

in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: a world wide collaborative project. *Genet Med*13(3): 230-254, 2011.

7) 久保田一生, 深尾敏幸, 堀 友博: カルニ

チンパルミトイルトランスフェラーゼ2欠損症のろ紙血血清のアシルカルニチンプロファイルの経時的变化. *日本小児科学会雑誌* 115(5): 956-960, 2011.

Newborn screening of CPT II deficiency: impact of the revised screening indexes applied after the experience of an overlooked symptomatic infant.

Keiichi Hara^{1,2)}, Go Tajima¹⁾, Hiroaki Ono³⁾, Miyuki Tsumura¹⁾, Satoshi Okada¹⁾, Nobuo Sakura¹⁾, Ikue Hata⁶⁾, Yosuke Shigematsu⁴⁾

1) Department of Pediatrics, National Hospital Organization Kure Medical Center, 2) Department of Pediatrics, Hiroshima University Graduate School of Biomedical & Health Sciences, 3) Department of Pediatrics, Hiroshima Prefectural Hospital, 4) Nursing House for Severe Motor and Intellectual Disabilities SUZUGAMINE, 5) Department of Pediatrics, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui, 6) Department of Health Science, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui

Jpn J Mass Screening 24: 49-54, 2014

二次検査法と組み合わせて実施するメチルマロン酸血症・プロピオン酸血症のタンデムマス・スクリーニング指標の検討

重松陽介¹⁾, 畑 郁江²⁾, 林 泰平³⁾, 小野浩明⁴⁾, 但馬 剛⁵⁾

1) 福井大学看護学科健康科学, 2) 福井大学医学科小児科学, 3) 福井県立病院小児科, 4) 県立広島病院小児科, 5) 広島大学大学院医歯薬保健学研究院統合健康科学部門小児科学

【要 旨】

メチルマロン酸血症とプロピオン酸血症はタンデムマス・スクリーニングの重要な対象疾患であるが, 病型や重症度によっては精度よくスクリーニングすることが困難であることも知られている. ビタミンB12欠乏症児の新生児濾紙血での分析に基づき, ビタミンB12代謝異常に起因しホモシスチン尿を伴うメチルマロン酸血症をスクリーニングするための指標としてプロピオニルカルニチンのメチオニンに対する比が有用であること, 二次検査として濾紙血中メチルマロン酸濃度を測定する必要があることを指摘した. 軽症型プロピオン酸血症のスクリーニングについては, 二次検査としての濾紙血中3-ヒドロキシプロピオン酸濃度測定が有用であることも指摘した.

日本マス・スクリーニング学会誌 24(1): 49-56, 2014

【キーワード】

コバラミン, 二次検査, メチオニン, ホモシステイン

1. はじめに

わが国におけるタンデムマス・スクリーニング試験研究などで発見された対象疾患患者は約1/9,000新生児の頻度であり, そのうちメチルマロン酸血症とプロピオン酸血症の頻度はそれぞれ約1/110,000, 1/45,000と比較的高く¹⁾, 重要な対象疾患と考えられる. 両者のスクリーニングには通常プロピオニルカルニチン (C3) 濃度やC3のアセチルカルニチン (C2) に対する比などのスクリーニング指標とカットオフ値が用いられているものの, 特にビタミンB12 (コバラミンCbl) 代謝異常に起因するメチルマロン酸血症などに含まれる“遅発型”をスクリーニ

ングするには感度や精度が充分ではなく, これに対応するために, 世界的に初回濾紙血中のメチルマロン酸などの有機酸を分析する二次検査法が開発されて来ている²⁻⁵⁾. しかし, このような二次検査を用いるシステムにおいても, 一次検査でC3値とC3/C2の組み合わせでスクリーニングを行うだけでは, “ホモシスチン尿症を伴うメチルマロン酸血症”を呈するコバラミン代謝異常症 (cblC, cblD, cblF; 図1参照) は, 陽性にならないことがあると報告されている⁶⁾.

プロピオン酸血症のスクリーニングにおいては, わが国では, “極軽症型”の表現型となるPCCB遺伝子のY435C変異⁷⁾の頻度が高く, これまで発見されてきているプロピオン酸血症の多くがこの変異を両アリルか片方のアリルに有する極軽症型の患者である. このため, 二次検査として初回濾紙血中3-ヒドロキシプロピオン酸 (OH-P) 濃度を測定することによりこの極軽症型プロピオン酸血症を化学診断出来れば, 精密検査に向けた家族への説明や治療方針決

受付日:平成26年2月24日 受理日:平成26年4月16日
<連絡先> 重松 陽介
〒910-1193 福井県吉田郡永平寺町松岡下合月23
福井大学医学部看護学科
Tel:0776-61-3111 Fax:0776-61-8563
E-mail:yosuke@u-fukui.ac.jp

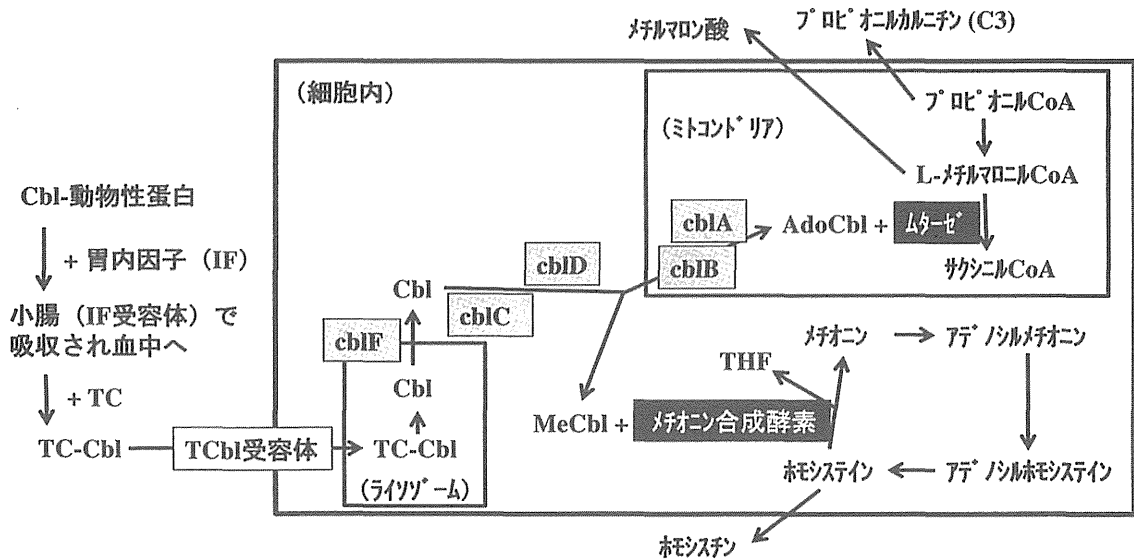


図1. コバラミン (Cbl) の代謝障害とメチルマロン酸血症との関係

CblA～CblF：メチルマロン酸血症を呈するコバラミン代謝障害型とその障害部位，Cbl：コバラミン（ビタミンB12），MeCbl：メチルコバラミン，AdoCbl：アデノシルコバラミン，TC：トランスコバラミン，THF：テトラヒドロ葉酸

定⁹⁾に役立つと考えられる。

今回コバラミン代謝異常症と同様の検査異常を呈するコバラミン欠乏症の新生児期初回濾紙血を分析出来たので、その結果を基に、“ホモシステイン尿症を伴うメチルマロン酸血症”を呈するコバラミン代謝異常症も含めたメチルマロン酸血症とプロピオン酸血症をスクリーニングするシステムについて検討した。

2. 対象と方法

1) 対象と症例

福井大学小児科で実施してきたタンデムマス・スクリーニング試験研究における対象疾患患者でない新生児の一部を健常対照群とした。

コバラミン欠乏症患児は、萎縮性胃炎のためコバラミン欠乏となった母から生まれ、生後も母乳のみによって栄養されたため乳児期に発達遅延などを来し、生後10ヶ月時の尿中メチルマロン酸が155mmol/molCr (<18)、血漿総ホモシステインが83.8nmol/ml (3.7-13.5) と増加し、血中コバラミンは74.0pg/ml (対照値180-914) と減少していたため本症と診断された。母のコバラミン欠乏は患児の診断後に見つかった。患児はタンデムマス・スクリーニングを受検して

おり、現行のC3値とC3/C2比の指標により陰性判定であった。

cblC型メチルマロン酸血症患児は、インドから分析を依頼された患者で、10歳時に急性神経症状を呈して診断され、診断時の濾紙血を検査に供した。

極軽症型プロピオン酸血症患児とは以下の通りである。まず、PCC遺伝子変異が両alleleともY435C変異である患児。次に、それ以外の変異を有しているが、新生児期にカルニチン欠乏がない状態で、血清（血漿）C3濃度が6nmol/ml以下であった患児。これらの患児10例の新生児スクリーニング初回濾紙血（冷凍庫保存）を有機酸分析に供した。極軽症型ではないプロピオン酸血症の内3例では新生児期濾紙血を、7例は診断時の濾紙血を分析に供した。メチルマロン酸血症は、2例で新生児期濾紙血、9例で診断時濾紙血を分析に供した。

2) 新しいスクリーニング指標の検討

ホモシステイン尿症とメチルマロン酸血症を呈するコバラミン代謝異常症ではメチオニン (Met) の低下が見られることから、濾紙血中のC3/Met比などについて、対照新生児 (n=4,084) での分布と、コバラミン欠乏症患児などでの値

