

資料

2000年度の先天性代謝異常検査の概要

山中葉子, 長谷川圭司, 橋爪清

The Results of Neonatal Screening in 2000

Yoko YAMANAKA, Keishi HASEGAWA and Kiyoshi HASHIZUME

先天性代謝異常検査は県を実施主体として県内の新生児のうち、保護者が希望した 18,854 件について検査を行った。疑陽性と判定し再検査を行った検体は 507 件であり、精密検査数はガラクトース血症 2 件、甲状腺機能低下症 19 件、副腎皮質過形成症 15 件であった。確定患者数はガラクトース血症 1 名、甲状腺機能低下症 4 名であった。また、Guthrie 法で抗生剤使用により判定不能であった 32 件について高速液体クロマトグラフ(HPLC)分析法で再検査したところ陰性であった。

キーワード：先天性代謝異常検査, Guthrie 法, 高速液体クロマトグラフ(HPLC)分析法

はじめに

先天性代謝異常症とは遺伝子変異の結果、特定の蛋白質が合成されないために発症する疾患、ある種の酵素の異常や到達経路の異常により代謝されるべき物質の貯留によって発症する疾患であると定義されている¹⁾。現在では、酵素化学的研究及び分子遺伝学的研究の進展に伴い遺伝子異常の本態が明らかになりつつあるが、その病態に関しては不明な部分が多く、病因解明に比し治療法の遅れが指摘されている⁵⁾。

先天性代謝異常症のなかで甲状腺機能低下症と副腎皮質過形成症は特定物質の合成障害に起因する疾患である。一方、フェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、ヒスチジン尿症及びガラクトース血症は中間代謝産物の蓄積に起因する疾患である。先天性代謝異常症は治療困難なものが多いが、上記 7 疾患は可及的早期に診断、治療を

開始すれば、知能障害などに陥るのを防御できる。

先天性代謝異常症マス・スクリーニング事業は、1977 年 11 月より県内で出生した新生児を対象に 5 疾患(フェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、モホシスチン尿症、ヒスチジン尿症及びガラクトース血症)について検査が開始された。次いで 1979 年より甲状腺機能低下症、1989 年より副腎皮質過形成症がその対象疾患に追加された。しかし、ヒスチジン血症は、1994 年に中止され、現在は上記 6 疾患についてマス・スクリーニングを行い早期発見に努めている。

2001 年度より、精度や判定の客観性が高く、抗生剤の影響を受けない HPLC 分析法がアミノ酸代謝異常症の 1 次検査法としてが正式に認可されるので⁶⁾、今回は抗生剤使用¹⁰⁾のため検体不備とした 32 件について HPLC 分析法も合わせて行った。

検査方法と材料

表 1. BIA 法(Guthrie 法)

測定項目	対象疾患	試薬等		判定基準	
		枯草菌(ATCC)	代謝拮抗阻害剤	アミノ酸濃度(mg/dL)	
				疑陽性	陽性
フェニルアラニン	フェニルケトン尿症	6633	-2-フェニルアラニン	4 ~ 10	> 10
メチオニン	ホモシスチン尿症	6633	L-メチオニン-DLスルフォキサミン	2 ~ 8	> 8
ロイシン	メープルシロップ尿症	6015	4-アザロイシン	4 ~ 8	> 8

1. 検査方法

フェニルケトン尿症，メーブルシロップ尿症，ホモシスチン尿症の3疾患については，枯草菌と阻害剤を用いる Guthrie 法²⁾で行った（表1）。

Guthrie 法で判定不能であった検体については，アミノスクリーン(AminoScreen)アミノ酸分析キット(島津製作所)を用いて HPLC 分析法^{4),9)}により行った（表2）。

表2. HPLC法

装置	LC-10A
分離カラム	アミノスクリーン LS-Cs (75mm x 4.6mm I.D.)
温度	35
移動相	アミノスクリーン LS-As (アセトニトリル、ペアードイオン試薬を含む酸性溶液)
流量	1.4mL/min
検出器	蛍光
注入量	5 μL

ガラクトース血症については，表3に示すように2つの検査方法を用いた。すなわち，Paigen (吉田) 法⁷⁾により全検体を検査し，判定基準である 8mg/dL(陽性)を示した場合は Beutler 法¹⁾による検査を行った。

表3. Paigen法・Beutler法

検査法	試薬等	判定基準	
		陰性	陽性
Paigen法	吉田法 (栄研化学)	< 8mg/dL	8mg/dL
Beutler法	ガラクトセミアキット (ロシュ)	蛍光あり	蛍光なし

甲状腺機能低下症，副腎皮質過形成症の検査は，三重大学医学部小児科に依頼した。

2. 材料

生後5～7日目(哺乳開始後4日以降)の新生児血液を規定の濾紙に径1cm位まで充分しみ込ませて採血し³⁾，涼風乾燥後，三重県科学技術振興センター保健環境研究所に送付されたものを検査材料とした。

成績と考察

検体数の詳細を表4に示した。今年度(2000年度)の先天性代謝異常検査依頼数は18,867件であった。この件数は昨年度(1999年度)よりも206件増加しているものの，長期的には出生数の低下と共に1983年度の23,308件をピークとして微減傾向が続いている。

