

分担研究：効果的なマススクリーニング事業の実施に関する研究

GC/MSを用いた代謝異常スクリーニング：効果的な新生児マススクリーニング支援

研究要旨

我々は島根県において、GC/MSを用いる新生児マススクリーニングの試験研究を行い、2年8ヶ月間に3368例をスクリーニングした。このうちガスリーテスト（+ペイゲン）で一過性の異常が指摘された例が10例あった。一過性ガラクトース血症の8例中3例がGC/MSでも高ガラクトース尿が検出されたが、新生児期には異常は検出されなかった。高Phe血症ではGC/MS法で尿中Phe高値が検出され、タンデムマスによる血液ろ紙の分析でもPhe高値が検出された。マススクリーニング法として、タンデムマスは現行の血液ろ紙を使用できること、コストが安いなどの利点がある。しかし、診断の感度については検討の余地がある。GC/MS法は分析情報が多く、診断の感度もほぼ確立されている。しかし、コストがやや高く、尿を用いる新しい搬送体制を作らなければならない。各々の特性を生かした新生児マススクリーニング支援体制作りを進めるべきである。

研究協力者

山口清次、木村正彦、伊賀三佐子、  
付曉巍、和田真紀

(島根医科大学小児科)

/TMS化法)でGC/MS分析した。

2) 再検査できた症例の検討

新生児期に一過性に異常のみられた症例で、生後1ヶ月検診で再検査できた症例について分析結果を検討した。

3) 現行の新生児マススクリーニング結果との比較  
ガスリーテスト・ペイゲン法で新生児期に異常の検出された新生児について、我々のおこなった試験研究のデータを比較した。

4) 最近経験した高フェニルアラニン血症例の検討  
高フェニルアラニン血症の1例を最近経験した。この症例について、ガスリー法、GC/MS法およびタンデムマス法で分析してスクリーニングの感度を比較検討した。

研究目的

私達は1996年5月から島根県の4つ地方の主要な病院で出生する新生児を対象に、GC/MSを用いた新しい新生児マススクリーニングの試験研究を行っている。マススクリーニング法として、タンデムマス法とGC/MS法が検討されている。我々はGC/MS法を用いて試験研究を進めている。2つの新しいスクリーニング法のそれぞれの特性を生かして、新生児マススクリーニング支援体制作りを進めるべきである。マススクリーニング法として、タンデムマス法とGC/MS法が検討されている。我々はGC/MS法を用いて試験研究を進めている。2つの新しいスクリーニング法のそれぞれの特性を生かして、新生児マススクリーニング支援体制作りを進めるべきである。本試験研究の意義を検討するために、スクリーニング結果の検討、再検した例の結果、および現行の新生児マススクリーニング結果との比較を行った。

研究結果

1) スクリーニング試験研究結果

1996年5月～1998年12月の期間内(2年8ヶ月)に3368例の新生児をスクリーニングした。表1に示すように、明らかな先天代謝異常症は発見されていない。しかし、3368例中167例(4.9%)に新生児期一過性の異常と思われる所見がみられた。内容は、tyrosyluria(4-OH-phenyllactateの上昇)、3-hydroxy-3-methylglutaric acid上昇、およびgalactosuriaの3つが最も多かった。

新生児期一過性異常所見は出生体重の小さいものほど頻度の高い傾向がみられた。

2) 再検査できた症例の検討

新生児期に一過性に異常のみられた症例で、生後1ヶ月検診で再検査できた症例が18例あった(tyrosyluria 7例、galactosuria 6例、その他

研究対象および方法

1) 対象と分析方法

1996年5月～1998年12月の期間内に島根県の4つの地方の主要な病院(松江赤十字病院、島根医科大学、江津済生会病院、益田赤十字病院)で出生した新生児および新生児医療施設に収容された新生児の尿を既報の方法(ウレアーゼ処理/直接乾燥

4-hydroxyphenylacetate上昇、分枝アミノ酸上昇、glyceric acid上昇、glycerol上昇、

3-hydroxybutyric acid上昇、5-oxoprolin上昇の各1例)。18例全例が生後1ヶ月の再検では正常プロフィールを示した。

3) 現行の新生児マススクリーニング結果との比較  
ガスリーテスト・ペイゲン法で新生児期に異常の検出された新生児のうち、試験研究の対象となっていた新生児は10例あった。内訳は、galactosuria 8例、およびphenylalanine (10mg/dl) 1例、methionine (2mg/dl) 1例があった。このうち、GC/MSによる尿分析でも異常が指摘されていたのは、galactosuria 8例中3例であった。この他の新生児では検査時期がちがっていた要因が考えられる。ガスリーテストは生後5日に行われたのに対し、試験研究では生後2、3日に採尿していることが多かった。

