

有機酸代謝異常スクリーニングの臨床の場における問題点

折居忠夫, 山口清次
(岐阜大学小児科)

河野芳功
(国立療養所長良病院小児科)

研究目的

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スクリーニングが、最近わが国でもポピュラーになりつつある¹⁾。一方スクリーニングを依頼する側の臨床の場においては、(1) GC/MS 分析の種々の制約から、現時点では選択的スクリーニング²⁾を行わざるを得ないが、患者の選び方等の問題、(2)検体の採取、保存、搬送の問題、(3)分析結果の解釈上の問題、などが存在する。本スクリーニングをさらに実用化するために、これらの臨床の場における問題点について検討した。

研究方法

(1) 選択的スクリーニングの問題

最近 3 年間に我々の施設で行ったスクリーニングの中から発見された異常児の臨床所見またはリスク因子について検討した。

(2) 検体の採取、保存、搬送の問題

有機酸標品の混合液と、メープルシロップ尿症 (MSUD) 患児の尿を用いて、保存条件の差による分析結果の再現性を検討した。さらに DE 81 イオン交換濾紙を用いた乾燥尿濾紙法³⁾についても検討した。

(3) 分析データ解釈上の問題点

3 年間のスクリーニングの経験から、分析データに影響する因子および、分析結果の臨床診断へのかかわりについて検討した。

研究結果および考按

1. 過去 3 年間のスクリーニング結果:

岐阜大学小児科で行った 3 年間のスクリーニング結果を表 1 に示した。依頼総数 1196 例中有機酸代謝異常と診断したのは 44 例であった。

2. 異常児 44 症例の年齢別内訳:

異常児の年齢別内訳を表 2 に示した。新生児、乳児例に頻度が高い傾向があった。

3. 異常児 44 症例の臨床項目チェック頻度:
既報の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⁴⁾を用いた。異常児にお
いてチェックされた項目と頻度を表 3 に示し
た。

4. 有機酸の保存状態と再現性:

α -ケト酸をふくむ 10 種類の有機酸混合液
を、室温と冷蔵庫 (4°C) に保存し、10 日間ま
で再現性をみた。図 1 に示すように、これら
の有機酸に関しては少なくとも 10 日間は室
温に放置されても再現性が十分にあった。

表 2 年齢別異常発見頻度
(84, 85, 86年)

	依頼患者 総 数	有機酸代謝異常
新生児	148	15 (10.0%)
乳 児	309	15 (4.9%)
幼 児	484	11 (2.5%)
学童以上	286	3 (1.0%)
(不明)	(19)	
計	1196	44 (3.6%)

表 3 有機酸代謝異常児 44 例の臨床項目チェック頻度

(1) 臨床症状 (%)	(2) 検査所見 (%)
発達遅滞 22/27 (81.5)	アシドーシス 29/37 (78.4)
トーンス低下 23/35 (65.7)	高乳酸血症 12/16 (75.0)
体重増加不良 20/33 (60.6)	肝機能異常 5/14 (35.7)
哺乳障害 19/34 (55.9)	尿DNP H 6/20 (30.0)
けいれん 17/35 (48.6)	高アンモニア 7/30 (23.3)
呼吸異常 17/36 (47.2)	尿ケトン 7/32 (21.9)
意識障害 11/30 (36.7)	好中球減少 6/33 (18.2)
家族歴の異常 11/34 (32.4)	低血糖 5/33 (15.2)
頻回嘔吐 9/35 (25.7)	血小板減少 4/32 (12.5)
異様な体臭 1/32 (3.0)	

表 1 有機酸代謝異常スクリーニング結果
(84, 85, 86年)

有機酸代謝異常症	44例(4%)
先天性乳酸血症	21 (3)
プロピオン酸血症	1 (0)
メチルマロン酸血症	7 (3)
イソ吉草酸血症	1 (1)
グルタール酸血症	3 (1)
グリセロール尿症	4 (0)
シカルボン酸血症	6 (0)
シュウ酸血症	1 (1)
補助診断として	19例(2%)
フェニルケトン尿症	7 (0)
楓糖尿症	4 (1)
チロジン血症	1 (1)
ウラシル・オロト酸血症 (OTC欠損)	4 (1)
神経芽細胞腫	3 (1)
一過性異常・その他	342例(29%)
Lactic aciduria	66 (23)
Ketosis	71 (28)
Dicarboxylic aciduria	16 (5)
Tyrosyluria	24 (11)
薬物・不明ピークその他	165 (72)
依頼患者総数	1196 (423)

