# GC-MS-COM による精密・多項目2次スクリーニング

松　本　　勇
（金沢医科大学人類遺伝学研究所）

厚生省の新生児スクリーニングが発足した同じ年の昭和52年4月から，われわれは，ガスクロマト-質量分析計-コンピュータ（GC-MS-COM）システムを用いて先天性の有機酸とアミノ酸代謝異常症の精密，多項目スクリーニングを開始した。当初22疾患を対象として発足したが，その後研究を重ねて順次疾患数をふやし，昭和58年4月から100疾患についてスクリーニングできるまでに発展し，昭和59年3月までに43疾患，195症例の化学診断に成功した。その内訳は，高乳酸血症と高アンモニア血症を伴う疾患が最も多く，昭和58年12月末までに診断した184症例の疾患中，それぞれ74および51例を占めた。プロピオン酸血症やメチルマロン酸尿症などのように，高乳酸と高アンモニア血症を同時に伴う35例の有機酸血症の重複を避けた合計が90例で，全体の約49％を占める（表1）。さらに，昭和58年1～12月中に診断した41症例中には，高乳酸血症と高アンモニア血症を伴う疾患が，それぞれ49％と34％を占め，重複を避けた両者の総和が全体の63％を占めた。

**表1　1983年4月から12月末までに診断した疾患名と症例数**

| 疾患名 | 例数 | 疾患名 | 例数 |
|---|---|---|---|
| 高乳酸血症 | 7 | β-ケトチオラーゼ欠損症 | 1 |
| メチルマロン酸尿症 | 6 | Reye's 症候群 | 1 |
| ジカルボン酸尿症（ケトーシス型） | 4 | チトクロムCオキシダーゼ欠損症 | 1 |
| プロピオン酸血症 | 2 | ピルビン酸脱水素酵素欠損症 | 1 |
| オルニチン・カルバミル転移酵素欠損症 | 2 | シトルリン血症 | 1 |
| カルバミルリン酸合成酵素欠損症 | 2 | 高オルニチン血症 | 1 |
| シスチン尿症 | 1 | 高シュウ酸尿症 | 1 |
| チロジン症 | 1 | 高プロリン血症 | 1 |

合　計　33症例

以上のような現状に鑑み，それぞれの疾患群をさらに精密に鑑別診断する方法について検討した。高乳酸血症を伴う疾患群は表3のように，1）ミトコンドリアの膜輸送障害，2）糖新生系障害，3）ピルビン酸代謝障害，4）クエン酸回路系障害，5）ミトコンドリアの電子伝達系障害，6）分枝鎖アミノ酸代謝障害，7）その他の疾患　に大別され，現在23以上の疾患が知られている。その多くは，GC/MS 分析が可能で，われわれもその大半のスクリーニングを可能にしている。

表2　1983年12月末までに診断した疾患名と症例数

| 疾患名 | 例数 | 疾患名 | 例数 |
|---|---|---|---|
| メチルマロン酸尿症 | 27 | グルタール酸尿症　Ⅱ型 | 2 |
| 高乳酸血症 | 23 | 高フェニールアラニン血症 | 2 |
| チロジン症 | 21 | $E_3$欠損症 | 2 |
| ジカルボン酸尿症（ケトーシス型） | 14 | 高シュウ酸尿症 | 2 |
| 高グリシン血症 | 9 | シトルリン尿症 | 2 |
| プロピオン酸血症 | 8 | β-ヒドロキシ-β-メチルグルタール酸合成酵素欠損症 | 1 |
| p-ヒドロキシフェニール酢酸尿症 | 5 | | |
| 高リジン血症 | 5 | 楓糖尿症 | 1 |
| イミダゾールアミノ酸尿症 | 5 | $E_1$欠損症 | 1 |
| イソ吉草酸血症 | 5 | チトクロームCオキシダーゼ欠損症 | 1 |
| オルニチン・カルバミル転移酵素欠損症 | 5 | β-ケトチオラーゼ欠損症 | 1 |
| ヒスチジン血症 | 4 | 高メチオニン血症 | 1 |
| アルカプトン尿症 | 4 | 高アルギニン血症 | 1 |
| ジカルボン酸尿症（非ケトーシス型） | 4 | ピログルタミン酸尿症 | 1 |
| シスチン尿症 | 4 | アデニンホスホリボシル転移酵素欠損症 | 1 |
| フェニールケトン尿症 | 3 | 神経芽細胞腫 | 1 |
| 肝疾患 | 3 | マルチプル・カルボキシラーゼ欠損症 | 1 |
| カルバミルリン酸合成酵素欠損症 | 3 | イミノグリシン尿症 | 1 |
| Reye's 症候群 | 3 | 塩基性アミノ酸尿症 | 1 |
| β-アミノイソ酪酸尿症 | 2 | 高オルニチン血症 | 1 |
| 高バリン血症 | 2 | 高プロリン血症 | 1 |