4) 最近経験した高フェニルアラニン血症例の検討  
高フェニルアラニン血症の1例を最近経験した。この症例は在胎38週、出生体重2998gにて正常分娩で出生し、特別な臨床症状はない。生後5日にガスリーテストでフェニルアラニン(Phe) 10mg/dlを指摘された。表2に示すように、ガスリーテストでは生後5日Phe 10 (mg/dl)、生後12日Phe10、生後30日Phe10、および食事療法をはじめた生後47日にはPhe 2であった。タンデムマスによる血液ろ紙の分析では(福井医大小児科、重松陽介先生)、生後5日Phe 8.5 (mg/dl)、生後30日Phe 6.7であった。一方GC/MSによる尿分析では、生後2日は正常であったが、生後28日Phe 10.31nmol/mg Creat、生後30日Phe 30.36、生後48日Phe 4.01であった。生後2日の分析は、時期が早すぎた可能性がある。しかし生後28日以降には正常の10~30倍のPheを認めた。すなわち、ガスリーテストで、Phe 10程度あれば、タンデムマスによる血液ろ紙でも、GC/MSによる尿分析でも異常は検出されると思われる。

#### 考察

アミノ酸、有機酸代謝異常の新しい新生児マススクリーニング法として、タンデムマスによる方法と

GC/MSによる方法が検討されている。今回の研究結果をふまえて、この2つの方法を比較したい。

表3に示すように、タンデムマス法では、検体として血液ろ紙が使えるので、現行のガスリーテストの検体搬送システムをそのまま利用でき得るメリットがある。分析時間は1検体あたり2分、前処理は約2時間で、理論的には1台の機器で1日400~500検体の分析が可能であり、コストが安い。しかしタンデムマスの設備は現在5000万~8000万円程度かかり初期投資が高くつく。また分析情報は分子量のみであり、限られた情報のみである。診断感度はGC/MSで不十分な脂肪酸代謝異常症の診断が可能ないメリットがあるが、有機酸代謝異常、アミノ酸代謝異常、脂肪酸代謝異常にしてもその診断感度はまだ十分に確立していないので、検討の余地がある。

一方GC/MS法では、検体として尿が用いられるので、マススクリーニングとする場合、現行のガスリーテストの血液ろ紙以外の新たな検体搬送システムを作る必要がある。分析時間は20~30分、前処理2時間で理論的には1台の機器で1日40検体程度の分析が可能である。従って1検体当たりのコストはやや高くなる。しかしGC/MS設備は現在約1000万円程度で購入できるので初期投資が安く、数台設置してスクリーニングすることも可能である。GC/MSの分析情報は非常に多く、診断のみならず病態解析にも役立つ、治療効果、追跡等にも威力を発揮する。GC/MSの診断感度は、有機酸代謝異常に関してはほぼ確立しているが、脂肪酸代謝異常、アミノ酸代謝異常に関しては検討が必要である。

現時点では以上の2つの方法が世界的に検討されている。それぞれの特性を生かした新生児マススクリーニングの支援体制作りを進めてゆくべきである。

#### 結論

マススクリーニング法として、タンデムマス法とGC/MS法が検討されている。我々はGC/MS法を用いて試験研究を進めている。2つの新しいスクリーニング法のそれぞれの特性を生かして、新生児マススクリーニング支援体制作りを進めるべきである。

表1. GC / MSによるマススクリーニング結果 (1996.5~1998.12.)

	Total	Birth weight (g)			
		~ 1499	1500 ~ 2499	2500 ~ 3999	4000 ~
Defined inborn error	0				
Transient elevation					
4-OH-phenyllactate	63	5	19	39	0
3-OH-methyl-glutarate	36	0	1	35	0
Galactose	31	3	6	22	0
5-Oxoproline	7	0	1	6	0
Uracil	5	0	0	5	0
Glycerol	4	1	1	2	0
3-OH-Butric	4	0	0	4	0
Methylmalonate	3	0	0	3	0
3-OH-propionate	3	0	1	2	0
Glutamine	2	0	0	2	0
3-OH-isovalerate	2	0	1	1	0
Glucose-3-phospharate	2	0	0	2	0
Orotic	1	0	0	1	0
Threonine	1	0	0	1	0
Branched amino acids	3	0	0	3	0
<b>Total</b>	<b>167/3368</b> (4.9%)	<b>9/51</b> (17.6%)	<b>30/375</b> (8.0%)	<b>128/2917</b> (4.4%)	<b>0/25</b> (0.0%)

表2. ガスリ - テストで発見された高フェニルアラニン血症

ガスリ - (血液濾紙) mg/dl	GC/MS (尿濾紙) nmol/mg Cr	タンデムマス (血液濾紙) mg/dl
10 (日令5)	n.d. (日令2)	8.5 (日令5)
10 (日令12)	10.31 (日令28)	
10 (日令30)	30.36 (日令30)	6.7 (日令30)
<2 (日令47)	4.01 (日令48)	
対照 <2	0.00~2.53 (mean 1.03)	0.9

表3. 2つのスクリーニング法の比較

	タンデムマス法	GC/MS (ウレア - ゼ/直接乾燥法)
検体	血液ろ紙	尿, 尿ろ紙
分析時間	2分	20分
前処理時間	2時間	2時間
一日処理数	400検体/日	40検体/日
コスト	安価	やや高い
設備	高価	比較的安価
分析情報量		
感度		
有機酸代謝異常	?	
脂肪酸代謝異常	?	
アミノ酸代謝異常	?	