

- [22] Distelmaier F, Vogel M, Spiekerkötter U, Gempel K, Klee D, Braunstein S, et al. Cystic renal dysplasia as a leading sign of inherited metabolic disease. *Pediatr Nephrol* 2007;22:2119–24.
- [23] Monk JP, Todd PA. Bezafibrate. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in hyperlipidaemia. *Drugs* 1987;33:539–76.
- [24] Li H, Fukuda S, Hasegawa Y, Kobayashi H, Purevsuren J, Mushimoto Y, et al. Effect of heat stress and bezafibrate on mitochondrial beta-oxidation: comparison between cultured cells from normal and mitochondrial fatty acid oxidation disorder children using *in vitro* probe acylcarnitine profiling assay. *Brain Dev* 2010;32:362–70.

ビオプテリン欠乏症例の妊娠分娩時の問題点

佐倉伸夫^{1),2)}, 但馬 剛²⁾, 阪本直美³⁾, 森岡千代美³⁾, 吉井千代子³⁾

1) 重症児者福祉医療施設 鈴が峰, 2) 広島大学病院小児科, 3) 広島市医師会臨床検査センター

【要 旨】

ビオプテリン欠乏症の女性が治療継続しながら二児を設けた。母親は切迫流産、抑うつ状態を経験しながらも、ともに35週で早産であったが、児の発育は順調で無事出産した。合併奇形もなく、新生児スクリーニング結果も異常なく、現在のところ第1子は2歳半、第2子1歳で、発育発達に問題ない。結果的には、大過なかったが、過去に報告例のない状況で、多くの未経験の問題（高プロラクチン血症と切迫流産、脳内セロトニン欠乏と抑うつ状態、内服薬剤の催奇形性など）に遭遇した。今後、日本国内でも本症女性が同様に妊娠分娩を経験する際の参考になると思われるので、考えられる問題点を指摘するとともに、解決に至るために今後取るべき方法を提案したい。

日本マス・スクリーニング学会誌 24(1): 33-38, 2014

【キーワード】

ビオプテリン欠乏症, 切迫流産, プロラクチン

はじめに

ビオプテリン (BH₄) 欠乏症はその欠乏により血中フェニルアラニン (phe) の上昇のみならず、カテコールアミンとセロトニンの合成障害のために、古典的フェニルケトン尿症 (PKU) では認められない多彩な症状を併発し、悪性高フェニルアラニン血症とも呼ばれる。新生児スクリーニングが始まって30数年、初期に発見診断された古典的PKU例は、妊娠可能年齢となり、母性PKUとして知られる胎児への影響で、妊娠分娩に際して厳重な管理を要し、母児ともに多大な負担を強いられている。一方、BH₄欠乏症の母親の妊娠分娩に関しては、外国で1例 (2児分娩) のみ報告されている (表1) だけで、どのような問題があるのかも知られていない^{1,2)}。

広島県では日本で3例目にあたるBH₄欠乏症女児例がスクリーニングで早期発見早期治療され³⁾、その後の発育発達も順調で、最近結婚し、二児を設けることができた。日本では、本症女性が児を設けるのは初めての経験で、多くの未経験の問題に突き当たった。今後の症例のために、著者らの考えや要望を含めて報告しておくべきと考えた。

表1. ビオプテリン欠乏症女性の分娩例

母親	ポーランド人 ^{1,2)}		日本人 (本例)	
母体治療	BH ₄ , l-dopa 5HTP	同左	同左	同左
妊娠中	切迫流産	同左	同左	同左
分娩週数	31週	37週	35週	35週
出生体重	記載なし	記載なし	2,844g	2,518g
合併症	透明中 隔欠損	なし	なし	なし
運動発達	左半身 麻痺	正常	正常	正常
精神発達	正常 (8歳)	正常 (5歳)	正常 (2歳6月)	正常 (1歳)

受付日: 平成26年1月10日 受理日: 平成26年4月17日

<連絡先> 佐倉 伸夫

〒731-5122 広島市佐伯区五日市町皆賀104-27

重症心身障害児施設 鈴が峰

Tel: 082-943-8888 Fax: 082-943-7788

E-mail: misasa_sakura@yahoo.co.jp

症 例

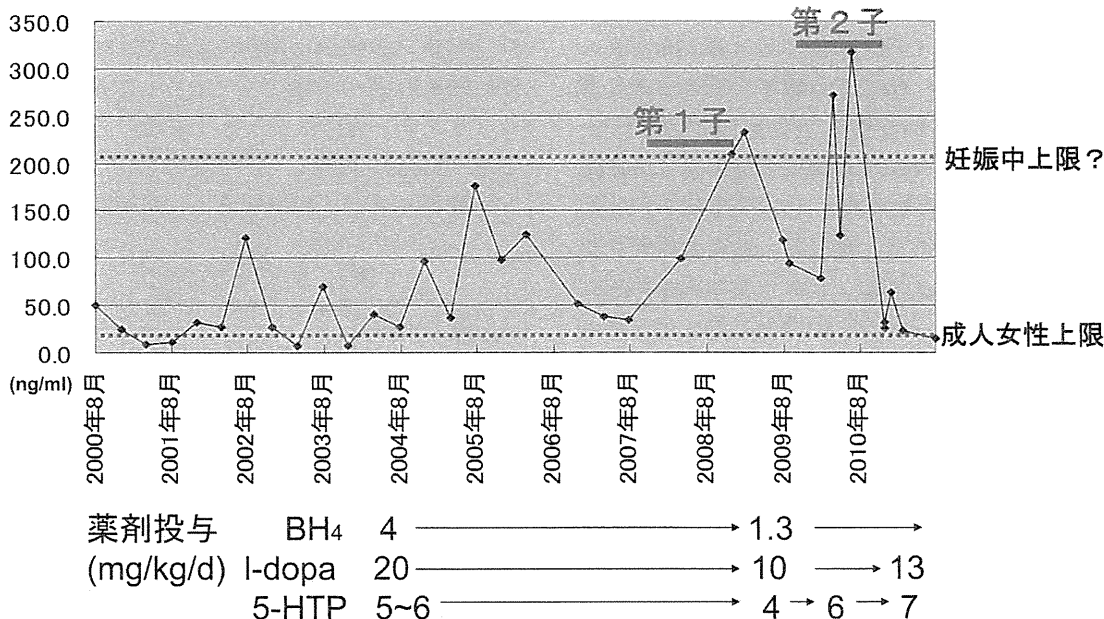
1981年生まれ的女性. 新生児マススクリーニングでphe高値を指摘され, 広島大学小児科に入院, PKUと診断され, 食事療法を開始した. 生後6ヶ月ころよりphe値正常にも拘らず, 不機嫌, 過緊張が出現し, ビオプテリン欠乏症 (PTPS欠損症) と診断され, 5-hydroxytryptophan (5-HTP), l-dopaの内服を開始した. 投与開始後から腸管のセロトニン合成増加に基因すると思われる下痢に悩まされ続けることになる. 2歳から輸入品のBH₄の内服を始め, phe値は普通食でも常に正常範囲で, 精神身体とも発達良好 (IQ=120) であった. 高校時代には思春期のためか, 自身の疾患と将来への不安からか, あるいは脳内セロトニンの不足による抑うつ状態のためか過呼吸発作を繰り返し, 現在でも時に発作を起こす状況が続いている. 高校卒業後は, 料理学校に入学, 修了後, たこ焼き屋を開業し, 2007年に結婚した. 結婚後は妊娠の問題が浮上した. 父親が例え保因者であっても, 子は新生児スクリーニング検査で本症の診断は可能であること, 内服中の薬剤 (BH₄, 5-HTP, l-dopa) の胎児への影響は考えられるが, 現在までのとこ

