

表1 新生児期にショック，突然死を起こす可能性のある代謝異常症

分類	代表的疾患
1) 脂肪酸代謝異常症	a. 中鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症 b. 極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症 c. CPT 欠損症 d. CACT 欠損症 e. グルタル酸血症 2 型 f. 原発性カルニチン欠乏症
2) 有機酸代謝異常症	a. ヒドロキシメチルグルタル酸血症 b. メチルマロン酸血症 c. プロピオン酸血症
3) アミノ酸代謝異常症	a. メープルシロップ尿症 b. 尿素回路異常症
4) 糖新生系異常症	a. 糖原病 1 型 b. フルクトース-1, 6-ジホスファターゼ欠損症
5) その他	a. グリセロールキナーゼ欠損症 (副腎不全) b. 副腎過形成症 (副腎不全) c. 高インスリン低血糖症 d. カルニチン欠乏症 (原発性, 2 次性)

CPT: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (1 型, 2 型を含む)

CACT: カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ

1. 脂肪酸代謝異常症

ミトコンドリア脂肪酸β酸化系の代謝障害である。長時間飢餓状態が続いたり，感染症，下痢などのために，急激にエネルギー需要の高まった時，急性脳症，突然死などの経過をとることがある。

2. 有機酸代謝異常症

アミノ酸の中間代謝過程に働く酵素の異常によって，中間代謝体である有機酸が体内に上昇して，ケトアシドーシス，高アンモニア，低血糖などを来す。

3. アミノ酸代謝異常症

尿素回路異常症，メープルシロップ尿症などで急性発症する。尿素回路異常症は高アンモニア血症を主徴とする。

4. 糖新生系異常症

食後一定時間後に食事由来の炭水化物からのエネルギーが枯渇すると，肝臓や筋肉に蓄えていたグリコーゲンや，乳酸，アミノ酸か

らブドウ糖を産生する代謝経路が働く。この経路の障害があると重篤な低血糖発作を起こす。

5. その他

グリセロール血症や副腎過形成症では副腎不全のため，電解質異常，ショックを来す。高インスリン性低血糖症では，重篤な低血糖発作が起こる。またカルニチンはβ酸化の活性化作用を持つが，カルニチン欠乏が起こるとβ酸化障害に類似した低血糖，急性脳症などで発症する。先天性カルニチントランスポーター異常のみならず，母体の健康状態，新生児期の栄養や，投与される薬剤などによって2次性カルニチン欠乏症を起こすこともある⁶⁾。

II. タンデムマスによる新生児 MS とは

タンデムマスは，質量分析計を直列に2台

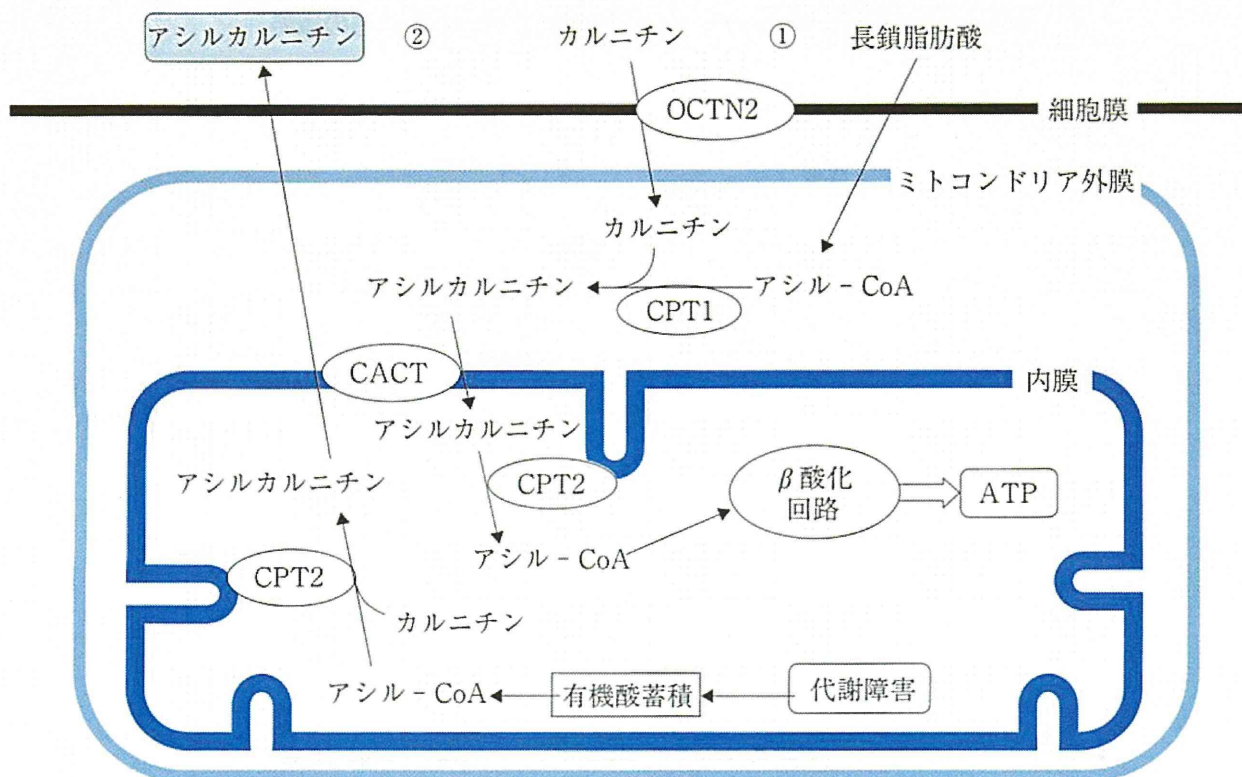


図1 カルニチンの代謝の役割

①β酸化の活性化：長鎖脂肪酸をアシルカルニチンとしてミトコンドリアに運搬しβ酸化の基質を提供する。

②異常代謝産物の解毒：蓄積した有機酸とアシルカルニチンとして細胞外に排出。

OCTN2：カルニチントランスポーター、CPT1、CPT2：それぞれカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1、および-2、CACT：カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ（いずれもβ酸化関連酵素）

並べた構造の分析機器であり⁷⁾、検体はガスリー血液ろ紙の3mm大のディスクで済み、1回の分析で多項目を感度よく検査できるため、多数の疾患を同時にスクリーニングすることが可能である。

従来の新生児MSの対象疾患は6種類であり、原則として6種類の検査をしてきた。タンデムマス法では、アミノ酸とアシルカルニチンを同時測定される。このため一回の分析で、従来のアミノ酸代謝異常症に加えて、有機酸・脂肪酸代謝異常症を合わせた計20種類以上を一斉にスクリーニングできる。

有機酸・脂肪酸代謝異常症では、図1に示すように、ミトコンドリアの中で代謝障害が起こり、カルボン酸が増加する。増加したカルボン酸はアシルカルニチンとしてミトコンドリア内から細胞外に排出されることを利用して、血中アシルカルニチンを測定してスクリーニングされる。

一般的にタンデムマス検査は、スクリーニングとしての役割が大きい。タンデムマスのあとに、アミノ酸自動分析計や、GC/MSによる有機酸分析などの診断ツールが必要である⁸⁾⁹⁾。

III. タンデムマスによる新生児MSの対象疾患

1. 測定項目と対象疾患

タンデムマス法で発見できる疾患の概略を表2にあげている。アミノ酸の異常値からアミノ酸代謝異常症と尿素回路異常症の診断が進められる。一方、アシルカルニチンの異常から、有機酸・脂肪酸代謝異常症の診断に進む。