などを検討した。

3) 濾紙血中総ホモシステイン (tHcy) 測定

試料調製は Febriani らの HPLC による濾紙血中 tHcy 測定法³⁾ を一部改変して行った。即ち、濾紙血打抜き片 (3mm 径) 1個を小試験管に入れ、メタノール・アセトン・蒸留水 (7:7:2) を 10 μ l 加えて 37°C で 30 分間放置した後、EDTA 液 (2.5mM) 40 μ l と d₄-homocystein (CDN Isotope) 液 (45 μ M) 11 μ l を加えて 10 分間超音波処理した。これに 4mM 濃度の dithioerythritol を含む Tris buffer (0.05M, pH 9.0) を 20 μ l 加え、37°C で 20 分間振盪した。これにメタノール液 110 μ l を加えて攪拌後 96 穴マイクロプレートに移し、タンデムマス・スクリーニング用のメソッドを用いてフローインジェクション・タンデム質量分析 (MS/MS 分析) を行った。MRM 分析の設定は、d₀-homocystein が m/z136.2 \rightarrow 90.0, d₄-homocystein が m/z140.2 \rightarrow 94.0 とし、両者のイオン強度比から tHcy 濃度を算出した。

4) ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) による濾紙血中有機酸分析

濾紙血打抜き片 (3mm 径) 1個を 96 穴マイクロプレートのウエルに入れ、100ng/ml 濃度の d₃-methylmalonic acid (CDN Isotope) と 200ng/ml 濃度の d₆-2-hydroxy-2-methylpropionic acid (CDN Isotope) を含むメタノール溶液 120 μ l を加え、20 分間振盪した。メタノール液は小バイアルに移し、15,000rpm で遠沈し、上清を小試験管に移し、窒素気流下で乾涸した。ここにピリジン 15 μ l と MTBSTFA+1%T-BDMCS (ジーエルサイエンス) 25 μ l を加え、キャップで密栓し 100°C で 30 分間加熱し tBDMS 誘導体とした。GC/MS は DSQ GC/MS (サーモフィッシャーサイエンティフィック) で、内径 0.2mm, 長さ 25m の HP-

ULTRA1 キャピラリーカラム (Agilent) を使用し、50°C から 180°C まで 20°C/分、220°C まで 10°C/分、更に 300°C まで 20°C/分で昇温分析した。測定対象物質 tBDMS 誘導体の [M-57]⁺ イオンをモニターする SIM 分析を行った。

3. 結果

表 1 に健常対照新生児及び患児の測定指標と測定値を示した。また、C3/Met 比と Met 値の分布及びコバラミン欠乏症患児の値は図 2 に示した。C3/Met 比の平均値 +5SD は 0.25 であった。

コバラミン欠乏症の新生児期濾紙血 C3 濃度は 2.53nmol/ml であり、メチルマロン酸血症スクリーニングのカットオフ値より低い値であったが、濾紙血メチルマロン酸濃度は、メチルマロニルCo-A ムターゼ欠損症患者での濃度と比べると低いものの、対照新生児と比べ明確に上昇していた。また、Met 濃度は -2.6SD に低下し、C3/Met 比は +7.3SD に上昇していた。cbIC 型患児の濾紙血 C3 濃度はカットオフ値に対して充分高く、Met 濃度は -2.7SD に低下し、C3/Met 比は +52.5SD に上昇し、メチルマロン酸濃度も高値であった。

新生児濾紙血中 tHcy 濃度は、健常対照新生児で 5.6-8.8nmol/ml であったのに対して、コバラミン欠乏症患児で軽度上昇、cbIC 型患児では著しい高値であった。

新生児期濾紙血中 OH-P 濃度は図 3 に示した。対照新生児 (21 例) で 3.3 \pm 1.2nmol/ml (1.6-6.5)、軽症型プロピオン酸血症患児 (10 例) で 13.0 \pm 4.2 (8.5-20.9) nmol/ml、軽症以外のプロピオン酸血症患児 (11 例) で 155.4 \pm 184.0 (41.8-678) nmol/ml、メチルマロン酸血症患児 (11 例) で 47.2 \pm 82.5 (4.1-283) nmol/ml であった。この測

表 1. スクリーニング指標の濾紙血中濃度 (nmol/ml)

	C3	C3/Met	Met	MMA	tHcy
コバラミン欠乏症患児 (新生児期)	2.53	0.289	8.7	2.9	11.3
CblC 型患児 (発症時)	10.3	1.60	6.4	50.4	42.7
健常対照新生児 (n=4,084)	1.36 \pm 0.46 [#]	0.077 \pm 0.029 [#]	18.2 \pm 4.4 [#]	0.34 \pm 0.11 [#]	7.1 \pm 0.8 [#]

: 平均 \pm 標準偏差

C3 : プロピオニルカルニチン, Met : メチオニン, MMA : メチルマロン酸, tHcy : 総ホモシステイン

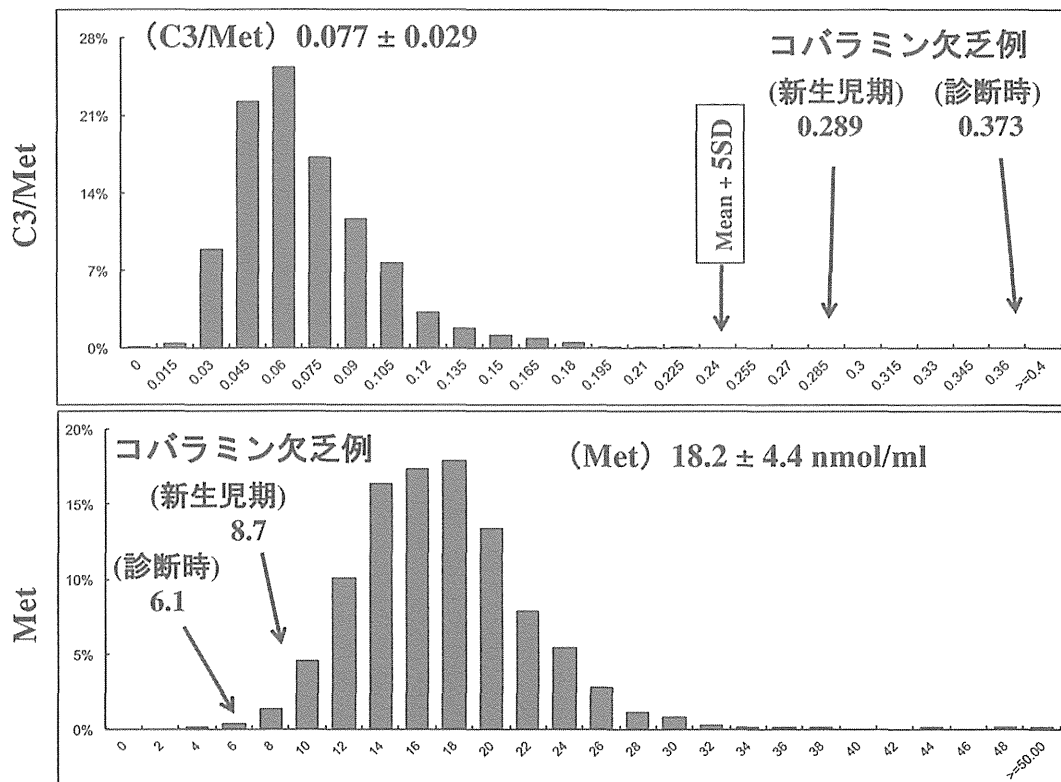


図2. タンデムマス・スクリーニングでのメチオニン (Met) とそのプロピオニルカルニチン (C3) に対する比 (C3/Met) の健康新生児 (n=4,084) での分布 (福井大学)
 C3: プロピオニルカルニチン, Met: メチオニン
 指標の分布は平均値±標準偏差
 横軸は測定値, 縦軸は頻度を示す.

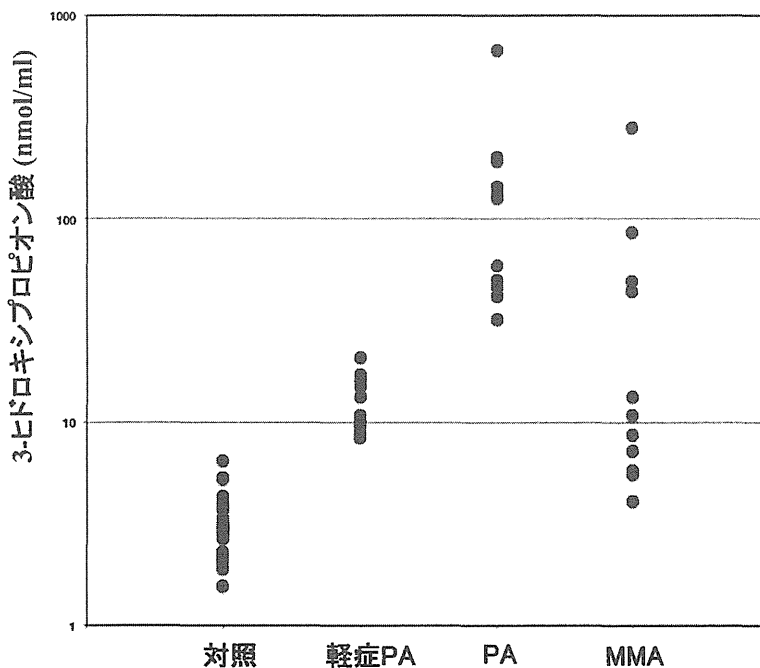
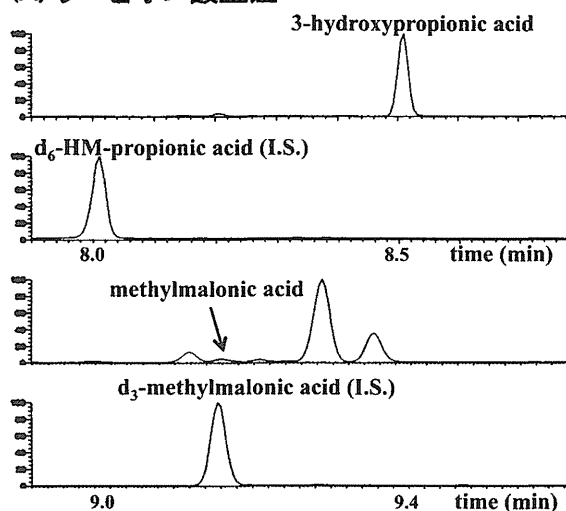


