオン化・タンデム MS 法で計測する。OTC 欠損症の外、Citrulline 血症, Argininosuccinate 尿症, 高アルギニン血症の 4 つの尿素回路異常症が確定する (homocitrulline も増えていれば HHH 症候群)。

*2：LPI は一次検査で判明する。 *3：orotate の高精度定量から CPS 欠損症もスクリーニングできる。

分担研究課題：新しい新生児マススクリーニング体制に関する研究

GC/MS 法による新生児先天代謝異常マススクリーニング試験研究成績

研究要旨

当研究施設では 1996 年 1 月からガスクロマト質量分析 (GC/MS) 法による新生児代謝異常マススクリーニングの試験研究を施行している。2005 年 12 月末までに 61,666 名の新生児尿をスクリーニングし、メチルマロン酸血症 10 例をはじめとする 15 疾患計 51 例を発見している。このなかでメチルマロン酸血症の発見率は、約 6,000 人に 1 人とわが国の先天性代謝異常症の中では最も高く、頻度上非常に重要な対象疾患であると考えられた。とりわけ治療や予防によく反応するビタミン B₁₂ 反応性メチルマロン酸血症は、タンデム質量分析 (MS/MS) 法では発見できない疾患である。従って、GC/MS 法を用いたメチルマロン酸血症のスクリーニングを単独でも開始する必要性が強く示唆された。また GC/MS 法と MS/MS 法の持つ長所を相補的に利用して、わが国の状況を踏まえた独自の新しい新生児スクリーニング体制を構築することが重要であると考えられた。

研究協力者

吉田一郎，猪口隆洋，青木久美子，田代恭子，稲場美佐，文森明代，松本かおり，原 千尋，田中正敏（久留米大学医学部 GC/MS 医学応用研究施設，医学教育学）

ルニチントランスカルバミラーゼ (OTC) 欠損症など患者の濾紙血を分析し²⁾、後方視的に GC/MS 法と MS/MS 法とを比較することで両法の相補性についても検討を加えた。なお、GC/MS および MS/MS による新生児スクリーニング試験研究は、久留米大学医学部倫理委員会で承認され、各医療機関で文書を用いた説明により保護者から得られたインフォームドコンセントに基づくものである。

A. 研究目的

われわれは 1996 年 1 月から GC/MS 法による新生児スクリーニング試験研究を開始し、2005 年 12 月末でちょうど 10 年の節目を迎えた。この 10 年間の試験研究の成績をまとめ、新たに 2004 年から開始した MS/MS 法との比較研究により、分析感度、診断精度等における両方法の相補性についての検討を加えることで、わが国におけるこれからの新しいスクリーニング体制構築のための知見を得ることを目的とし本研究を実施した。

C. 研究結果

われわれは 1996 年 1 月から 2005 年 12 月末までに、61,666 名の新生児をスクリーニングし、メチルマロン酸血症 10 例をはじめプロピオン酸血症 2 例、OTC 欠損症 1 例、シトルリン血症 I 型 1 例（重症型により死亡）、グリセロールキナーゼ欠損症 5 例、ジヒドロピリミジン分解酵素欠損症 4 例、ジヒドロピリミジン脱水素酵素欠損症 1 例、 β -ウレイドプロピオナーゼ欠損症 7 例、シトルリン欠損症 1 例、メープルシロップ尿症 1 例、ハートナップ病 1 例、2-ケトアジピン酸尿症 13 例、5-オキシプロリン尿症 1 例、エチルマロン酸尿症 1 例および神経芽細胞腫 2 例の 15 疾患計 51 例を発見している。この中でシトルリン血症患児は、診断後血中アンモニア値の著明な増加を呈し治療の効なく死亡したが、その他の患児は現在も全例が生存中で経過観察中である。本 GC/MS

B. 研究方法

福岡県内および佐賀県、大分県の研究協力医療機関で出生した新生児尿を、簡易ウレアーゼ法・安定同位体希釈法によりサンプル調整し¹⁾、Agilent 5973 GC/MS を用いて尿中代謝産物を一斉分析した。また、Waters Quattro Premier LC/MS/MS を用いて、GC/MS 新生児スクリーニングで発見された患児と既に診断のついたメチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、エチルマロン酸尿症、フェニルケトン尿症 (PKU)、オ