ろデータがないので判断できないことを両親ともに妊娠前に確認した.

第1子妊娠分娩経過

2008年2月に妊娠判明し, 予定日は10月22日. 妊娠までの一年間は血中プロラクチンは34.7~43.5ng/ml (女性正常値 7~40) と安定し, 妊娠後は51.8, 89.6と徐々に増加した (図). 4月に入り, 悪阻, 切迫流産のため, 広島大学病院産科に入院し, 2日間ウテメリン点滴などの治療を受け, 数日で回復した. その間も, 内服はなんとか可能で, pheも2mg/dl以下を維持した. 妊娠中のBH₄内服量は4mg/kg/日, 5-HTP 5~6mg/kg/日, l-dopa 20mg/kg/日で, 妊娠前と同量を維持した. 後期にはプロラクチン値は209.0ng/mlと妊娠女性の範囲 (100~200) を超えた. 悪阻はその後消失し, 9月18日に, 2,844gの男児を無事娩出した. 35週と早産ではあったが, 胎児発育は良好で, そのまま娩出された. APGAR 8/8と健常で, タンデムマス, Fabry病を含めたスクリーニング結果も正常であった. l-dopa投与によるプロラクチン抑制のためか, 母乳は1か月ほどで出なくなったが, 人工乳で元気に発

プロラクチン



図

育している。男児は現在2歳6ヶ月となっており、発達発育ともに正常であった (DQ=122)。

母親となつてからは、子育てに専念し、精神的な支柱ができたためか、安定し、脳内ホルモンの前駆剤でもある5-HTPとl-dopaの使用量が減少し、それぞれ4mg/kg/日と10mg/kg/日となった。また、経済的理由も考慮し、BH₄も1.3mg/kg/日に減量した。

第2子妊娠分娩経過

第2子の妊娠は2010年2月に判明し、予定日は10月10日であった。妊娠前のプロラクチン値は78.1~118.7ng/mlと高めに推移していた。その後は第一子妊娠中よりさらに高値となり271.6~316.4までに達した。7月と8月に切迫流産のために産科に入院となり、第一子同様にウテメリン等の治療を受けたが、内服は可能で、pheも安定していた。再度の切迫流産で、やや精神状態が不安定となり、8月より5-HTPを6mg/kg/日に増量した。9月10日在胎35週2日2,518gで出生し、APGAR 7/9であった。現在1歳で、女兒の発達発育は正常である (DQ=96)。

考 察

BH₄欠乏症は、phe高値および脳内カテコールアミンとセロトニンの欠乏の三重苦を背負っており、これらに起因する病態が妊娠分娩に複雑に影響していると考えられる。脳内カテコールアミンとセロトニンの欠乏に対して、5-HTP、l-dopaを内服しているが、その投与量の決定には適切な指標がない。更には、妊娠分娩時にはホルモン環境は激変し、ますます問題を複雑にし、その際の投与量の決定は不可能ではないかと思える。しかし、今回の経験から問題点を列挙し、解決に至るべき方法を著者なりに考えてみた。

1) カテコールアミン欠乏による高プロラクチン血症と不妊性

本症では脳内カテコールアミンの欠乏で、高プロラクチン血症を呈する。プロラクチンの分泌はアドレナージックな神経調節を受けるため、

プロラクチンの血中濃度を測定することで、脳内のカテコールアミン産生量を推定しうるとされ⁵⁾、本例でも臨床応用し、l-dopa投与量の指標としている。高プロラクチンは、排卵障害、着床障害、初期流産の原因になるといわれる⁶⁾が、本例では非妊娠期に、ほぼ正常にプロラクチン値をl-dopaで維持でき、妊娠可能となったと思われる。

2) カテコールアミン欠乏による高プロラクチン血症と切迫流産

切迫流産の原因は表2のような原因が推定されるが、本例ではどの産科的原因も見出せなかった。

通常の妊娠中でもプロラクチンは上昇し、後期には200ng/mlまでに達する。本例でも妊娠中は高値となり、とくに、第2子妊娠中は300を超えるほどであった。高プロラクチン血症が切迫流産の原因となるとは証明されていないが、初期流産には関係するともいわれ、第2子妊娠中の2ヶ月にわたる切迫流産は関係なしとも言い切れない。

外国の例でも2児を分娩し、2児ともに切迫流産を経験している^{1,2)}。

プロモクリプチンによりプロラクチン分泌動態を正常化すれば妊娠維持率は向上するといわれ⁶⁾、二児ともに35週の早産であったのも、プロラクチンの高値と関係すると思われる。外国の症例も31週の早産であった^{1,2)}。本症でのプロモクリプチン使用はまったく未知の分野であり、また、l-dopaを増量して、プロラクチンを200以下に維持すれば、切迫流産、早産を防止できる

