

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

試験研究により，明らかになったGC/MS新生児代謝異常スクリーニングの長所と短所

研究要旨

現在，ガスリ－法にかわる新生児代謝異常スクリーニングとして質量分析法による試験研究が国の内外で施行されている。我々は，ガスクロマト/質量分析法による試験研究を1996年1月から1999年12月までの期間に16733名の新生児を対象に施行し，シトルリン血症1名，グリセロ－ルキナ－ゼ欠損症1名，オルニチントランスカルバミラ－ゼ欠損症1名，2－ケトアジピン酸尿症2名，神経芽細胞腫2名を発見することができた。他にも一過性チロジン血症を含む新生児期の一過性代謝異常を検出することができ，GC/MS法の有用性を証明することができた。しかし，血中のガラクト－スやアミノ酸上昇が見られない場合でも，尿中のガラクト－ス，ガラクト－ル，アミノ酸の増加がみられることがあり，尿をもちいるGC/MSスクリーニングが疾患によってはスクリーニング手段としては，不適切であると考えられた。また本法で神経芽細胞腫も発見されることが，実証されたが，新生児期の発見される神経芽細胞腫が多くの場合，予後良好であることを考慮すると，神経芽細胞腫を対象疾患とすることには疑義がある。このようなGC/MSスクリーニングの長所と短所をよく認識し，対象疾患をよく検討し，限定すれば，GC/MSによるスクリーニングにより，大きな成果をあげることができるものと考えられた。

研究協力者

吉田一郎，城後美佐，田代さとみ，田代恭子，
青木久美子，猪口隆洋，田中正敏
(久留米大学医学部GC/MS医学
応用研究施設、同小児科)
廣瀬伸一 (福岡大学医学部小児科)

研究目的

新生児の尿をもちいて，ガスクロマト/質量分析法（以下GC/MS法）による代謝異常スクリーニングを施行した。このスクリーニングで発見された代謝異常につき，スクリーニングする意味があるかどうかも含めて，GC/MS法の長所および短所について検討した。

研究方法

- 1) 新生児16733名につき，主に5～7生日の尿をもちいて，代謝異常の有無についてスクリーニングを施行した。採尿の対象とした地域は福岡県が主であるが佐賀県，大分県の一部も含んでいる。
- 2) 方法はShoemakerらの方法を松本らが，改良したウレア－ゼ法を用いた。

研究結果

新生児16733名中，シトルリン血症1名，グリセロールキナーゼ欠損症1名，オルニチントランスカルバミラ－ゼ欠損症1名，2－ケトアジピン酸尿症2

名，神経芽細胞腫2名，一過性高チロジン血症18名が発見された。一過性高チロジン血症以外の一過性代謝異常では3－ヒドロキシ酪酸の増加が32例，乳酸の増加が31例，HVA，VMAの増加が9例，ガラクト－スの増加が16例，シスチンの増加が8名であった。これらの一過性代謝異常はその後のフォローにより，全例で正常化が観察された。臨床症状発現と尿の採取時期の関係ではシトルリン血症を除き，他はすべて無症状期での採尿であった。低クレアチニン尿による再検率では16733検体中，低クレアチニン検体数は20検体で再検率は0.12%であった。シトルリン血症の患児は新生児期に死亡，グリセロ－ルキナ－ゼ欠損症は精神運動発達遅滞が出現，オルニチントランスカルバミラ－ゼ欠損患児は奇跡的な救命のあと，順調に経過，2－ケトアジピン酸尿症2名は無症状で経過，神経芽細胞腫は2名のうち，1名は厚生省乳児神経芽細胞腫治療のプロトコルにもとづき，開腹し腫瘍除去後の経過は順調，他の1名は無治療での経過観察で自然退縮が観察された。一過性チロジン血症のなかには，血中チロジン値が28mg/dlと異常高値を示す患児が含まれており，高チロジン血症自体で脳障害の可能性が考えられたため，アスコルビン酸と治療ミルクで治療し，経過は順調である。尿中物質を尿中クレアチニン濃度で示すと，見かけ上の高値を示すことになるが，低クレアチニン値を3mg/dl以下とした場合の0.12%と再検率は低く，その他，尿の便による汚染などでの再検

