

ガスクロとGC-MSを用いた有機酸代謝異常スクリーニングの経験と今後の展望

折居忠夫, 山口清次, 安田寛二,
河野芳功 (岐阜大学小児科)

研究目的

我々はガスクロマトグラフィ(GC)とガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)を用いた有機酸代謝異常システムを確立してきた。¹⁾²⁾³⁾そこで昭和59,60年の2年間にこのシステムを用いて行ったスクリーニングの経験を報告し,今後の展望について考察したい。

研究方法

(1)岐阜大学で行っている有機酸代謝異常スクリーニングシステム

我々の施設で確立してきたスクリーニングシステムの概略を図1に示した。すなわち,表1に示した臨床項目をチェックし,リスクの高い小児の尿を前処理してGC分析による一次スクリーニングを行う。GCデータは「GCデータ自動処理プログラム(GCSCR)」を開発して異常ピークを自動的に検出させた。さらに検出した異常ピークの化合物名を予測する「化合物検索プログラム(COPND)」も開発した⁴⁾。またGCで異常ピークを検出した試料についてはGC-MSに

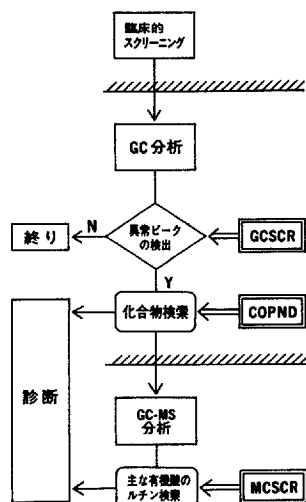


表1 有機酸代謝異常スクリーニングのための臨床チェック項目 (岐阜大学小児科)

| | 有 | 無 | 不明 | | 有 | 無 | 不明 |
|---------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 家族歴の異常 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | アシドーシス | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 血族結婚 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 尿ケトン | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 体重増加不良 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 高アンモニア血症 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 発達遅滞 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 低血糖 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 頻回嘔吐 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 高乳酸血症 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 意識障害 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 肝機能障害 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 呼吸の異常 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 尿DNP H反応 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 哺乳障害 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 塩化第2鉄反応 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| トーン低下 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 貧血 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| けいれん | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 好中球減少 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 異常な体臭尿臭 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 血小板減少 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 外表奇形 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | | | |

図1 岐阜大学で行っている有機酸代謝異常スクリーニングシステム

N: No, Y: Yes

GCSCR: GCデータ自動処理プログラム

COPND: 化合物検索プログラム

MCSCR: GC-MSデータ自動検索プログラム

よる2次スクリーニングに進むが、GC-MSデータ処理は、専門知識を必要とせず簡便に解析できる「GC-MSデータ自動検索プログラム(MCSCR)」²⁾という独自のコンピュータプログラムによって行った。

(2) 最近2年間のスクリーニング

表2に示すように昭和59年、60年の2年間に計773症例のスクリーニング依頼を受けた。(昭和59年367名、昭和60年406名。追跡などを含めた総分析件数は1179件)これらのうち、尿中有機酸プロフィールに何らかの異常を認めた検体を、①有機酸代謝異常症と考えられたもの、②アミノ酸代謝異常症などの補助診断として有用であったもの、③一過性または2次的な異常、薬物ピーク、不明ピークなどを認めた群の3群に分けて検討した。

(3) 昭和60年の必要経費と分析コスト

昭和60年1年間にスクリーニングのために使用した試薬類、消耗品、ガス、電気、水道および修理点検等に要した費用から分析コストについて検討した。

研究結果

(1) スクリーニングにおける異常発見頻度について (表3, 表4)

2年間にスクリーニング依頼された773症例のうち、①有機酸代謝異常症と考えられたのは35例(頻度4.5%)であった。また②PKU, MSUDなど他のスクリーニング法で異常が発見され、このシステムによって補助診断したのは15例(1.9%)であった。③一過性のlactic aciduria, ketosisや薬物ピーク、不明ピークなどのみられたのは計207

表3 年齢別異常発見頻度 (昭和59, 60年)

| | 依頼患者総数 | 有機酸代謝異常 | 補助診断 |
|------|--------|------------|------|
| 新生児 | 94 | 13 (13.8%) | 3 |
| 乳児 | 194 | 11 (5.7%) | 2 |
| 幼児 | 273 | 8 (2.9%) | 6 |
| 学童以上 | 206 | 1 (0.5%) | 4 |
| (不明) | (6) | (2) | |
| 計 | 773 | 35 (4.6%) | 15 |

表2 スクリーニング依頼検体数

| | 59年 | 60年 | 計 |
|---------|-----|-----|---------|
| 院内 | 135 | 135 | 270 |
| 関連病院 | 69 | 121 | 190 |
| 全国 | 164 | 160 | 324 |
| 計 | 367 | 406 | 773 |
| (総分析件数) | 456 | 723 | 1,179件) |

表4 最近2年間に診断した異常プロフィール (昭和59, 60年 岐阜大学小児科)

| | |
|-----------------------|------|
| ① 有機酸代謝異常症 | 35例 |
| 先天性乳酸血症 | 18 |
| プロピオン酸血症 | 1 |
| メチルマロン酸血症 | 4 |
| グルタル酸血症 | 2 |
| グリセロール尿症 | 4 |
| ジカルボン酸尿症 | 6 |
| ② 補助診断として | 15例 |
| フェニルケトン尿症 | 7 |
| 楓糖尿症 | 3 |
| ウラシル・オロト酸尿症 (OTC欠損) | 3 |
| 神経芽細胞腫 | 2 |
| ③ 一過性異常・その他 | 207例 |
| Lactic aciduria | 43 |
| Ketosis | 47 |
| Dicarboxylic aciduria | 11 |
| Tyrosyluria | 13 |
| 薬物・不明ピークその他 | 98 |
| スクリーニング依頼患者総数 | 773例 |

