

特集

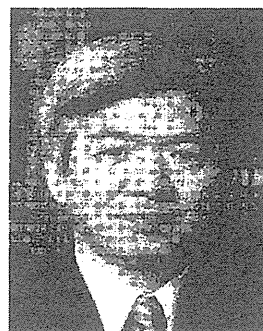
1. タンデムマスを用いた新生児マススクリーニングによる先天代謝異常症の早期診断

島根大学医学部 小児科 やまぐちせいじ 山口清次



KEY WORDS

タンデムマス
新生児マススクリーニング
有機酸代謝異常症
脂肪酸代謝異常症
アシルカルニチン



Seiji Yamaguchi

はじめに

新生児マススクリーニング（新生児 MS）は、知らずに放置すると、障害の起こるような先天代謝異常症を、発症前に見つけて障害発生を予防（または軽減）する事業である。最近、新しい検査法であるタンデム型質量分析装置（タンデムマス）を新生児 MS に導入して、対象疾患を増やして障害予防事業を拡大する動きが進んでいる¹⁾²⁾。

先天代謝異常を持つ小児が乳児期早期に急性発症すると、明確な診断がつかないまま死亡したり、後遺症を残すことも少なくない。タンデムマスが普及すると、このような症例の早期発見による障害予防が期待される。また、不幸にして死亡、または障害を残したとしても、タンデムマス等の代謝解析によって

病因、病態を正しく評価できるようになり、小児診療技術向上に貢献する³⁾。そこで新生児期に発症する代謝異常症と、タンデムマスの臨床的意義について述べたい。

I. 新生児期に発症する先天代謝異常症

新生児期に発症する可能性のある先天代謝異常の代表的な疾患を表1にあげている。脂肪酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、アミノ酸代謝異常症、糖新生系異常症などがある⁴⁾⁵⁾。このうち有機酸・脂肪酸代謝異常症あるいはアミノ酸代謝異常症は、微量の血液を用いるタンデムマス分析によって、比較的簡単に診断できるようになった。

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

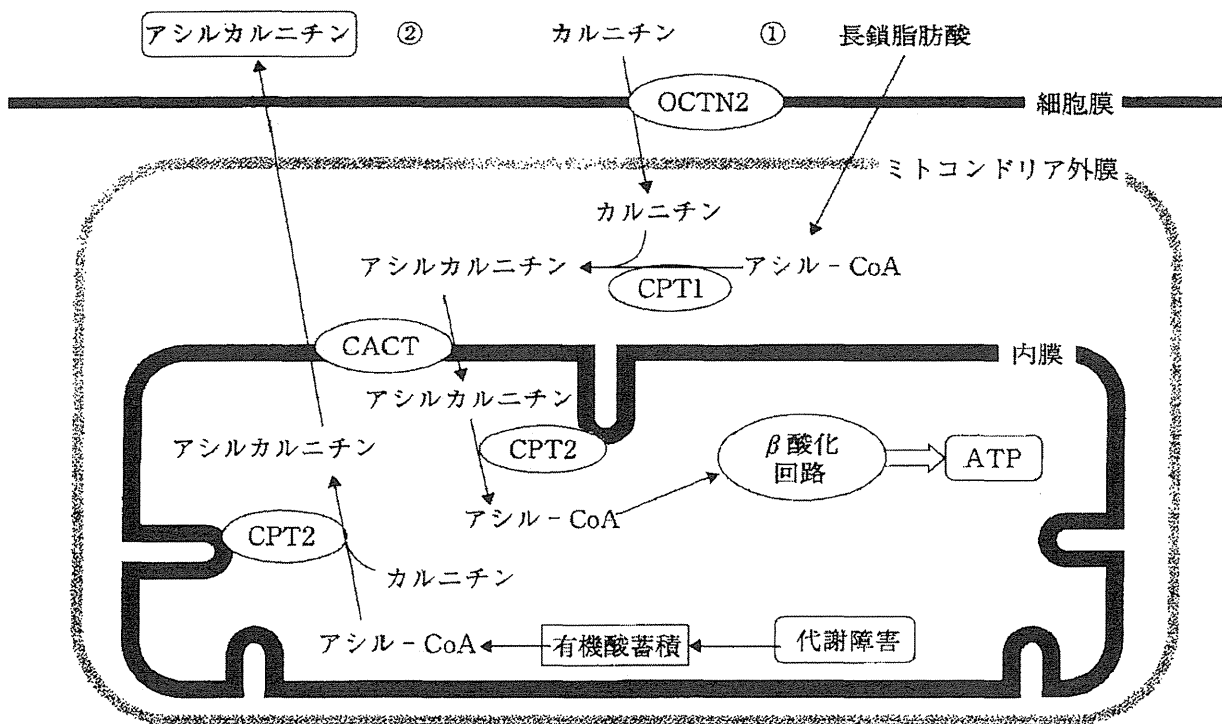


図1 カルニチンの代謝の役割

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⁾，検体はガシリ血液ろ紙の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, 低血糖	1 : 10万 1 : 16万 — 1 : 31万 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

