

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

HPLC短時間法の新生児スクリーニングへの応用

- 第2報 -

研究要旨

HPLC短時間法の新生児スクリーニングへの応用について、研究協力施設を増やして検討するとともに、現在アミノ酸代謝異常症の2次スクリーニングに使用されている方法、HPLC法の1次スクリーニングへの導入の可能性について、マス・スクリーニング学会技術部会において調査した。

昨年度、すでに報告したように、HPLC法とGuthrie法によるアミノ酸（Phe, Leu, Met）測定結果には良好な相関が認められ、HPLC法の信頼性が確認された。一方、現在我が国で新生児スクリーニングを担当している52施設では、アミノ酸のスクリーニング法に46施設がGuthrie法を使用しており、2次スクリーニングとして20施設でHPLCが使用され、近い将来、HPLCを導入予定との回答が22施設から寄せられた。以上の結果から、HPLC法は、我が国における新生児マス・スクリーニングにおいて、1次スクリーニング法として十分使用可能と結論される。

研究協力者

大和田操 (日本大学小児科)
福土勝 (札幌市衛生研究所)
鈴木健 (東京都予防医学協会)

研究目的

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）法が先天性アミノ酸代謝異常症の新生児マス・スクリーニングにおいて一次スクリーニング法として使用可能か否かを検討することが本研究の目的である。本研究は日本マス・スクリーニング学会技術部会で組織した液体クロマトグラフィー研究会のメンバーによって数年前から試みられ、昨年度から、厚生科学研究費の助成を受けることになり、それまでの成果については平成10年度の研究報告書に報告されている。

研究方法

1) 濾紙血中アミノ酸の測定

新生児マス・スクリーニングを担当している検査機関11施設において、昨年度に引き続き濾紙血中Phe, Leu, MetをHPLC法、Guthrie法、酵素プレート法によって分析した。HPLC法では、各施設において表1に示す機種と分析条件が使用され、3種の方法の相関について検討した。また、本年度は、駿河台日大病院小児科のPKU患者51例から得られた計682検体の濾紙血および同時に採取した血清のPhe濃度を東京都予防医学協会ではHPLC法、Guthrie法、アミノ酸自動分析計を用いて測定し、比較した。更に、札幌市衛生研究所において標準濾紙血中Phe,

Leu, Met濃度をHPLC法とマイクロプレート酵素法（MFL）で測定し、その結果を比較した。

(2) 現行のスクリーニング方法の全国調査
現在一次スクリーニングに使用している方法、二次スクリーニングの方法およびスクリーニングへのHPLC法導入予定について、新生児マス・スクリーニングにかかわっている全国の52施設を対象とした調査を行った。

研究結果

昨年度および本年度の研究から得られた結果を以下に示す。

1. HPLC法、Guthrie法、酵素プレート法の比較
(1) HPLC法とGuthrie法の比較

PKU患者ののべ682回の濾紙血中Phe濃度の分析結果を、HPLC法とGuthrie法で比較すると図1のようになり、両者の相関は $r = 0.991$ と良好であった。また、同時に採取した血清Pheと濾紙血Phe濃度を、アミノ酸分析計とHPLC法で測定したところ、図2のようにその濃度は良く相関していた。

(2) HPLC法と酵素プレート法（MFL）の比較

HPLC法およびMFL法による濾紙血中LeuおよびPhe濃度の相関は、それぞれ $r = 0.869$, 0.780 , Metでは $r = 0.542$ であり、特にMetにおいて相関が良くない傾向が示された。またHPLC法とGuthrie法におけるPheの相関に比べ、HPLC法とMFL法との相関は劣っていた。

2. アミノ酸代謝異常症のスクリーニング方法に関する調査

全国52施設で1999年現在使用されているアミノ酸代謝異常症のスクリーニング方法に関するアンケート調査の結果を表2に示す。

スクリーニング開始20年余の現在でも、一次スクリーニングにはGuthrie法が広く用いられており、酵素プレート法を使用しているのは極く一部であった。

一方、HPLCは52施設中20施設において二次スクリーニングのために使用されており、22施設においてHPLCを導入する予定であることが示された。

考察および結論

昨年度の研究報告書において我々は、「HPLC法では3種のアミノ酸を同時に分析することが可能であり、如何なる検体数の分析においても適切な対応が可能のため、機器が高価な点が最大の欠点であるものの、施設の規模によっては、一次スクリーニングに充分使用可能である。」との結論を述べたが、本年度の調査によって、すでにかかなりの検査機関がHPLCを保有しており、導入予定も少なくないこ