例(26.8%)であった。その内訳を表4に示したが、何らかの異常を認めた症例は(①+②+③)全スクリーニング患者数の33.2%(257/773)すなわち約1/3であった。

有機酸代謝異常症と考えられた35例について年齢別頻度を検討したところ表3に示すように、新生児13.8%、乳児5.7%、幼児2.9%、学童以上0.5%と、スクリーニングで異常の発見される頻度は新生児、乳児期が高かった。

(2) 分析コストについて

昭和60年1年間に、スクリーニングのために要した費用は表5に示すようにGC 868,480円(783件分析)、GC-MSでは2,041,160円(539件分析)であった。これを単純計算するとGC分析1件あたり1,109円、GC-MS分析1件あたり4,288円であり、GC、GC-MS両方分析した場合、1件5,397円ということになる。また人件費1,200,000円(1名)/年と、機器消却費5,000,000円/年(約10年間で消却すると仮定)を加えて試算したところ、スクリーニング1件あたり、約11,979円と計算された。

表5 1年間の維持費・経費(昭和60年)
GC 783検体(うちGCMS 539件)

| | |
|------------------------------------|---------|
| GC関係 | |
| 前処理用試薬 | 160,700 |
| 消耗品 | 617,900 |
| H ₂ , N ₂ ガス | 28,280 |
| 修理費 | 34,000 |
| 電気代 | 27,600 |
| 868,480/783件(=1,109円) | |
| GCMS 関係 | |
| 消耗品 | 824,800 |
| Heガス | 17,000 |
| 修理費 | 611,900 |
| 電気・水道代 | 857,460 |
| 2,311,160/539件(=4,288円) | |
| ※ GC+GC-MSの場合 5,397円 | |

考 按

GC-MSを応用した有機酸代謝異常スクリーニングを一般化するためには、次のような問題がある。すなわち①高価な設備と維持費の問題、②GC-MSの設置施設に限られるため分析数に限界があること、③GC-MSデータの解析にある程度の熟練と専門知識を必要とする技術的問題などである。これに対し我々の施設では①臨床チェック項目を用いた選択的スクリーニングによってリスクの高い検体にしぼること、②GCによる一次スクリーニングの充実によってより多くの検体数を処理し、かつGC-MS分析に進む件数を節約してコストを下げること、さらに③有機酸代謝異常スクリーニングのためのデータ処理プログラム(GCSCR, MCSCRなど)の開発を進めてきた。これによって熟練を必要とせず、より効率的にスクリーニングを行うことができるようになったと思われる。

我々はこのスクリーニングシステムによって昭和59年、60年の2年間に773例をスクリーニングして、35例の有機酸代謝異常症を診断した。また773例中257例(約1/3)にGC上何らかの異常プロフィールを認めたが、代謝異常症の有無、疾患の予測についてはGCのみで大部分可能であったと思われる。この経験からGC-MSに比べて安価なGCによる一次スクリーニングはより多くの場で可能ではないかと思われた。

次に昭和60年1年間に限って算出したスクリーニングのコストは、年間消耗品などの維持費

はGC 1件あたり 1,107円, GC-MS 1件あたり 4,288円であり, またこれに人件費, 消却費を含めて概算したところ, 1検体当たり約 12,000円であった。しかしこの数字はスクリーニング専門施設でない一診療科で試みたスクリーニング経験から試算したものであり, 実際の分析, 処理および検体整理などに種々のロスが少なからずあったと思われる。さらに今後のGC-MSとデータ処理システムのハードおよびソフトウェアの改良や, 検体の集中化によって多数検体を処理できるスクリーニング体制の整備等によって, 分析コストを以上の数字よりも大巾に下げることが可能であると思われる。

最後に, これまで原因不明のまま死亡したり, 後遺症を残すことの多かった有機酸代謝異常症に対して, GC-MSという有力な検査手段がスクリーニングとして一般化し, 早期発見による治療, 障害予防に寄与してゆくことを願う。

文 献

- 1) 折居忠夫, 山口清次, 安田寛二, 河野芳功, 鈴木康之: 有機酸代謝異常スクリーニング法の研究 — ガスクロデータ自動処理プログラムの開発 —, 厚生省 心身障害研究マスキリーニングに関する研究 昭和58年度研究報告書, 51 - 55, 1983年
- 2) 折居忠夫, 山口清次, 安田寛二, 河野芳功: 有機酸代謝異常スクリーニングのためのGC-MSデータ自動処理・検索システムの開発, 厚生省心身障害研究 マスキリーニングに関する研究 昭和59年度報告書, 80 - 84, 1985年
- 3) 山口清次, 安田寛二, 河野芳功, 鈴木康之, 小林裕子, 可知章三, 横山美登里, 折居忠夫: 有機酸代謝異常症の早期診断システム, 臨床小児医学, 33: 73 - 81, 1985年



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



研究目的

我々はガスクロマトグラフィ(GC)とガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)を用いた有機酸代謝異常システムを確立してきた。そこで昭和 59,60 年の 2 年間にこのシステムを用いて行ったスクリーニングの経験を報告し,今後の展望について考察したい。