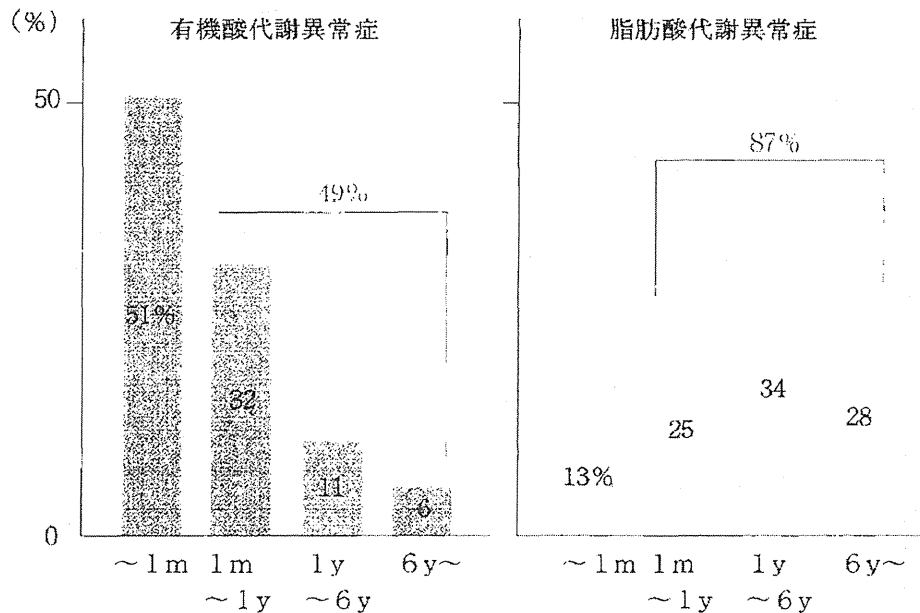


図2 有機酸代謝異常症と脂肪酸代謝異常症の発症時期
島根大学で診断した発症後に診断した症例 (2004年以前)

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

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

表4 マス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

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. 法医学病理 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欠乏症とピオチン欠乏症. 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

タンデムマス・スクリーニングのカットオフ値 (2) —患者データ, 再採血率, 精査率から考える—

花井潤師¹⁾, 吉永美和¹⁾, 高橋広夫¹⁾, 佐々木泰子¹⁾, 野町祥介²⁾, 佐々木純子³⁾, 磯部充久⁴⁾, 石毛信之⁵⁾, 穴澤 昭⁵⁾, 安片恭子⁶⁾, 木下洋子⁷⁾, 山上祐次⁷⁾, 酒本和也⁸⁾, 田崎隆二⁹⁾, 小林弘典¹⁰⁾, 山口清次¹⁰⁾, 重松陽介¹¹⁾

- 1) 札幌市衛生研究所, 2) 札幌市環境局, 3) 公益財団法人岩手県予防医学協会
4) さいたま市健康科学研究センター, 5) 公益財団法人東京都予防医学協会
6) 公益財団法人ちば県民保健予防財団, 7) 公益財団法人神奈川県予防医学協会
8) 財団法人大阪市環境保健協会, 9) 一般財団法人化学及血清療法研究所
10) 島根大学小児科, 11) 福井大学医学部看護学科健康科学

【要 旨】

タンデムマス・スクリーニングのカットオフ値を設定するにあたって、特に、患者群と正常群がオーバーラップまたは近接している指標では、正常値の分布と患児の測定値の関係の確認が重要である。さらに、スクリーニングの再採血率や精査率は、疾患の発見頻度に応じて考慮すべきであり、タンデムマス検査の対象疾患全体として、再採血率は0.5%、精査率は0.05%前後を目安にカットオフ値を設定することが望ましい。

【キーワード】

タンデムマス・スクリーニング, カットオフ値, 正常値, 再採血率, 精査率, 陽性適中率

緒 言

タンデム質量分析器を用いる新生児マス・スクリーニング（以下、タンデムマス・スクリーニング）においては、従来の検査とは異なり、一回の検査で得られる複数の指標により、多種類の疾患について同時に判定を行う必要がある。先に、我々は、厚生労働科学研究の一環として、タンデムマス・スクリーニングを開始している10施設を対象に、測定値の分布を比較した結果

から、カットオフ値は統計学的手法により、施設ごと、疾患ごとに設定することが重要であることを報告した¹⁾。

今回、ろ紙血中アシルカルニチンの測定値について、正常群と患者群の比較を行うとともに、疾患の発見頻度の観点から、カットオフ値を設定する上で考慮すべき重要な知見を得たので報告する。

方 法

(1) 対 象

検討の対象とした疾患は、プロピオン酸血症 (PA)、メチルマロン酸血症 (MMA)、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT) 1欠損症、CPT2欠損症、メチルクロトニルグリシン尿症、複合カルボキシラーゼ欠損症、中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症、極長鎖ア

<連絡先>

花井 潤師
〒003-8505 札幌市白石区菊水9条1丁目
札幌市衛生研究所
Tel:011-841-7672 Fax:011-841-7073
E-mail: junji.hanai@city.sapporo.jp

シルCoA脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症, グルタル酸血症1型 (GA1), 全身性カルニチン欠乏症とした. なお, 患児の測定値は, 研究分担者の重松教授が集約したものを利用した.