2. 新生児MSの1次対象疾患と2次対象疾患

新生児MSで発見される疾患の種類は多いが、スクリーニングの対象疾患は、結果と

表2 タンデムマス法によるスクリーニング対象疾患の概略

タンデムマス項目	疾患	主な臨床症状	発見頻度*
アミノ酸の異常	アミノ酸代謝異常 1) フェニルケトン尿症** 2) メープルシロップ尿症** 3) ホモシスチン尿症**	発達遅滞, けいれん 多呼吸, アシドーシス 発達遅滞, 骨格異常	1 : 6万 1 : 156万 1 : 78万
	尿素回路異常症 4) シトルリン血症 (1型) 5) アルギニノコハク酸血症 ▲シトルリン欠損症	高アンモニア血症, 昏睡 高アンモニア血症, 昏睡 乳児肝炎様症状	1 : 26万 1 : 40万 1 : 8万
アシルカルニチンの異常	有機酸代謝異常症 6) メチルマロン酸血症 7) プロピオン酸血症 8) イソ吉草酸血症 9) メチルクロトニルグリシン尿症 10) ヒドロキシメチルグルタル酸血症 11) 複合カルボキシラーゼ欠損症 12) グルタル酸血症1型 ▲βケトチオラーゼ欠損症	アシドーシス, 発達遅滞 アシドーシス, 発達遅滞 アシドーシス, 体臭 筋緊張低下, ライ症候群 低血糖, 発達遅滞 湿疹, 高乳酸血症 アテトーゼ, 発達遅滞 ケトアシドーシス発作	1 : 12万 1 : 5万 1 : 52万 1 : 16万 — 1 : 52万 1 : 18万 —
	β酸化異常症 13) MCAD 欠損症 14) VLCAD 欠損症 15) 三頭酵素欠損症 16) CPT1欠損症 ▲CPT2欠損症 ▲CACT 欠損症 ▲原発性カルニチン欠乏症 ▲グルタル酸血症2型	ライ症候群, SID 低血糖, 骨格筋・心障害 ライ症候群, 骨格筋症状 ライ症候群, SID ライ症候群, SID ライ症候群, SID ライ症候群, SID ライ症候群, SID ライ症候群, 低血糖	1 : 10万 1 : 16万 — 1 : 31万 1 : 26万 — 1 : 26万 1 : 26万 1 : 31万

1)~16)は, 1次対象疾患 (見逃しがきわめて少なく発見されたとき治療効果が優れていると判断されている疾患, しかし新生児期に急性経過をとる超重症型も含まれる), ▲印は, 2次対象疾患 (現時点では見逃しが相当数あると思われ, また発見された後の診断治療が必ずしも容易でない疾患) である。

*発見頻度: 1997~2011年までのパイロットスタディー計156万人検査の結果である (1997年より福井大学で開始, 2004年より厚労省研究班で開始)。

**タンデムマス法導入以前からの対象疾患。

MCAD: 中鎖アシル-CoA 脱水素酵素, VLCAD: 極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素, CPT1, CPT2: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-I と-II, CACT: カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ, SID: 乳児突然死。

して小児の障害予防, 福祉向上に役立つものでなければならぬ。厚労省の課長通達では, “見逃しが少なく, 発見されれば障害が予防または軽減できる” と判断される16疾患を「1次対象疾患」とし, 一方, “現時点では見逃す可能性の高いもの, あるいは発見さ

れても障害予防効果が確認できないため引き続き検討すべき” と考えられるものを「2次対象疾患」としている¹⁰⁾。

3. 対象疾患の発症時期

島根大学小児科で生化学診断した有機酸・脂肪酸代謝異常症患者の発症時期を, 図2に

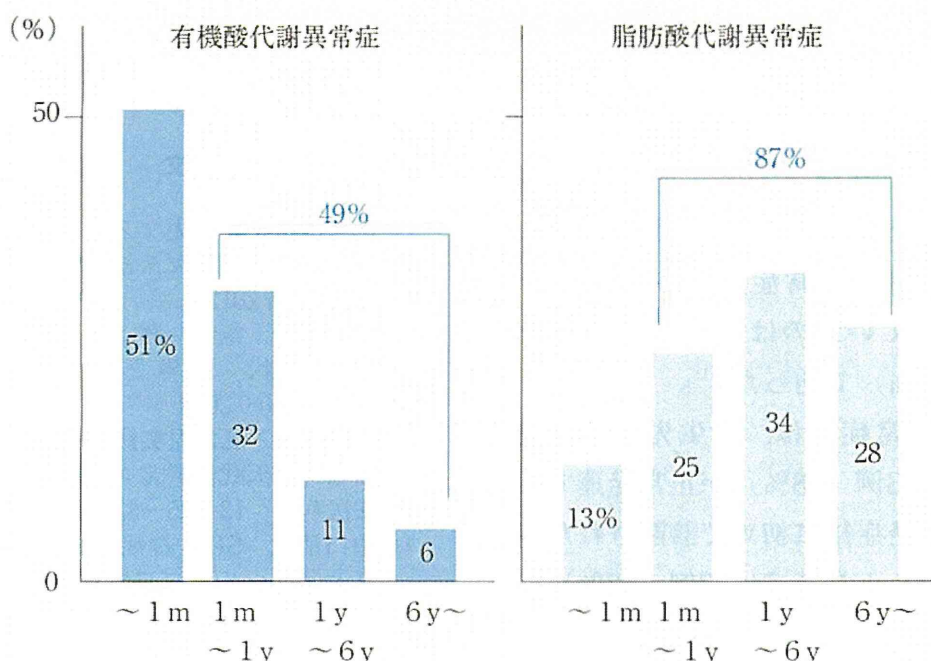


図2 有機酸代謝異常症と脂肪酸代謝異常症の発症時期
島根大学で診断した発症後に診断した症例（2004年以前）

表3 有機酸・脂肪酸代謝異常症の新生児期にみられる主な臨床所見

病歴・症状	一般検査所見
ぐったりする	低血糖
哺乳力低下	代謝性アシドーシス
頑固な嘔吐	高アンモニア血症
多呼吸	尿ケトン陽性
けいれん	好中球減少
意識障害	肝機能障害
家族歴の異常	電解質異常

表4 マスクリーニングと発症前診断の予後比較

疾患	新生児マススクリーニング*	発症後診断(島根大学)**
患者数	65	152
有機酸代謝異常症	39	108
正常発達	35 (90%)	20 (18%)
後遺症	2 (5)	56 (52)
死亡	2 (5)	32 (30)
脂肪酸代謝異常症	26	44
正常発達	23 (88%)	23 (52%)
後遺症	2 (8)	9 (20)
死亡	1 (4)	12 (28)

*：1997～2008年の間の福井大学および厚労省研究班のパイロットスタディでの発見例。

**：2000～2008年の島根大学での発見例。

れるので病歴聴取で注意する。

一方、一般検査所見としては、低血糖、アシドーシス、高アンモニア血症、肝機能障害、好中球減少、ケトーシス、電解質異常などがしばしばみられる。

IV. タンデムマス法導入の臨床的効果

新生児期の発症前に診断された例と何らか

示している。有機酸代謝異常症の発症時期は、患者の51%が生後1カ月以内であった。これに対し、脂肪酸代謝異常症では、新生児期に発症した症例は13%で、6歳以降の発症も28%あった。すなわち脂肪酸代謝異常症の方が発症時期が遅く、マススクリーニングの効果はより大きいといえる。

4. 新生児発症例の臨床症状

表3に示すように、多くの症例で最初に気づかれる症状は、ぐったりして哺乳力が低下し、またがんこな嘔吐が認められる。ついで多呼吸、けいれん、意識障害などに発展する。また家族歴の異常がかなりの例で経験さ

の症状に気づかれてから診断された症例の転帰を調査した結果を表4に示す。新生児MSで発見された有機酸代謝異常症39例のうち、35例(90%)が正常発達をし、死亡は2例(5%)であった。これに対し、発症後に診断された有機酸代謝異常症108例のうち、その後正常発達していたのは20例(18%)、死亡例は32例(30%)であった¹⁰⁾。

脂肪酸代謝異常症では、新生児MSで発見された26例中23例(88%)が正常発達であったのに対し、発症後に初めて診断された症例で44例のうち、正常発達は23例(52%)であった。このことから、これらの先天代謝異常症を発症前に発見することの意義は大きいことを示す。

さらに新生児MSへの応用を機に「タンデムマス検査」が社会に広まれば、小児救急の場などで代謝異常症の可能性を念頭においた診療機会が多くなり、SIDS/ALTE、原因不明の急性脳症、ライ症候群などの病態解明にも貢献すると思われる。

おわりに

わが国では、新生児MS事業が開始されて35年が経過し、いろいろな課題が明らかになってきた¹¹⁾。タンデムマス導入を機に新生児MS体制を立て直すべき時に来ている。すなわち精度管理体制、全国診療支援ネットワークの構築、患者会との交流を通じた患者家族のQOL向上、患者の長期フォローアップ体制、および最近問題提起されている患者の成人後の支援などである¹²⁾。