図3. 極軽症型プロピオン酸血症 (軽症PA) とメチルマロン酸血症 (MMA) の濾紙血中3-ヒドロキシプロピオン酸濃度

(A) プロピオン酸血症



(B) メチルマロン酸血症

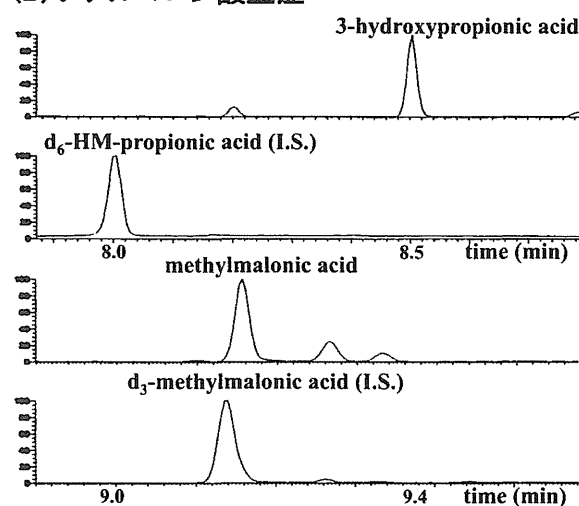


図4. GC/MSによる濾紙血中有機酸分析
I.S.: 内部標準 (詳細は本文方法を参照)

定におけるマスキンググラムを図4に示した。

4. 考察

メチルマロン酸血症のうち、メチルマロニルCoAムターゼ欠損症は新生児期発症の重症例が多く、タンデムマス・スクリーニング試験研究発見例においても新生児期・乳児期の死亡例が存在する一方、コバラミン代謝障害に起因するメチルマロン酸血症はコバラミン治療により良好な成長発達が得られている¹¹⁾。このコバラミン代謝障害型の中でも、メチルコバラミン(MeCbl)の産生減少によりメチオニン合成酵素活性が低下しメチオニン及びテトラヒドロ葉酸産生が障害される型(cblC, cblD, cblF; 図1参照)は、“ホモシスチン尿を伴うメチルマロン酸血症”として知られているが、濾紙血中C3濃度が充分高くなりタンデムマス・スクリーニングで陽性にならないことが報告されている⁶⁾。この報告では、しかしながら、型別診断についての記述がない。

cblC型については、米国ニューヨーク州でのタンデムマス・スクリーニングの報告¹⁰⁾がある。C3のカットオフ値5nmol/mlを基本とし、C3/C2(カットオフ値0.20)、メチオニン(カットオフ値13.4nmol/ml [正常: 13.4-83.7nmol/ml])を追加判定基準としているが、C3, C2の健常新

生児での分布は示されていない。この報告でのMet値は、福井大学の分布(図2)と比べると、少なくとも2倍高い値であると判断される。約100万新生児の中から10例のcblC型患児が発見されており、C3は5.36~14.74nmol/mlであった。C3/Metは記述されていないが、計算してみると0.54から1.59に分布していた。Metの分布が福井大学での測定値に比べ2倍程度高いと想定され、福井大学での測定値に換算するとC3/Metは更に高い値になると思われる。ただ、見逃し例があったかどうかは触れられておらず、cblDとcblFの症例は発見されなかったと記述されている。

cblF型については、タンデムマス・スクリーニングでC3の上昇はわずか(C3: 5.73nmol/ml [カットオフ値: 5.5nmol/ml], C3/C2: 0.27 [カットオフ値: 0.20])であったという報告がある¹¹⁾。この報告においてもcblC型での報告同様、健常新生児でのC3の分布が示されていないため、そのC3値を福井大学のカットオフ値を基準にして充分高い値と判断することは出来ない。メチオニン値については記述されていない。

今回診断したコバラミン欠乏症患者のC3値は、現行のメチルマロン酸血症スクリーニングのカットオフ値を大きく下回っていたものの、C3/Met比は健常対照新生児の分布の平均値

+5SDを越えており、充分高い値と考えられた。また、報告されているcblC型患児のC3/Met比¹⁰⁾も、Met値の違いを考慮した場合、福井大学での分布の平均値+5SDとくらべ充分高い値であろう。今回10歳時に診断したcblC型患児の発症時濾紙血分析でもC3やC3/Met比は高値を示しており、cblC型の典型例は現状の指標であるC3とそのカットオフ値でスクリーニング出来るようである。

ただし、尿中メチルマロン酸排泄量がコバラミン欠乏児のものと類似している遅発型症例¹¹⁾も報告されており、新生児スクリーニングにおいてcblC型が全て陽性であったのかどうかはまだ確認出来ていないと思われる。本邦での型不明の“ホモシスチン尿を伴うメチルマロン酸血症”¹²⁾についても、cblF型で報告されていたような検査値異常の軽微な例、あるいは遅発例であったのかどうかの確認が必要である。

以上から、C3/Met比（カットオフ値：平均値+5SD）は“ホモシスチン尿を伴うメチルマロン酸血症”のスクリーニングにおいて充分鋭敏な指標と判断される。この指標を使うとコバラ

ミン欠乏症もスクリーニングされてくることになるが、精密検査時に血中コバラミン濃度を測定することにより鑑別診断出来る。どちらも放置すると重篤な神経症状を呈するので、新生児期に診断しコバラミンで治療することの意義は大きい。

そこで、メチルマロン酸血症とプロピオン酸血症のスクリーニングについては、図5のようなC3/Met比を採用し、初回濾紙血を用いた二次検査を実施するスクリーニング手順を提唱したい。

C3のカットオフ値は、現在のタンデムマス・スクリーニングでのカットオフ値より下げてあるが、濾紙血中C3は測定誤差が大きいという経験を踏まえて、偽陰性をなくそうとする仮想的な数字であり、今後の検討課題である。このカットオフ値（平均値+3.6SD）を採用すると約1%の新生児で二次検査が必要になる。

C3値にかかわらず、C3/Met比のカットオフ値（平均値+5SD）による判定も行うことで、“ホモシスチン尿を伴うメチルマロン酸血症”も拾い上げることができる。今回の症例のデー

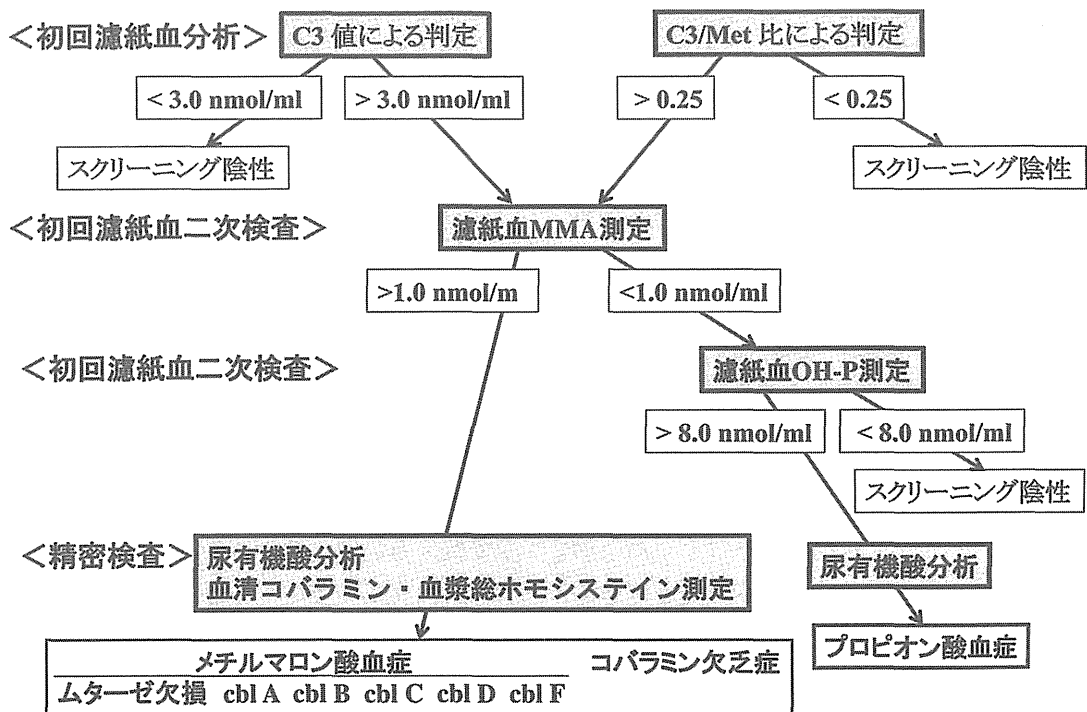


図5. メチルマロン酸血症とプロピオン酸血症のスクリーニング手順案

タから判断すると、Metが減少していることも判定条件にすると陽性率が下げられると考えられるが、Met値が低くなくてC3/Metが高いという場合はC3が高いので、C3値による判定で陽性となってしまう。