表2. 切迫早産の原因

1) 偶発合併症 婦人科合併症妊娠 (子宮筋腫・子宮頸管無力症、子宮奇形など) 偶発合併症妊娠 (糖尿病・高血圧など)
2) 多胎妊娠、前置胎盤
3) 感染症 細菌性膣症・細菌性膣炎・絨毛羊膜炎 歯周病
4) 環境 喫煙・受動喫煙

か否かも不明である。

3) 胎盤β受容体刺激低下と切迫流産

BH₄とl-dopaの内服により、カテコールアミンは、脳内は別として、末梢組織ではむしろ過剰状態になっていると考えられる。脳内カテコールアミンを適切な量に維持しようとする、神経系以外の組織では、BH₄の補酵素作用により末梢で合成されたカテコールアミンと内服したl-dopaとが重複し、本例でも、過量となり血管の収縮(手指蒼白)、頻脈、四肢振戦などに悩んでいる。

本例は切迫流産を繰り返し、ウテメリン等のβ受容体刺激剤の投与を受け、流産を回避した。子宮はβ₂-受容体により収縮が抑制されているが、末梢組織ではカテコールアミンが過剰になりやすく、しかもカテコールアミンはβ₂作用が乏しく、α、β₁作用により、収縮に向かうのかも知れない。

あるいは、プロラクチンの高値が示すように妊娠中はむしろカテコールアミンは生理的欠乏状態にあり、β₂-受容体刺激が乏しく、子宮は収縮し、切迫流産の危機を迎えたとも考えられる。プロラクチン値以外の妊娠中のカテコールアミンの適量を知る手段が望まれる。

4) セロトニン欠乏によるうつ状態

本例では妊娠中あるいは分娩後に抑うつ状態になり、サポートを必要とすることもあった。思春期から過呼吸発作を繰り返し精神的に不安定であった上に、妊娠分娩育児が負担をかけたようである。本症では脳内のセロトニンは欠乏状態にあり、また、脳内セロトニンの補充に使用する5-HTPの適量を臨床的に評価することができず、補充量を増やそうとすると、腸管セロトニンの増加による下痢に悩まされる結果になる。通常の抗うつ剤も哺育中では困難である。妊娠中、分娩後には血漿中のBH₄が低下するとの報告もあり⁷⁾、この時期には脳内セロトニンはより欠乏すると思われる。適切な指標に基づく補充法が望まれる。

5-HTP投与により脳内セロトニンが増加するにつれて、夜間メラトニン分泌が上昇するとの報告がある⁸⁾。しかし、メラトニンは日内変動が激しく、指標には適さないように思える。最近、

矢野らは早朝第一尿中のメラトニン代謝物の量が脳内セロトニン量に相関し、PKUの治療管理に有用であるとの報告をした⁹⁾。妊娠中での動態も含めてビオプテリン欠乏症での検討が必要不可欠と考える。

5) 投与薬剤による催奇形性

BH₄、5-HTP、l-dopaの3剤の内服を妊娠全期間中継続した。BH₄についてはインタビューフォームに記載があり、催奇形性のないことはラット、ウサギでは確認されている。また、外国では母性PKUの治療にBH₄を使用し、現在のところ7例の分娩では胎児への影響は報告されていない^{10,11)}。5-HTPに関しては論文がなく、l-dopaは動物実験(ウサギ)において催奇形性が報告されている¹²⁾。しかし、内服を中断するわけにも行かず、危険性あるいはその可能性を理解してもらった上で、継続しつづけた。幸いに、二児に合併奇形は認められなかったが、外国例の透明中隔欠損は、投与薬剤と関連するものかも知れない。今後の症例蓄積が望まれる。

6) phe高値による催奇形性

母性PKUでは、胎児への催奇形性が臨床的に最も問題視される。幸いにして本例では、妊娠全期に渡ってBH₄の内服を継続でき、phe高値となることもなく、胎児への影響は回避できた。外国の例では第1子は透明中隔欠損が報告されているが、第2子は合併症はなく、しかも、phe高値とはなっておらず、第1子の奇形は単なる偶然の合併と考えられる(表1)。しかしながら、万一、悪阻でBH₄内服困難となった際には注射製剤が必要不可欠となる。今後、妊娠例が増加することは明らかで、今のうちに学会等を通じて手当てする必要がある。

あるいは、代替療法として、BH₄を水溶液として注腸する方法も考えられる。この方法も今後早急に人での吸収を確認しておく必要がある。

プロラクチンについてご教授頂いた元広島市安佐市民病院乳腺外科 村上 茂先生に深謝し、乳癌の診療に命を捧げられた先生のご冥福をお祈りします。

文 献

- 1) Giewska M, Bich W, Cyryowski L, et al: The course of pregnancy and 6-month observation of offspring from mother with late diagnosis of 6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase (PTPS) deficiency. *J Inher Metab Dis* 2001; 24 suppl: 31.
- 2) Giewska M, Hnatyszyn G, Sagan L, et al: Maternal tetrahydropterin Deficiency: the course of two pregnancies and follow up of two children in a mother with 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase deficiency. *J Inher Metab Dis* 2009; 32 suppl: S83-9.
- 3) 田中丈夫, 佐倉伸夫, 福田清貴, 他: Dihydrobiopterin 欠乏症 (悪性高phenylalanine血症) の2症例. *日小誌*, 1986; 90: 1910-1918.
- 4) 青野敏博: 高プロラクチン血症と不妊症に関する提言2001, *臨婦産*, 2002; 56: 585-592.
- 5) Spada M, Ferraris S, Ferrero GB, et al: Monitoring treatment in tetrahydrobiopterin deficiency by serum prolactin. *J Inher Metab Dis*. 1996; 19: 231-233.
- 6) Hirahara F, Ando H, Sawai K, et al: Hyperprolactinemic recurrent miscarriage and results of randomized bromocriptine treatment trials. *Fertil Steril* 1998; 70: 246-252.
- 7) Omura I, Mizutani M, Goto S, et al: Plasma biopterin levels and depressive state in pregnancy and the early puerperal period. *Neuropsychobiology*. 2002; 45: 134-138.
- 8) Sugden D, Namboodiri MA, Klein DC, et al: Ovine pineal indoles: effects of L-tryptophan or L-5-hydroxytryptophan administration. *J Neurochem*. 1985; 44: 769-72.
- 9) Yano S, Moseley K, Colleen A: Melatonin: a new biomarker to reflect brain serotonin metabolism in phenylketonuria. *日本先天代謝異常学会雑誌*, 2012; 28: 152.
- 10) Koch R, Moseley K, Guttler F: Tetrahydrobiopterin and maternal PKU. *Mol Genet Metab*. 2005; 86: S139-141.
- 11) Koch R, Trefz F, Waisbren S: Psychosocial issues and outcomes in maternal PKU. *Mol Genet Metab*. 2010; 99 Suppl 1: S68-74.
- 12) 竹内祐幸, 野田有俊, 塩崎裕通, 他: DIC, L-Dopa および Benserazide のウサギにおける催奇形性試験 薬理と治療. 1977; 5 (suppl): 3-17.