合　計　184

高乳酸血症を伴う23の疾患のうち，複数の疾患で検出される異常代謝産物について，2種の内部標準を用いて補正した保持時間を図1に示した。相互にかなり近接していて，ガスクロマトグラフィでは，相互の鑑別同定が非常に難しい。さらに病的動態の変化に伴い，検出される異常成分も異なるので，GC-MS-COM による精密，多項目分析が極めて重要である。

他方，高アンモニア血症を伴う疾患の大部分は，尿素回路系障害によるもので，カルバミル燐酸合成酵素（CPS-1）と，N-アセチルグルタミン酸合成酵素（NAGS）欠損症以外の疾患は，全てピリミジン合成系亢進のため，尿中に多量のオロット酸あるいは，ウラシルを排泄する。このことから，尿中ウラシルやオロット酸と尿素回路系アミノ酸分析によって，NAGS 以外の尿素回路系酵素異常の化学診断を可能にした（図2）。

GC-MS-COM による精密，多項目スクリーニング法には以下のような短所がある。

1）分析に要する時間が長く，多数の検体処理ができない（試料調製2時間，GC/MS 分析1時間，アミノ酸分析4時間）

2）分析機器が高価である（GC-MS-COM：4,000万円～，アミノ酸分析計：1,500万円～）

3）分析に要する費用が高い

4）試料の送付方法が面倒（現在は凍結してドライアイスと共に梱包して送っている）

反面，

**表3　高乳酸血症を伴なう先天性代謝異常症**

1) ミトコンドリアの基質輸送系障害
　モノカルボン酸転移酵素欠損症
　カルニチン欠損症
2) 糖新生系の障害
　グルコース-6-ホスファターゼ欠損症
　フルクトース-1,6-ジホスファターゼ欠損症
　ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ欠損症
3) ピルビン酸代謝障害
　ピルビン酸脱水素酵素（$E_1$）欠損症
　ピルビン酸デヒドロゲナーゼ・ホスファターゼ欠損症
　ジヒドロリポイル・トランスアセチラーゼ（$E_2$）欠損症
　ジヒドロリポイル脱水素酵素（$E_3$）欠損症
　ピルビン酸カルボキシラーゼ欠損症
4) クエン酸回路系障害
　α-ケトグルタール酸脱水素酵素欠損症
　クエン酸回路系酵素の部分欠損
5) ミトコンドリアの電子伝達系障害
　酸化的燐酸化のアンカップリング
　チトクロームの欠損
　　単一チトクロームの欠損：チトクローム b
　　複合チトクロームの欠損：チトクローム a・$a_3$/b
　　チトクローム c
　基質の利用障害
6) 分枝鎖アミノ酸代謝系の障害
　楓糖尿症（MSUD）
　イソ吉草酸血症
　α-メチルアセト酢酸尿症
　プロピオン酸血症
　メチルマロン酸血症
　マルチプルカルボキシラーゼ欠損症
　β-ケトチオラーゼ欠損症
7) その他
　フェニールケトン尿症　など