本研究の一部は厚生労働科学研究費補助金(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業)を受けて行った。

文 献

- 1) 山口清次: 新生児マススクリーニングの新たな展開: タンデムマス法の導入. 公衆衛生 76: 853~857, 2012
- 2) 重松陽介, 福士 勝: 新生児マススクリーニングの現状: 世界と日本. 小児内科 44: 1605~1608, 2012
- 3) 山口清次: 乳幼児突然死症候群(SIDS)の原因検索: 先天代謝異常スクリーニングの重要性. 法医病理 13: 25~32, 2007
- 4) 山口清次: SIDS様症状で発症する先天代謝異常と診断へのアプローチ. 日本SIDS学会雑誌 6(1): 15~24, 2006
- 5) 山口清次: 乳幼児突然死予防におけるタンデムマス・スクリーニングの意義. 日本SIDS・乳幼児突然死予防医学会雑誌 11: 30~34, 2011
- 6) 山口清次, 長谷川有紀, 虫本雄一他: GC/MS有機酸分析で発見される小児の後天性ビタミン欠乏症: ビタミンB1欠乏症とビオチン欠乏症. ビタミン 86: 32~36, 2012
- 7) 重松陽介, 布瀬光子, 畑 郁江他: 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
- 8) 重松陽介, 畑 郁江: タンデム質量分析新生児マススクリーニングのピットフォール. 日本マス・スクリーニング学会誌 15: 13~18, 2005
- 9) 山口清次(編著): 有機酸代謝異常ガイドブック, 診断と治療社, 2011
- 10) 山口清次: タンデムマス等の新技術を導入した新しい新生児マススクリーニング体制の確立に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業)平成23年度報告書 2012
- 11) 山口清次: タンデムマス導入による拡大スクリーニングの諸問題. 日本先天代謝異常学会雑誌 27: 36~41, 2011
- 12) 芳野 信, 渡邊順子, 岡田純一郎: 成人フェニルケトン尿症患者の医療的・社会的アウトカム. 特殊ミルク情報 47: 6~7, 2011

新生児マススクリーニングで発見された軽症型プロピオン酸血症： 有機酸とアシルカルニチンの推移

高橋知男¹⁾，山田健治¹⁾，虫本雄一¹⁾，小林弘典¹⁾，長谷川有紀¹⁾，ジャミヤン・プレブスレン¹⁾，
坂本 修²⁾，大浦敏博²⁾，山口清次¹⁾

1) 島根大学医学部小児科，2) 東北大学大学院小児病態学

【要 旨】

タンデムマス法を導入した新生児マススクリーニングで，軽症型プロピオン酸血症が少なからず発見されることが知られている．軽症型プロピオン酸血症の診断の意義を検討する目的で，有機酸やアシルカルニチンの推移を追跡した．2004年から2009年の期間に島根大学で行ったタンデムマスによる新生児マススクリーニング（新生児MS）でプロピオニルカルニチン（C3）やプロピオニルカルニチン／アセチルカルニチン比（C3/C2）の上昇がみられ，尿中有機酸分析でも本症に特徴的なメチルクエン酸（MC），3ヒドロキシプロピオン酸（3HPA）の上昇が認められた症例，または遺伝子解析によってプロピオン酸血症と診断した6症例を検討した．

6症例のうち，無症候性の軽症型プロピオン酸血症が4例，重症型プロピオン酸血症が2例であった．軽症型に比較して重症型ではC3が高く，C3/C2は5倍以上の値を示した．軽症型プロピオン酸血症4例のうち，2例では経過中にMC，3HPA，C3が正常化した，2例では異常値が持続していた．C0は重症型では低値を示したが，軽症型では正常範囲内であった．軽症型はいずれも無治療で経過観察したが，現在まで症状は認められていない．今後，新生児MSが普及する中で，軽症型症例や無症候性の有機酸代謝異常・脂肪酸代謝異常症例の発見が増加すると思われる．さらに症例を集めて長期観察による適切な治療指針を作る必要がある．

【キーワード】

タンデムマス，プロピオン酸血症，プロピオニルカルニチン，3ヒドロキシプロピオン酸，メチルクエン酸

【はじめに】

我が国でタンデムマスによる新生児マス・スクリーニング（新生児MS）の普及に伴い，有機酸・脂肪酸代謝異常症が多く発見されるように

なった．有機酸代謝異常症の中でプロピオン酸血症とメチルマロン酸血症は最も多い疾患である．これらはタンデムマス分析ではプロピオニルカルニチン（C3），プロピオニルカルニチン／アセチルカルニチン比（C3/C2）の上昇によって発見される．一方GC/MSによる尿中有機酸分析では，メチルクエン酸（MC），3ヒドロキシプロピオン酸（3HPA）などの排泄増加が特徴的である．メチルマロン酸血症では，これらに加えてメチルマロン酸の上昇で鑑別される．

プロピオン酸血症はパイロットスタディの開始後，日本人では従来考えられていたよりも発

<連絡先>

高橋 知男
〒693-8501 出雲市塩治町89-1
島根大学医学部小児科
Tel:0853-20-2219 Fax:0853-20-2215
E-mail:tomoo@med.shimane-u.ac.jp

見頻度が高いことがわかった³⁾。重松らは43万人中8人(1/5.3万人)²⁾、坂本らは約42,500人中5人(1/8,500人)³⁾に発見されたと報告している。厚生労働省研究班のパイロットスタディによるとプロピオン酸血症は約5万人に1人で、タンデムマス法の対象疾患では最も頻度が高い。本症では大部分が乳児期早期に嘔吐などの急性症状で発症し、予後不良の疾患と考えられているが、外国と異なり日本人の患者では、無症状のいわゆる軽症型プロピオン酸血症が多いことも分かってきた。

プロピオン酸血症の欠損酵素は、プロピオニルCoAカルボキシラーゼ(PCC)であるが、この酵素は α 、 β の2つのサブユニットからなるヘテロ二量体であり、それぞれのサブユニットはPCCA、PCCB遺伝子にコードされている⁴⁾。日本人の軽症型プロピオン酸血症ではPCCB遺伝子のY435C変異の頻度が高く、そのアリル頻度からホモ接合体頻度は約1/30,000と計算されている⁵⁾。また、その他の稀な変異がPCCB遺伝子のみならずPCCA遺伝子にも知られている⁵⁾。

重症型プロピオン酸血症は、乳児期早期から高アンモニア血症、代謝性アシドーシスなどを

呈し、治療用特殊ミルクを併用した食事療法と、L-カルニチン、メトロナゾールなどで治療される⁶⁾。軽症型症例でも同様の治療をしている報告がある⁷⁾。しかし、軽症型プロピオン酸血症に治療が必要かどうかについてはまだ不明である。そこで今回我々は、新生児MSで発見されたプロピオン酸血症患者のC3やMC、3HPAなど代謝産物の変化を追跡し、治療やフォローアップなどの必要性について検討した。

【方法】

2004年から2009年までの期間中に島根大学で行ったタンデムマスによる新生児MSで、C3又はC3/C2の上昇がみられ、尿中有機酸分析でMCや3HPAの上昇、または遺伝子検査で確定診断されたプロピオン酸血症の6症例を検討した(表1)。尿中有機酸分析はGC/MSを用いて既報の方法に準じて行い⁸⁾、また臨床経過と異常代謝産物の推移を観察した。

【結果】

今回検討したプロピオン酸血症6例(男:女=3:3)の最終追跡年齢は1ヶ月~4歳1ヶ月であつ

表1. プロピオン酸血症の新生児期の所見とその他の情報

症例	軽症				重症		基準値
	1	2	3	4	5	6	
性別	男	男	女	女	男	女	
最終調査時年齢	4y1m	1y4m	8m	1y0m	1m	1m	
尿中有機酸(%:内部標準とのピーク面積比)							
MC	<u>1.88</u>	<u>2.98</u>	<u>1.69</u>	<u>4.07</u>	<u>142.4</u>	<u>48.5</u>	(<1.1)
3HPA	<u>1.38</u>	nd	<u>5.12</u>	<u>6.44</u>	<u>384.4</u>	<u>967.7</u>	(<1.1)
ろ紙血アシルカルニチン(μ M)							
C3	4.6	4.25	<u>9.43</u>	<u>6.98</u>	<u>12.9</u>	<u>15.2</u>	(<5.25)
C3/C2	<u>0.24</u>	<u>0.23</u>	0.18	<u>0.29</u>	<u>1.53</u>	<u>2.59</u>	(<0.2)
C0	46.1	20.7	62.7	15.9	<u>8.08</u>	<u>4.43</u>	(10~60)
	R77W/ unknown (PCCA)	Y435C/ Y435C (PCCB)	NA	Y435C/ unknwon (PCCB)	NA	NA	