The course of two pregnancies in a mother with biopterin deficiency

Nobuo Sakura^{1,2)}, Go Tajima²⁾, Naomi Sakamoto³⁾, Chiyomi Morioka³⁾, Chiyoko Yoshii³⁾

1) Nursing Home for Severe Disabilities Suzugamine, 2) Hiroshima University Hospital Department of Pediatrics, 3) Hiroshima Medical Association Clinical Research Center

Summary

A female patient with biopterin deficiency has been successively treated with BH₄, 5-HTP, and l-dopa. She delivered two babies. During pregnancy, the mother maintained phenylalanine level below 2 mg/dl but had experienced forced abortion and depressive state probably due to hyperprolactinemia and serotonin deficiency. Two newborns showed normal APGAR score, appropriate birth weight and height, but no deformity, in spite of preterm birth (35 weeks). Neonatal screening revealed normal results. At present (first child 2 years and 6 months, second 1 year) they showed normal growth and development.

Some problems was discussed because further cases shall have pregnancy and delivery in Japan and experience the same problems (hyperprolactinemia, serotonin deficiency, tetragensity of therapeutics) as the case during pregnancy.

J Jap Soc Mass-screening 24: 33-38, 2014

新生児タンデムマス・スクリーニングで陽性とならず、 1歳時ノロウイルス感染を契機に発症した ビタミンB12反応性メチルマロン酸血症の1例

小野浩明¹⁾、但馬 剛²⁾、重松陽介³⁾、畑 郁江⁴⁾、原 圭一⁵⁾、佐倉伸夫⁶⁾、吉井千代子⁷⁾、
森岡千代美⁷⁾、阪本直美⁷⁾

1) 県立広島病院小児科, 2) 広島大学病院小児科, 3) 福井大学医学部健康科学, 4) 福井大学医学部小児科, 5) 国立病院機構呉医療センター小児科, 6) 重症児・者福祉医療施設鈴が峰, 7) 広島市医師会臨床検査センター

【要 旨】

ビタミンB12反応性メチルマロン酸 (以下MMA) 血症は、治療薬としてのビタミンB12 (以下B12) が有効であるため、本来新生児タンデムマス・スクリーニング (以下MS/MS-NBS) で発見されるべき疾患である。しかし、現行のC3、C3/C2を指標としたタンデムマスでは異常を検出できない場合がある。症例は1歳男児。頻回の嘔吐を認め、ノロウイルス感染と診断された。その後、意識障害、呼吸不全、代謝性アシドーシスを呈し、血中アシルカルニチン分析、尿有機酸分析からMMA血症と診断された。MS/MS-NBSは受検し正常であったが、新生児期濾紙血MMA濃度は高値であった。リンパ球メチルマロニルCoAムターゼ活性は正常であり、B12負荷試験による血中MMA濃度低下からB12反応性MMA血症と診断した。今後、本例のような遅発型MMA血症を見逃さないためにはカットオフ値の見直し、二次検査としての濾紙血MMA濃度測定などが検討されるべきと考えられた。

日本マス・スクリーニング学会誌 24(1): 43-47, 2014

【キーワード】

B12反応性メチルマロン酸血症、濾紙血メチルマロン酸濃度、C3/C0、二次検査

はじめに

新生児タンデムマス・スクリーニング (以下MS/MS-NBS) の全国的な普及に伴い、今後、スクリーニング陽性例への対応のみならず、偽陰性例を発生させないことも重要な課題となる。わが国で行われた1997年から2012年のMS/MS-NBS試験研究において、メチルマロン酸 (以下MMA) 血症は有機酸代謝異常症の中ではプロ

ピオン酸血症に次いで発見されており、MS/MS-NBSの最重要疾患の一つといえる¹⁾。MMA血症は種々の病因で発症し、アポ酵素であるメチルマロニルCoAムターゼ欠損とコバラミン代謝異常に大別される。前者は主として新生児期に急性発症する症例が多く、現行のMS/MS-NBSで陽性となる。一方、後者にはビタミンB12 (以下B12) に反応する遅発型発症の症例が存在するが、現行のスクリーニングでは発見することが困難な場合がある^{2,3)}。今回、MS/MS-NBSで陽性とならず、ノロウイルス感染を契機に発症したB12反応性MMA血症の1例を経験した。本例の臨床経過ならびにMS/MS-NBS時の濾紙血測定結果について報告し、MS/MS-NBS二次検査の意義について考察する。

受付日：平成26年2月10日 受理日：平成26年4月25日

<連絡先> 小野 浩明

〒734-8530 広島市南区宇品神田1-5-54

県立広島病院小児科

Tel:082-254-1818 Fax:082-253-8274

E-mail:h-ono@hph.pref.hiroshima.jp

症 例

初診時1歳0ヶ月の男児. 主訴は意識障害.

[周産期歴] 在胎37週2,864g, 骨盤位のため帝王切開で出生. 仮死なし. MS/MS-NBSではC3 4.79nmol/ml (カットオフ3.6) と高値であったが, C3/C2 0.231 (カットオフ0.25) でありスクリーニング陽性とならなかった.

[既往歴等] 特になし, 発育発達良好.

[家族歴] 特になし.

[病歴] X年1月7日 (1歳0か月) 朝から嘔吐あり. 夜間救急病院受診したが全身状態悪くないため制吐剤処方で帰宅となった. その後イオン飲料を少量ずつ摂取していたが, 少量の嘔吐は持続した. 8日午前5時に呻吟出現, 大量の嘔吐を認めた. 近医受診し, 便検査でノロウイルス陽性, 輸液を施行された. 呻吟, 意識障害 (JCS II -20) あり, 血液検査でアンモニア 251 μ g/dl と高値であり当科紹介となった.