()内は 86年分

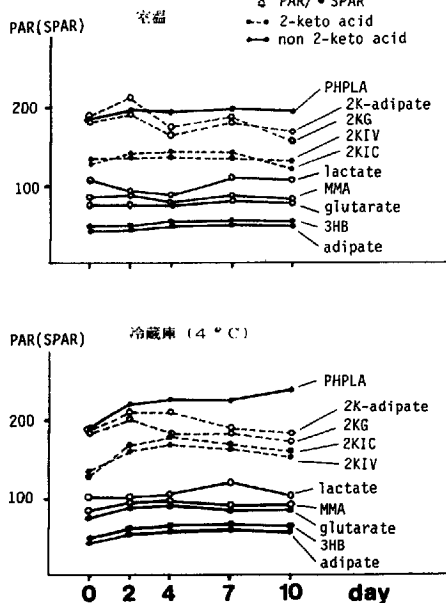


図 1 有機酸の保存状態による再現性

PAR : ガスクロマトグラフィーでの
定量値 (相対面積)
SPAR : GC/MS での定量値 (相対面積)
PHPLA: p-hydroxyphenyllactate
2K-adipate: 2-keto-adipate
2KG : 2-keto-glutarate
2KIV : 2-keto-isovalerate
2KIC : 2-keto-isocaproate
MMA : methylmalonate
3HB : 3-hydroxybutyrate

またMSUD患児の α -ケト酸を含むいくつかの尿中成分の再現性を図2に示したが、実際の尿でも1週間～10日間は室温保存で再現性が十分にあると考えられた。しかし実際問題として、季節によっては尿の腐敗等による影響も考慮して分析までは凍結または冷所保存が望ましいと考えている。

5. 乾燥尿沨紙法

検体採取、搬送の簡便な乾燥尿沨紙法を検討した。DE81イオン交換沨紙に尿をしみ込ませて乾燥させ、この沨紙からクレアチニン濃度を測定した。75～150 μ gクレアチニン相当の乾燥尿沨紙から有機酸を溶媒抽出して誘導体化して分析した。図3にメチルマロン酸血症患児の分析結果を例示したが、通常行っている方法(直接法)と比較しても、劣らず異常ピークの検出が可能であった。

図3 乾燥尿沨紙法と直接法の比較
(メチルマロン酸血症)

右上段：乾燥尿沨紙法
右下段：通常行っている直接法
ピーク1：lactate, 2：3-hydroxybutyrate + pyruvate, 3：3-hydroxyisovalerate, 4：methylmalonate, 5：acetoacetate + urea, 6：fumarate + succinate, 7：adipate, 8：citrate + methylcitrate, IS：内部標準物質

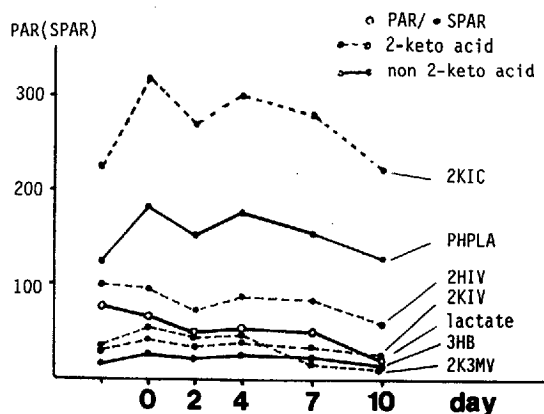
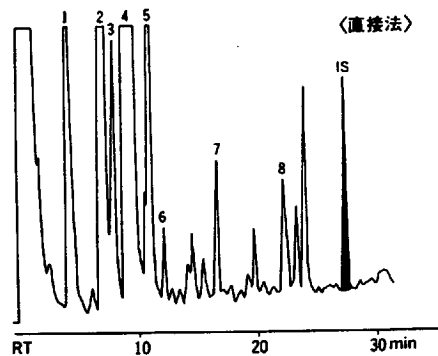
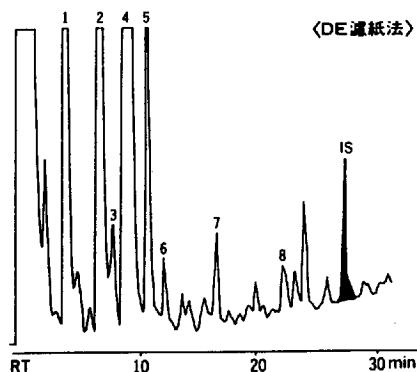