略語: MC=メチルクエン酸; 3HPA=3ヒドロキシプロピオン酸; nd=not determined;

NA=not analysed; nd=not detected(<0.1)

基準値は新生児期のもの

アンダーラインは異常値を示す

た。新生児重症型（古典型）の症例5, 6は1ヶ月間のみ追跡した。初回の検査結果は表1に示すように、軽症型の症例1~4ではMC, 3HPAの上昇は軽度で、臨床症状を認めなかった。症例5, 6はMC, 3HPAが非常に高く、出生直後には既に嘔吐や哺乳不良等の症状が出現していた。遺伝子解析を行った軽症型3例の結果は、症例1ではPCCA遺伝子のR77W/unknown, 症例2ではPCCB遺伝子のY435Cのホモ接合体, 症例4ではY435C/unknownであった。

軽症型プロピオン酸血症4例の血中アシルカルニチン所見は、C3上昇のみが1例、C3/C2上昇のみが2例、C3, C3/C2の両方が上昇した例は1例であった。C0は新生児ろ紙血の正常範囲内であった。また尿中有機酸分析では、症例2でMCの上昇のみが認められ、他の3症例ではMCのみならず3HPAの排泄増加もみられた。

一方、新生児発症の重症型（症例5, 6）の2例では、軽症型に比べ、C3が高く、遊離カルニチンの低下が他の4症例に比べて顕著であった。さらにC3/C2は軽症型症例の5倍以上であった。尿中有機酸分析所見ではMCも3HPも他の4例に比べ数十倍の増加が見られた。

軽症型プロピオン酸血症4例のMC, 3HPA, C3, C3/C2の推移をそれぞれ図1~4に示した。

- 1) MC: 症例1と3では漸減し正常範囲またはボーダーラインに低下した。症例2と4では、少なくとも1年以上、MCの高値が持続した。
- 2) 3HPA: 症例1は2歳時に一過性の上昇を認めたが、特に症状なく経過した。症例2, 3, 4はカットオフを超える値が持続し、特に症例2, 4は最終追跡時点（1年以上）でも高値を示した。
- 3) C3: 症例1と3は、最初の再検査の時から正常値を示していた。症例2は、初回は正常値であったが次第に上昇し、高値が継続した。症例3は、初回は異常値であったが5ヶ月に検査した後は正常範囲にあった。症例4では高値を示した。これまでのところ軽症型症例は全例（症例1~4）無治療で、明らかな代謝異常を思わせるような症状はみられず、正常

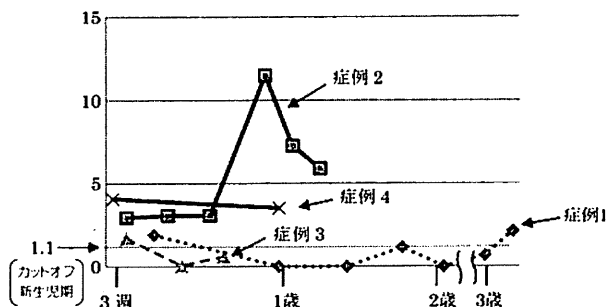


図1. メチルクエン酸 (MC) の推移

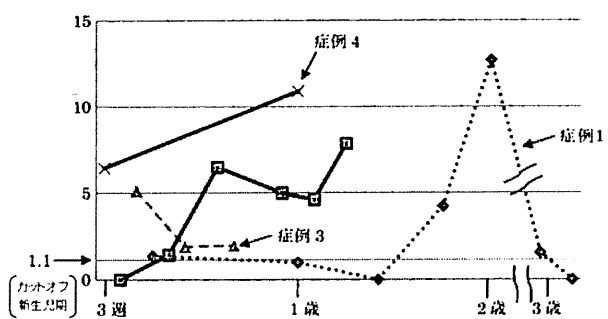


図2. 3ヒドロキシプロピオン酸 (3HPA) の推移

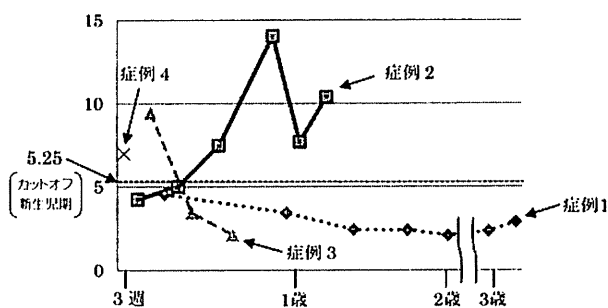


図3. プロピオニルカルニチン (C3) の推移

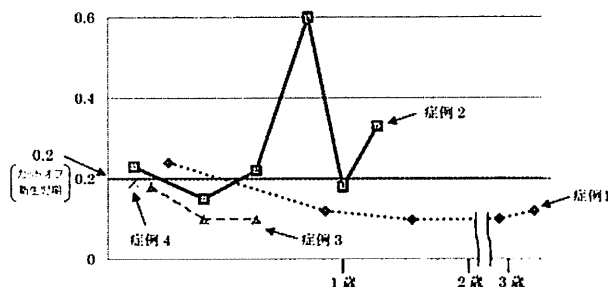


図4. C3/C2の推移

に発達している。

- 4) C3/C2: 症例1は最初の検査では異常値であったが、2回目以降は正常だった。症例3, 4は初回から正常値を維持していた。症例2は異常値と正常値を交互に示している。

またC0については、初回のMS/MSにおいて全症例で正常値であり、2回目以降についても新生児期以降の正常値である20 μ M以上を示していた。

【考 察】

今回検討した軽症型プロピオン酸血症4例では、全例で尿中MCの上昇により本症と化学診断され、1例はY435C変異がホモでみられた。一方、新生児発症の重症型2例では、尿中有機酸異常所見が他の軽症型4症例に比べて著しい異常を示したことから、生化学的に重症型の区別は容易であると思われる。

アシルカルニチン所見では、初回分析でC3、C3/C2のいずれも上昇していたのは症例4のみで、他の3例はC3、C3/C2のいずれかの異常を示しただけであった。C3、C3/C2どちらかの異常があればプロピオン酸血症の可能性が高く、尿中有機酸分析などの精査を進める必要性があることを示唆する。

異常代謝産物の量の推移をみると、症例1、3では有機酸分析でMC、3HPA、C3の量は新生児期のカットオフ値以下に低下したが、症例2、4では少なくとも1年以上は異常値が持続した。後者の2例ではいずれもY435C遺伝子変異をもつタイプであった。

症例1では2歳時に3HPAの一過性の再上昇が認められたが、MCの上昇は軽度であった。この採尿時に患児が便秘症を呈していたことがわかっており、腸内細菌が3HPAの再上昇に影響を与えた可能性や、タンパク摂取量によっても影響されると考えられる。

今回検討した軽症型プロピオン酸血症は4例全例が無治療でこれまでのところ明らかな症状は認められていない。軽症型プロピオン酸血症であれば、特別な治療は必要ないと考えられるが、軽症プロピオン酸の患児から検出され続ける限りは、半年～1年に1回のフォローが必要であろう。現時点では、新生児MSで軽症型プロピオン酸血症と診断され、その後に重症化した症例の報告はないが、長期予後に関してはまだ不明な点が多いからである。

一方、新生児期には無症状で乳児期に嘔吐や哺乳不良などの症状で発症した重症型プロピオン酸血症の症例は数多く報告されている^{9), 10), 11)}。今回の症例2、4のような異常代謝産物の値に改善がみられない例では、将来急性増悪する危険性は否定できない。特にY435Cに遺伝子変異をもつ症例については日本人患者で頻度の高い変異だけに、定期的なタンデムマス分析や尿中有機酸分析、また適宜、心電図検査や脳MRI検査を行う必要がある⁶⁾。症例2と4のような症例では日常生活において、シック・デーには状態を注意深く観察し、嘔吐や哺乳不良、傾眠傾向などの症状を伴う際にはすみやかにアシドーシスやアンモニアなどのチェックをする必要がある。これらの生活上の注意点を、両親に十分に説明しておくことを念頭に置いておくべきである。