[入院時現症] 意識GCS 7 (E2V1M4), 体温35.5 $^{\circ}$ C, 血圧132/102, 脈拍177/分, 呼吸数56回/分であった. 聴診では心雑音なし, 肺呼吸音清明であったが, 陥没呼吸著明で呻吟を認めた. 酸素飽和度は酸素マスク10L/分で100%だった. 腹部は平坦・軟, 瞳孔は左右差なし, 対光反射は正常だった.

[入院後経過] 血液検査では高度の代謝性アシドーシス, ケトーシス, 高アンモニア血症, 低

カルニチン血症を認めた (表1). 呼吸管理, 血液浄化療法を施行し, 入院翌日にはアシドーシスと呼吸状態は改善した. 以後, 治療継続し, 入院20日目に後遺症なく退院した. 入院時検査で血中MMA高値が判明したため (表1), リンパ球を用いたメチルマロニルCoA ムターゼ活性をB12添加の系で測定したが, 正常であった (56.2pmol succinyl-CoA/min/10-6cells, 対照61.6 \pm 22.2). 血中総ホモシステイン, B12は各々正常だった (表1). 以上の結果よりB12反応性MMA血症を疑い, 入院14日目からシアノコバラミン1mg連日点滴5日間によるB12負荷試験を実施した. 負荷後の検査で血中MMAの低下を認めたため, 本例はB12反応性MMA血症と診断された. 退院後はコバミド, カルニチン内服を行い経過良好である.

福井大学を中心に行われた我が国のタンデムマスパイロットスタディで発見されたMMA血症児および本例の新生児期濾紙血C3, C3/C2, MMA濃度を図1に, MMA血症児, 本例, プロピオン酸血症例, 偽陽性例の濾紙血C3/C0を図2に示す^{1,4)}. 本例のMMA濃度は11nmol/mlと他のB12反応性MMA血症例と同程度に高値を示した. C3/C0もプロピオン酸血症例, 偽陽性例よりは高値であった.

表1. 入院時検査所見

■末梢血		■血液生化学				
WBC	10400 /mm ³	AST	37 IU/l	アンモニア	260 μ g/dl	
RBC	405 \times 10 ⁻⁴ /mm ³	ALT	23 IU/l	乳酸	9.9 mg/dl	
Hb	10.4 g/dl	LDH	274 IU/l	ピルビン酸	0.38 mg/dl	
Ht	32.7 %	CPK	113 IU/l	総カルニチン	35.3 μ mol/l	
Plt	14.4 \times 10 ⁻⁴ /mm ³	BUN	30.2 mg/dl	遊離カルニチン	6 μ mol/l	
		Cre	0.22 mg/dl	アシルカルニチン	29.3 μ mol/l	
■静脈血液ガス		Na	140 mEq/l	総ケトン体	7590 μ mol/l	
PH	6.981	K	4.9 mEq/l	3-ヒドロキシ酪酸	4910 μ mol/l	
PCO ₂	12.2 mmHg	Cl	110 mEq/l	アセト酢酸	2680 μ mol/l	
PO ₂	64.4 mmHg	Ca	8.4 mg/d	総ホモシステイン	5 μ mol/l	
HCO ₃	2.7 mmol/l	P	5.4 mg/d	(正常値3.7-13.5)		
BE	-27.7 mmol/l	TP	6.2 g/d	ビタミンB12	597 pg/ml	
		ALB	4.5 g/d	(正常値233-914)		
		CRP	0.2 mg/d	メチルマロン酸	132.7 nmol/ml	
		BS	121 mg/dl	(正常値0.35 \pm 0.22)		

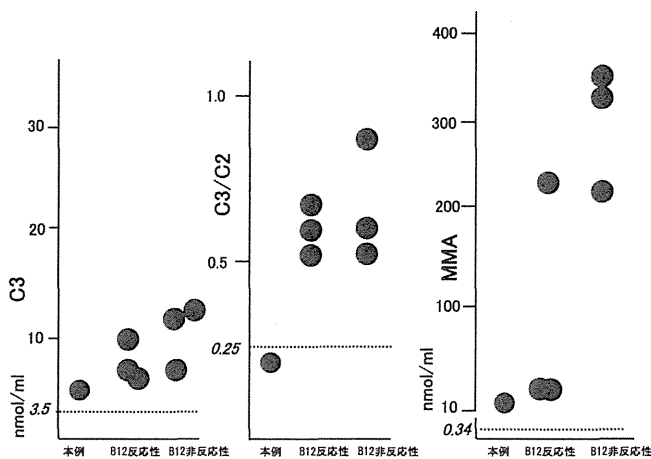


図1

各MMA血症におけるMS/MS-NBS時、濾紙血C3、C3/C2、MMA濃度(文献1, 4から引用). 破線はC3、C3/C2はMS/MS-NBSカットオフ値、MMA濃度は対照新生児の平均値を示す.
 B12反応性: B12反応性MMA血症
 B12非反応性: B12非反応性MMA血症

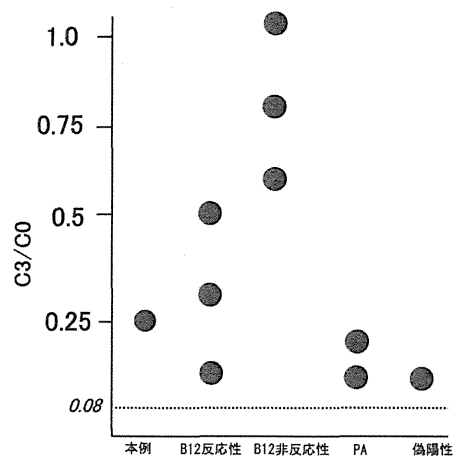


図2

MMA血症、プロピオン酸血症、偽陽性例におけるMS/MS-NBS時、濾紙血C3/C0(文献1, 4から引用). 破線は対照新生児の平均値を示す.
 B12反応性: B12反応性MMA血症
 B12非反応性: B12非反応性MMA血症
 PA: プロピオン酸血症

考 察

B12反応性MMA血症は、治療薬としてのB12が有効であるため、本来新生児マス・スクリーニングで発見されるべき疾患である。C3のみの判定ではMMA血症偽陽性例が増加するため現行のMS/MS-NBSではC3/C2を併用している。しかし、B12反応性や軽症型MMA血症ではC3、C3/C2を指標としたMS/MS-NBSでは異常を検出できない場合がある^{2,3)}。これらの疾患ではC3の増加がないか軽度であること³⁾、飢餓などのためC2が上昇するとC3/C2が異常高値にならないこと、MMA高値が必ずしもC3高値を反映しないことなどが理由として挙げられている³⁾。