両方で陽性判定を行い、二次検査として初回濾紙血を用いてメチルマロン酸濃度を測定する。メチルマロン酸濃度が上昇していればメチルマロン酸血症の精密検査に進む。メチルマロン酸が上昇していない場合は、濾紙血OH-Pを測定し、上昇していればプロピオン酸血症の精密検査へと進む。

この二次検査法として、LC-MS/MSによるメチルマロン酸、OH-P、tHcyの同時測定法¹³⁾も開発されており、tHcyを測定すると対象疾患を絞った精密検査への手順がさらに簡明になると考えられる。今回、tHcy測定の簡便法としてLC分離をせずに測定する方法を試みたが、健常新生児での値が報告されている値と比べるとやや高い値に分布していた。おそらくは非特異的なバックグラウンドノイズを含めて測定していると推察され、コバラミン欠乏症新生児でもtHcyの軽度増加が判定出来たものの、報告されているようなLC-MS/MS法での測定を行う方がよいと考えられた。

プロピオン酸血症のスクリーニングとしては、C3のカットオフ値3.0nmol/mlはかなり低い値であり、“軽症型プロピオン酸血症”患児のほぼ全てを拾い上げることになる。カルニチン欠乏がなければ、この型のプロピオン酸血症新生児のC3はおよそ3.0~6.0nmol/mlの範囲になる。この時の濾紙血OH-P値は図3に示したように8.5-20.9nmol/mlに分布し、健常新生児や軽症型以外のプロピオン酸血症患児の値と区別出来るようである。同胞検索で診断された“軽症型プロピオン酸血症”患児は無症状であり、またこれまで試験研究で診断された“軽症型プロピオン酸血症”患児も、一部のおそらくは偶発合併症としての発達遅延症状を伴う症例¹⁴⁾以外では、食事療法無しで無症状に経過していることから、二次検査でOH-P値が“軽症型プロピオン酸血症”患児の範囲にあれば、敢えて精密検査対象

としないという選択もあり得る。今後の検討が必要な課題である。

[文 献]

- 1) 重松陽介：新生児タンデムマス・スクリーニングの全国的導入の意義. 日本小児科学会雑誌. 117: 1728-1736, 2013.
- 2) Lindner M, Ho S, Kölker S, Abdoh G, Hoffmann GF, Burgard P. Newborn screening for methylmalonic acidurias - Optimization by statistical parameter combination. *J Inherit Metab Dis.* 31: 379-852, 2008.
- 3) la Marca G, Malvagia S, Filippi L, et al. Rapid assay of topiramate in dried blood spots by a new liquid chromatography-tandem mass spectrometric method. *J Pharm Biomed Anal.* 15: 1392-1396, 2008.
- 4) Matern D, Tortorelli S, Oglesbee D, Gavrilov D, Rinaldo P. Reduction of the false-positive rate in newborn screening by implementation of MS/MS-based second-tier tests: the Mayo Clinic experience (2004-2007). *J Inherit Metab Dis.* 30: 585-592, 2007.
- 5) Shigematsu Y, Hata I, Tajima G: Useful second-tier tests in expanded newborn screening of isovaleric academia and methylmalonic aciduria. *J Inherit Metab Dis* 33: S283-288, 2010.
- 6) 青木久美子, 吉田一郎, 猪口隆洋, 他：タンデムマス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.
- 7) Yorifuji T, Kawai M, Muroi J, 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.
- 8) 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.
- 9) Febriani AD, Sakamoto A, Ono H, et al. Determination of total homocysteine in dried blood spots using high performance liquid chromatography for homocystinuria newborn screening. *Pediatr Int.* 46: 5-9, 2004.
- 10) Weisfeld-Adams JD, Morrissey MA, Kirmse BM, et al. Newborn screening and early biochemical follow-up in combined methylmalonic aciduria and homocystinuria, cblC type, and utility of methionine as a secondary screening analyte. *Mol Genet Metab.* 99: 116-23, 2010.
- 11) Armour CM, Brebner A, Watkins D, Geraghty MT, Chan A, Rosenblatt DS. A patient with an inborn error of vitamin B12 metabolism (cblF) detected by newborn screening. *Pediatrics.* 132: e257-261, 2013.
- 12) Turgeon CT, Magera MJ, Cuthbert CD, et al. Determination of total homocysteine, methylmalonic acid, and 2-methylcitric acid in dried blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 56: 1686-1695, 2010.
- 13) Wang X1, Sun W, Yang Y, et al. A clinical and gene analysis of late-onset combined methylmalonic aciduria and homocystinuria, cblC type, in China. *J Neurol Sci.* 318: 155-159, 2012.
- 14) 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 (分担研究報告書). 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」/平成22年度総括・分担研究報告書. 49-57, 2011.

Evaluation of screening markers for methylmalonic acidemia and propionic acidemia in newborn screening by tandem mass spectrometry combined with second-tier tests

Yosuke Shigematsu¹⁾, Ikue Hata²⁾, Taihei Hayashi³⁾, Hiroaki Ono⁴⁾, Go Tajima⁵⁾

1) Department of Health Science, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui, 2) Department of Pediatrics, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui, 3) Department of Pediatrics, Fukui Prefectural Hospital, 4) Department of Pediatrics, Hiroshima Prefectural Hospital, 5) Department of Pediatrics, Hiroshima University Graduate School of Biomedical & Health Sciences

J Jap Soc Mass-screening 24: 49-56, 2014

先天代謝異常症

はた いく え *1 しげまつ ようすけ *2
畑 郁江 *1 重松 陽介 *2

要旨

新生児期のけいれんの原因疾患として先天代謝異常症の頻度は低いが、未診断例もあると思われる。新生児期発症例は一般的な治療に抵抗性で、病状が急速に進行する重症例が多い。異常代謝産物の蓄積や細胞機能の維持に必要な物質の欠乏、急性発症時の低血糖や高アンモニア血症などによって神経症状が出現する。低血糖、高アンモニア血症、代謝性アシドーシスを伴う疾患では、急性期の血液・尿を用いてアシルカルニチン分析や有機酸分析を行うことにより、化学診断が可能である。一般的な検査では異常を認めない疾患も多いが、随伴症状や脳画像所見などにも注意し、先天代謝異常症を常に念頭におきながら鑑別診断を進めることが重要である。

はじめに

先天代謝異常症において中枢神経症状をきたす疾患は多く、けいれんの精査から診断に至る例も少なくない。一方、新生児期にみられるけいれんのほとんどは、低酸素性虚血性脳症、頭蓋内出血、脳梗塞、感染症、奇形などが原因であり、先天代謝異常症によるものは数%以下といわれている¹⁾。

先天代謝異常症によるけいれんは、通常の抗けいれん薬などによる治療には抵抗性のことが多いが、疾患特異的な治療が行われることによって改善が得られるものもある。しかし、適切な対応が行われなければ重篤な後遺症や死亡につながる場合もある。したがって、新生児期発症の原因不明の難治性けいれんでは、先天代謝異常症の可能性を考慮して鑑別診断を行う必

要がある。

先天代謝異常症では、障害されている代謝経路によって異なる病態・臨床症状を呈し、けいれんをきたす機序もさまざまである²⁾³⁾。疾患に特異的な異常代謝産物の蓄積や細胞機能の維持に必要な物質の欠乏によって慢性的に神経障害をきたす場合や、急性増悪時の低血糖や高アンモニア血症によって神経症状をきたす場合が多い⁴⁾。

本稿においては、新生児期にけいれんをきたし得る先天代謝異常症について、低血糖、高アンモニア血症、代謝性アシドーシスの有無によって表1, 2のように区別し、その疾患の診断の手がかりとなる特徴的所見を中心に概説する⁵⁾⁶⁾。

I 低血糖，高アンモニア血症， 代謝性アシドーシスを伴う 疾患⁷⁾⁸⁾

表1に挙げた疾患では、飢餓や感染症罹患な

*1 福井大学医学部小児科

〒910-1193 福井県吉田郡永平寺町松岡下合月 23-3

*2 同看護学科健康科学

表1 低血糖, 高アンモニア血症, 代謝性アシドーシスを伴う疾患

疾患群	疾患名	血糖	NH ₃	乳酸	NBS*	特徴的所見
アミノ酸代謝異常	メープルシロップ尿症	↓			○	血中アロイソロイシンの出現
	オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症		↑↑			尿中オロト酸増加
	カルバモイルリン酸合成酵素Ⅰ欠損症		↑↑			尿中オロト酸増加なし
	シトルリン血症 (アルギニノコハク酸合成酵素欠損症)		↑			尿中オロト酸増加
	アルギニノコハク酸尿症		↑			尿中オロト酸増加
	N-アセチルグルタミン酸合成酵素欠損症		↑↑			尿中オロト酸増加なし
	グルタミン酸脱水素酵素異常症	↓	↑			高インスリン血症
有機酸代謝異常	プロピオン酸血症	↓	↑	↑	○	足の蒸れたような体臭
	メチルマロン酸血症	↓	↑	↑	○	
	イソ吉草酸血症	↓	↑	↑	○	
	3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸血症	↓	↑	↑	○	
	3-メチルクロトニルグリニン尿症	↓	↑	↑	○	
	マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	↓	↑	↑	○	
脂肪酸代謝異常	カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼⅠ欠損症	↓	↑		○	高インスリン血症 特異顔貌, 多発性嚢胞腎, 足の蒸れたような体臭
	カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼⅡ欠損症	↓	↑		○	
	カルニチン/アシルカルニチントランスロカーゼ欠損症	↓	↑		○	
	極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症	↓	↑		○	
	ミトコンドリア三頭酵素欠損症	↓	↑		○	
	中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症	↓	↑		○	
	3-ヒドロキシアシル CoA 脱水素酵素欠損症	↓	↑		○	
	グルタル酸血症Ⅱ型	↓	↑	↑		
糖代謝異常	糖原病Ⅰ型	↓		↑		肝障害, 高脂血症, 高尿酸血症
	フルクトース-1, 6-ビスホスファターゼ欠損症	↓	↑	↑		尿中グリセロール-3-リン酸増加
	ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ欠損症	↓	↑	↑		
ミトコンドリア代謝異常	ピルビン酸脱水素酵素複合体欠損症			↑		L/P 比正常 (10 前後), 小頭症, 脳室拡大
	ピルビン酸カルボキシラーゼ欠損症	↓	↑	↑		L/P 比上昇
	α-ケトグルタル酸脱水素酵素複合体欠損症			↑		L/P 比上昇
	フマラーゼ欠損症		↑	↑		脳室拡大, 脳奇形
	ミトコンドリア呼吸鎖複合体Ⅰ~Ⅳ欠損症		↑	↑		L/P 比上昇