図2 MSUD患児尿中有機酸の再現性(室温保存)
略字は図1と同じ。

2 HIV: 2-hydroxy-isovalerate
2 K 3 MV: 2-keto-3-methylvalerate



また、乾燥尿沍紙法による尿中有機酸の再現性について検討した。メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、イソ吉草酸血症患児のいくつかの尿中成分について図4に示したが、少なくとも4週間室温に放置されても再現性があった。

6. スクリーニング結果の解釈上の問題

これまでのスクリーニングの中で、臨床の場において分析結果の解釈上問題になると思われる点を経験しているので以下に列挙した。

①薬剤使用等による有機酸プロファイルの修飾(例:脳圧降下剤のグリセロール, アスコルビン酸使用時等のオギザル酸, 安息香酸等使用による大量の馬尿酸, 特殊ミルク使用時のバナラ代謝産物, その他種々の抗けいれん剤, サリチル酸剤などの代謝産物)

②細菌尿(尿路感染), 尿の腐敗等による乳酸増加。③2次的または一過性の所見とし

てしばしばみられる lactic aciduria, ketosis, dicarboxylic aciduria, tyrosyluriaなどは先天性代謝異常症との鑑別が容易でない場合も多い。従ってこれらは他の臨床所見と合せた注意深い検討を要する。

ま と め

1. 有機酸代謝異常スクリーニングは現時点では、選択的スクリーニングとなるが、依頼された検体のうち異常症は新生児, 乳児例に頻度が高かった。また臨床症状, 所見に一定の傾向のあることが多かった。

2. 通常スクリーニングには少量の尿を用いているが, その保存は室温保存でも少なくとも1週間~10日間は十分に再現性があった。

3. 乾燥尿沍紙法は, 分析データの再現性, 検体採取, 搬送の簡便さなどの面からスクリーニング法として今後大いに期待できる。

4. 検体採取時の使用薬剤, 治療等のチェックは分析データの解釈に重要な場合が多く, 不可欠であると思われる。

5. 分析結果の中でしばしばみられる lactic aciduria, ketosis, dicarboxylic aciduria, tyrosyluriaなどの所見は2次的な異常所見としてもみられる可能性があるので, 臨床の場では他の所見とあわせて検討する必要がある。

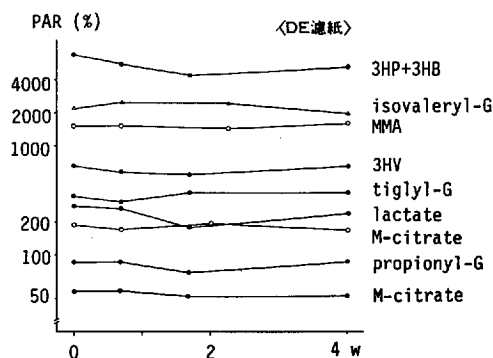


図4 乾燥尿沍紙法による尿中有機酸の再現性

略字は図1と同じ。

3HP: 3-hydroxypropionate,
isovaleryl-G: isovalerylglycine,
3HV: 3-hydroxyvalerate,
tiglyl-G: tiglylglycine,
propionyl-G: propionylglycine,
M-citrate: methylcitrate

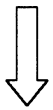
文 献

- 1) 折居忠夫, 山口清次, 安田寛二, 河野芳功: 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, 厚生省心身障害研究 マスクリーニングに関する研究 昭和 60 年度研究報告書, 72 - 75, 1986
- 2) Lehnert, W and Niederhoff, H: Seven years of experience with selective screening for organic aciduria, *Eur. J. Pediatr.*, 142: 208 - 210, 1984
- 3) 小林裕子, 安田寛二, 山口清次, 折居忠夫: 乾燥尿沍紙による有機酸代謝異常症スクリーニング法の検討, *日児誌*, 89: 1664 - 1670, 1985



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



まとめ

1. 有機酸代謝異常スクリーニングは現時点では、選択的スクリーニングとなるが、依頼された検体のうち異常症は新生児、乳児例に頻度が高かった。また臨床症状、所見に一定の傾向のあることが多かった。

2. 通常スクリーニングには少量の尿を用いているが、その保存は室温保存でも少なくとも1週間～10日間は十分に再現性があった。

3. 乾燥尿濾紙法は、分析データの再現性、検体採取、搬送の簡便さなどの面からスクリーニング法として今後大いに期待できる。

4. 検体採取時の使用薬剤、治療等のチェックは分析データの解釈に重要な場合が多く、不可欠であると思われる。

5. 分析結果の中でしばしばみられる lactic aciduria, ketosis, dicarboxylic aciduria, tyrosyluria などの所見は2次的な異常所見としてもみられる可能性があるため、臨床の場では他の所見とあわせて検討する必要がある。