ろ紙血中アシルカルニチン値は, 共著者の研究協力施設で, すでにタンデムマス・スクリーニングを開始している10施設の検査データ, 患児データを対象とした. 測定値等は, タンデムマス検査の前処理として, 塩酸-ブタノールによる誘導体化を行う施設 (以下, 誘導体化6施設) と行わない施設 (以下, 非誘導体化4施設) に分類し, 集計した¹⁾. 研究協力施設の再採血率および精査率は既報¹⁾の調査結果を用いた.

フリーカルニチン (C0) 及びアシルカルニチン類は以下の略称を用いた. アセチルカルニチン (C2), プロピオニルカルニチン (C3), ヒドロキシイソバレリルカルニチン (C5-OH), オクタノイルカルニチン (C8), テトラデセノイルカルニチン (C14:1), パルミトイルカルニチン (C16), オクタデカノイルカルニチン (C18), オクタデセノイルカルニチン (C18:1).

(2) 陽性適中率の推定

スクリーニング精度の評価指標として, 陽性適中率 (positive predictive value, PPV) が知られているが, ガラクトース血症スクリーニングにおいて, PPVを指標にした適正な再採血率や精査率を推定する方法が報告されている^{2,3)}.

今回, 先天性甲状腺機能低下症 (以下, クレチン症) スクリーニングをモデル・ケースとし, タンデムマス・スクリーニングの代表的対象疾患について, その発見頻度から, 任意の陽性率に対するPPVを試算した. 通常, クレチン症スクリーニングでは, 再採血率は0.5%~2.0%であり⁴⁾, 発見頻度を2千人に1人とした場合, PPVは2.5~10%に相当する. 同様に, 精査率は0.1%~0.5%であり, PPVは10~50%に相当する. このため, クレチン症スクリーニングと同程度の精度として, PPVが2~10%に相当する再採血率を“適切な再採血率”と仮定し, タンデムマス・スクリーニングの現状を評価した.

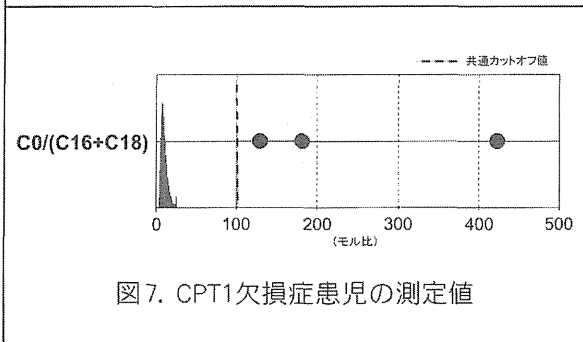
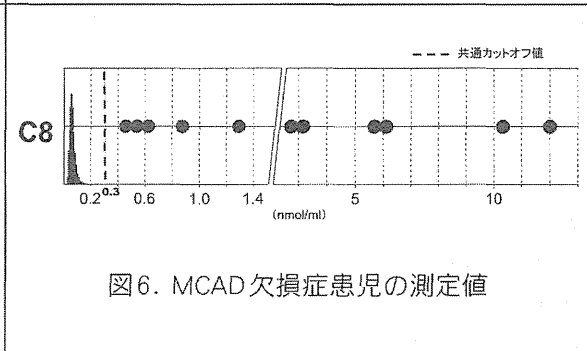
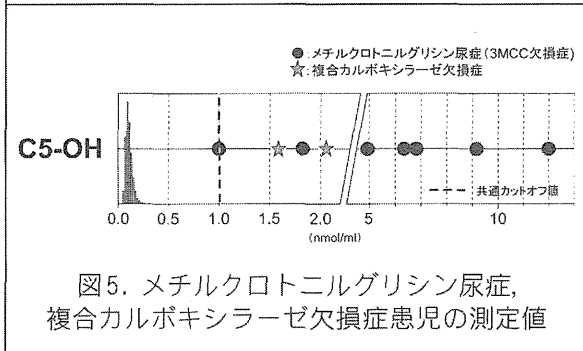
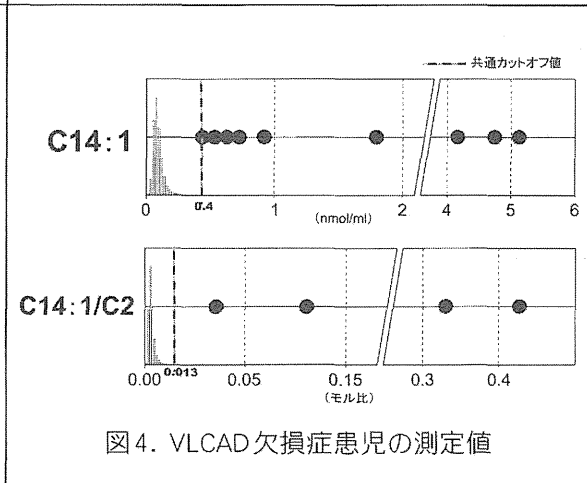
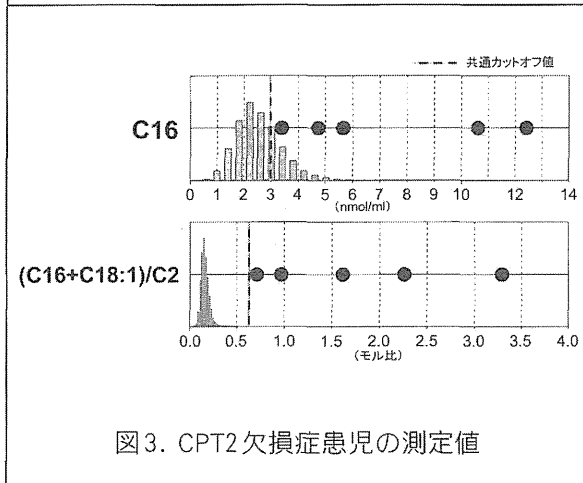
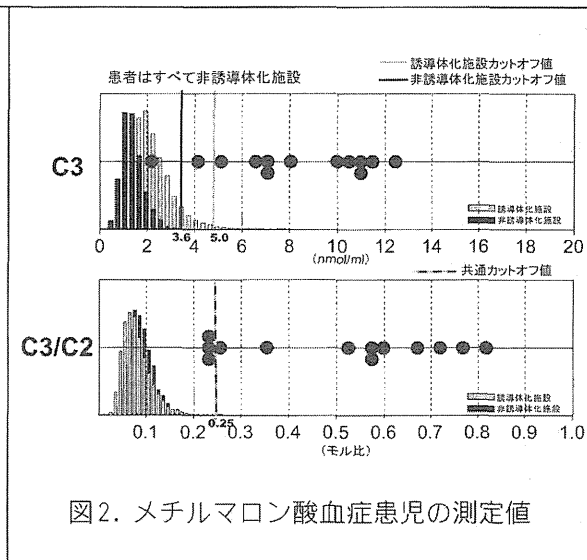
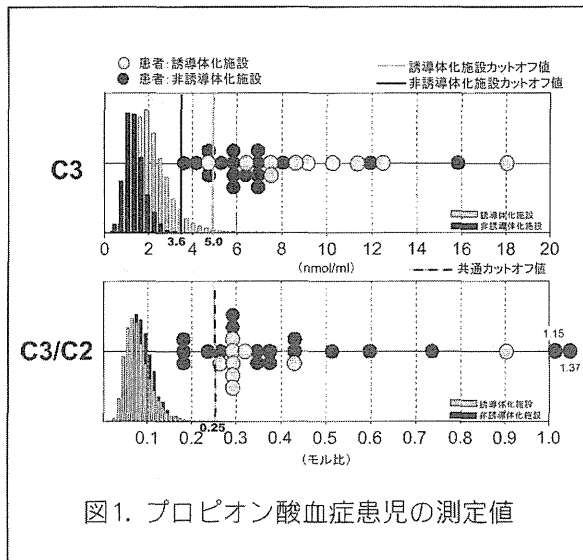
結 果

