

先天性尿素サイクル代謝異常症のスクリーニング

— enzyme-multiple auxotroph assay の検討 —

北川 照男^{*}, 大和田 操^{*}, 鈴木 健^{**}

^{*} 日本大学医学部小児科 ^{**} 東京都予防医学協会

研究目的

先天性尿素サイクル代謝異常症の中には、低蛋白食による治療が可能なものがあり、早期診断が重要である。これまでに、paper chromatography, bacterial inhibition assay あるいは蛍光法などにより本症のスクリーニングが行われてきたが、Naylor らにより開発された尿素サイクル代謝異常症のスクリーニング法、enzyme-multiple auxotroph 法の信頼度を検討し、マス・スクリーニング法として使用可能か否かを検討することを本研究の目的とする。

研究方法

- 1) 菌の発育に尿素サイクル関連アミノ酸であるアルギニン、シトルリン、オルニチンを必要とする枯草菌の変異株、*B. subtilis* MB 1047/16 と、正常人の赤血球に存在するアルギニノコハク酸分解酵素（以下 ASA lyase と略す）を用いて、血中の尿素サイクルに関連アミノ酸の濃度および ASA lyase の有無を検査する方法—enzyme-multiple auxotroph assay— が尿素サイクル関連アミノ酸に特異的であるか否かを検討すると同時に、その至適測定条件を検討した。
- 2) 本法を用いて、東京地区で出生した新生児約14万人を対象として尿素サイクル代謝異常症のスクリーニングの pilot study を行った。
- 3) 本法を用いて、gyrate atrophy を伴う高オルニチン血症、アルギニノコハク酸尿症および高アルギニン血症の患者各1例、計3家系を対象として家族検索を行った。

研究結果

- 1) 各種のアミノ酸と *B. subtilis* MB 104/16 との混釈培養を行った結果、この菌は尿素サイクル関連アミノ酸の存在下で特異的に増殖することが確認された。また、表のような条件において、寒天平板における L-Orn, L-Cit および L-Arg を含む標準血液濾紙の発育環の大きさは、血中アミノ酸濃度と相関した。更に、アルギニノコハク酸尿症患者由来の濾紙血液は、極めて特徴的な発育環を示した。。
- 2) 以上の結果から、本法は先天性尿素サイクル代謝異常症のマス・スクリーニングに使用可能と考え、東京都で出生する新生児を対象として、まず cut off point を 6mg/dl として8

表 enzyme-multiple auxotroph assay
の至適条件

寒天の種類・濃度	1.5% Oxoid NO.4
芽 胞	3.5×10^8 /150ml plate
ASA*	22 μ moles/150ml plate
pH	7.6 - 8.2
温 度	25 - 30℃
培 養 時 間	16 - 18時間

* ASA: アルギニノコハク酸

万人の新生児をスクリーニングした結果、304例において尿素サイクル関連アミノ酸が6mg/dlを示したので、それらの戸紙血液中のアミノ酸を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて分析し、HPLCでも本法と同様に6mg/dlを示した症例について再採血を行った。再採血で、本法が陽性と判定された65例の血液戸紙のHPLCによる分析の結果は図のようであり、65例中63例で、血中Ornの上昇が、また各1例づつL-Cit, L-Argの上昇が認められた。

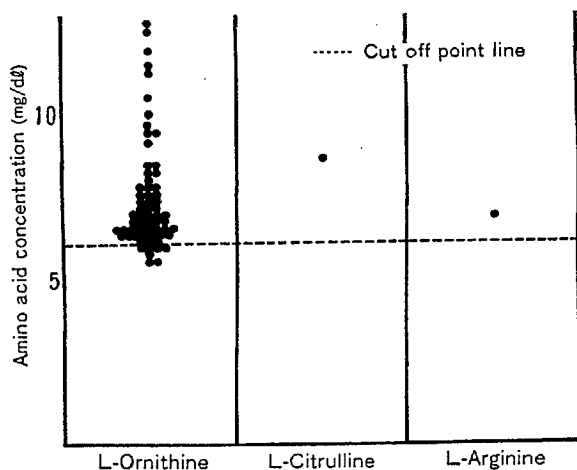


図1 再採血で陽性を示した65例のHPLCによる血液アミノ酸値

考 按

NaylorおよびGuthrieにより開発されたenzyme-multiple auxotroph assayは、尿素サイクル代謝異常症のうち、アルギニノコハク酸尿症、シトルリン血症、アルギニン血症、高オルニチン血症のスクリーニングが同時に可能であると報告されている。

