

昭和 63 年度厚生省心身障害研究  
「マススクリーニングに関する研究」

EMA 法による尿素サイクル代謝異常症マススクリーニング

(分担研究: マススクリーニング施行中に新しく派生した諸問題の検討)

長谷 豊\*, 山本裕子\*\*, 大浦敏明 \*\*\*

**要約** Enzyme-multiple auxotroph assay 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結果を報告し、発見された症例について検討を加えた。5年間に約 18 万 6 千人の新生児をスクリーニングし、アルギニノコハク酸分解酵素活性低下例 17 例（うち 16 例は ASA 尿症 heterozygote）を発見した。本法は鋭敏で有用なスクリーニング法であるが、すべての尿素サイクル代謝異常症をカバーすることはできず、今後更に検討を加えるべきと考える。

**見出し語** 尿素サイクル代謝異常症、Enzyme-multiple auxotroph assay、アルギニノコハク酸尿症、マススクリーニング

**研究方法** 尿素サイクル代謝異常症のスクリーニング法として Talbot ら<sup>1)</sup> により開発された Enzyme-multiple auxotroph assay (以下 EMA 法) は、血中アルギニン(Arg.)、オルニチン(Orn.)、シトルリン(Cit.)の各アミノ酸の增量と、赤血球アルギニノコハク酸分解酵素(ASA lyase)活性の低下を 1 枚のプレートで検査することができるユニークな方法である。我々は大阪市において 1983 年以降この方法を用いて尿素サイクル代謝異常症の新生児マススクリーニングを行っている。<sup>2)</sup> 血液済紙は現行のマススクリーニングのために採血したものを使い、測定法は Talbot らの方法に準じたが、プレート条件の安定のために塩化カルシウムを添加した。

プレートは染色せず生のまま判定し、アミノ酸の增量については 0 nm. の 6 μg/dl を cut-off point とした。発育環がこれより大きい場合は薄層クロマトグラフィーまたは高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で血中アミノ酸の定量を行った。発育環が非常に小さい例に対しては尿の送付を依頼し、HPLC により尿中アミノ酸分析を行い、ASA の増加を認めた例については赤血球 ASA lyase 活性を Krzyzek<sup>3)</sup> らの方法に準じて測定した。

**結果** 表 1 に 5 年間のスクリーニング結果を示す。検査総数は 185,777 件で、肝障害による一過性シトルリン血症 1 例と ASA lyase 活性低下例 17 例が発見された。

\* 大阪市立小児保健センター (Children's Medical Center of Osaka City)

\*\* 大阪市更生療育センター (Osaka Municipal Rehabilitation Center for the Disabled)

表 1

## Results of Urea Cycle Disorder Screening by Enzyme Multiple Auxotroph Assay

Total Number Screened : 185,777  
(83, Feb. ~ 88, Jul.)

Cases Detected : 17 (Defective ASA-lyase Activity)  
1 (Transient Citrullinemia)

		Growth Zone Diameter 15 mm or smaller		Growth Zone Diameter 25 mm or bigger		G.Z. inhibited by Antibiotics	Total (%)
Method		EMA*	EMA & TLC or HPLC	EMA	TLC or HPLC		
Re-test		576	64	1167	201	2710 (1.46)	4718 (2.54)
	Total (%)	640 (0.34)		1368 (0.736)			
Re-call		114	8	79	17	75 (0.040)	293 (0.158)
	Total (%)	122 (0.066)		96 (0.052)			
Urinary Amino Acid Analysis		28	0	0	0	0	28 (0.015)
Diagnosis confirmed		17**	0	0	1***	0	18 (0.010)

\* enzyme-multiple auxotroph assay

\*\* defective ASA-lyase activity (argininosuccinic aciduria)

\*\*\* transient citrullinemia.

ASA lyase 活性低下例については発端者、両親、同胞の赤血球ASA lyase活性測定と尿のアミノ酸測定を行い、4例では髄液のアミノ

酸分析も施行した（表2、表3）。症例1の赤血球ASA lyase活性は測定感度以下であり、両親の酵素活性はいずれもコントロールの30数パーセントの低値で、従って症例1はASA尿症患者と考えられた。他の16例のASA lyase

表 2  
ASAlase activity in erythrocyte  
(% of control)

Case	Proband	Father	Mother	Sibling
1	0	33.8	35.2	-
2	7.7	21.9	87.0	-
3	20.7	88.3	48.3	28.5
4*	27.8	93.2	12.8	15.0
5	39.6	40.9	142.5	-
6	12.8	61.1	124.9	22.8
7	53.4	62.4	215.9	-
8	27.7	197.0	60.3	-
9	50.8	81.1	33.6	-
10	13.1	86.9	137.7	-
11	13.8	25.0	116.7	17.8
12	11.9	28.7	113.1	-
13	8.1	72.5	42.6	-
14*	23.5	11.1	98.9	96.7
15	34.1	110.4	83.9	N.E.
16	17.7	120.2	17.7	86.9
17	16.5	77.7	47.5	-