*NBS: 新生児マススクリーニング対象疾患

どを契機に急性増悪をきたすことが多く, その際に低血糖, 高アンモニア血症, 代謝性アシドーシスなどのうちいくつかの異常が認められる。これらの検査値異常を認めた場合には, 表3のような検査を行うことにより診断が可能である。新生児期に発症する症例は重症型であるた

め迅速に鑑別診断を進めていくと同時に, 可能性のある疾患を考慮した治療を開始していくことが必要である。また, 急性期を乗り切って安定期になると異常代謝産物の検出が困難となることもあるので, 急性発症時の検体を採取し, 凍結保存しておくことが非常に重要である。

表2 その他の疾患

疾患群	疾患名	けいれん以外の症状, 所見
アミノ酸代謝異常	非ケトーシス型高グリシン血症	呼吸障害, 意識障害, 筋緊張低下, 脳梁欠損, 小頭症, 小脳低形成
	セリン欠乏症	発達遅延, 小頭症, 髄鞘化不全, 白質欠損
ライソゾーム病	Gaucher 病II型 マルチプルスルファターゼ欠損症 シアリドーシス ガラクトシアリドーシス	肝脾腫, 特異顔貌, 骨格異常, 魚鱗癬, 浮腫, 腹水, 筋緊張低下, 胎児水腫
	Farber 病	肝脾腫, 関節炎
	神経セロイドリポフスチン病	呼吸障害, 小頭症
ペルオキシソーム病	Zellweger 症候群 新生児型副腎白質ジストロフィー ペルオキシソームβ酸化酵素欠損症	筋緊張変容, 特異顔貌, 眼科的異常, 肝腫大, 肝機能障害, 腎皮質嚢胞, 関節石灰化, 重度発達遅延, 脳室拡大, 髄鞘化障害, 脳回形成異常, 脳梁低形成
金属代謝異常	モリブデン補酵素欠損症 亜硫酸酸化酵素欠損症	筋緊張低下, 痙性四肢麻痺, 発達遅延, 特異顔貌, 脱髄, 脳室拡大, 脳萎縮
ビタミン代謝異常	メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素欠損症	水頭症, 小頭症, 発達遅延
	α-アミノアジピン酸セミアルデヒド脱水素酵素欠損症 (ピリドキシン依存性けいれん)	仮死出生, 虚血性脳症様症状, 母体に悪心・嘔吐・突発性有痛性胎動
	ピリドキシン (ピリドキサミン) 5'-リン酸オキシダーゼ欠損症 (ピリドキシン不応性けいれん)	早期産児, 虚血性脳症様症状, 母体に悪心・嘔吐・突発性有痛性胎動

表3 低血糖, 高アンモニア血症, 代謝性アシドーシスの鑑別のために行うべき検査

血液	血算, CRP, 肝トランスアミナーゼを含む一般生化学検査 インスリン, GH, コルチゾール, FT4, TSH 遊離脂肪酸, ケトン体分画 乳酸, ビルビン酸 アミノ酸分析 血清・濾紙血アシルカルニチン分析 (タンデムマス法)
尿	一般検尿 (ケトン体) 有機酸分析 (GC/MS 法) オロト酸 (高アンモニア血症の鑑別)
確定診断	酵素活性測定 (末梢血白血球, 皮膚線維芽細胞など) 遺伝子解析

※血液, 尿ともに, 可能な限り有症状時の検体で検査を行う。

1. アミノ酸代謝異常⁹⁾

メープルシロップ尿症は, 分岐鎖アミノ酸 (BCAA) (ロイシン, イソロイシン, バリン) に由来する分岐鎖ケト酸 (BCKA) の先天的代謝障害による疾患であり, 血中 BCAA, BCKA

の増加により中枢神経障害をきたす。古典型では, 新生児期に哺乳力低下, 嘔吐, 意識障害, けいれんなどで発症し, ケトアシドーシスや低血糖を伴いやすい。新生児マススクリーニング対象疾患であり, 血中 BCAA 高値が指摘され

る。血中アミノ酸分析，尿有機酸分析を行い，アロイソロイシンを含むBCAA，BCKAの増加により化学診断される。

尿素サイクル異常症は，アミノ酸の代謝によって生じたアンモニアを肝臓において尿素に転換する代謝経路に関わる酵素の欠損による疾患である。著明な高アンモニア血症をきたして中枢神経障害がもたらされ，けいれんや意識障害などが認められる。新生児期発症例では，初発時に血中アンモニア値が $1,000 \mu\text{g}/\text{dL}$ を超す著明な高値となることもあり，速やかに高アンモニア血症が改善しても，重度の中枢神経系後遺症を残すことが多い。各疾患に特徴的な血中・尿中アミノ酸の上昇や低下を認めれば診断可能であるが，安定期には正常範囲内にとどまることもある。尿有機酸分析におけるオロト酸，ウラシルの増加は診断に有用であるが，カルバモイルリン酸合成酵素I欠損症，N-アセチルグルタミン酸合成酵素欠損症ではこれらは増加しない。

グルタミン酸脱水素酵素異常症は，新生児期～乳児期に，高インスリン血性低血糖症と高アンモニア血症を呈して発症する疾患である。本疾患におけるけいれんなど中枢神経症状の主な原因は低血糖であるといわれているが，他の代謝疾患による低血糖と異なり，低血糖時にも血中インスリンは測定可能で，ケトン体は低値であり，有機酸分析やアシルカルニチン分析では異常がない。血糖の維持には比較的少量のブドウ糖の投与を必要とするが，ジアゾキサイドが著効する。高アンモニア血症がみられる病態は明らかでないが，通常はアンモニアの上昇は比較的軽度であり，症状はみられないとされている。

2. 有機酸代謝異常⁹⁾

アミノ酸の代謝過程で生じる中間代謝産物が有機酸である。この代謝に関わる酵素や補酵素の異常によって，有機酸が体内に蓄積し中枢神経をはじめとする臓器障害をきたす疾患が有機

酸代謝異常症である。代謝産物の蓄積によって細胞機能の低下，エネルギー産生低下などが起こり，症状が出現する。重症型では，生後数日頃より哺乳不良，活気低下，嘔吐，けいれん，意識障害などで急性発症する。検査所見としては，アニオンギャップの増大を伴う代謝性アシドーシス，ケトーシス，高乳酸血症，高アンモニア血症がみられる。低血糖や肝機能障害，汎血球減少症などがみられることもある。イソ吉草酸血症では特有の足の蒸れたような体臭が診断の一助となり得る。これらの有機酸代謝異常症は，尿有機酸分析，濾紙血または血清アシルカルニチン分析により，疾患に特徴的な物質の増加を認めることで化学診断される。

3. 脂肪酸代謝異常⁹⁾

脂肪酸は，飢餓などで糖質からのエネルギーが不足する場合に，とくに心筋，骨格筋でのエネルギー源として重要である。中性脂肪などに由来する長鎖脂肪酸は，カルニチン回路によりミトコンドリア内に入ると， β 酸化を受けてATPやアセチルCoAが産生される。脂肪酸代謝異常症では，これらの代謝経路に関わる酵素の異常によって脂肪酸の利用が低下し，また蓄積したアシルCoAなどの抑制作用により，エネルギー産生や糖新生が障害される。新生児期発症型では，生後早期より低ケトン性低血糖症を伴って急速に状態が悪化し，けいれんを認めることもある。比較的軽度の代謝性アシドーシス，高アンモニア血症，肝トランスアミナーゼ上昇，CK上昇なども認められる。新生児期発症の極長鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症やグルタル酸血症II型では，心筋症，不整脈，肝腫大，筋緊張低下などの重篤な症状が進行し，治療にもかかわらず生後早期に死亡することが多い。3-ヒドロキシアシルCoA脱水素酵素欠損症では，高インスリン血性低血糖症を認めることが特徴的である。これらの脂肪酸代謝異常症は，血中アシルカルニチン分析により化学診断される。

4. 糖代謝異常

糖原病は、グリコーゲン代謝に関わる酵素の異常による疾患であり、そのうち肝型糖原病では、空腹時にグリコーゲンからの糖の供給が不足し低血糖をきたす。低血糖の程度は症例によりさまざまであるが、I型では他の型にくらべて重度のことが多い。新生児期から乳児期早期には、通常は頻回に授乳が行われるため低血糖をきたすことは比較的少ないが、感染症罹患など何らかの理由で長時間の飢餓状態にさらされると、低血糖によるけいれん、意識障害などをきたすことがある。肝トランスアミナーゼ上昇、高脂血症、高乳酸血症、高尿酸血症もみられる。乳児期以降に、肝腫大、成長障害がみられる。

フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ (FBPase) 欠損症およびホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ欠損症は、いずれもアミノ酸やピルビン酸を経由するグルコース産生が障害されている疾患である。飢餓時にグリコーゲンが消費されると、低血糖、代謝性アシドーシス、高乳酸血症などをきたす。新生児期にけいれん、意識障害、多呼吸、肝腫大などを呈して発症することが多い。肝機能障害、高アンモニア血症を伴うこともある。FBPase 欠損症では、急性発症時の尿有機酸分析において、グリセロール-3-リン酸の増加がみられる。また、FBPase 欠損症患者では、グリセロール代謝も障害されており、これを投与すると急性発症するため、けいれんや意識障害時のグリセロール[®]の投与、グリセリン浣腸は禁忌である。

5. ミトコンドリア代謝異常

ピルビン酸脱水素酵素複合体 (PDHC) では、クエン酸回路から電子伝達系による ATP 産生が低下し、組織の細胞機能障害による症状を呈する。重症例では、新生児期にけいれん、意識障害、多呼吸、嘔吐などがみられ、小頭症や脳室拡大などを伴うこともある。検査では、著明な乳酸アシドーシスを呈するが、乳酸値とピル

ビン酸値の比 (L/P 比) は正常 (10 前後) であることが特徴である。

ピルビン酸カルボキシラーゼ欠損症では、ピルビン酸からオキサロ酢酸への代謝の障害により、ミトコンドリア内での糖新生が障害され、また、クエン酸回路、リンゴ酸回路、尿素サイクルへの中間代謝産物供給の低下により、これらの回路も障害される。新生児発症例では、けいれんなどの中枢神経症状、低血糖、高乳酸血症、高アンモニア血症などを認めている。尿有機酸分析においてクエン酸回路の中間代謝産物増加、血中アミノ酸分析においてアラニン、プロリン、シトルリン、リジンなどの上昇がみられる。

α -ケトグルタル酸脱水素酵素複合体 (KGDC) の構成成分であるリポアミド脱水素酵素は、KGDC に加え、前述の PDHC、メープルシロップ尿症の欠損酵素である分岐ケト酸脱水素酵素複合体に共通する構成酵素であるため、これら 3 酵素の酵素活性が低下し、出生後早期より中枢神経症状を呈する。尿中有機酸分析での α -ケト酸の増加、L/P 比上昇、血中ケトン体上昇 (β ヒドロキシ酪酸/アセト酢酸比低下) などが化学診断指標となる。

フマラーゼ欠損症は、クエン酸回路の構成酵素の欠損によりエネルギー産生障害をきたす疾患である。胎生期からの細胞内エネルギー産生障害によると考えられる脳室拡大、脳奇形を呈し、けいれん、発達遅滞を認める。尿中有機酸分析でフマル酸の排泄増多がみられ、高乳酸血症や高アンモニア血症を認めることもある。

ミトコンドリア呼吸鎖複合体欠損症は、ATP 供給の異常によりさまざまな臓器障害による多彩な症状を呈する疾患である。新生児ミトコンドリア病では、けいれんを認めることもあるが比較的頻度は少なく、低体重、筋緊張低下、無呼吸、心筋障害といった症状が主体である。このような症例では、核遺伝子の異常が原因であることが多いとされている。L/P 比高値 (20

以上)が特徴的で、高アンモニア血症、肝機能異常、高CK血症などを認めることもある。脳MRIおよびMRSなどの画像所見も診断の一助となる。

II その他の疾患

表2に挙げた疾患では、異常物質の細胞内への蓄積や細胞機能の発現に重要な物質の欠乏などによって神経障害がもたらされる。新生児期より発症するものは最重症例が多く、胎児期よりすでに病態が進行し、出生時より顔貌異常や脳形成異常などを伴っていることがある。一般的検査では特異的な異常所見を認めないことが多く、診断のためには特殊検査による異常物質の検出、酵素診断、さらには遺伝子解析などが必要となる。いずれもまれな疾患であり、有効な治療が確立していないものが多いが、治療可能な疾患もあるため診断の努力が必要である。

1. アミノ酸代謝異常

非ケトーシス型高グリシン血症は、グリシン開裂酵素系の欠損によりグリシンが蓄積し、さまざまな中枢神経症状が出現する疾患である。新生児型は、生後数日以内にけいれん、呼吸障害、意識障害などで発症し、重篤な神経障害を遺す。脳梁欠損、小頭症、小脳低形成などの脳形成異常の合併が多い。血中・髄液中アミノ酸分析にて、グリシン濃度上昇、髄液/血清グリシン比上昇が認められる。新生児型と診断された症例の中で、生後約2週間以降に検査値異常や症状が軽快するものが存在し、新生児一過性高グリシン血症とよばれるが、自然軽快する病態は不明である。

セリン欠乏症は、3-ホスホグリセリン酸脱水素酵素など3つの酵素からなるセリン生合成系の先天的機能低下による疾患で、神経細胞の機能や増殖に重要な栄養素であるセリンの欠乏により中枢神経障害をきたす。生後間もなくより難治性けいれん、発達遅滞、小頭症などを呈す

る。血中(早朝空腹時)、髄液中アミノ酸分析でセリン濃度の低値を認める。

2. ライソゾーム病¹⁰⁾

ライソゾームは、細胞内外からもたらされた化合物の分解を行う細胞内小器官である。分解にかかわる酵素の一つが欠損することにより、疾患に特異的な基質が蓄積し、細胞の機能障害をきたすのがライソゾーム病である。ライソゾーム病では、一般的に出生時には正常であるが、基質の蓄積に伴って徐々に神経症状や肝脾腫、骨病変などが進行する。Gaucher病Ⅱ型、マルチプルスルファターゼ欠損症、シアリドーシス、ガラクトシアリドーシス、Farber病などの重症型においては、新生児期にけいれん、筋緊張低下などの中枢神経症状がみられることがあるが、肝脾腫、浮腫、腹水などを主に呈して急速に進行し、早期に死亡する。胎児水腫や顔貌異常、骨格異常などを呈することもある。疾患特異的な物質の尿中排泄増加、白血球や皮膚線維芽細胞などを用いた酵素活性測定により診断される。

神経セロイドリポフスチン病は、神経細胞などのライソゾーム内にリポフスチン顆粒が蓄積する神経変性疾患である。発症年齢や臨床症状によって多くの病型に分類されているが、先天型では、出生後早期よりけいれん、呼吸障害、小頭症などを呈し、生後数週間以内に死亡する。頭部MRIで大脳、小脳、尾状核・被殻の萎縮、脳室周囲のT2高信号、視床・被殻の低信号などの特徴的所見が認められることがある。

3. ペルオキシソーム病

ペルオキシソームは、脂質を中心とした代謝に重要な役割を果たしている細胞内小器官であり、その機能異常により神経症状などを呈する。

Zellweger症候群(ZS)と新生児型副腎白質ジストロフィー(NALD)は、ペルオキシソーム形成異常症とよばれ、PEX遺伝子(タンパクのペルオキシソームへの局在や膜の生合成にかかわる)の異常により、本来ペルオキシソ-

ムに局在すべきである多くのタンパクの機能異常をきたす疾患である。筋緊張低下、特異顔貌（前額突出、鼻根部平坦、内眼角贅皮、眼間解離、小顎など）、眼科的異常（白内障、緑内障、角膜混濁、網膜色素変性など）、肝腫大、肝機能障害、腎皮質嚢胞、関節の石灰化、哺乳障害、けいれん、発達遅滞などの症状が進行する。頭部CT、MRIにて、脳室拡大、髄鞘化障害、脳回形成異常などが認められる。ZSでは、症状が進行して生後数カ月で死亡することが多いが、NALDはZSより軽症で幼児期までの生存がみられる。

ペルオキシソーム β 酸化酵素欠損症は、ミトコンドリアとは異なる β 酸化系酵素の欠損により、ペルオキシソームにおける脂肪酸代謝に異常をきたす疾患であり、本邦ではアシルCoA酸化酵素欠損症、二頭酵素欠損症の症例報告がある。新生児期より筋緊張低下、けいれんなどを呈しZSやNALDと類似した臨床経過をとり、乳幼児期に死亡する。

これらのペルオキシソーム病は、血中極長鎖脂肪酸の蓄積を確認することにより、化学診断できる。

4. 金属代謝異常

モリブデン補酵素欠損症、亜硫酸酸化酵素欠損症は、含硫アミノ酸（メチオニン、システイン）の終末代謝産物である亜硫酸の代謝障害による疾患で、蓄積する亜硫酸、含硫アミノ酸により重篤な中枢神経障害をきたす。モリブデン補酵素は、亜硫酸酸化酵素などの補因子であるため両疾患は同様の臨床経過を示す。出生後間もなくより、難治性けいれん、哺乳困難、筋緊張の変容、痙性四肢麻痺、特異顔貌（長い顔、ふっくらした頬）などが認められ、その後に重度発達遅延、成長障害、水晶体脱臼などを呈し、予後不良である。頭部CT、MRIなどでは、低酸素性虚血性脳症に類似した白質の菲薄化、脳室拡大、脳萎縮、脱髄などの所見を認める。尿中亜硫酸塩が市販の簡易試験紙にて検出される

が、出生後早期には偽陰性となりやすく、採尿後に放置された検体でも偽陰性となるため注意が必要である。血中・尿中アミノ酸分析にてタウリンなど含硫アミノ酸の増加がみられる。モリブデン補酵素欠損症では、血中・尿中尿酸の低下、尿中キサンチン・ヒポキサンチンの上昇が認められることで鑑別が可能である。