今後、タンデムマスによる新生児MSの普及とともに、今回のような軽症型の代謝異常症や、メチルクロトニルグリシン尿症のように大部分が無症状と考えられているような症例の発見頻度は増加すると予想される。無症状の疾患の長期予後については、軽症型イソ吉草酸尿症の治療指針があるのみで^{12), 13)} その他の軽症型疾患について明確な治療指針はない。今後、マス・スクリーニングの普及と同時に長期追跡を通して、エビデンスに基づいた軽症型に対する指針を作成する必要がある。

文 献

- 1) Yorifuji T et al. Unexpectedly high prevalence of the mild form of propionic acidemia in Japan: presence of a common mutation and possible clinical implications. *Hum Genet.* 111: 161-165, 2002
- 2) 重松陽介：広がり始めたタンデムマス・スクリーニングの現況 日本マススクリーニング学会誌 17: 19-24, 2007
- 3) 坂本 修ら：新生児タンデムマススクリーニングで発見されるC3、C3/C2高値例の検討 日本マス・スクリーニング学会誌 19: 63-68, 2009

- 4) Yang X et al. Mutation spectrum of the PCCA and PCCB genes in Japanese patients with propionic acidemia. *Mol Genet Metab.* 81: 335-342, 2004
- 5) 重松陽介：タンデムマス・スクリーニングにおける直接精密検査と診断確定の重要性 特殊ミルク情報 44: 57-59, 2008
- 6) 特殊ミルク共同安全開発委員会 タンデムマス導入にともなう新しいスクリーニング対象疾患の治療指針 特殊ミルク情報 42: 10, 2006
- 7) 長尾雅悦：タンデムマススクリーニングによって発見された軽症型プロピオン酸血症の診断と治療 小児科 50: 651-655, 2009
- 8) Kimura M et al. A personal computer-based system for interpretation of gas chromatography mass spectrometry data in the diagnosis of organic acidaemias. *Ann Clin Biochem.* 36: 671-672, 1999
- 9) Johnson JA et al. Propionic acidemia: case report and review of neurologic sequelae. *Pediatr Neurology.* 40: 317-320, 2009
- 10) Lücke T et al. Propionic acidemia: unusual course with late onset and fatal outcome. *Metabolism.* 53: 809-810, 2004
- 11) 鎌田彩子ら：プロピオン酸血症の1例－診断後16年間にわたる治療経過について－ 小児科臨床 57: 959-962, 2004
- 12) Ensenauer R et al. A common mutation is associated with a mild, potentially asymptomatic phenotype in patients with isovaleric acidemia diagnosed by newborn screening. *Am J Hum Genet.* 75: 1136-42, 2004
- 13) Vockley J, et al. Isovaleric acidemia: new aspects of genetic and phenotypic heterogeneity. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 142: 95-103, 2006

受付日：平成24年10月31日

受理日：平成24年12月19日



タンデムマスと新生児マススクリーニング

島根大学小児科教授

山口 清次

新生児マススクリーニングとは？

最近「タンデムマス」という言葉をよく聞かれます。タンデムマスとは、新生児マススクリーニングの新しい検査法のことです。最初にその歴史と概要についてお話しします(表1)。

ご存知のように新生児マススクリーニングとは、知らずに放置しているとやがて障害が出てくるような生まれつきの代謝異常症を発症前に見つけ、障害の発生を予防する公的事業のことです。1934年にフェニルケトン尿症が発見¹⁾され、1953年に食事療法でフェニルケトン尿症による知的障害を予防できることが報告²⁾されました。ついで1963年に、新生児の血液ろ紙を使って生まれつきの代謝異常の有無を簡単

に判定できる「ガスリーテスト」が開発されました³⁾。そしてわが国でも、1977年から新生児マススクリーニングが全国的に開始されました。

タンデムマス法は、1990年代の前半にアメリカで開発され、2000年頃から世界的に注目されるようになりました。わが国では1997年から福井大学で試験研究が行われ、2004年に厚生労働省研究班が発足し、タンデムマスの導入について検討されてきました。そして2011年、研究班発足8年目に厚生労働省母子保健課長通達が出され、現在はガスリーテストに代わる方法としてタンデムマス法が全国に広がっているところです。

表1 わが国の新生児マススクリーニングの歴史

1934	フェニルケトン尿症の同定(フェーリング)
1953	フェニルケトン尿症治療ミルクの開発(ビッケル)
1963	ガスリーテストの開発(ガスリー)
1977	新生児マススクリーニング事業開始(5疾患)
1979	対象疾患にクレチン症追加
1989	対象疾患に先天性副腎過形成症追加
1990～	タンデムマス法の開発(米国)
1991～	対象6疾患(アミノ酸血症:3, ガラクトース血症, 内分泌疾患:2)
1997～	わが国でタンデムマス法試験研究(福井大学)
2000頃～	タンデムマスが世界的に注目されるようになる
2004	厚生労働省タンデムマス マスクリーニング研究班の発足
2011	厚生労働省母子保健課長通達(タンデムマス法の導入)

タンデムマスとは？ (図1)

タンデムマスとは、正式にはタンデム型質量分析計といいます。質量分析計が直列に二つ並んだ構造の分析機器です。血液ろ紙から直径3mmのディスクを打ち抜き、その抽出液をこの機器にかけると、生体試料中の粒子がイオン化して中を飛びます。そして衝突室でガス粒子に当たって断片化し、第二質量分析室の中に飛び込んでいきます。断片化する前の分子の質量数によって化合物を同定し、断片イオンの電気

的強度で定量します。日本で普及しているマススクリーニングに使われている主なタンデムマス機器は、現在3種類あります。

ガスリーテストとタンデムマス法の違い(図2)

これまでのガスリーテストとタンデムマス法はどのように異なるのでしょうか。ガスリーテストでは、寒天培地上の枯草菌の増殖輪の大ききでアミノ酸濃度を推定するという半定量法で

図1 タンデム型質量分析計(タンデムマス)

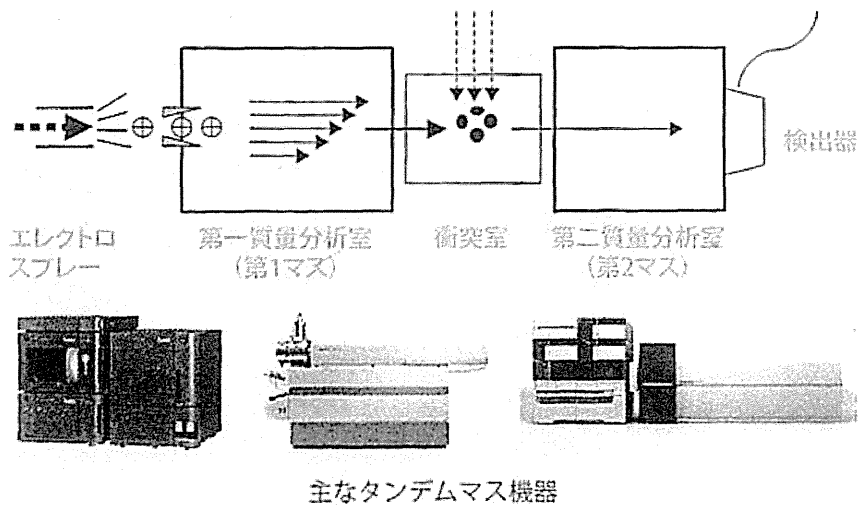
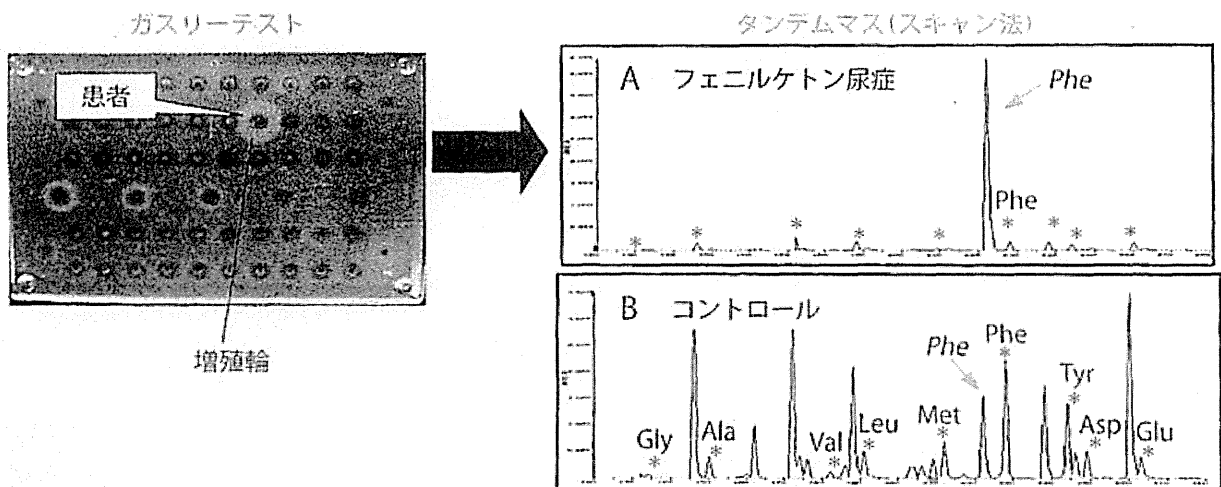