しかし、従来のGuthrie法に比べて、微細な条件の変化が菌発育に影響を与え、判定が困難な場合があり、とくにL-ArgとL-Citを標準物質としたときの発育環の判定が難しい。これに対して、L-Ornの発育環は明瞭で、その大きさはL-Ornの濃度と相関しており、またASA lyaseの欠損しているアルギニノコハク酸尿症由来の血液を用いると特徴的な発育環が認められる。もちろん、L-Cit又はL-Argでも10mg/dl以上の濃度では明瞭な発育環を認めるが、6mg/dl前後の濃度の検体を確実に陽性と判定することは時に困難であり、アミノ酸自動分析計で血中Argが5.8mg/dlを示したアルギニン血症患者の戸紙血液を用いて本法を行

万人の新生児をスクリーニングした結果、304例において尿素サイクル関連アミノ酸が6mg/dlを示したので、それらの戸紙血液中のアミノ酸を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて分析し、HPLCでも本法と同様に6mg/dlを示した症例について再採血を行った。再採血で、本法が陽性と判定された65例の血液

3) アルギニノコハク酸尿症および高アルギニン血症の症例の家族検索では、血縁者の中から患者を見出せなかったが、眼底に脳回転状萎縮を伴う高オルニチン血症の患者の同胞中から高オルニチン血症が一例発見された。この同胞においても、発端者と同様な眼科的異常が認められた。

ったが、陽性と判定し得なかった。

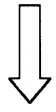
しかし、血中 Orn が 10mg/dl を示す高オルニチン血症の患者では、本法で常に陽性と判定されている。従って、本法は、ASA lyase 欠損症と高オルニチン血症のスクリーニングには有用と思われた。

本法を用いた新生児マス・スクリーニングにおいては、前述のように65例が異常と判定されたが、これらは何れも一過性であり、再々検で全例が正常となった。65例中63例は、高オルニチン血症であり、HPLCによるL-Ornの血中濃度は 5.5 から 14mg/dl の間に分布していたが、そのうち42例は 8mg/dl 以下であった。gyrate atrophyを伴う持続性高オルニチン血症の報告例の多くの血清Orn値は 6mg/dl 以上を示しており、本法を用いて、cut off pointを 6mg/dl としてスクリーニングすれば、本症を早期に発見することが可能である。しかし、前述のように、新生児期には一過性高オルニチン血症を示す例が多い一方、本症の頻度はそれ程高くはない。従って、cut off pointを 6mg/dl とすると再採血率が高くなり、徒らに母親の不安を招く結果ともなりかねない。我々は、昨年1月よりcut off pointを 8mg/dl に変更したところ、再検率は著しく減少したが、それによる本症の見逃しに対する不安を払拭し切れない。

しかし、他の代謝異常症に比べて尿素サイクル代謝異常症のわが国における頻度については不明な点が多く、適切なスクリーニング法の開発とともに、年長例、成人例を確実に診断して、その頻度を明らかにすることが必要と思われた。

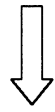
文 献

- 1) Henry W. Talbot, PhD, Adam B. Sumlin, BS, Edwin W. Naylor, PhD, MPH, and Robert Guthrie, PhD, MD : A Neonatal Screening Test for Argininosuccinic Acid Lyase Deficiency and Other Urea Cycle Disorders, Pediatrics 70(4) 526~531, 1982.
- 2) T. Sakiyama, T. Suzuki, M. Owada, T. Kitagawa : First case of argininosuccinic aciduria in Japan: Clinical observations and treatment, Advances in Experimental Medicine and Biology vol. 153 Urea cycle diseases, p95~100.
- 3) K. Suzuki, K. Tochizawa, R. Suzuki, M. Owada, T. Sakiyama, and T. Kitagawa : A trial of the screening for urea cycle disorders, Neonatal Screening. 1983.



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

先天性尿素サイクル代謝異常症の中には,低蛋白食による治療が可能なものがあり,早期診断が重要である。これまでに,paperchromatography,bacterial inhibition assay あるいは蛍光法などにより本症のスクリーニングが行われてきたが,Naylor らにより開発された尿素サイクル代謝異常症のスクリーニング法,enzyme-multiple auxotroph 法の信頼度を検討し,マス・スクリーニング法として使用可能か否かを検討することを本研究の目的とする。