5. ビタミン代謝異常

メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素欠損症は、先天性の葉酸代謝異常症の中でもっとも高頻度にみられ、神経障害を主体とする疾患である。重症度には幅があるが、新生児期よりけいれん、無呼吸、筋緊張低下、水頭症などをきたして死亡した報告もみられる。血中アミノ酸分析にてホモシステイン上昇、メチオニン低下を示す。

α -アミノアジピン酸セミアルデヒド脱水素酵素欠損症は、抗けいれん薬に抵抗性の難治性けいれんを認め、ビタミンB₆の一つであるピリドキシンの投与によって改善がみられる疾患で、ピリドキシン依存性けいれんとよばれる。また、ピリドキシン（ピリドキサミン）5'-リン酸オキシダーゼ欠損症も、抗けいれん薬抵抗性のけいれんをきたす疾患であるが、ピリドキシンは無効であり、活性型ビタミンB₆であるピリドキサリリン酸のみが有効であるため、ピリドキシン不応性けいれんとよばれる。これら2疾患の解説に関しては、本特集の別項に譲る。

おわりに

先天代謝異常症は頻度が低く認知度が低いことから、未診断のままとなっている症例も少なくないと考えられる。新生児期のけいれんの診療にあたって、とくに一般的な治療で改善が得られない症例では、先天代謝異常症を念頭におき、診断の手がかりとなる所見を見逃さずに鑑別診断を行っていくことが重要である。

文献

- 1) Vasudevan C et al : Epidemiology and aetiology of neonatal seizures. Semin Fetal Neonatal Med 2013 ; 18 : 185-191
- 2) Van Hove JLK et al : Metabolic and monogenic causes of seizures in neonates and young infants. Mol Genet Metab 2011 ; 104 : 214-230
- 3) Wolf NI et al : Epilepsy and inborn errors of metabolism in children. J Inherit Metab Dis 2009 ; 32 : 609-617
- 4) 難波栄二 : 成長障害, 精神遅滞, 神経学的異常を伴うてんかん. 五十嵐隆 (編) ; 見逃せない先天代謝異常, 中山書店, 2010 : 30-32
- 5) 遠藤文夫 (編) : 先天代謝異常ハンドブック, 中山書店, 2013
- 6) 遠藤文夫 (編) : 先天代謝異常症候群 (第2版) 上・下, 日本臨床社, 2012
- 7) 依藤 亨 : 低血糖. 小児内科 2010 ; 42 : 1088-1092
- 8) 村山 圭 : 高アンモニア血症. 小児科診療 2013 ; 76 : 59-64
- 9) 重松陽介ほか : タンデムマス・スクリーニング. 小児科診療 2013 ; 76 : 85-91
- 10) 衛藤義勝 (編) : ライソゾーム病, 診断と治療社, 2011

お知らせ

若手医師育成のためのサマーセミナー @NCCHD
—プライマリケアを中心に—

会 期 : 2014年8月1日(金)2日(土)
場 所 : 成育医療研究センター講堂
対 象 : 小児医療に興味ある若手医師
主 催 : 独立行政法人国立成育医療研究センター
後 援 : 公益財団法人日本小児科学会
コーディネーター : 石黒 精, 平岩 幹男
参 加 費 : 10,000円(2日間)
募集人数 : 200名(先着順)
受付期間 : 4月1日(火)~7月15日(火)
申込方法 : 事前申込

申込事項を記入し下記 E-mail に送付

振込先銀行 : 三菱東京 UFJ 銀行/東京公務部

預金種目 : 普通預金

口座番号 : 0021547

口座名 : 独立行政法人国立成育医療研究センター

理事長 五十嵐 隆

振込者を特定するため, 振込時に氏名の前に 0801 と記入してください

事務局 : 独立行政法人国立成育医療研究センター 教育研修部

〒157-8535 東京都世田谷区大蔵2丁目10-1

TEL 03-3416-0181 (代表)

E-mail : ncchd_seminar@ncchd.go.jp

ホームページ : <http://www.ncchd.go.jp>



Sapropterin Is Safe and Effective in Patients less than 4-Years-Old with BH₄-Responsive Phenylalanine Hydroxylase Deficiency

Haruo Shintaku, MD, PhD¹, and Toshihiro Ohura, MD, PhD²

Objective To assess the safety and efficacy of tetrahydrobiopterin therapy with sapropterin to treat tetrahydrobiopterin (BH₄)-responsive phenylalanine hydroxylase (PAH) deficiency in children aged <4 years compared with those aged ≥4 years.

Study design We analyzed a longitudinal follow-up study conducted in all patients with BH₄-responsive PAH deficiency throughout Japan. At the end of 2011, 43 patients were receiving sapropterin, of whom 21 were aged <4 years at the initiation of treatment. The starting dose of sapropterin was ≥10 mg/kg/day in 11 of these 21 patients. The duration of follow-up was ≥4 years in 6 of those 11 patients; 3 of these 6 were followed for ≥10 years. Nine patients were receiving sapropterin monotherapy at the end of 2011.

Results Serum phenylalanine level was maintained within the recommended optimal control range in all 21 patients who started sapropterin treatment before age 4 years. Only 1 nonserious adverse drug reaction occurred, an elevated alanine aminotransferase level in 1 patient. No significant abnormal behavior related to nerve disorders was reported.

Conclusion Sapropterin therapy initiated before age 4 years was effective in maintaining serum phenylalanine level within the favorable range and was safe in Japanese patients with BH₄-responsive PAH deficiency. (*J Pediatr* 2014;165:1241-4).

Based on clinical trial data, sapropterin dihydrochloride, a tetrahydrobiopterin (BH₄) drug, has been approved for the treatment of BH₄-responsive phenylalanine hydroxylase (PAH) deficiency in patients aged ≥4 years in the US. Since the drug's approval, however, many patients aged <4 years have been treated with sapropterin. In Japan, sapropterin dihydrochloride granules 2.5% (Biopten, Daiichi Sankyo, Japan) was approved in 1992 for treatment of BH₄ deficiency and in 2008 for treatment of BH₄-responsive PAH deficiency.

We previously reported the safety and efficacy of long-term (16 years) treatment with sapropterin in BH₄-deficient patients who started treatment before age 4 years based on postmarketing surveillance in Japan.¹ Here we report on the long-term safety and efficacy of sapropterin in patients with BH₄-responsive PAH deficiency who started treatment before age 4 years.

Methods

At the end of 2011, 43 patients in Japan were receiving BH₄ therapy with sapropterin, 21 of whom were aged <4 years at the start of treatment. Only 1 patient aged ≥4 years was hospitalized. One child aged <4 years and 6 children aged ≥4 years had a BH₄-responsive sibling. All patients had undergone neonatal phenylketonuria screening and pteridine analysis, along with a dihydropteridine reductase assay that identified them as not BH₄-deficient.²

The present postmarketing surveillance study was conducted in 21 medical centers in Japan between 1995 and 2011. During this period, serum phenylalanine (Phe) concentrations were measured using an automated amino acid analyzer (L-8800; Hitachi, Tokyo, Japan), and serum pteridine concentrations were measured by high-performance liquid chromatography (LC-10; Shimadzu, Kyoto, Japan) after iodine oxidation. Dihydropteridine reductase activity was measured using Guthrie card specimens, as described previously.²

A 1-week loading test (20 mg/kg/day in 2 doses for 7 consecutive days) was performed to evaluate BH₄ responsiveness. A 30% decrease in Phe level was defined as BH₄-responsive hyperphenylalaninemia.

Results

The clinical characteristics of the study patients and serum Phe levels before sapropterin treatment are presented in Table I. The study cohort comprised 21

From the ¹Department of Pediatrics, Osaka City University School of Medicine, Osaka, Japan; and ²Department of Pediatrics, Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan

Supported by the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan (grant 14427732 to H.S. to produce the manuscript). H.S. received the data of postmarketing surveillance of Biopten for BH₄-responsive hyperphenylalaninemia. H.S. and T.O. received consultant, travel, and lecture fees from Daiichi Sankyo. The authors declare no conflict of interest.

Portions of the study were presented as a poster at International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Barcelona, Spain, September 4, 2013.

0022-3476/\$ - see front matter. Copyright © 2014 Elsevier Inc. All rights reserved.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.08.003>

BH ₄	Tetrahydrobiopterin
PAH	Phenylalanine hydroxylase
Phe	Phenylalanine

Table I. Patient characteristics, serum Phe level before BH₄ treatment, and BH₄ duration and dose

Characteristics	Age at administration	
	<4.0 y	≥4.0 y
Sex, n		
Male	10	12
Female	11	10
Age as of December 2011, y, n		
<1	1	0
1 to <4	9	0
4 to <10	8	9
10 to <16	2	12
>16	1	1
Age at administration, y, n		
<1	8	0
1 to <4	13	0
4 to <10	0	18
10 to <16	0	3
>16	0	1
Complications, n		
No	17	15
Yes	4	7
BH ₄ combined with diet therapy (at the end of 2011)		
No	9	10
Yes	12	12
Treatment duration, y, n		
<1	2	3
1-3	13	18
4-6	1	0
7-10	2	0
>10	3	1
BH ₄ dose, mg/kg, n		
<5	2 (3)*	2 (3)*
5 to <10	8 (7)*	11 (11)*
10 to <15	8 (7)*	5 (6)*
15 to <20	1 (3)*	3 (1)*
≥20	2 (1)*	1 (1)*
Serum Phe level before BH ₄ treatment, μmol/L, mean ± SD (range)		
Mass screening (at 5 d after birth)	472.1 ± 149.5 (224.2-818.1)	667.8 ± 282.4 (242.4-1187.3)
First visit (at hospital visit for thorough checkup)	479.3 ± 214.0 (169.7-981.8)	673.0 ± 521.5 (66.7-2230.3)
Initial investigation (before BH ₄ -loading test)	280.0 ± 146.8 (78.8-757.6)	420.7 ± 272.0 (161.2-1266.7)

*Number of patients at initiation (at the end of 2011).

patients in whom treatment was initiated at age <4 years. The duration of treatment was ≥4 years in 6 of the 21 patients, ≥10 years in 3 of those 6 patients, and >16 years in 1 of the latter 3 patients.