MS/MS-NBSで本例のような遅発型MMA血症を見逃さないためにはC3、C3/C2のカットオフ値を下げる必要がある。その場合、陽性者数が増加することになり、偽陽性率を増やさないためには初回濾紙血を使ったMMA濃度測定という二次検査法が必須である。TurgeonらはMMA血症MS/MS-NBSに二次検査を採用することで、偽陽性率は5分の1に減少し、陽性的中率は約3倍増加したと報告した⁶⁾。Marcaらも同様に二次検査を採用し、再採血率の減少を報告

している⁵⁾。図1に示した結果からも、二次検査のMMA濃度測定を行っていれば本例の早期診断は可能であった。今後、わが国でもC3高値のみの時点で二次検査に進むことが検討されるべきであろう。

Linderらは二次検査実施の問題点として、必要な機器・試薬の費用負担、通常業務に加えての分析時間・労力の増加を挙げている。彼らは既存のスクリーニング指標であるC3/C2、C3/C0、C16:1-OH/C4-DCを組み合わせることで、MMA血症MS/MS-NBSを行い、感度、特異度はほぼ100%となったと報告した。国内でLinderらが提示した問題を解決するには行政による対応が必要である。しかし、今後すぐに二次検査が実施されるかは不明であり、当面は彼らが提示したような指標を用いてMMA血症MS/MS-NBSを行うことも考慮するべきかもしれない。本例に関してもC3/C0について検討してみたところ、図2のごとく、新たな指標として検討する余地がある結果であった。二次検査としてのMMA濃度測定が正式に実施されるまでの指標としてC3/C0を採用するべきか、今後のデータの蓄積が必要であると考えられた。

現在、コバラミン代謝異常はビタミンB12の活性型補酵素体であるアデノシルコバラミンとメチルコバラミンの各系に関する障害を元に7つの相補型 (cblA, cblB, cblC, cblD, cblE, cblF, cblG) に分類されている⁹⁾。本例はMMA血症単独発症を示していることから、アデノシルコバラミン系の障害であるcblA, cblB, cblDのいずれかが病因として推測された。現時点で国内のcblA症例は10家系程度が存在するが、cblB, cblDは確認されていない⁹⁾。cblAでは、ほとんどの症例がビタミンB12への反応性を示し、食事療法なしでコントロールできる場合が多い。cblAの長期予後を検討したHörsterらの報告では、死亡例は20例中1例のみであった⁹⁾。高柳らによる2009年の調査では、国内のB12反応性MMA血症は12例存在し、全例生存していた¹⁰⁾。このように、ビタミンB12反応性を有するコバラミン代謝異常症では、初回発作を乗り越えれば予後は非常に良好である。しかし、本例をはじめとして、急性発症時の病態が必ずしも軽症というわけではなく¹¹⁾、後遺症を残す可能性はゼロではない。今後、本例のようなMS/MS-NBS偽陰性例発生を防止するためには、カットオフ値の設定変更、二次検査の採用などを考慮し、費用、システムの複雑化などにも対応していくことが課題となるであろう。一方で重松はMS/MS-NBSでの偽陰性は皆無にはならないことも指摘しており⁹⁾、今後のMS/MS-NBSの進歩に関わらず、今回と同様の症例が発生した場合は、血中アシルカルニチン再検、尿有機酸分析を行うことも必要であると考えられた。

本論文の要旨は第40回日本マス・スクリーニング学会（大阪市）において発表した。

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) 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.
- 3) 松本かおり, 猪口隆洋, 青木久美子, 他：GC/MSによる新生児代謝異常スクリーニングの意義。日本マス・スクリーニング学会誌 16: 81-85, 2006.
- 4) Shigematsu Y, Hata I, Tajima G: Useful second-tier tests in expanded newborn screening of isovaleric academia and methylmalonic aciduria. *J Inher Metab Dis* 33: S283-288, 2010.
- 5) la Marca G, Malvagia S, Casetta B, Pasquini E, Donati MA, Zammarchi E: Progress in expanded newborn screening for metabolic conditions by LC-MS/MS in Tuscany: Update on methods to reduce false test. *J Inher Metab Dis* 31: S395-404, 2008.
- 6) 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.
- 7) Lindner M, Ho S, Kolker S, Abdoh G, Hoffmann GF, Burgard P: Newborn screening for methylmalonic acidurias-Optimization by statistical parameter combination. *J Inher Metab Dis* 31: 379-385, 2008.
- 8) 坂本 修：アデノシルコバラミン合成障害, 別冊 日本臨床 新領域別症候群シリーズ No.19 先天代謝異常症候群 (第2版) 上-病因・病態研究, 診断・治療の進歩-, 日本臨牀社, 河内秀明, 東京, 2012, 356-359.
- 9) Hörster F, Baumgartner Mr, Viardot C, et al: Long-term outcome in methylmalonic acidurias is influenced by the underlying defect (mut0, mut-, cblA, cblB). *Pediatr Res* 62: 225-230, 2007.
- 10) 高柳正樹, 村山 圭, 長坂博範, 真山義民, 鶴岡智子, 藤波綾子：先天性有機酸代謝異常症全国調査 (1990-1999)。日本マス・スクリーニング学会誌 19: 243-248, 2009.
- 11) 四本由郁, 長谷川有紀, 山口清次, 安達昌功：インフルエンザ脳症の発症を機に発見

されたビタミンB12反応性メチルマロン酸 729, 2008.
血症の3歳男児例. 小児科診療 71: 726-

A case of vitamin B12 responsive methylmalonic acidemia who developed clinical manifestation following norovirus infection with negative results in newborn mass screening with tandem mass spectrometry

Hiroaki Ono¹⁾, Go Tajima²⁾, Yosuke Shigematsu³⁾, Ikue Hata⁴⁾, Keiichi Hara⁵⁾, Nobuo Sakura⁶⁾, Chiyoko Yoshii⁷⁾, Chiyomi Morioka⁷⁾, Naomi Sakamoto⁷⁾