1. 代謝異常症患児の測定値と正常値の比較

(1) プロピオン酸血症 (PA) : 指標のC3において, 誘導体化施設と非誘導体化施設の正常値の分布の違いから, 誘導体化施設 $5.0\mu\text{M}$, 非誘導体化施設 $3.6\mu\text{M}$ と異なったカットオフ値が用いられている¹⁾. 今回, 患者群のうち, 誘導体化施設でもっともC3低値を示した例の測定値 ($4.64\mu\text{M}$) は, 当該正常群の99%タイル値 ($4.99\mu\text{M}$) 以下に相当しており, 患者群と正常群がオーバーラップしていることが確認された. また, 同様にPAの指標として使用されているC3/C2比においては, すべての対象施設において, 研究班の推奨値0.25がカットオフ値として用いられているが, 患児のうち, C3/C2比が低値 (0.18) を示した症例では, 当該正常群の99.5%タイル値 (0.19) 以下に相当しており, この指標についても患者群と正常群がオーバーラップしていることが確認された (図1). なお, C3/C2比が他の患児に比べ, 低値を示した3症例については, C3は $4.97\sim 8.16\mu\text{M}$ とカットオフ値の $3.6\mu\text{M}$ を上回っていた. そのうち, 2例は同一施設の発見例で, C3/C2比はカットオフ値以下で, C3またはC3/C2比を超える場合, 陽性と判定していた時期の症例であった. また, 他の1例は他疾患で再採血となり検査の過程でC3/C2が上昇し, 精査となった症例であった.

(2) メチルマロン酸血症 (MMA) : 患児はすべて非誘導体化施設での発見例であった. 指標及びカットオフ値としてはPAと共通のものが使用されているが, C3において, 患児1例が非誘導体化施設のカットオフ値を下回っていた. また, C3/C2比において, 患児3例が, 研究班が推奨するカットオフ値 (0.25) よりも低値であったが, これらの患児は, カットオフ値として0.22を使用していたスクリーニング施設 (島根大学小児科) で発見された症例であった (図2). C3/C2比が低値を示した3症例のC3は $2.18\sim 8.01\mu\text{M}$ であり, 1例がカットオフ値を下回っていた.

