

GC/MS/COM を用いたジヒドロリポイル 脱水素酵素欠損症の化学診断

久留米大学医学部ガスクロマトー
質量分析医学応用研究施設

松本 勇
久原とみ子
新家 敏弘
井上 義人

GC/MS/COM システムによる尿中有機酸の分析法は、ケト酸、ヒドロキシ酸および抱合体などを同時に分析し、かつ正確に同定するので、これまでプロピオン酸血症(1, 2)や、マルチプルカルボキシルラーゼ欠損症(3)のような、多成分分析を必要とする疾患の化学診断に、特に威力を発揮してきた。

デヒドロリポイルデヒドロゲナーゼ(F3)欠損症の化学診断も、その生化学的特性から、このような多成分分析法が最も有用である。E3欠損症は、Howarthらが1976年に初めて報告した先天性有機酸代謝異常症で、これまで欧米では3家系しか報告されていない。いづれも酵素学的な手法を用いて診断がおこなわれた。我々は過去2年間に2例のE3欠損症を化学診断したが、わが国で初めての症例で、その中1例はその後E3活性の欠如も証明され、2例目は現在測定中である。

E3は、 α -ケト酸脱水素酵素複体の構成因子で、脱炭酸酵素(E1)や、トランスアミラーゼ(E2)と異なり、ピルビン酸、 α -ケトグルタル酸(α KG)および分岐鎖ケト酸(BCKA)脱水素酵素複体に共通した蛋白である。本疾患では、血中のピルビン酸、乳酸、 α KGに加えて分岐鎖アミノ酸(BCAA)が増加し、楓糖尿症(MSUD)に共通した異常を示す。従って、GC/MS/COMによる化学診断は、尿中乳酸、 α KG、分岐鎖ヒドロキシ酸およびBCKAを保持時間とマススペクトルから正確に同定し、且つこれらの量が揃って対照群とは、際立って増加していることを確認することで行なわれる。

ガスリーテストは、E3欠損症の一次スクリーニングとして非常に有用である。事実、化学診断した最初の症例は、5生日時の血清ロイシン値が4-6mg/dlであることが指摘されていた。しかし、第2の症例では、ガスリーテストでは異常はなかった。このように、我が国のMSUD患者の9割で、血清ロイシン値が15-70mg/dlであるのに比べ、E3欠損症ではいずれもロイシン値が低く、時にガスリーテストでは見逃す恐れがあり、一次スクリーニングとする場合に充分注意が必要である。

ところでE3欠損症は、通常慢性の高乳酸血症を伴うが、高乳酸血症の成因としては、これまでにピルビン酸脱炭酸酵素(E1)欠損症始め、多くの疾患が明らかにされてきた。当然その成因によって、高乳酸血症の治療も異なるわけで、Robinsonらの報告によれば、E3欠損症の食事療法はE1欠損症と全く異なってくる。E3欠損症の発症は生後数カ月と遅いが、発症後は急速に悪化する。

GC/MS/COM システムによるE3欠損症の化学診断は、酵素活性測定に先立ち、適切な治療を速やかに開始あるいは治療方法の検討を可能にし、同時にE3欠損症における代謝調節の解明を可能にすると思われる。

文 献

- 1) 松本 勇: "ガスクロマトグラフィー -質量分析法- 有機酸尿症の解析" 臨床検査 27, 70, (1983)
- 2) Kuhara, T. Shinka, T., Matsumoto, I., et al. "Increased Excretion of Lactate, Glutarate, 3-Hydroxyisovalerate and Methylygiutaconate During Clinical Episodes of Propionic Acidemia" Clin. Chim. Acta 123, 101 (1982)
- 3) 新家敏弘, 久原とみ子, 井上義人ら "マルチプル・カルボキシラーゼ欠損による高乳酸血症患者の GC/MS分析" 医用マス研究会講演集第7巻 p.207 (1982)

血液濾紙による高乳酸血症のスクリーニング法の検討

徳島大学医学部小児科 宮尾 益英
黒田 泰弘
渡辺 俊之

高乳酸血症を伴う先天性代謝異常症が数多く報告されており, その多くの疾患において発育不全, 精神運動発達遅延などがみられる。したがって, 高乳酸血症患者を早期に発見し, 早期治療に結びつけることは非常に重要である。我々は, すでに尿による高乳酸血症のスクリーニングの有用性について報告してきた。今回は血液濾紙による, 高乳酸血症のスクリーニング法について検討したので報告する。

方 法

1) 0.5%ヨード酢酸溶液に東洋濾紙No.2を侵し, 乾燥させたもの, あるいは無処理の東洋濾紙No.2を血液採取に用いた。2) 血液濾紙から直径6mmのディスクを3枚切り出し, 0.5mlのメタノールを加えてよく振盪し, 室温で30分間放置した。そのメタノール抽出液を37°Cで乾固し, 0.23mlの蒸留水を加えて, この水溶液を血液濾紙抽出液とした。3) 0.3Mトリス塩酸緩衝液pH8.0, 1.0ml, 1.6%ニトロブルーテトラゾリウム水溶液0.05ml, 0.4%フェナジンメトサルフェート水溶液0.1ml, 27mMNAD水溶液0.05ml, 乳酸脱水素酵素10 μ lを混合して発色液とした。上記抽出液0.2mlと発色液0.15mlとを混合し, 遮光して, 37°Cで30分間反応させた。この反応液を東洋濾紙No.50の上に立てた直径11mmの円筒内に注入し生成された色素を濾紙に吸着させ, その着色の程度によって乳酸を半定量した。また, 乳酸の定量は酵素法で行った。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



GC/MS/COM システムによる尿中有機酸の分析法は、ケト酸、ヒドロキシ酸および抱合体などを同時に分析し、かつ正確に同定するので、これまでプロピオン酸血症(1,2)や、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症(3)のような、多成分分析を必要とする疾患の化学診断に、特に威力を発揮してきた。