法による10年間の疾患全体としての発見率は、1例/1,200人であった。このなかでメチルマロン酸血症の頻度は、1例/6,000人であった。古典的メチルマロン酸血症や古典的プロピオン酸血症およびPKUなどは、MS/MS法により容易にスクリーニング可能であった。しかし、GC/MS法で容易に発見される良性および軽症型のメチルマロン酸血症、ビタミンB₁₂反応性メチルマロン酸血症、OTC欠損症およびグリセロールキナーゼ欠損症などの疾患は、現行のMS/MS法スクリーニングシステムで診断することは困難であった。

D. 考察

わが国では新生児先天代謝異常スクリーニング分野への質量分析法導入のための試験研究が行われている。サンプルとして濾紙血を用いるMS/MS法と尿を用いるGC/MS法がある。われわれは1996年1月よりGC/MS法によるスクリーニング試験研究を開始し、2005年12月末でちょうど10年の節目を迎えた。また、2004年からはMS/MS法の検討も開始している。GC/MSスクリーニング10年間の成績は、疾患全体の発見率が1例/1,200人で、わが国でのMS/MS法による発見率1例/8,500人(H17年度厚生労働研究班報告)に比べ7倍以上も高く、代謝異常スクリーニングにおけるGC/MS法の感度ならびに診断精度の高さを実証している。特にメチルマロン酸血症の約6,000人に1人という頻度はわが国の先天性代謝異常症の中では最も高く、MS/MS法での発見率(1/10万人)の約20倍の感度を示した。しかも、メチルマロン酸血症はGC/MS法でしか診断できないことがわれわれの比較検討においても判明している。スクリーニングの恩恵を最も受ける病型であるビタミンB₁₂反応性や軽症型メチルマロン酸血症は、特に見逃されやすくMS/MS法の対象とするには無理がある。事実、ドイツ小児科学会は2年以上にわたる検討の結果、2005年から有機酸血症の代表的疾患であるメチルマロン酸血症とプロピオン酸血症をMS/MS法の対象疾患から除外している。またメチルマロン酸血症以外にもグリセロールキナーゼ欠損症などMS/MS法ではアプローチできない疾患が高頻度に存在している可能性も示

唆された。尿素サイクル異常症の中で最も重要な疾患と考えられるOTC欠損症は、われわれのGC/MSスクリーニングで発見できた経験があるものの、GC/MS法で見逃しなくスクリーニング出来るか否かについては慎重な判断が必要と考えられる。

MS/MS法は、欧米を中心にいち早く導入がなされ、現在、世界の新生児スクリーニングの主流となっている。その主な理由のひとつは、PKUとMCAD欠損症が人種的に高頻度にあることによるが、先天性代謝異常症のような遺伝性疾患は人種差が大きいと、国により重要となる対象疾患も異なる。前述のドイツのようにMS/MS法の対象とする疾患は、開始後に得られたデータをもとに適宜変更がなされている。香港では頻度が3万人に1人以下の疾患は公費スクリーニングから除外している。わが国でのMS/MS法による試験研究においても、発見される疾患のスペクトラムおよび頻度が欧米のそれとは大きく異なることが判明している。従って、新しいスクリーニングの対象となる疾患は、わが国での発生頻度の高い疾患を優先して選定することが重要であると考えられる。

一方、MS/MS法やGC/MS法にはそれぞれに長所、短所があり、当然のことながらスクリーニング適応となる疾患スペクトラムも異なってくる。わが国でのMS/MS法最大の利点は、現行のマススクリーニングシステムがそのまま適用できることとサンプル処理能力が格段に優れていることであろう。MS/MS法の導入により、これまでGC/MS法ではアプローチできなかった先天性脂肪酸代謝異常症のような新しい疾患が高頻度に発見される可能性があり、脂肪酸代謝異常症は今後、スクリーニングの重要な対象疾患となり得ることが示唆される。

GC/MS法は、測定時間やコスト面などサンプル処理能力においてMS/MS法に劣るものの、わが国で頻度上最重要と考えられるメチルマロン酸血症を正確に化学診断できるという利点をもっている。従って、メチルマロン酸血症に関しては、神経芽細胞腫の単独スクリーニングの前例もあり、単独でもGC/MS法によるスクリーニングを開始してもよいと思われる。平成15年度厚生労働科学研究補助金(難治性疾患克服研究事業)における主任研究者の黒田