図2 ガスリーテストからタンデムマスへ

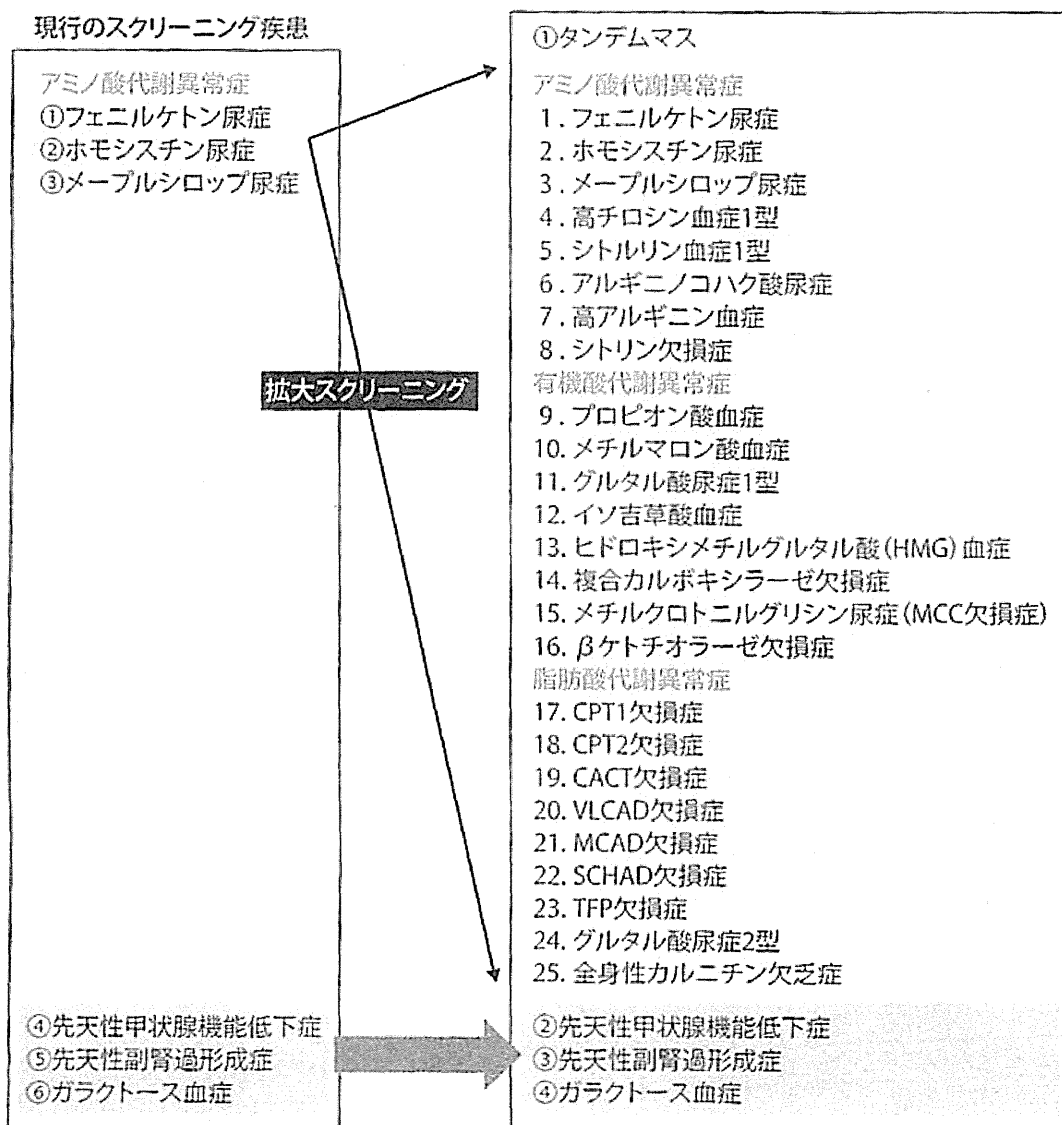


す。一方、タンデムマス法は電氣的強度で測定するので、より正確で偽陽性例が少なくなります。さらに、ガスリーテストでは一つの疾患につき一つの検査をセットする必要がありましたが、タンデムマス法では1回の分析で多数の疾患をスクリーニングできます。検査体制をうまく配置すれば、検査のランニングコストも両者であまり変わらないのです。

拡大スクリーニングとは(図3)

最近までわが国では、6種類の疾患を対象として新生児マススクリーニングが行われてきました。タンデムマス法が導入されると、これまでのアミノ酸代謝異常症3疾患を含む20数種類の疾患がスクリーニングできるようになります。これを「拡大スクリーニング」といいます。ただし、先天性甲状腺機能低下症、先天性副腎過形成症、ガラクトース血症の3疾患はタンデムマスで検査できないため、これまでと

図3 タンデムマス導入による拡大スクリーニング



同様の方法で検査しなければなりません。

タンデムマス法による発見頻度

(表2)

タンデムマス法を導入すると、従来のアミノ酸代謝異常症に加え、尿素回路異常症、有機酸代謝異常症および脂肪酸代謝異常症が見つかるようになります。これらの疾患の中には、普段、健常者と変わらぬ生活をしていたのに、感染な

どのストレスを契機に急に症状が現れ、後遺症を残したり突然死さえしたりするような疾患もあります。

これまでのパイロットスタディ⁴⁾では、計195万人の赤ちゃんを検査して215人の患者さんが見つかりましたが、日本の疾患発見頻度は全体として約1万人に1人と推定しています。欧米では4～5千人に1人なので、わが国での疾患発見頻度は諸外国に比べると低い傾向があります。

表2) タンデムマス・スクリーニングの結果(1997～2012)

(1)～(16)：一次対象疾患(16疾患)
見逃しが少なく治療効果が期待できる

△：二次対象疾患
現時点では見逃しがあり、検附中

疾患	例数	頻度
アミノ酸代謝異常症	72	1:2.7万
(1)フェニルケトン尿症	37	1/5.3万
(2)メープルシロップ尿症	1	1/195万
(3)ホモシスチン尿症	3	1/65万
(4)シトルリン血症1型	6	1/33万
(5)アルギニノコハク酸尿症	2	1/98万
△シトルリン欠損症	23	1/8万
有機酸代謝異常症	86	1:2.3万
(6)メチルマロン酸血症	18	1/11万
(7)プロピオン酸血症	43	1/4.5万
(8)イソ吉草酸血症	3	1/65万
(9)複合カルボキシラーゼ欠損症	3	1/65万
(10)メチルクロトニルグリシン尿症(MCC欠損症)	13	1/15万
(11)ヒドロキシメチルグルタル酸(HMG)血症	—	—
(12)グルタル酸尿症1型	7	1/28万
△βケトチオラーゼ欠損症	—	—
脂肪酸代謝異常症	57	1:3.4万
(13)CPT1欠損症	5	1/39万
(14)VLCAD欠損症	12	1/16万
(15)MCAD欠損症	18	1/11万
(16)TFP欠損症	2	1/98万
△CPT2欠損症	7	1/28万
△グルタル酸尿症2型	6	1/33万
△全身性カルニチン欠乏症	7	1/28万
△SCHAD欠損症	1	1/195万
〈患者数〉	215	1/9,000
〈スクリーニング新生児数〉	1,949,987	約1万人に1人