表4. 検体数

依頼数	18,867
検査数	18,854
再検査数	2,472
再疑陽性による再採血依頼数	512
検体不備による再採血依頼数	61
同上検査数	61

送付された検体のうち採血量不足による13件を除いた18,854件の検査を行った。1回目の検査で疑陽性を示した事例は，およそ13%にあたる2,472件であった。その

うち2回目も疑陽性となった512件については再採血を依頼した。これは，総検査数に対して2.7%の再検査率であった。

再疑陽性を示した事例について疾患別に再検査の成績を表5に示した。

表5. 再疑陽性による再採血検体

疾患名	再採血依頼数	再採血検査数	再検査率(%)	精密検査依頼数	患者数
フェニルケトン尿症	0	0	0.00	0	0
ホモシスチン尿症	0	0	0.00	0	0
メーブルシロップ尿症	0	0	0.00	0	0
ガラクトース血症	3	3	0.02	2	1
甲状腺機能低下症	334	330	1.75	19	4
副腎皮質過形成症	175	174	0.92	15	0
計	512	507	2.69	36	5

再疑陽性による再採血検査数は，甲状腺機能低下症が330件で最も多かった。次いで副腎皮質過形成症が174件，ガラクトース血症が3件であった。先天性代謝異常検査全体に対する再検査率は3疾患で2.7%であった。更に精密検査を必要としたのは3疾患において36件あり，医療機関でガラクトース血症1名，甲状腺機能低下症4名が患者と診断された。

採血時に抗生剤使用の報告があった検体は843件(4.5%)であった。そのうち，判定不能による検体不備として表6に示すように再採血を37件依頼した。37件の検体不備はGuthrie法による検査で32件，Paigen(吉田)法で12件あり7件は両方法とも重複していた。

この他の理由により検査ができないため再び採血を依頼した件数は，採血量不足による13件及び採血後日数が過ぎていた郵送の遅延による11件であった(表6)。今年度は計61件の検体不備があり，昨年度の24件⁸⁾と比較するとおよそ2.5倍の増加となった。

表6. 検体不備

理由	件数
抗生剤使用による判定不能	37
採血量不足	13
郵送の遅延	11
計	61

Guthrie法で32件の判定不能検体は，HPLC法により分析を行った。HPLC法の結果はすべて陰性であった。抗生剤の使用はGuthrie法及びPaigen(吉田)法などの半定量法ではいわゆる‘ヌケ’現象をひきおこすため判定不能となる場合があり，抗生剤の使用後の採血はその影響が無くなるまでに時間を要する。HPLC分析法は細菌培養を行わないため抗生剤の影響を受けず，かつ少量の血液濾紙(ディスク1枚)で3項目(フェニルアラニン，メチオニン，ロイシン)の検査が行えた。

まとめ

今年度における先天性代謝異常検査は、18,867 件、再採血依頼 512 件、再採血検査 507 件、検体不備 61 件であった。精密検査依頼数は、ガラクトース血症 2 名、甲状腺機能低下症 19 名、副腎皮質過形成症 15 名の計 36 名であった。確定患者数はガラクトース血症 1 名、甲状腺機能低下症 4 名であった。

低出生体重児は採血が困難な場合が多い。そのため、少量の血液濾紙で検査が可能である HPLC 法が患者の早期発見に有用であると考えられた。

文 献

1) Beutlar, E. and Baluda, M.C.: A simple spot screening test for galactosemia, *J. Lab. Clin. Med.*, **68**, 137-141(1966).

2) Guthrie, G.: Blood screening for phenylketonuria, *J.A.M.A.*, **178**, 863(1961).

3) Guthrie, G. and Susi, A.: Blood screening for phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large population of new-born infants, *Pediatrics*, **32**, 338-343(1963).

4) 岩松明彦: 機器分析のてびき(第2版), 81-93, 京都, (株)化学同人(1998).

5) 北川昭雄: アミノ酸代謝異常症, 酵素障害の多様性と脳障害, 脳と発達, 438-500(1972).

6) 厚生省児童家庭局長発『先天性代謝異常検査等の実施について』(第10次改正 平成12年4月5日児発第414号)

7) 成瀬 浩, 松田一郎: 新生児マススクリーニングハンドブック, 233-239, 東京南江堂(1989).

8) 大川正文, 橋爪 清, 別所敬子: 先天性代謝異常検査結果の概要 1999年度の成績, 三重県保健環境研究所年報, No.2, 118-119(2000).

9) 田中 稔, 矢坂裕太: 機器分析のてびき(第2版), 41-59, 京都, (株)化学同人(1998).

10) 山野公明, 寺井 格, 新井純理, 他: 蛍光法によるガラクトース血症フェニルケトン尿症メイプルシロップ尿症スクリーニングに対する抗生物質の影響. 日本マススクリーニング学会誌, **10**, 65-72.(2000).

11) 藪内百治: 先天性代謝異常, 日本医事新報, No.3279, 23-28(1987).