はその総括研究報告書の中で、MS/MS 法により発見されない疾患については、GC/MS 法を採用する方向がよいと結論している。

今回の研究により、現時点では、メチルマロン酸血症はじめ高乳酸血症、グリセロールキナーゼ欠損症などの有機酸代謝異常症には GC/MS 法を、アミノ酸代謝異常症や脂肪酸代謝異常症には MS/MS 法を用い、両法を相補的に利用したわが国独自の新しい新生児スクリーニングシステムを構築することが必要であると考えられた。

E. 結論

新しい新生児マススクリーニングに質量分析法を導入するにあたっては、世界、欧米の現状にとらわれずに、GC/MS 法と MS/MS 法を相補的に用いることでより精度の高いわが国独自のスクリーニングシステム構築の可能性が示唆された。MS/MS 法の普及により、わが国での脂肪酸代謝異常症の実態が明らかにされることの意義は大きく、また、わが国で頻度上重要なメチルマロン酸血症は、単独でも GC/MS 法による全国的なスクリーニングを開始することが必要である。

F. 文献

1) Matsumoto I and Kuhara T : A new chemical diagnostic method for inborn errors of metabolism by mass spectrometry-rapid, practical, and simultaneous urinary metabolites analysis. Mass Spectrom Rev 15 : 43-57, 1996.

2) Shigematsu Y, et al : Newborn mass screening and selective screening using electrospray tandem mass spectrometry in Japan. J. Chromatogr. B 776 : 39-48, 2002.

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 松本かおり, 吉田一郎, 猪口隆洋, 青木久美子, 田代恭子, 稲場美佐, 文森明代, 原千尋, 田中正敏 : 周産期の薬剤使用に保護者が過

敏であったグリセロール尿症の一例. 日本小児臨床薬理学会雑誌 18 : 135-137, 2005

2) 青木久美子, 吉田一郎, 猪口隆洋, 田代恭子, 稲場美佐, 文森明代, 松本かおり, 原千尋, 田中正敏 : タンデム質量分析法による新生児マススクリーニング対象疾患の検討. 日本マス・スクリーニング学会誌 15 : 81-86, 2005

3) 青木久美子, 吉田一郎, 猪口隆洋, 田代恭子, 稲場美佐, 金子明代, 松本かおり, 原千尋, 田中正敏, 野々下晃子 : GC/MS による新生児スクリーニングにおける外因性物質の影響. 日本小児臨床薬理学会雑誌 17 : 98-100, 2004

4) 田代恭子, 吉田一郎, 猪口隆洋, 青木久美子, 稲場美佐, 文森明代, 松本かおり, 田中正敏 : GC/MS 新生児スクリーニングにより判明した尿中トリエチレングリコール. 日本マス・スクリーニング学会誌 14 : 45-48, 2004

5) 城後美佐, 吉田一郎, 猪口隆洋, 青木久美子, 田代恭子, 金子明代, 松本かおり, 河野洋子, 河野雅洋, 田中正敏 : 尿中に 2-ヒドロキシ安息香酸の大量排泄を認めた新生児の一例. 日本小児臨床薬理学会雑誌 15 : 135-137, 2002

6) Inokuchi T, Yoshida I, Kaneko A, Tashiro K, Tashiro S, Jogo M, Aoki K and Tanaka M : Neonatal ketosis is not rare : experience of neonatal screening using gas chromatography-mass spectrometry . J . Chromatogr. B 2001, 758, 57-60

7) 猪口隆洋, 吉田一郎, 城後美佐, 田代恭子, 青木久美子, 秋田幸大, 徳永泰幸, 古賀靖敏, 芳野 信, 田中正敏 : GC/MS 法による新生児代謝異常マススクリーニングで発症前に発見されたオルニチントランスカルバミラーゼ欠損症の 1 例. 日本先天代謝異常学会雑誌 17 : 48-52, 2001

8) 猪口隆洋, 吉田一郎, 田代さとみ, 田代恭子, 青木久美子, 高木基成, 田中正敏 : ガスクロマトグラフィー質量分析法による先天性代