日本で頻度が高い疾患は、プロピオン酸血症（4万5千人に1人）、フェニルケトン尿症（5万3千人に1人）、メチルマロン酸血症と中鎖アシル-CoA脱水素酵素(MCAD)欠損症（それぞれ11万人に1人）でした。日本人には軽症型プロピオン酸血症が多いことが分かりましたが、治療の必要があるかどうかについてはまだ結論が出ていません。

タンデムマス法導入を機に 検討したい、いくつかの課題(表3)

最後に、タンデムマス法導入を機にクローズアップされてきた、わが国の新生児マススクリーニングにおける課題をいくつか挙げさせていただきます。

1番目は、診療支援体制の整備です。新生児マススクリーニングの対象疾患の多くは何十万人に1人という超希少疾患です。しかし、日本のどこでいつ患者さんが出てくるか分かりません。現場では戸惑うこともあるでしょう。どこで発生しても、気軽に相談できる窓口、専門機関へのネットワークに簡単にアクセスできる体制を作る必要があります。

2番目は、患者さんを長期追跡する体制の整備です。現在、わが国の新生児マススクリー

④ 新生児マススクリーニングの課題

1. 診療支援体制(全国ネットワーク)の整備
2. 患者登録・長期追跡体制の整備
3. カウンセリングの充実
4. 精度管理体制の整備
5. 患者さんのQOL向上
6. 成人後の医療支援
7. 検査体制の効率化

ニングは自治体の管理下にあります。このため日本全体の患者数および長期予後が把握できない状態にあるのです。新生児マススクリーニングが社会の役に立っているかどうかを評価するためには、発見された患者さんの長期追跡が不可欠です。自治体単位では非常に珍しく患者数が少ないとしても、全国の患者情報を集めれば相当数になるので、診療状況のチェック、希少疾患の治療法の向上、新しい治療法の開発、患者さんのQOL向上に役立つでしょう。

3番目は、カウンセリングの充実です。新生児マススクリーニングでは「偽陽性」が出ると家族を混乱させることもあります。また、聞いたことのない珍しい病名の告知によって、家族に過度の精神的ストレスを与えることもあります。遺伝カウンセリングが必要になることもあるでしょう。カウンセリングができるスタッフの教育、カウンセラーの関与などがこれから必要になってくると思います。

4番目は、精度管理体制の整備です。タンデムマスは精密分析機器なので、測定法などの継続的な精度管理が重要になります。それ以外に、赤ちゃんの検体が適正に検査されているか、陽性者が適正な診療を受けているかなどについても、第三者機関によるチェック体制を整備する必要があります。

5番目は、患者さんのQOL向上です。患者会との交流を通じ、患者さんと家族の生の声に耳を傾け、行政サービスの向上、治療法の改良に役立てる必要があります。また、疾患に関する情報提供の場は、患者さんと家族を勇気づけることになるでしょう。

6番目は、患者さんの成人後における医療支援の問題です。新生児マススクリーニングで疾患を発見された小児は今、成人してすでに働

いている方も多くいます。しかし現在の制度では、成人後には一般の保険診療となり、毎月数万円の自己負担が発生します。通常の疾患と異なり、生涯にわたって治療を続ける疾患が多いので、患者さんにとっては大変な負担です。成人後も安心して医療を受けられる制度を急いで検討する必要があると思います。

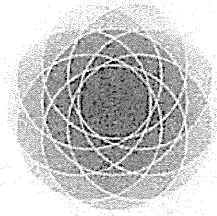
7番目は、検査体制の効率化です。なぜなら、新生児マススクリーニングが始まった頃に比べて少子化が急速に進行し、検査機関あたりの赤ちゃんの検体数も激減しています。タンデムマスは高価な機器でメンテナンスの費用も相当かかるため、1台の機械でより多数の検査ができるようにすれば、検査コストが安くなるだけでなく精度管理の面でも有利になります。

最後になりますが、医療の基本は「病気になった人を治療すること」です。しかし、この新生児マススクリーニングは「病気になっていない

人を発病させない」という考え方です。小児の疾患には「治療よりも予防」が大切な疾患が多くあります。知らずに放置されたがために、これから歩む長い人生を、心身障害という足かせを背負って生きなければならない小児をなくすという視点を持つことが、我々小児にかかわる者の使命ではないでしょうか。

参考文献

- 1) Fölling A. Über Ausscheidung von Phenylbrenztraubensäure in den Harn als Stoffwechsellanomalie in Verbindung mit Imbezillität. Hoppe Seylers Z Physiol Chem. 1934; 227: 169-176.
- 2) Bickel H, Gerrard J, Hickmans EM. Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria. Lancet. 1953; 265(6790): 812-813.
- 3) Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting Phenylketonuria in large populations of newborn infants. Pediatrics. 1963; 32: 338-343.
- 4) 山口清次. タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究. 厚生労働科学研究(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業)平成22~24年度総合研究報告書. 2013.



Up-to-Date Pediatric Practice

小児科診療

UP-to-DATE

ラジオNIKKEI放送内容集

Vol. 1

▷第59回学術集会 シンポジウム7:臨床検査への質量分析の応用(4)◁

小児科領域におけるタンデムマスとGC/MSの臨床応用： 最近の進歩

山 口 清 次*

Clinical Application of Mass Spectrometry in the Pediatric Field: Current Topics

*Seiji YAMAGUCHI, MD**

Mass spectrometry, including tandem mass spectrometry (MS/MS) and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS), is becoming prominent in the diagnosis of metabolic disorders in the pediatric field. It enables biochemical diagnosis of metabolic disorders from the metabolic profiles obtained by MS/MS and/or GC/MS. In neonatal mass screening for inherited metabolic disease (IMD) using MS/MS, amino acids and acylcarnitines on dried blood spots are analyzed. The target diseases include amino acidemia, urea cycle disorder, organic acidemia, and fatty acid oxidation disorder. In the MS/MS screening, organic acid analysis using GC/MS is required for differential and/or definite diagnosis of the IMDs. GC/MS data processing, however, is difficult, and metabolic diagnosis often requires the necessary skills and expertise. We developed an automated system of GC/MS data processing and autodiagnosis, and the biochemical diagnosis using GC/MS became markedly easier and user-friendly. Mass spectrometric techniques will expand from research laboratories to clinical laboratories in the near future. 【Review】

[Rinsho Byori 61 : 817~824, 2013]

Corresponding author: *Seiji YAMAGUCHI, MD*, Department of Pediatrics, Shimane University School of Medicine, Izumo 693-8501, Japan. E-mail: sejiyam@shimane-med.ac.jp

【Key Words】 tandem mass spectrometry (タンデムマス), gas chromatography-mass spectrometry: GC/MS (ガスクロマトグラフ質量分析計), organic acidemia (有機酸代謝異常症), fatty acid oxidation disorder (脂肪酸代謝異常症), neonatal mass screening (新生児マススクリーニング)

質量分析は、生体試料中の微量物質を高感度・高精度に網羅的分析が可能な機器である。微量の検体で同時に多くの情報が得られるため、メタボロミクス、プロテオミクス解析に応用されている。従来質量分析は、もっぱら研究室で使われていたが、最近臨床検査として使われるようになりつつある。

小児科領域では、代謝異常の診断に質量分析が普及しつつある。なかでも、「ガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) による先天代謝異常症の診断」と「タンデム型質量分析 (タンデムマス) によるアシルカルニチン分析」は、条件付きではあるものの最近保険収載された。さらに最近ガスリー血液ろ

*島根医科大学小児科 (〒693-8501 出雲市塩冶町 89-1)