(3) CPT2欠損症 : 指標のC16が最も低値を示



注1) 図中のヒストグラムは正常群を表しており、横軸は各指標の濃度またはモル比、縦軸は度数(%)を表している。

注2) 図1, 2のヒストグラムは、誘導体化施設: 札幌市 (13,598人) 及び非誘導体化施設: 福井大学 (4,084人) のものを、図3から図7のヒストグラムは、誘導体化施設 (札幌市) の正常群の分布を示した。

注3) 図3から図7の患者については、重松分担研究班の推奨カットオフ値が誘導体化施設、非誘導体化施設で共通なため、区別をしていない。

した患児の測定値 (3.45 μ M) は正常群の90%タイル値 (3.61 μ M) 以下であることが確認された。一方、(C16+C18:1)/C2比では、患者群と正常群は良好に分離されていることが確認された (図3)。

(4) VLCAD欠損症：指標はC14:1が用いられるが、カットオフ値 (0.4 μ M) 付近で発見された患児も確認された。補助指標のC14:1/C2比では、いずれの患児でも、カットオフ値 (0.013) を大きく上回った (図4)。

(5) その他の疾患：メチルクロトニルグリシン尿症及び複合カルボキシラーゼ欠損症におけるC5-OH, MCAD欠損症におけるC8, CPT-1

欠損症におけるC0/(C16+C18)比の3つの指標については、いずれも、患者群と正常群は良好に分離していた (図5~7)。

2. 適正な再採血率・精査率の検討

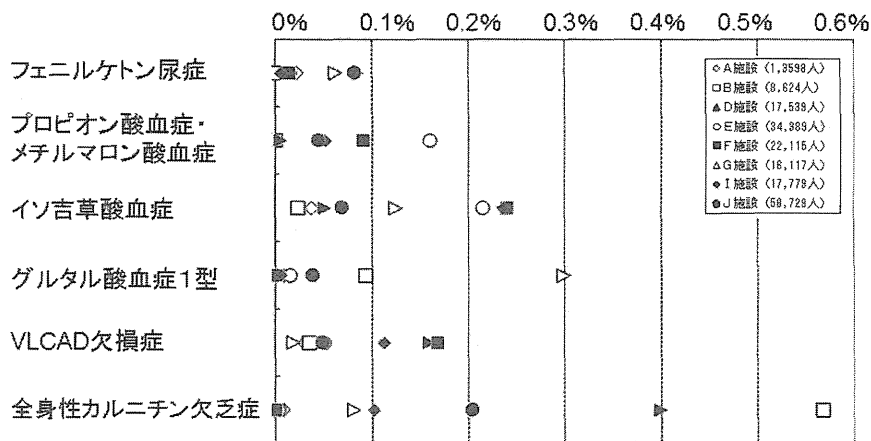
代表的な対象疾患について、実際の発見頻度に近いモデルの頻度を設定し、任意の陽性率に対するPPVを試算し表1にまとめた。

研究協力者の各施設の各疾患ごとの再採血率は、GA1, VLCAD欠損症, 全身性カルニチン欠乏症, イソ吉草酸血症など、発生頻度の低い疾患において、PPVから推定 (発見頻度を20万人に1人と仮定) した適切な再採血率0.005%~0.05%よりも、高い施設が多かった (図8)。ま

表1. 発見頻度と陽性率から推定した陽性適中率

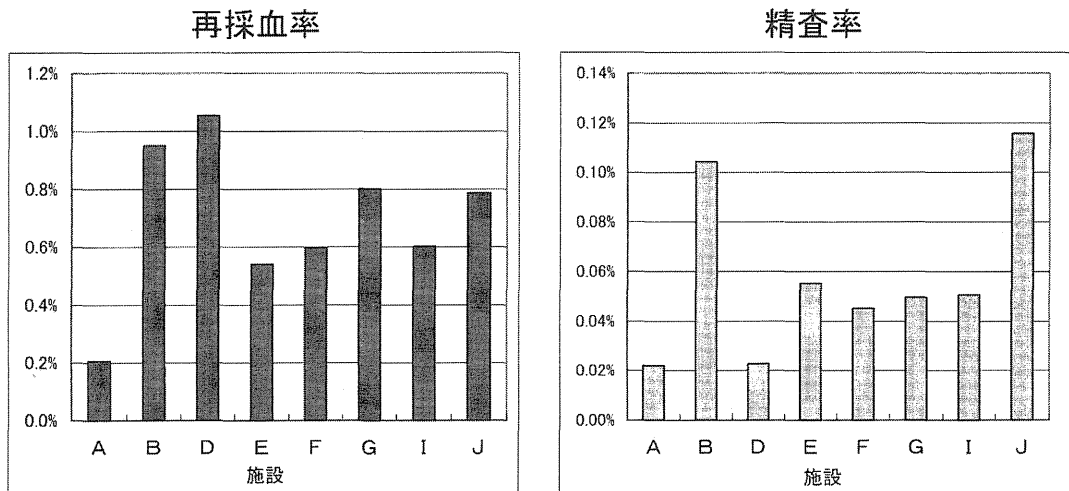
疾患名	発見頻度	B/A	再採血率・精査率												
			0.001%	0.002%	0.005%	0.01%	0.02%	0.05%	0.1%	0.2%	0.5%	1.0%	2.0%	5.0%	
			1	2	5	10	20	50	100	200	500	1000	2000	5000	
	1/1,000	100							100%	50%	20%	10%	5%	2%	
クレチン症	1/2,000	50					100%	50%	25%	10%	5%	2.5%	1%		
	1/5,000	20				100%	40%	20%	10%	4%	2%	1%			
神経芽細胞腫	1/10,000	10			100%	50%	20%	10%	5%	2%	1%				
先天性副腎過形成症	1/20,000	5		100%	50%	25%	10%	5%	2.5%	1%					
プロピオン酸血症	1/50,000	2	100%	40%	20%	10%	4%	2%	1%						
メチルマロン酸血症	1/100,000	1	100%	50%	20%	10%	5%	2%	1%						
グルタル酸血症1型	1/200,000	0.5	50%	25%	10%	5%	2.5%	1%							
イソ吉草酸血症	1/500,000	0.2	20%	10%	4%	2%	1%								
アルギニコハク酸尿症	1/1,000,000	0.1	10%	5%	2%	1%									