1) Department of Pediatrics, Hiroshima Prefectural Hospital, 2) Department of Pediatrics, Hiroshima University Hospital, 3) Department of Health Science, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui, 4) Department of Pediatrics, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui, 5) Department of Pediatrics, National Hospital Organization Kure Medical Center, 6) The Suzugamine, Medical Facilities for Severely Multiple Handicapped Children and Adults, 7) The Clinical Laboratory Test Center of Hiroshima City Medical Association

J Jap Soc Mass-screening 24: 43-47, 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

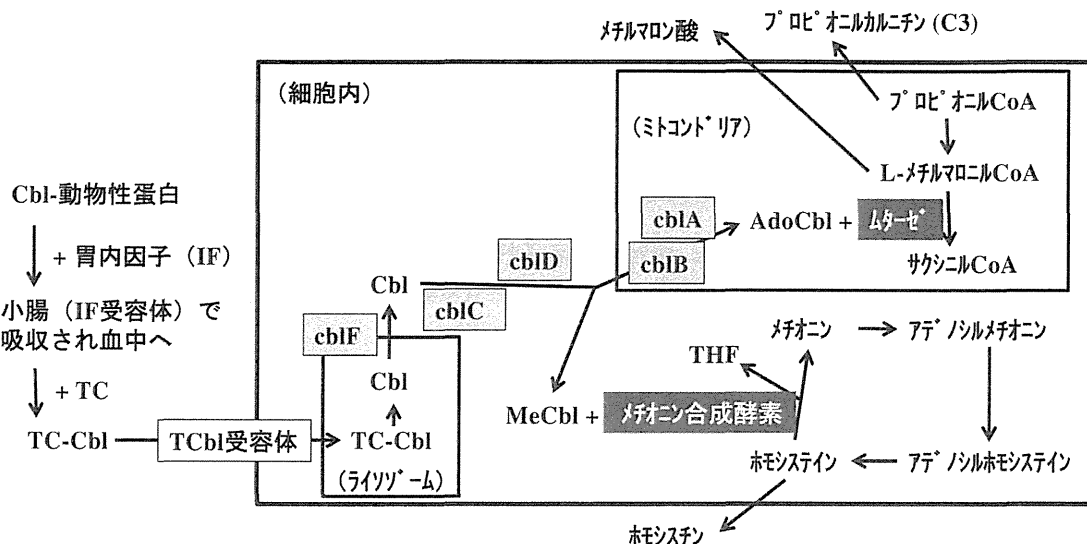


図1. コバラミン (Cbl) の代謝障害とメチルマロン酸血症との関係
 CblA~CblF: メチルマロン酸血症を呈するコバラミン代謝障害型とその障害部位, Cbl: コバラミン (ビタミンB12), MeCbl: メチルコバラミン, AdoCbl: アデノシルコバラミン, TC: トランスコバラミン, THF: テトラヒドロ葉酸

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者は、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)、血漿総ホモシスチンが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。

cbIC型メチルマロン酸血症患者は、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者とは以下の通りである。まず、PCC遺伝子変異が両alleleともY435C変異である患者。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以下であった患者。これらの患者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

ホモシスチ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者などでの値

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⁹⁾ 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 (0.05 M, 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、15,000 rpm 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 2.53 nmol/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 5.6-8.8 nmol/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 1.2 nmol/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

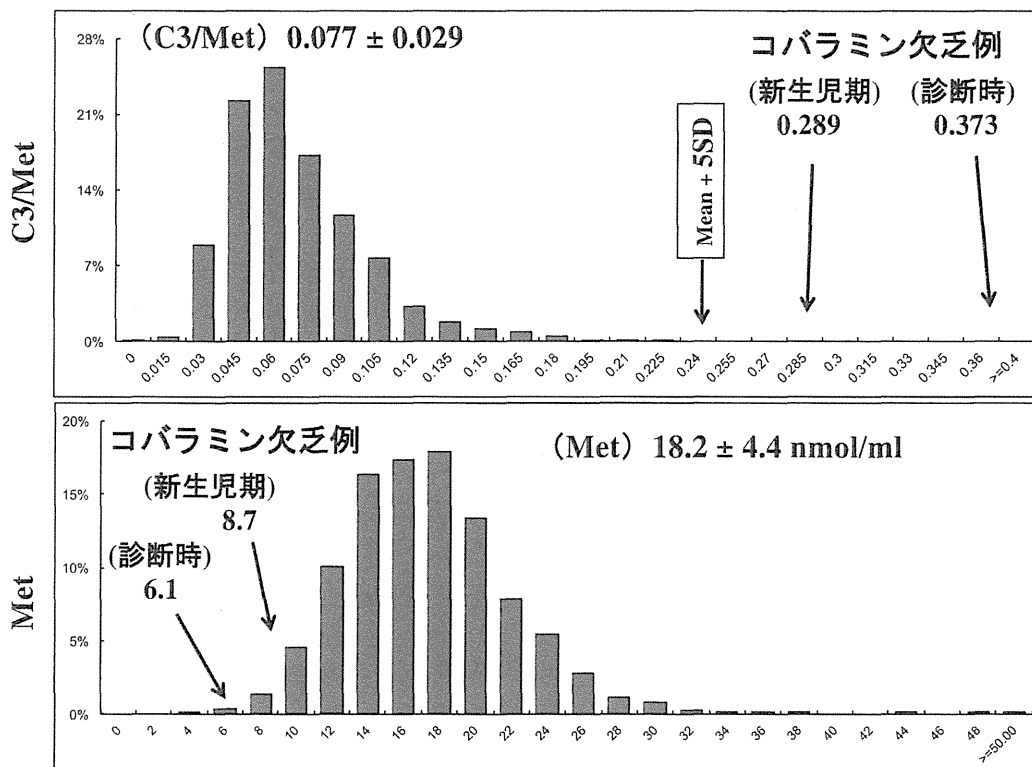


図2. タンデムマス・スクリーニングでのメチオニン (Met) とそのプロピオニルカルニチン (C3) に対する比 (C3/Met) の健常新生児 (n=4,084) での分布 (福井大学)
C3: プロピオニルカルニチン, Met: メチオニン
指標の分布は平均値±標準偏差
横軸は測定値, 縦軸は頻度を示す.