\* first cousin

N.E. : not examined

表 3  
ASA in urine and CSF

Case	Proband	Urine (μg/mg Cr.)			CSF (mg/dl)
		Father	Mother	Sibling	
1	233.3	13.1	15.1	-	0.22
2	327.6	15.1	28.2	-	0.27
3	68.5	18.8	29.3	N.E.	N.D.
4*	84.3	5.5	26.0	31.9	N.D.
5	98.6	N.E.	N.E.	-	N.E.
6	589.0	13.1	8.6	366.4	N.E.
7	131.8	N.E.	N.E.	-	N.E.
8	164.8	N.E.	N.E.	-	N.E.
9	118.1	N.E.	N.E.	-	N.E.
10	92.5	7.2	9.6	-	N.E.
11	333.3	N.E.	N.E.	52.0	N.E.
12	64.5	N.E.	N.E.	-	N.E.
13	194.4	N.D.	N.D.	-	N.E.
14*	92.0	N.E.	N.E.	54.5	N.E.
15	66.8	N.E.	N.E.	N.E.	N.E.
16	51.9	N.D.	N.D.	N.D.	N.E.
17	40.3	N.E.	N.E.	-	N.E.

\* first cousin

N.E. : not examined

N.D. : not detected

活性はコントロールの7.7%から53.4%の範囲にあり、両親の一方は正常の酵素活性を有していたため、ASA尿症の heterozygote と考えられた。症例1はArg.投与と蛋白制限による治療を行っており、高アンモニア血症や肝障害を示したことではなく正常発達を遂げている。他の16例は一部Arg.投与を行った例もあるがほぼ無治療で経過観察している。

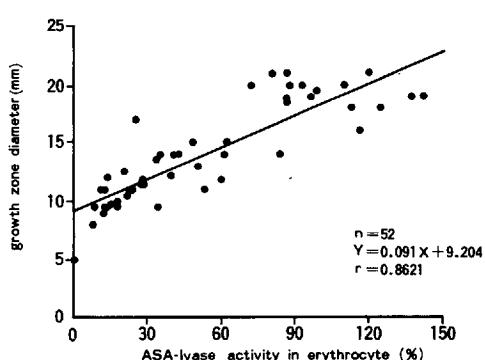
赤血球ASA lyase活性とEMA法における発育環の直径との間には図に示すとく直径23mmまで有意の正の相関が認められ、相関係数は0.8621であった。

考察 5年間のスクリーニングで発見された患者はASA尿症の1例のみで、18万人に1人という低い頻度であった。しかし heterozygote と考えられる16例の中にもASA lyse活性が10%前後の低値を示すものがあり、その中の1例では髄液中にASAが検出された。これらの症例については heterozygote といえども厳重な経過観察が必要であろう。患者か否かを判定

するには両親の酵素活性測定が不可欠と考えられるが、赤血球ASA lyase活性は正常成人、heterozygoteともきわめて個体差が大きく、酵素活性のみから正常と heterozygote を区別するのが困難な場合も予想される。従って発端者を患者でないと判定するのにも慎重であるべきだろう。

EMA法は尿素サイクル代謝異常症のスクリーニング法として有用であるが、Arg.についてはその発育環が希薄なため軽度の増量を見逃す恐れがある。Naylorらのアルギナーゼ活性を検査する蛍光法を併用すればこの欠点は補うことができる。また本法は尿素サイクル代謝異常症の中で最も頻度の高いOTC欠損症や、CPS欠損症を発見することはできず、さらに新生児期早期に急性発症する病型には適応できないという恨みがある。これらの疾患については別の方法での早期発見をはかることが必要であろう。

図 赤血球ASA lyase活性とEMA法における発育環直径との相関



#### 文献

- 1) Talbot HW et al. (1982)  
Pediatrics 70:526
- 2) 大浦敏明ら、(1986) 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。317
- 3) Krzyzek RA et al. (1976)  
J Bacteriol 126:348



## 検索用テキスト OCR(光学的文書認識)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



要約 Enzyme-multiple auxotroph assay による先天性尿素サイクル代謝異常症のマスククリーニング結果を報告し、発見された症例について検討を加えた。5年間に約18万6千人の新生児をスクリーニングし、アルギニノコハク酸分解酵素活性低下例 17 例(うち 16 例は ASA 尿症 heterozygote)を発見した。本法は鋭敏で有用なスクリーニング法であるが、すべての尿素サイクル代謝異常症をカバーしすることはできず、今後更に検討を加えるべきと考える。