

濾紙血を用いるメチルマロン酸血症スクリーニング法

(分担研究：マススクリーニングの新しい対象疾患とその
実施年齢およびスクリーニング法に関する研究)

多田 啓也¹⁾、大浦 敏博¹⁾、成澤 邦明²⁾
沖村 容子³⁾

要約：メチルマロン酸血症は有機酸代謝異常症の中でもっとも頻度の多い疾患であり、重症型では新生児期にアシドーシス、高アンモニア血症で死亡する。ビタミンB₁₂投与や食事療法による治療が可能であり早期発見、早期治療が望まれる疾患である。我々は、水嶋ら¹⁾の方法に従い乾燥濾紙血液中のメチルマロン酸を測定しスクリーニングへ応用可能か検討した。メチルマロン酸の標準曲線は1～100 mg/dl まで直線性を示し、測定感度は1 mg/dlであった。552例の正常新生児について測定したところ99.5%が測定感度以下を示した。患者血液中のメチルマロン酸濃度は2.6～34 mg/dl と言われており本法で十分発見可能であると考えられた。またこの測定法は簡便でコストがかからないのでマススクリーニングへ応用可能であると考えられた。

見出し語：メチルマロン酸血症、濾紙血液、マススクリーニング

研究方法：乾燥濾紙血液より3 mm ディスク1枚を切り取り、10 μ l のメタノール：アセトン：水混液（35：35：10）を加え37度、30分で乾固した。次に蒸留水100 μ l を加え15分間振盪した後その上清80 μ l を平底プレートに移した。この上清に2%酢酸含有エタノール100 μ l、5% fast blue B (Sigma:

D-3502) 溶液50 μ l を加え、遮光下25度で30分放置した後575/660 nm での吸光度をマイクロプレートリーダーで測定した。ヘマトクリット値を約50%に調整した血液にメチルマロン酸を添加し2.5、10、20 mg/dl としたものをスタンダードに用いた。スクリーニングの対象は、生後4～7日に採血された代

東北大学医学部小児科¹⁾、病態代謝学²⁾、宮城県環境保健センター³⁾
(Dept. of Pediatrics & Biochemical Genetics, (Miyagi Prefectural Institute of Public Health and Environment)
Tohoku University, Medical School)

謝異常検査用の新生児乾燥濾紙血液とした。

結果：上記の条件におけるメチルマロン酸の標準曲線は0～100mg/dlまで直線性を示し、測定感度は1mg/dlである。5、10、20mg/dlのサンプルについて8点測定した測定内変動はそれぞれ15.4、9.9、8.9%であり、8.6、16.6mg/dlのサンプルで測定した測定間変動はそれぞれ4.2、8.5%であり若干のばらつきが認められたが、許容範囲であると考えられた。正常新生児552例について測定した結果では、549例(99.5%)が測定感度以下(1mg/dl以下)であった。残り2例は2mg/dl、1例は4mg/dlであったが再検で1mg/dl以下と判明した。次に現在治療を受けているメチルマロン酸血症患者13例について測定した。大部分(9例)の患者は血中メチルマロン酸5mg/dl以下とコントロール良好であったが、2例の患者は10mg/dl以上であり、より厳密な治療が必要と考えられた。

考察：メチルマロン酸血症はメチルマロニルCoA ムターゼのアポ酵素及び補酵素であるコバラミンの代謝異常にもとづく疾患で、現在少なくとも7種の病型に分類されている。また、臨床的にはビタミンB₁₂に反応性のものと、非反応性のものに大別される。本症は多くの場合新生児期早期より代謝性アシドーシス、高アンモニア血症、脱水、意識障害などで発症し適切な治療がなされないと重篤な後遺症を残したり、死亡したりするが、早期に発見し食事療法や、ビタミンB₁₂投与などの治療がなされれば正常と同じ発達が期待できることが知られている。また、本症は、有機酸代謝異常症の中ではもっとも頻度の多い

疾患であり、マサチューセッツ州のスクリーニングプログラムの成績²⁾では、発症率は48,000人に1人と報告されている。我々がおこなった国内調査³⁾でも、昭和51年から59年に経験した有機酸代謝異常症128例のうち42例がメチルマロン酸血症ともっとも多く、その頻度はおよそ260,000人に1人と推定されている。このように本症は比較的頻度の高いこと、食事療法やビタミンB₁₂投与により治療可能であることよりマススクリーニングの実施が望まれていた。しかし、有機酸血症の従来のスクリーニング法は、ガスクロマトグラフィー分析法を用いる為コストが高額でありスクリーニングをおこなううえで障害となっていた。この点、fast blue Bを用いる本法は、安価でしかも簡便である為スクリーニング法として有用であると考えられた。測定感度は1mg/dlであり、メチルマロン酸血症患者血液中のメチルマロン酸濃度は2.6～34mg/dlの範囲といわれているので、本法を用いることにより十分発見可能であると考えられた。

文 献

- 1) 水嶋好清ら：乾燥濾紙血液によるメチルマロン酸血症のマススクリーニング法の検討：第18回日本マススクリーニング学会、抄録集、50、1990。
- 2) 多田啓也：有機酸代謝異常症の全国調査：厚生省心身障害研究 マススクリーニングに関する研究、昭和59年度研究報告書 68-71。
- 3) Coulombe, JT et al : Massachusetts Metabolic Disorders Screening Program. II. Methylmalonic Aciduria : Pediatrics 26-31, 1981。

Abstract

Screening for Methylmalonic Acidemia using Dried Blood Spot

Keiya Tada, Toshihiro Ohura

Department of Pediatrics, Tohoku University

School of Medicine

Kuniaki Narisawa

Department of Biochemical Genetics,

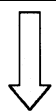
Tohoku University School of Medicine

Yoko Okimura

Miyagi Prefectural Institute of

Public Health and Environment

We evaluated a neonatal screening procedure for methylmalonic acidemia with dried blood specimen collected on the filter paper. Methylmalonic acid concentration in dried blood specimen was measured by colorimetric assay using fast blue B reagent. The absorbance at 575/660 nm was linear with an increase of methylmalonic acid concentration up to 100 mg/dl. This method is sensitive and detected as little as 1.0 mg/dl of methylmalonic acid. This simple assay method could be applicable to newborn screening program for methylmalonic acidemia.



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



要約:メチルマロン酸血症は有機酸代謝異常症の中でもっとも頻度の多い疾患であり、重症型では新生児期にアシドーシス、高アンモニア血症で死亡する。ビタミン B12 投与や食事療法による治療が可能であり早期発見、早期治療が望まれる疾患である。我々は、水嶋らの方法に従い乾燥濾紙血液中のメチルマロン酸を測定しスクリーニングへ応用可能か検討した。メチルマロン酸の標準曲線は 1~100mg/dl まで直線性を示し、測定感度は 1mg/dl であった。552 例の正常新生児について測定したところ 99.5%が測定感度以下を示した。患者血液中のメチルマロン酸濃度は 2.6~34mg/dl と言われており本法で十分発見可能であると考えられた。またこの測定法は簡便でコストがかからないのでマススクリーニングへ応用可能であると考えられた。