もなかった。再検したのはクレアチニン低濃度以外には上述の一過性代謝異常の場合のみであった。

考察

今回のわれわれのスクリーニングでは総検体数が16733名と少なく、これだけの経験では、厳密な意味ではGC/MS法によるスクリーニングの長所や問題点を抽出することはできないが、それでも今までのスクリーニングで、いくつかの長所や短所が明らかになった。長所について述べると、1) 予想以上に多くの疾患が発見できること、2) ガスリ-テストやMS/MS法では検出できない物質たとえばメチルマロン酸やグリセロール、オロト酸、ウラシル、メチルクエン酸、4-ヒドロキシフェニル乳酸、乳酸などスクリーニング診断上、極めて重要なマ-カ-物質を検出、測定できることで、実際に、これらの診断マ-カ-により、上述の疾患が発見されていること、3) 代謝異常以外ファクタ-による再検率が低いこと、4) 尿という非侵襲的なサンプルでスクリーニングができることなどである。短所については1) 検査に要する時間がMS/MS法に比較して長いことで、MS/MS法では測定時間が2~3分であるが、GC/MS法では15分を要すること、2) コストが高いこと、参考までに米国ではGC/MS法での料金が100ドル前後であるのに、MS/MS法では25~40ドルである。ただし、ハ-ド面の経費すなわち分析機器のコストはMS/MS法のほうが、はるかに高額である。3) 尿というサンプルの限界があり、新生児期での生理的なアミノ酸尿や糖尿を陽性としてしまう問題があり、例えば最初にシスチン尿症が疑われた8名はその後のフォロー-で、全例で正常化が観察されているし、血中でガラクト-スの上昇のない場合でも尿中でガラクト-スやガラクト-ルの増加がみられることから、シスチン尿症やガラクト-ス血症を対象疾患にすることには問題があろう。ただし、ガラクト-ス血症では、血液ろ紙によるガスリ-テストで疑陽性の判断のもと、外来を受診する新生児があとを絶たないことは周知のことである。より正確なスクリーニング法の開発が望まれよう。また、MS/MS法では測定時間が短く、コストも安価で、国際的にはガスリ-テストにかわる手段として、期待されているが、正確性の点では大きな疑念

があること、MS/MSの主な対象疾患が中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症とフェニルケトン尿症であるが、前者は我が国では存在しない疾患であることや、フェニルケトン尿症でもかなりの患者を見逃している可能性があることは昨年の報告書で指摘したとおりである(文献1)。また高フェニルアラニン血症の患児の10生日での血液ろ紙でガスリ-テストではフェニルアラニン濃度が10mg/dlであったのに、MS/MSでは6.7mg/dlであったという報告もこれを裏付けるものである(文献2)。Rashed (personal communication) によれば、MS/MSで最も正確に測定できる物質がフェニルアラニンであるとのことであるので、他の物質に関しては、どの程度、正確に測定できるかという基礎的検討が必要であろう。またアシルカルニチンは低カルニチン血症があれば、検出しにくいことや、新生児の授乳状態がよいほど、見逃されやすくなるという欠点もある。一方、GC/MSによる尿のスクリーニングではMS/MSに比較して、感度がよく、多くの代謝物質が容易に検出、測定されるが、今後はGC/MS法の方が他の方法より、正確に診断でき、治療も確立しているメチルマロン酸血症やオルニチントランスカルバミラ-ゼ欠損症などのような対象疾患を慎重に選択すれば、有効なスクリーニングが可能となるものと考えられる。ただし、尿ではクレチン症のような重要な疾患をスクリーニングすることはできないので、GC/MS法が血液ろ紙にとってかわることはできない。また新生児神経芽細胞腫や2-ケトアジピン酸尿のような疾患は治療と予後の関係が不明で、どこまで、スクリーニングする意味があるのか疑問があり、対象から除外することも含め、検討が必要であろう。

文献

1. 吉田一郎他：GC/MSによる新生児先天性代謝異常症のスクリーニング-3年間の経験-平成10年度厚生科学研究(子ども家庭総合研究事業)報告書
2. 山口清次他：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-平成10年度厚生科学研究(子ども家庭総合研究事業)報告書