A: 10万人あたりの検査で陽性となる人数
B: 10万人あたりの患者数



(参考文献1の表6を図に改変)

図8. 各疾患の施設別の再採血率



(参考文献1の表6を図に改変)

図9. 各施設別の再採血率・精査率 (タンデムマス検査全体として)

た、各施設のタンデムマス・スクリーニング全体の再採血率及び精査率は、再採血率が0.2%~1.1%、精査率が0.02%~0.12%となっていた(図9)。

考 察

これまで、前処理条件、測定機器、内部標準の違いなどにより、各施設の正常値の分布、各指標の陽性率は必ずしも同一の傾向を示さない場合があることを示したが¹⁾、今回、これらの正常値の分布と患児の測定値を比較した。

PAやMMAの指標となるC3及びC3/C2比については、カットオフ値と正常値群の分布が近接しており、それぞれ単独の指標での判定では見逃しの可能性がある。このため、判定にはC3とC3/C2比の2種類の指標を併用する必要性が確認された。これらの疾患については、誘導体化施設と非誘導体化施設とでカットオフ値が異なっていることもあり、特定の施設で再採血率が高い傾向が認められ¹⁾、各施設ごとに適正なカットオフ値の確認が必要であると考えられた。さらに、現時点では、限られた症例ではあるものの、患者であっても、C3やC3/C2比が正常値付近のものが存在しており、今後、症例数を蓄積し、それぞれの指標の感度や特異度をもとに、その有用性を検討すべきと考える。

また、最近、CPT2欠損症では、C16を指標と

して用いた場合、見逃しの可能性があることが報告されたが⁵⁾、今回の検討でも、患児の測定値が正常群の90%タイル値以下である例が認められた。そのため、新たな指標として提案されている(C16+C18:1)/C2比について、患者群と正常群の比較を行ったところ、両群は良好に分離されていることが確認された。同様に、VLCAD欠損症においては、C14:1を指標にした場合、見逃す場合があることが示唆されているが⁶⁾、新たな補助指標のC14:1/C2比では、良好に分離されていることが確認された。

以上のように、特に、正常群と患者群の測定値がオーバーラップまたは近接している指標にあつては、カットオフ値の設定には注意が必要である。また、今後、このような疾患にあつては、患児の測定値の集積と正常群との比較を十分に行う必要がある。

次いで、ガラクトース血症スクリーニングで検討されたPPVを指標にした適正な再採血率や精査率を推定する手法^{2,3)}をもとに、発見頻度に応じた適正な再採血率を推定した。その結果、5万人に1人の疾患(PA)では0.05%前後、10万人に1人の疾患(MMA)では0.02%前後、20万人に1人の疾患(GA1)では0.01%前後であった。このように、タンデムマス・スクリーニング対象疾患の発見頻度に応じて、再採血や精査でのPPVがクレチン症スクリーニングと同程度にな

るようにカットオフ値を設定することで、クレチン症と同様のスクリーニング精度を確保できると考えられた。

研究協力施設の再採血率を見ると、全身性カルニチン欠乏症、イソ吉草酸尿症、VLCAD欠損症については、特定の施設だけが特に高い傾向であった。これらの施設でも精査率は他の施設と同水準である¹⁾ことから、イソ吉草酸尿症については抗生剤の影響が、全身性カルニチン欠乏症とVLCAD欠損症については、カットオフ値または指標の設定が不適切であることが原因と考えられた。

一般に再採血率が比較的高いPAやMMAについては、中でも数か所の施設で特に高い傾向が認められた。また、現在、誘導体化施設と非誘導体化施設のそれぞれに、研究班が推奨するカットオフ値が提案され、使用されているが、今回の結果を見る限りでは、必ずしも、これらが十分に適正なものであるとは言えないと考えられた。そのため、今後、施設ごとの対応が必要になると考えられる。

また、VLCAD欠損症とGA1では、現在、誘導体化施設と非誘導体化施設が共通のカットオフ値を使用しているが、これらをそのまま用いた場合、VLCAD欠損症では誘導体化施設において、GA1では非誘導体化施設において、再採血率が高くなる傾向が確認されており¹⁾、今後、カットオフ値を再検討する必要があると考えられた。

さらに、上記PPVから推定される適正な再採血率や精査率から、タンデムマス・スクリーニングの対象疾患全体としての適切な陽性率を考えると、再採血率は0.5%前後、精査率は0.05%前後であった。この点については、タンデムマスQ&A (2012)⁷⁾においても、「タンデムマス法(一次対象疾患の16疾患全体)の再採血率は0.1%から0.6%であることが望ましい」旨が示されており、これらの陽性率に配慮して、カットオフ値の適正さを確認することが可能と考えられた。

