

# 尿中オロット酸排泄量正常値の検討

高柳 正樹, 小倉成美子, 中島 博徳  
千葉大学医学部 小児科学教室

## 研究目的

尿中オロット酸は, 高アンモニア血症をきたす疾患のうちで, オルニチントランスカルバミラーゼ欠乏症, シトルリン血症, アルギニン血症, リジン尿性タンパク不耐症などでその排泄量が増加する。これら疾患は高アンモニア血症を示す症例中半数以上も占め, 尿中オロット酸にて高アンモニア血症をスクリーニングする事は, 非常に有用であると思われる。前回我々は高速液体クロマトグラフィーによる, 尿中オロット酸測定法を報告したが, この方法では感度が低く, 正常排泄量を検討する事は無理があった。そこで今回我々はAdachiの方法に準じた比色法及びガスクロマトグラフィー質量分析機を用いた方法 (GCMS法)により尿中オロット酸排泄量正常値を検討したので報告する。

## 研究方法

対象は比色法では, 0才-3才の小児14例, GCMS法では3カ月-6カ月の乳児9例とした。

比色法はAdachiらの還元比色法を用いた。〔表1〕

この方法では尿に含まれるアミノ酸などが barbiturate の吸光度に影響を与え, 真の値より高値に出るとされる。<sup>3)</sup> このため前処理として尿をイオン交換樹脂 (Dowex 1×8 Cl<sup>-</sup>型) を通し, 検体とした。(表1) 前処理における回収率を<sup>14</sup>Cオロット酸を用い, 同時に測定し, これにより測定値を補正し, 尿中オロット酸値とした。

GCMS法は Multiple ion detector 法 (MID法) を用い測定した。ガスクロマト質量分析機は日立80B, データ処理は日立M003を用いた。検体は比色法と同じ前処理法にて調整し, TRI-SIL<sup>®</sup>/BSA Formula P にて TMS化し, ガスクロマトグラフィーにかけた。

尿のDowex 1×8 Cl<sup>-</sup>型 カラムによる前処理法

尿 5 ml

↓

pHを7に調整

↓

Dewex 1 ギ酸 1 ml カラムにアプライ

↓

0.055 N アンモニアギ酸 13 ml

↓

1 N ギ酸 7 ml

↓

2 N HCl 5 ml

↓

濃縮

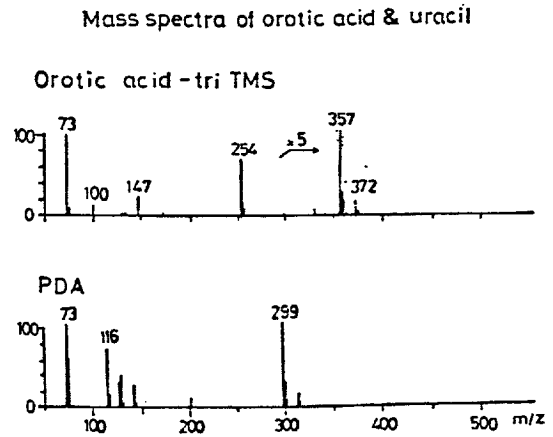
↓

クエン酸 buffer 2 ml で溶解

↓

Adachiらの還元比色法で測定

カラムは3% OV-17 温温度は205 °Cに2分保持し、8 °C/分で 240 °Cまで昇温した。内部標準は安定同位元素でラベルされたオロット酸が入手できなかったため Pentadeconoic acid (PDA) を用いた。図1にオロット酸とPDAのマススペクトラ(バーグラフ)を示す。検出 $m/z$ はオロット酸は357, PDAは299とした。