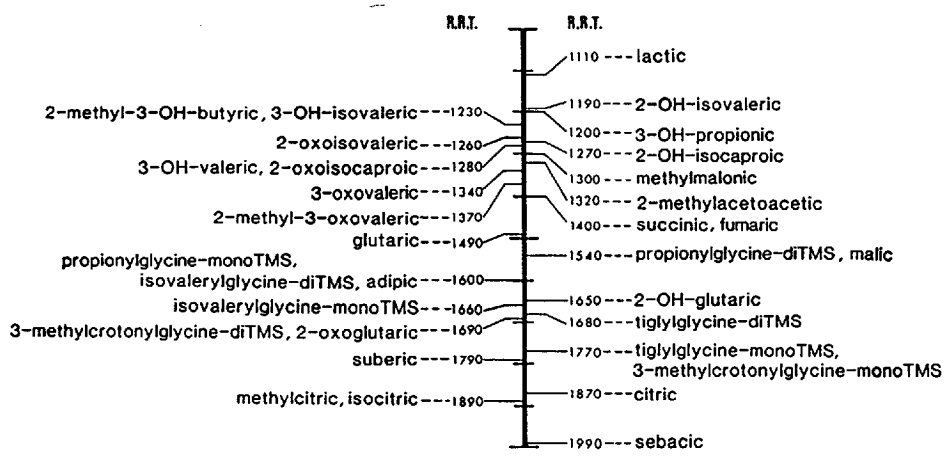
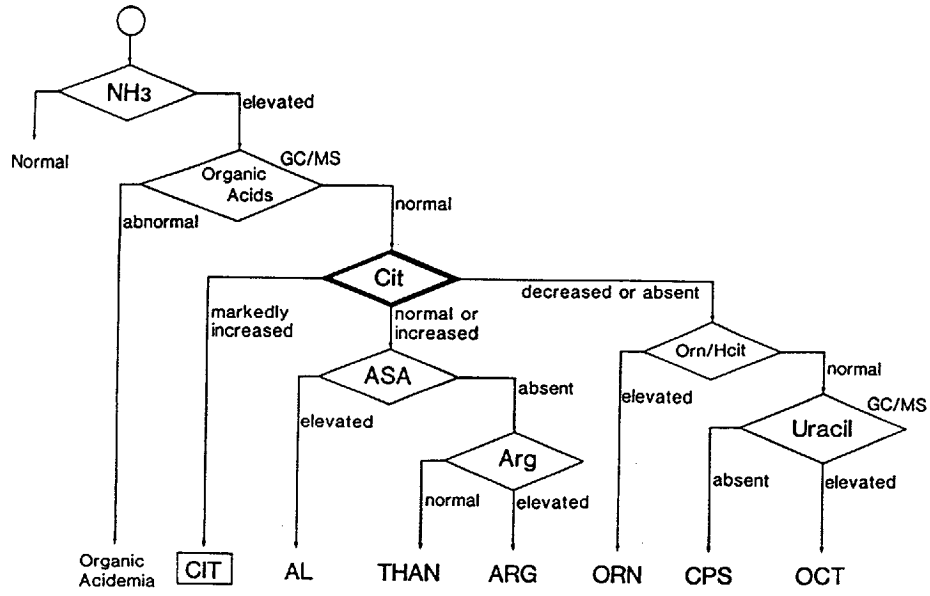



図1　Abnormal Metabolites in Lactic Acidosis
(Column 3% OV-17)




CIT, citrullinemia : AL, Argininosuccinate lyase deficiency : THAN, transient hyperammonemia of newborn : ARG, argininemia : ORN, ornithinemia : CPS, carbamoylphospate synthetase deficiency : OCT, ornithine carbamoyltransferase deficiency : ASA, argininosuccinic acid