このように、現時点では、施設や疾患によって、再採血率や精査率が高めとなっているのが実情である。しかし、今回の手法を用いること

で、施設ごと、疾患ごとに、陽性率が高くなる原因を推定することが可能であると考えられる。すなわち、再採血率等を適正化するためには、自施設の個々の指標の正常分布を把握した上で、再採血率を他施設と比較することにより、問題点を洗い出すことが重要であり、そのような試行を繰り返すことによって、再採血率の低下と検査の効率化に結びつけることができると考える。

特に、タンデムマス・スクリーニング導入間もない施設では、毎月単位などの短いサイクルでの陽性率の確認を行うほか、自施設の再採血率の適正性について、すでにスクリーニング経験が長い施設からの助言を得ることも有用と思われる。加えて、将来的には、全国の施設の検査状況やカットオフ値、正常値の分布などを一元的に把握し、助言できるような機関の設置が望まれる。

謝 辞

この研究は、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「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」(研究代表者 島根大学小児科教授 山口清次)の助成を受けて実施した。調査にご協力いただいた検査施設等の関係者の方々に深謝いたします。

文 献

- 1) 花井潤師, 野町祥介, 高橋広夫, 他: タンデムマス・スクリーニングのカットオフ値—各指標の施設間差の検討—, 日本マス・スクリーニング学会誌, 22(1), 49-60, 2012.
- 2) 福士 勝: 新生児マススクリーニングにおけるカットオフ値について—ガラクトース血症スクリーニングのカットオフ値の再検証と標準的なカットオフ値の提案—, 平成22年度先天性代謝異常症等検査技術者研修会「新生児スクリーニング対象疾患のカットオフ値を考える」研修テキスト, 社会福祉法人恩賜財団母子愛育会, 東京, 2010, P45-55.

- 3) 福士 勝：ガラクトース血症スクリーニングのカットオフ値の再検証と標準的なカットオフ値に関する考察, 日本マス・スクリーニング学会誌, 20(3), 7-18, 2010.
- 4) 渡辺倫子：先天性甲状腺機能低下症の検査法及び施設間による分布の相違, カットオフ値, 再採血率, 精査率の検証. 平成21年度先天性代謝異常症等検査技術者研修会「新生児スクリーニング対象疾患のカットオフ値を考える」研修テキスト, 社会福祉法人恩賜財団母子愛育会, 東京, 2009, P38-43.
- 5) 重松陽介：タンデムマス診断精度向上・維持, 対象疾患設定に関する研究, 平成23年度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）総括・分担研究報告書, 51-58, 2012.
- 6) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 他：経過中血液ろ紙分析でカットオフ値を下回った極長鎖アシル-CoA脱水素酵素欠損症の2例：血清分析の必要性, 日本マス・スクリーニング学会誌, 19(3), 75-79, 2009.
- 7) 山口清次：タンデムマスの検査精度は？. 新しい新生児マススクリーニング タンデムマスQ&A 2012. 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）, 出雲市, 2012, P14.

受付日：平成25年2月19日

受理日：平成25年4月5日

Cutoff values in neonatal screening by tandem mass spectrometry

-Comparison of acylcarnitines in patients and normal infants, retest rate and confirmatory test rate.

Junji Hanai¹⁾, Miwa Yoshinaga¹⁾, Hiroo Takahashi¹⁾, Taiko Sasaki¹⁾, Shosuke Nomachi²⁾, Junko Sasaki³⁾, Mitsuhiisa Isobe⁴⁾, Nobuyuki Ishige⁵⁾, Akira Anazawa⁵⁾, Kyoko Yasukata⁶⁾, Yoko Kinoshita⁷⁾, Yuji Yamakami⁷⁾, Kazuya Sakemoto⁸⁾, Ryuji Tasaki⁹⁾, Hironori Kobayashi¹⁰⁾, Seiji Yamaguchi¹⁰⁾, Yosuke Shigematsu¹¹⁾

- 1) Sapporo City Institute of Public Health
- 2) Environmental Bureau, City of Sapporo
- 3) Iwate Health Service Association
- 4) Saitama City Institute of Health Science and Research
- 5) Tokyo Health Service Association
- 6) Chiba Foundation for Health Promotion and Disease Prevention
- 7) Kanagawa Health Service Association
- 8) Osaka City Environment and Public Health Association
- 9) The Chemo Sero-Therapeutic Research Institute
- 10) Department of Pediatrics, Shimane University School of Medicine
- 11) Department of Health Science, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui

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¹⁾。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¹⁾。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、メトロニダ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ヶ月であっ

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=メチルグエン酸; 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3HPA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