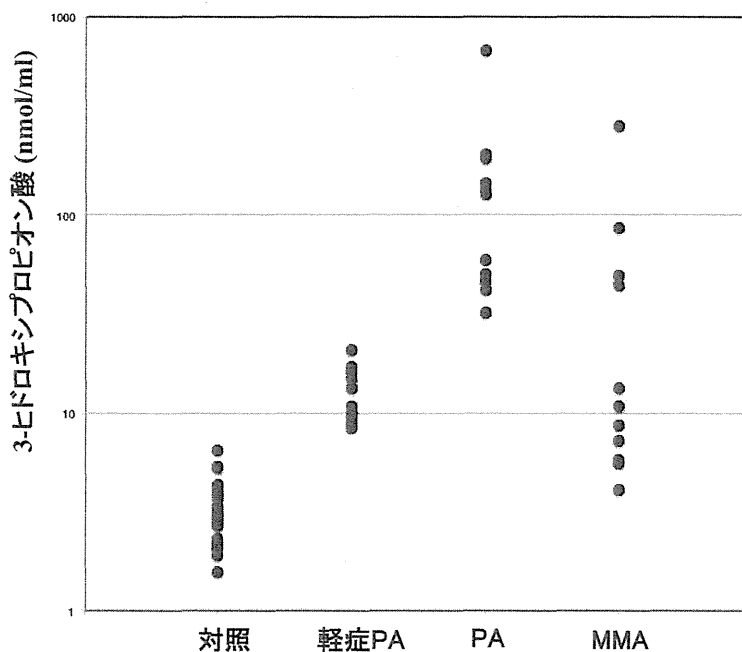
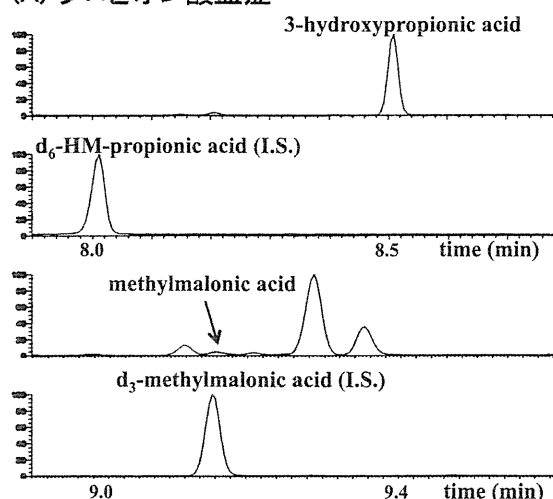


図3. 極軽症型プロピオン酸血症 (軽症PA) とメチルマロン酸血症 (MMA) の濾紙血中3-ヒドロキシプロピオン酸濃度

(A) プロピオン酸血症



(B) メチルマロン酸血症

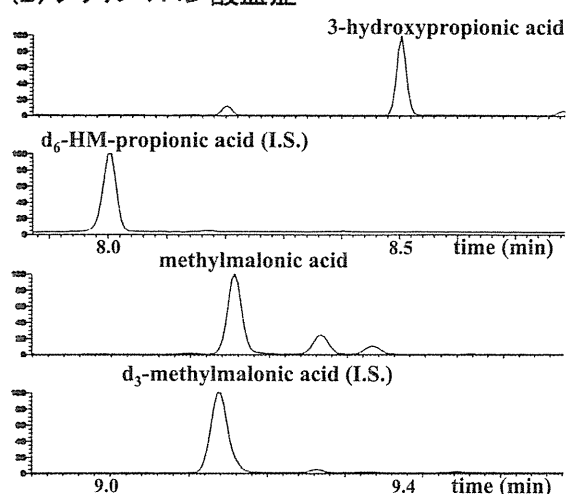


図4. GC/MSによる濾紙血中有機酸分析
I.S.: 内部標準 (詳細は本文方法を参照)

定におけるマスクロマトグラムを図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¹⁾。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濃度が充分高くならずタンデムマス・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児の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同様している遅発型症例¹³⁾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”⁶⁾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いるが、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

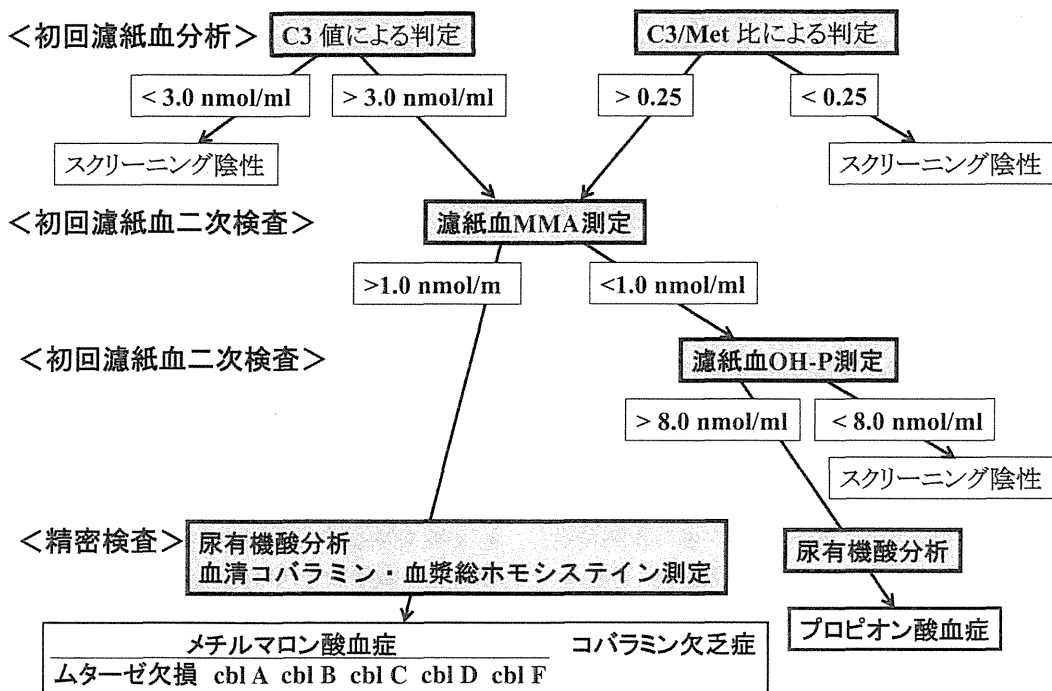


図5. メチルマロン酸血症とプロピオン酸血症のスクリーニング手順案

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¹²⁾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¹³⁾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