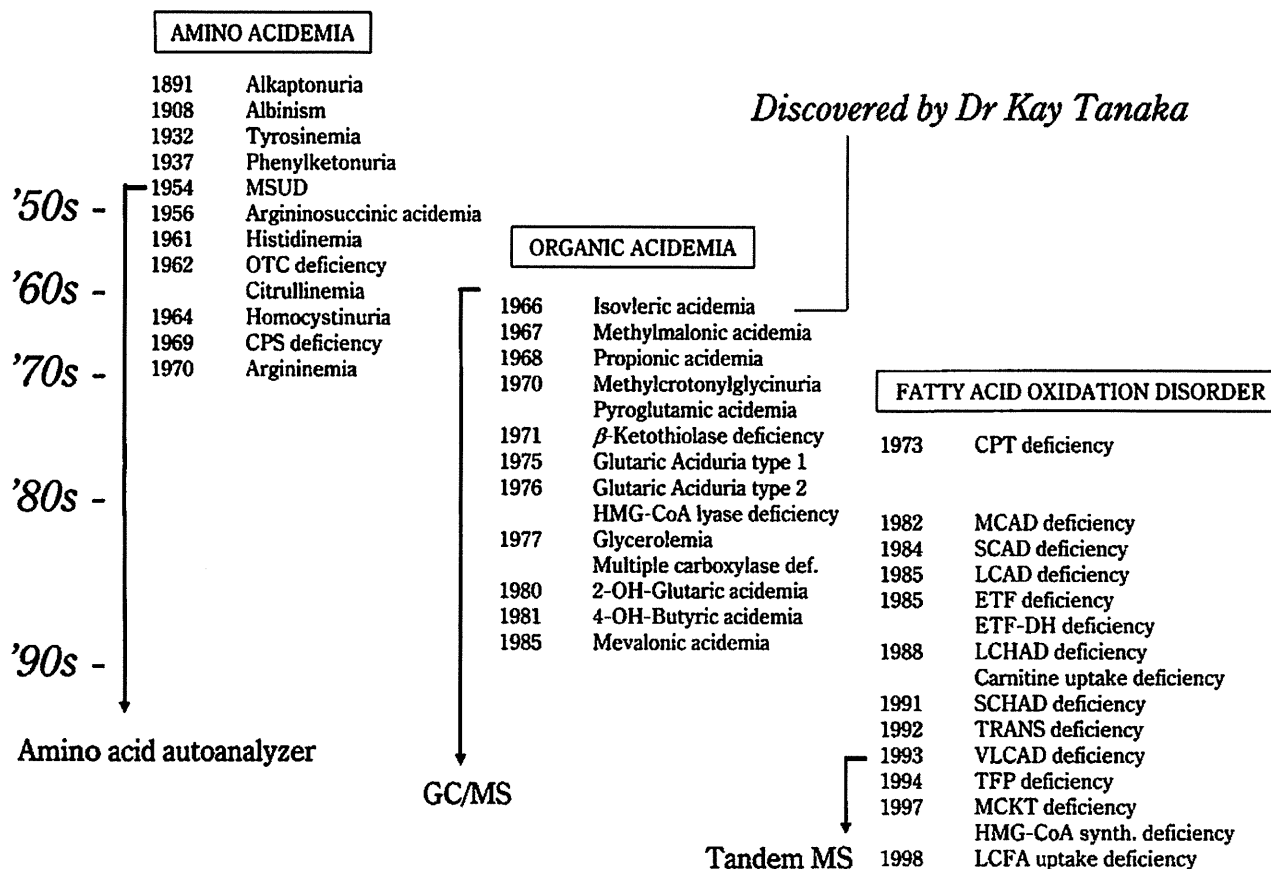


Figure 1 Discovery of amino, organic and fatty acid oxidation disorders.

紙を用いる新生児マススクリーニングにタンデムマス法が導入されるようになり、質量分析の臨床応用が広がりつつある¹²⁾。そこで小児科領域で普及しつつある質量分析による代謝異常の診断について述べたい。

I. 代謝異常診断における質量分析の臨床応用の歴史背景

アミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症の発見の歴史と分析機器の発達との関連性を Fig. 1 に示している。

A. アミノ酸代謝異常症

食物や体蛋白異化に由来するアミノ酸の代謝障害のために、体液中にアミノ酸が増加する疾患である。1900年頃にアルカプトン尿症、白子症などを例に挙げて「先天代謝異常症」の概念が提唱されて以来、1932年にチロシン血症、1934年にフェニルケトン尿症、1954年にメープルシロップ尿症などのアミノ酸代謝異常症が発見された。1950年代にアミノ酸自動分析計が開発され現在知られているほとんどのア

ミノ酸血症が同定された。そして1960年代に尿素回路異常症が同定された。

B. 有機酸代謝異常症

1966年に K. Tanaka らが GC/MS によってイソ草酸血症を同定し報告したのが最初である。以後同様の手法で、1967年メチルマロン酸血症、1968年プロピオン酸血症が発見され、1970年代を中心に主な有機酸代謝異常症が同定された。

C. 脂肪酸代謝異常症

1970年代にカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ(CPT)欠損症が同定されていたが、あまり注目されていなかった。1982年に突然死症例から中鎖アシル-CoA 脱水素酵素(MCAD)欠損症が同定されて以来、小児の突然死との関連に注目されるようになり研究が発展した。そして1990年代にタンデムマス法が開発され、生化学診断が著しく簡単になり、現在ではタンデムマス法を導入した新生児マススクリーニングが普及しつつある³⁾。

Table 1 Clinical features of amino acidemia, urea cycle disorder, organic acidemia, and fatty acid oxidation disorder, and biochemical diagnosis

Clinical features	Tools for biochemical diagnosis
Amino acidemia	
<ul style="list-style-type: none"> • Neurological impairment • Convulsion, unconsciousness • Liver dysfunction • Renal stone 	Amino acid analysis (Organic acid analysis)
Urea cycle disorder	
<ul style="list-style-type: none"> • Convulsion, unconsciousness • Mental retardation • Hyperammonemia 	Amino acid analysis Blood ammonia Organic acid analysis
Organic acidemia	
<ul style="list-style-type: none"> • Acute onset with hypotonia, unconsciousness from early infancy • Intermittent episodes of ketosis, hypoglycemia • Neurological retardation • Other (ex. intractable eczema) 	Organic acid analysis Acylcarnitine analysis
Fatty acid oxidation disorder	
<ul style="list-style-type: none"> • Lethargy, hypotonia, myalgia • Acute encephalopathy, sudden death • Cardiomyopathy • Non-ketotic hypoglycemia • Liver dysfunction, CK elevation 	Acylcarnitine analysis Organic acid analysis

II. アミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症の臨床的特徴

Table 1 に示すように、アミノ酸代謝異常症は血液(または尿)のアミノ酸分析、尿素回路異常症では血中アンモニア値とアミノ酸分析などによって診断される。有機酸代謝異常症と脂肪酸代謝異常症は、GC/MS による尿中有機酸分析、タンデムマスによる血中アシルカルニチン分析によって生化学診断される。両者ともカルボン酸の増加する点で類似しているが臨床的特徴に違いがみられる。前者は有機酸の臓器毒性の所見がみられることが多く、後者はエネルギー産生不全による症状が前面に出る。

タンデムマス法ではアミノ酸とアシルカルニチン分析が可能であり、これら上記 4 種類の疾患群のスクリーニングに用いられる。GC/MS による尿中有機酸分析では、有機酸代謝異常症の生化学診断に最も威力を発揮するが、一部のアミノ酸血症でも補助的診断に用いられる。例えば、有機酸分析によって、フェニルケトン尿症でフェニルピルビン酸やフェニ

ル乳酸、メープルシロップ尿症で分枝鎖 α ケト酸の増加が観察される。尿素回路異常症では、一部の疾患でウラシル、オロト酸の増加がみられ診断に有用である。さらに脂肪酸代謝異常症の家長鎖脂肪酸代謝異常症では非ケトン性ジカルボン酸尿症がみられ、中鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症ではヘキサノイルグリシンやスベリルグリシンのような診断的に有用な有機酸が検出される。

III. タンデムマスと GC/MS について

A. タンデムマス

MS が直列に並んだ構造 (MS1 と MS2) 構造を持ち、MS1 と MS2 で測定された粒子の質量数を比較して分子量が推定される。そしてそれぞれの分子のイオン強度によって定量される。非常に高感度な分析が可能であり⁴⁾、新生児マススクリーニングでは、血液ろ紙の 3mm 大のディスクでよく、血清 10 μ L で分析可能である⁵⁾。また分析試薬等がキット化され前処理も非常に簡単になっている。1 検体の分析時間は 2 分程度であり、ランニングコストも安価なた