Serum Phe levels were reduced in response to 3 different BH₄-loading tests. The average reduction in serum Phe level was 42.2% in the single-loading test, 42.0% in the 4-times loading test, and 55.4% in the 1-week loading test, with respective cutoff values of 20%, 30%, and 50%.³ Based on these data, all 21 patients were diagnosed with BH₄-responsive PAH deficiency (Figure 1).

Phe level according to age at the end of 2011 are shown in Figure 2, in all patients and by age at treatment initiation (<4 years or ≥4 years). In 11 of the 21 patients who started sapropterin therapy before age 4 years, the initial dose was >10 mg/kg day (Table I). The duration of follow-up was >4 years in 6 of these 11 patients, and >10 years in 3 of the latter 6 patients (Table I). At the end

of the study period, 9 of the 21 patients were receiving sapropterin monotherapy.

After 4 years of age all patients were treated with sapropterin. Serum Phe levels were maintained within a favorable range in both groups, with no significant difference between the groups (Figure 2). Serum Phe levels were maintained within a favorable range in the 21 patients who started treatment before age 4 years, but were variable (ranging from too low to too high) in the 22 patients who did so after age 4 years (Figure 2). However, there was no significant difference in mean Phe concentration before BH₄ therapy between the 2 age groups.

All patients responded to sapropterin treatment, showing reductions in serum Phe levels to within the recommended optimal control range. Among the 43 patients, 19 were treated with only sapropterin and 24 were treated with sapropterin plus diet therapy. The mean serum Phe levels was 368.4 μmol/L in the patients who received sapropterin monotherapy and 362.4 μmol/L in those who received sapropterin with diet therapy, a statistically nonsignificant difference ($P = .10$).

Examination of electroencephalograms performed in 7 patients revealed no abnormalities, and brain magnetic resonance imaging showed an abnormality in only 1 of 8 patients. Adverse events are reported in Table II. Only 1 nonserious adverse drug reaction occurred, a mild increase in alanine aminotransferase level that improved without the need to stop sapropterin therapy. All 21 patients have since developed normally, and all of those who have reached school age are now attending normal schools.

Discussion

Patients with BH₄-responsive PAH deficiency, many of whom carry the *R241C* allele, respond to BH₄ administration. Although no clear correlation was seen between the reduced serum Phe levels in the BH₄-loading tests and *PAH* gene mutations, at least 1 mild phenylketonuria mutation or missense mutation was found in patients with BH₄-responsive PAH deficiency.³

Notably, the duration of treatment was ≥4 years in 6 of the 21 patients, ≥10 years in 3 of those 6 patients, and >16 years in 1 of these latter 3 patients (who was treated for hyperphenylalaninemia without BH₄ deficiency). This study represents a unique long-term follow-up of patients with BH₄-responsive PAH deficiency. BH₄-responsive PAH deficiency was first reported by Kure et al⁴ in 1999. All 43 patients with BH₄-responsive PAH deficiency in Japan have been treated with BH₄ therapy. Sapropterin was approved for treating BH₄ deficiency in 1992 in Japan.

Our findings show that the control of serum Phe level in patients with BH₄-responsive PAH deficiency is more even and effective when sapropterin treatment is initiated before age 4 years (Figure 2), although there was no significant difference in mean Phe level between the 2 age groups. In the patients who started treatment at age ≥4 years,

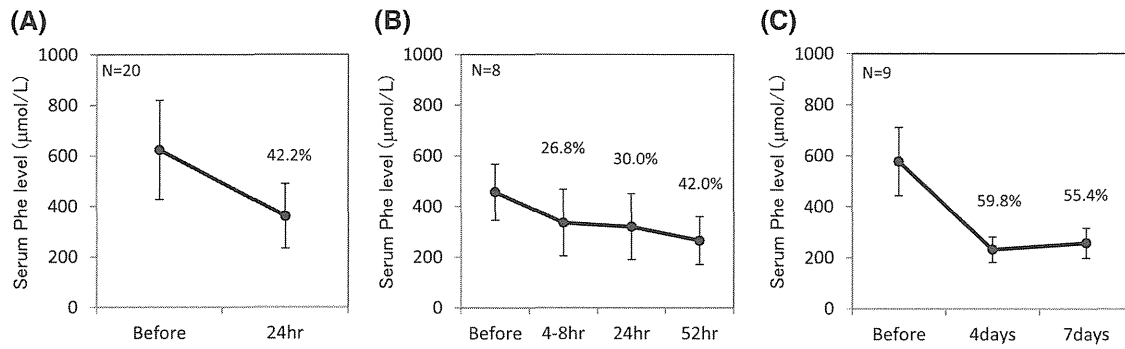


Figure 1. Serum Phe levels and response to BH₄-loading tests. **A**, Single loading test (cutoff, 20%). **B**, Four-times loading test (cutoff, 30%). **C**, One-week administration test (cutoff, 50%).

Phe levels varied more outside of the optimal range (Figure 2). Furthermore, during their first 4 years of life, it appears that Phe levels were better controlled within the optimal range by sapropterin therapy than by diet therapy, which can lower Phe levels to an excessive degree (Figure 2). At the end of this study, 19 of the 43 patients with BH₄-responsive PAH deficiency were treated with sapropterin monotherapy (Table I), and there was no significant difference in Phe level between the group treated with sapropterin monotherapy and the group treated with sapropterin plus diet therapy.

Sapropterin therapy is safe in this patient population, which is reassuring because treatment of BH₄-responsive PAH deficiency requires lifetime administration. Of the 21 patients who started treatment before age 4 years, 8 were aged <1 year, and treatment proved safe and effective in these children. No adverse side effects were reported, and there was no drug-related discontinuation of treatment.

Our safety results are supported by recent reports of sapropterin therapy in 147 patients with BH₄-responsive PAH deficiency with up to 12 years of follow-up in Europe that

showed no severe adverse events; only 3 patients experienced adverse events, all of which disappeared when the dose was lowered.⁵ Leuret et al⁶ evaluated 15 patients under age 4 years who received sapropterin therapy and concluded, in agreement with our findings, that BH₄ therapy is efficient and safe before age 4 years in patients with BH₄-responsive PAH deficiency.

In the US, sapropterin was approved in 2007, and thus there is only 6 years of safety data on the use of this drug. In addition, the clinical trials for drug approval were conducted in children aged ≥4 years. Thus, the results of our study, with the longest follow-up reported to date, provide important assurance that long-term treatment with sapropterin is safe and effective in patients with BH₄-responsive PAH deficiency. ■

Submitted for publication Apr 5, 2014; last revision received Jul 8, 2014; accepted Aug 5, 2014.

Reprint requests: Haruo Shintaku, MD, PhD, Department of Pediatrics, Osaka City University Graduate School of Medicine, 1-4-3 Asahimachi, Abeno-ku, Osaka 545-8585, Japan. E-mail: shintaku@med.osaka-cu.ac.jp

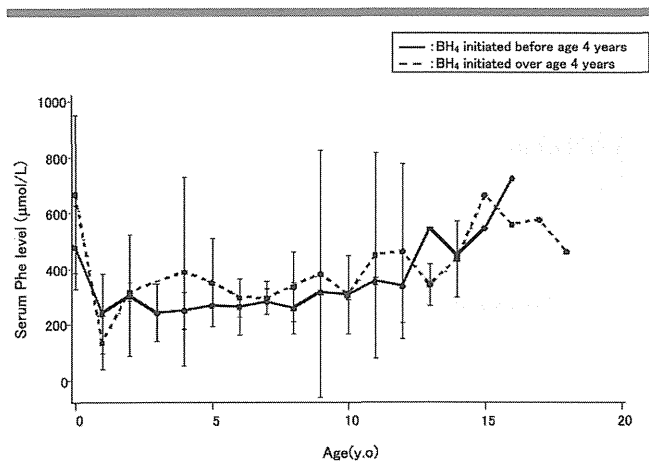


Figure 2. Phe levels according to patient age at treatment initiation and at the end of the study period. The shaded area indicates the recommended optimal control range.

Adverse events	Age at administration	
	<4 y	≥4 y
All adverse events, n (%)	7 (33.3)	7 (31.8)
Infection and infestation, n (%)	5 (23.8)	4 (18.2)
Impetigo	0 (0.0)	1 (4.6)
Influenza	1 (4.8)	1 (4.6)
Nasopharyngitis	2 (9.5)	2 (9.1)
Adenoiditis	1 (4.8)	0 (0.0)
Varicella	1 (4.8)	1 (4.6)
Respiratory, thoracic, and mediastinal disorders, n (%)	3 (14.3)	3 (13.6)
Allergic rhinitis	0 (0.0)	2 (9.1)
Upper respiratory inflammation	3 (14.3)	2 (9.1)
Clinical blood test, n (%)	1 (4.8)	0 (0.0)
Alanine aminotransferase elevation*	1 (4.8)	0 (0.0)
Injury, poisoning, and procedural complications, n (%)	1 (4.8)	1 (4.6)
Clavicle fracture	0 (0.0)	1 (4.6)
Skin laceration	1 (4.8)	0 (0.0)

Multiple events occurred in 1 patient.
*Side effect (nonserious).