と、マイクロプレート酵素法の分析能力は、HPLC法に比べて多少劣ることが明らかにされた。

このことから、HPLC法をアミノ酸代謝異常症の一次スクリーニングに使用することには何ら問題はなく、むしろ極めて有用な方法と結論されるものと考ええる。

【HPLC短時間法の検討協力機関】

札幌市衛生研究所

福島県衛生公害研究所

(財)東京都予防医学協会

東京都立衛生研究所

東京総合医学研究所

(財)愛知県健康づくり振興事業団

富山県衛生研究所

(財)大阪市環境保健協会

和歌山県衛生公害研究センター

(財)山口県予防保健協会

(財)化学及血清療法研究所

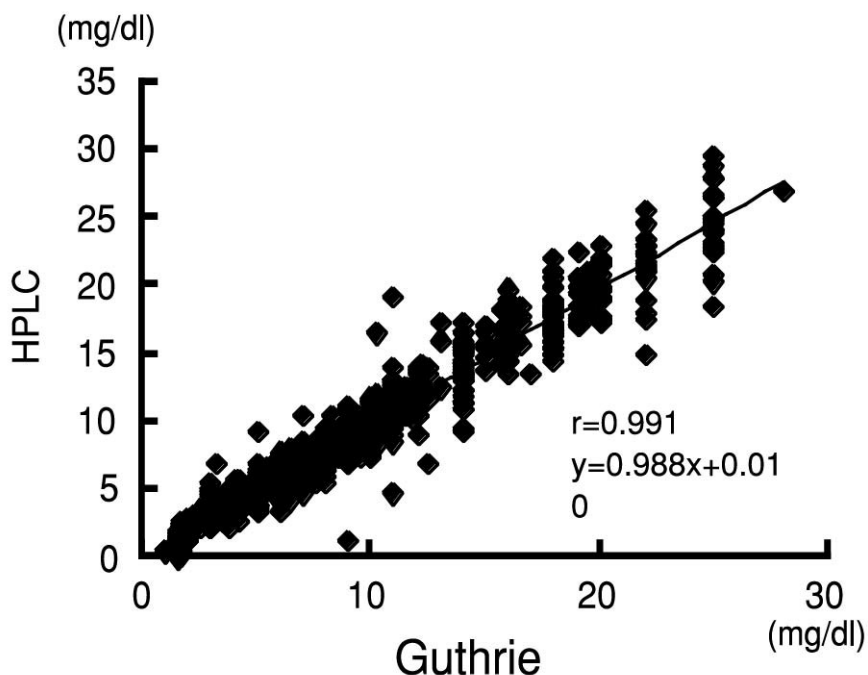


図 1. HPLC 法短時間および Guthrie 法における Phe 測定値の相関

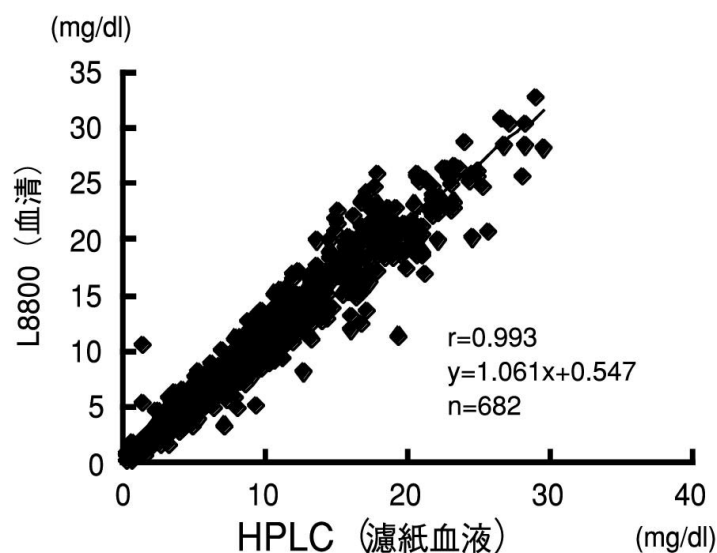


図 2. HPLC 法およびアミノ酸自動分析計における Phe 測定値の相関

表 1. 使用機種および分析条件

分析方法	機種	溶出	使用施設
ポストイオンカラム	日立	gradient	札幌,都衛,愛知 山口,化血研
ODSカラム法	日本分光・島津	isoclinal gradient	東予,大阪,福島 和歌山
プレラベルODS カラム法	Waters等	isoclinal gradient	富山 東京総合

表 2. アミノ酸代謝異常症の新生児スクリーニングに使用されている分析方法 (1999 年現在)

A. 一次スクリーニングに使用されている方法	
Guthrie法	46施設 (うち2施設はMetのみ)
酵素プレート法	6施設 (うち2施設はPhe,Leuのみ)
B. 二次検査に用いられる方法	
HPLC法	20施設
TLC法	4施設
C. HPLC法導入予定	
申請準備	6施設
申請予定	16施設
予定なし	10施設