**図2** Flow Diagram for Differential Diagnosis Using GC/MS/COM and Amino Acid Analyser of Urea Cycle Enzyme Deficiency

1) 1回の分析で多数の疾患を同時にスクリーニングすることができる（現在100疾患，4月からは115～120疾患の予定）

2) 将来，対象とする疾患の数をどんどんふやすことができる

3) 従来の分析手法では診断困難な $E_3$ 欠損症，マルチプルカルボキシラーゼ欠損症などの疾患の分析が可能である

4) 非常に精密な診断ができる

などの長所がある。

したがって，本法の先天異常のモニタリングにおける位置づけは，2次スクリーニング法として役立てられるべきであると考えている。

GC-MS-COM による精密，多項目スクリーニング法の今後の方向として，

1) 試料送付方法の改善：イオン交換樹脂筒あるいは沪紙に吸着し，郵送する方法について検討中である。

2) 分析用試料調製の自動化：現在テクニコン社のフローシステムを用いて自動抽出法を確立した。

3) 低価格分析機器の開発：機器メーカーや，医療開発財団の協力に期待したい。

4) 高速分析が可能な機器の開発：特に高速アミノ酸分析計の開発を計る。

5) 試料の前処理からデータの打ち出しまでの全自動化を計る：自動運転と自動診断プログ

ラムは，すでにそれぞれ完成しているが，両者をドッキングしたプログラムはコンピュータの容量が小さいため，現在ストップしている。

6) モニタリングのためのデータバンクの設立と，電話回線などを利用した情報サービスセンターの設立：

などを目指したいと考えている。

## 文　　献


1 ) Kuhara, T., Shinka, T., Matsumoto, M. and Matsumoto, I. : Clin. Chim. Acta, **123** : 101～110, 1982.

2) Endo, F., Kitano, A., Uehara, I., Nagata, N., Matsumoto, I., Shinka, T., Kuhara, T. and Matsuda, I. : Pediatr. Res., **17** : 92～96, 1983.

3) Matsumoto, I., Kuhara, T., Shinka, T., Inoue, Y., Inoue, A. and Matsumoto, M. : International Congress Series, **606** : 414～415, 1982.

4) Waller, G.R., Matsumoto, I. and Odham, G. : Agricultural Experiment Station, J-4260, 137～183, 1983.

5) Kukara, T., Shinka, T., Inoue, Y., Matsumoto, M., Yoshino, M., Sakaguchi, Y. and Matsumoto, I. : Clin. Chim. Acta, **133** : 133～140, 1983.

6) 松尾雅文，小南　隆，長阪みはる，竹峰久雄，久原とみ子，松本　勇，成沢邦明，多田啓也，小池吉子，小池正彦：日本小児科学会雑誌，**87**(9) : 1615～1619，昭和58.

7) 新家敏弘，井上義人，久原とみ子，松本雅裕，松本　勇，久保田英次：医用マス研究会講演集，**8** : 251～254，昭和58.

8) 松本　勇，久原とみ子，井上義人，新家敏弘，松本雅裕：医用マス研究会講演集，**8** : 259～262，昭和58.

9) 松本　勇：小児科診療，**46**(10) : 昭和58.

10) 松本　勇：臨床検査，**27**(1) : 70～77，昭和58.

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

厚生省の新生児スクリンーニグが発足した同じ年の昭和52年4月から,われわれは,ガスクロマトー質量分析計-コンピュータ(GC-MS-COM)システムを用いて先天性の有機酸とアミノ酸代謝異常症の精密,多項目スクリーニングを開始した。当初22疾患を対象として発足したが,その後研究を重ねて順次疾患数をふやし,昭和58年4月から100疾患についてスクリーニングできるまでに発展し,昭和59年3月までに43疾患,195症例の化学診断に成功した。その内訳は,高乳酸血症と高アンモニア血症を伴う疾患が最も多く,昭和58年12月末までに診断した184症例の疾患中,それぞれ74および51例を占めた。プロピオン酸血症やメチルマロン酸尿症などのように,高乳酸と高アンモニア血症を同時に伴う35例の有機酸血症の重複を避けた合計が90例で,全体の約49%を占める(表1)。さらに,昭和58年1〜12月中に診断した41症例中には,高乳酸血症と高アンモニア血症を伴う疾患が,それぞれ49%と34%を占め,重複を避けた両者の総和が全体の63%を占めた。