

Enzyme-multiple auxotroph法による先天性 尿素サイクル代謝異常症のマス・スクリーニング

北川 照男 (日本大学医学部小児科)

大和田 操 (")

鈴木 健 (東京都予防医学協会)

研究目的

尿紙血液中の尿素サイクル関連アミノ酸、即ち、シトルリン (Cit), アルギニン (Arg), オルニチン (Orn) を測定し、同時に、アルギニノコハク酸分解酵素 (ASA lyase) 活性を測定して4種類の先天性尿素サイクル代謝異常症をスクリーニングする Naylor らの方法¹⁾の有用性について検討するとともに、尿素サイクル代謝異常症を新生児マス・スクリーニングの対象とすることが妥当か否かを検討することが本研究の目的である。

研究方法

1) Enzyme-multiple auxotroph法

菌の発育に尿素サイクル関連アミノ酸を必要とする枯草菌の変異株、*B. subtilis* MB1047/16と、正常ヒト赤血球に存在する ASA lyase とを用いて、血中の Cit, Arg, Orn の濃度および ASA lyase 活性の有無を検査する Naylor の方法 — enzyme-multiple auxotroph 法 — を用いて、東京地区で出生した約23万人の新生児を対象に、尿素サイクル代謝異常症のスクリーニングを行った。Naylor らの方法の詳細については、昨年度報告したので省略する。

2) 高速液体クロマトグラフィーによる分析

上記のスクリーニングを施行する際、昭和52年12月から58年7月までは cut off point を 6 mg/dl に、また、それ以降は 8 mg/dl に設定し、cut off point を越えた検体については島津 LC-3A型高速液体クロマトグラフィー (以下 HPLC) を用いて、尿素サイクル関連アミノ酸の分析を行った。分析には、直径 3 mm の尿紙血液ディスク 2 個を用い、1 M のクエン酸リチウム緩衝液 pH 2.9 50 μ l を加えて超音波処理後、室温にて1時間放置した抽出液中のアミノ酸を OPA 法にて定量した。

3) 赤血球 Arginase 活性測定

洗滌赤血球中の arginase 活性は、L-arginine を基質として hemolysate と反応させ、生じた尿素を α -isonitrosopropiophenone にて発色させ 530 m μ で比色定量する Cohen らの方法で測定した。

研究結果

昭和57年12月より59年12月までの2年間に行ったスクリーニングの結果は表のようであり、

表 尿素サイクル代謝異常症のスクリーニング結果

期 間	件 数	再検査	再検率	精検数
57年 12月	75,170	Orn 107	0.15%	8
58年 7月		Cit 7		
		Arg 3		
58年 8月	150,764	Orn 18	0.01%	1
59年 12月		Cit 1		
		Arg 1		
計	225,934	133	0.06%	9

Ornの上昇が異常を示した検体の約95%であった。また、9例が精密検査の対象となったが、それらの全例が、新生児期における一過性の異常と判定された。

ところが、昭和53年3月生れの男児例で、新生児期に本法によるスクリーニングを行った結果正常と判定された1例が、後日、高アルギニン血症と診断された。この症例は、生後9カ月時に転落して頭蓋骨々折を生じ、同時に痙攣を認め、精査の結果、血中Argが16mg/dlと上昇していることを見出された。患児がスクリーニングを受けた時期には、cut off pointが8mg/dlに設定されており、結果は陰性と判定された。保存してあった患児の沓紙血アミノ酸を再検したところ、Naylorらの方法では発育環が6mg/dl以下を示し、陰性と判定された。一方HPLC法では、Argが5.6mg/dlと、正常の2-3倍に上昇していた。

そこで、患児の赤血球arginase活性を測定したところ、その活性は正常対照の1/50以下と著しく低下しており、また、両親の活性は、対照の約50%を示していたので、本例を、arginase欠損症と診断した。

考 察

enzyme-multiple auxotroph法は、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(arginase欠損症)および高オルニチン血症を同時にスクリーニングする方法として報告された。しかし我々は、本法を行行際の至適条件について、すでに、昨年度報告し、本法は、尿素サイクル関連アミノ酸の血中濃度が10mg/dl以上を示す場合には、確実に、異常と判定できるが、その濃度が6mg/dl前後の場合には、その判定が極めて困難であり、診断時の血中Arg濃度が6mg/dl前後を示したarginase欠損症の1例は²⁾、本法のみでは診断不可能であったことをすでに昨年度の本研究班で明らかにした。

今回経験した症例は明らかな臨床症状が出現する以前に、偶然の機会から血中Argの高値が見出され、我々に赤血球arginase活性の測定を依頼された症例である。この症例は、新生児期に尿素サイクル代謝異常症のスクリーニングを受けており、その時は正常と判定されていた。そこで、保存してあった患児の沓紙血液を用いて、改めてNaylorらの方法を行ったところ、今回も、陰性と判定され、HPLCによる分析でもArg 5.6mg/dlとcut off point以下の値で

あった。このことから、アルギニン血症のスクリーニングを本法のみで行うことは極めて困難であると考えられた。

また、約23万人の新生児について pilot study を行った結果では、上述の1例以外には、先天性尿素サイクル代謝異常症の患者は1例も発見できず、わが国における尿素サイクル代謝異常症の頻度はそれほど高くはないと考えられる。しかし、我々が調べた範囲では、過去10年間に34例の尿素サイクル代謝異常症が報告されており、そのうちの約70%が、OTC欠損症とCPS欠損症で、本法ではスクリーニングが不可能な病型で、治療が極めて困難な症例が多いが、中には、軽症型で食事療法により症状が改善した報告例もある。また、報告例が34例と云うことは、正しく診断されずに原因不明の新生児死亡として扱われた症例が存在する可能性もあり、わが国における尿素サイクル代謝異常症の頻度については、まだ、不明な点が多い。また、最近では、尿素サイクル代謝異常症に対する治療の試みの報告も多い。従って、何らかの方法で尿素サイクル代謝異常症のスクリーニングを行うことが必要と考えられるが、前述のように本法で見逃された症例も存在するので、本法のみによるスクリーニングは不適當であり、今後、より良い方法を開発する必要があると考えられた。

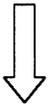
文 献

- 1) Henry, W. et al : A Neonatal screening test for argininosuccinic acid lyase deficiency and other urea cycle disorders. Pediatrics, 70, 526, 1982.
- 2) Sakiyama, T. et al : A successful trial of enzyme replacement therapy in a case of argininemia. Tohoku J. exp. Med 142, 239, 1984.





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

濾紙血液中の尿素サイクル関連アミノ酸, 即ち, シトルリン(Cit), アルギニン(Arg), オルニチン(Orn)を測定し, 同時に, アルギニノコハク酸分解酵素(ASAlyase)活性を測定して 4 種類の先天性尿素サイクル代謝異常症をスクリーニングする Naylor らの方法 1)の有用性について検討するとともに, 尿素サイクル代謝異常症を新生児マス.スクリーニングの対象とすることが妥当か否かを検討することが本研究の目的である。