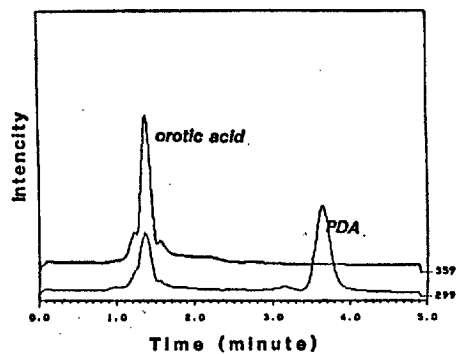
〔図1〕

### 研 究 結 果

比色法による結果は以下のとおりである。イオン交換樹脂による前処理における回収率は81%~96%であった。前処理を行った検体と行わない検体では、後者が+23%~+96%と高値を示した。尿中オロット酸は0才~3才の14例では trace ~ 7.76  $\mu\text{mol/L}$  (平均3.85  $\mu\text{mol/L}$ ), trace ~ 85.3  $\mu\text{mol/g creatinine}$  (平均36.2  $\mu\text{mol/g creatinine}$ )であった。

GCMS法による測定例を図2に例示する。オロット酸濃度はオロット酸のピーク面積とPDAのピーク面積との比により、既知濃度のオロット酸より作製した標準曲線を用いて算出した。GCMS法による尿中オロット酸は0.61~20.6  $\mu\text{mol/L}$  (平均5.93  $\mu\text{mol/L}$ ), 6.87~187.27  $\mu\text{mol/g creatinine}$  (平均48.60  $\mu\text{mol/g creatinine}$ )であった。

Mass-fragmentgram of sample urine.



〔図2〕

## 考 按

マススクリーニングを行う上で、カットオフポイントを決定する事は重要な事である。そのためには正常尿中排泄量を検討する必要がある。従来行われてきたAdachiらの還元比色法による測定法には、尿中の反応促進及び阻害物質の存在が知られている。このため今回我々は前処理としてイオン交換樹脂を通し、これら物質を除きオロット酸を測定した。GCMSを用いMID法により測定を行う際には安定同位元素でラベルされた標品を内部標準として使用する事が通常である。我々は内部標準としてPDAを用いたため、前処理での回収率及びTMS化における効率差などを完全に補正できていないと思われる。今後ぜひ安定同位元素でラベルされたオロット酸を入手し測定したいと考えている。

以上の結果から一応カットオフポイントとしては $10 \mu\text{mol} / \text{L}$ ,  $100 \mu\text{mol} / \text{g}_{\text{creatinine}}$ を用いるのが妥当と思われるが、今後症例をさらに加え検討したいと考える。

## 文 献

- 1) Bachmann, C. and Colombo, J.P.: Diagnostic value of orotic acid excretion in heritable disorders of the urea cycle and in hyperammonemia due to organic acidurias. Eur. J. Pediatr., 134:109, 1980.
- 2) 小倉成美子, 柿沼 宏明, 大竹 明, 高柳 正樹, 中島 博徳, 西牟田敏之:  
高アンモニア血症における尿中オロット酸排泄量の検討  
日本小児科学会誌 88:1936-1942 (1984)
- 3) Kesner, L., Aronson, F. L., Silverman, M. and Chan, P.C.:  
Determination of orotic acid and dihydroorotic acid in  
biological fluids and tissues. Clin. Chem., 21:353, 1975.



## 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

尿中オロト酸は、高アンモニア血症をきたす疾患のうちで、オルニチントランスカルバミラーゼ欠乏症、シトルリン血症、アルギニン血症、リジン尿性タンパク不耐症などでその排泄量が増加する。これら疾患は高アンモニア血症を示す症例中半数以上も占め、尿中オロト酸にて局アンモニア血症をスクリーニングする事は、非常に有用であると思われる。前回我々は高速液体クロマトグラフィーによる、尿中オロト酸測定法を報告したが、この方法では感度が低く、正常排泄量を検討する事は無理があった。そこで今回我々は Adachi の方法に準じた比色法及びガスクロマトグラフィー質量分析機を用いた方法(GCMS 法)により尿中オロト酸排泄量正常値を検討したので報告する。