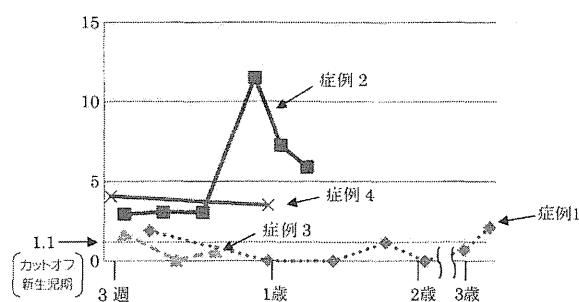


図1. メチルクエン酸 (MC) の推移

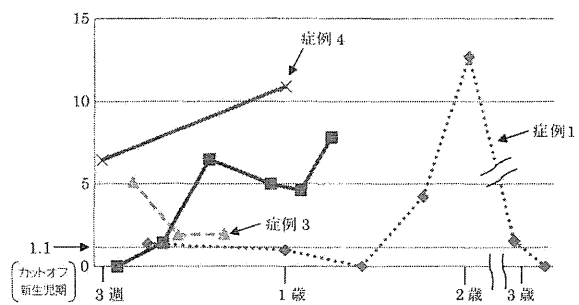


図2. 3ヒドロキシプロピオン酸 (3HPA) の推移

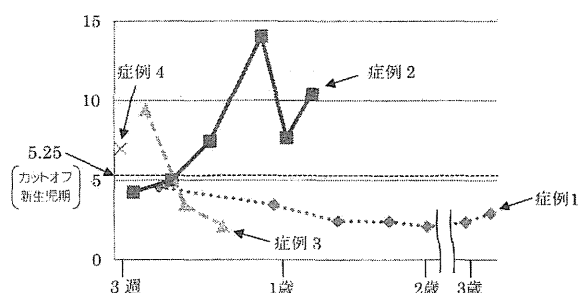


図3. プロピオニルカルニチン (C3) の推移

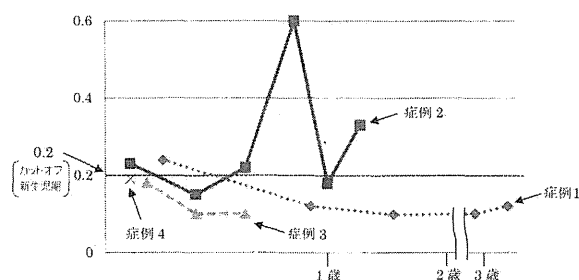


図4. C3/C2の推移

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 $20\mu\text{M}$ 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⁹⁾。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

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)

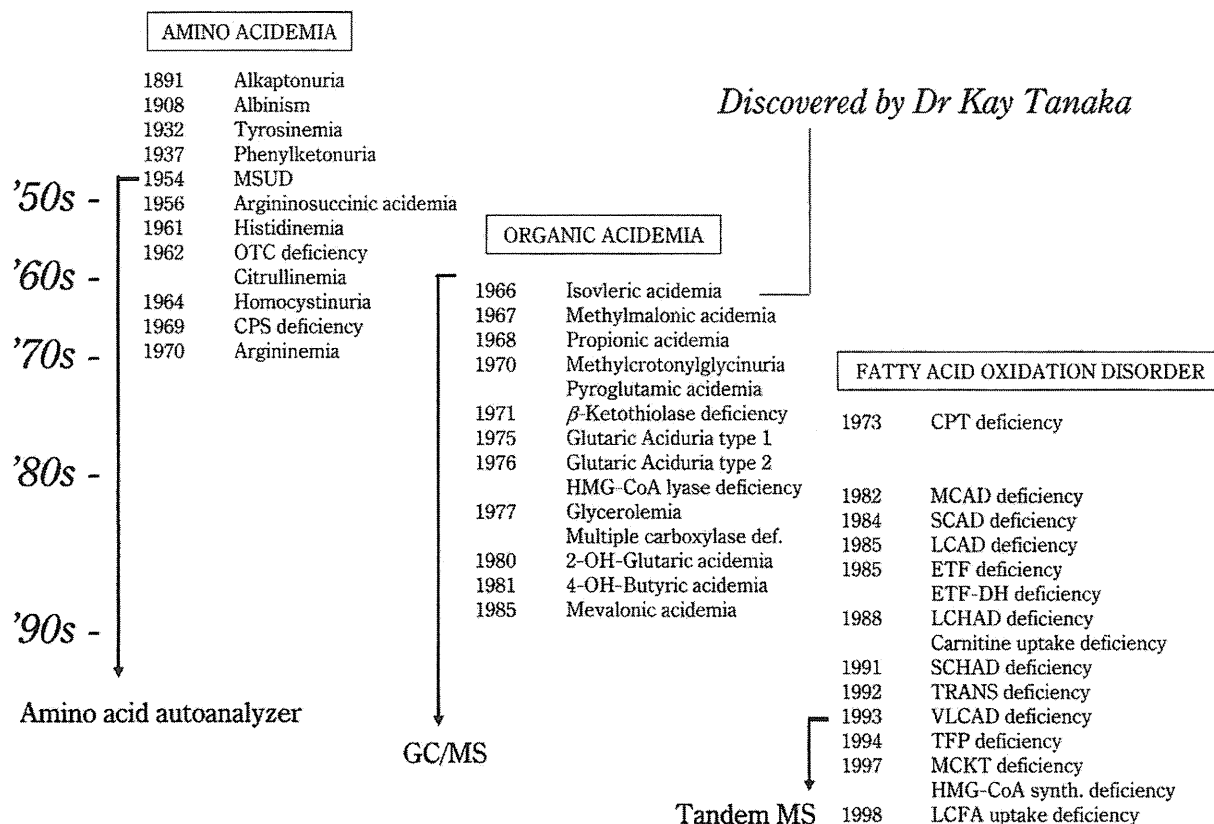


Figure 1 Discovery of amino, organic and fatty acid oxidation disorders.

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¹⁾²⁾。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 によってイソ吉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⁾。