

神経症状を呈する小児の代謝異常症 ハイリスク・スクリーニングについて

Screening for Inborn Errors of Metabolism in High-Risk Children with Neurological Symptoms

山口 昭弘 水嶋 好清 福士 勝 佐藤 稔
清水 良夫 菊地由生子 高杉 信男 角谷 憲史*
植竹 公明* 梶井 直文*

Akihiro Yamaguchi, Yoshikiyo Mizushima, Masaru Fukushi,
Minoru Sato, Yoshio Shimizu, Yuko Kikuchi, Nobuo Takasugi,
Kenji Kakuya*, Kimiaki Uetake* and Naofumi Kajii*

要 旨

はてんかん、精神発達遅延などの神経症状を呈する3ヶ月から19歳の202例のハイリスク小児を対象に、乾燥ろ紙血(DBS)を用いてアミノ酸代謝異常症、ガラクトース血症、有機酸代謝異常症、ピオチニダーゼ(BD)欠損症、アデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(APRT)欠損症、ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ(HPRT)欠損症のスクリーニングを行った。その結果、アミノ酸異常3例[Phe, 分枝鎖アミノ酸, 総ホモシステイン(HcySH)高値]、有機酸異常3例(いずれも乳酸高値)、BD活性ヘテロ保因者レベルの低値例2例(残存活性38, 44%)が見出された。

1. 緒 言

先天性代謝異常症は、現在酵素欠損部位が明らかにされているものに限っても330種存在すると言われ¹⁾、全体としては決して希な疾患ではない。ただ個々の疾患の発生頻度は一般的に数万から数百万人に一人と低く臨床症状としてもケイレン、意識障害、精神運動発達遅延などの疾患に特有のものではないため、多くの場合原因不明の死亡あるいは不可逆的な神経症状を残した後に発見されることとなる。このためわが国でも昭和52年からアミノ酸代謝異常症(フェニルケトン尿症、ヒスチジン血症、メイプルシロップ尿症、ホモシスチン尿症)とガラクトース血症を合わせた5疾患についてガスリー法²⁾によ

る新生児代謝異常症マススクリーニングが開始され、多くの患児の早期発見、早期治療に大きな成果を上げて来ている³⁾。

今回、我々ははてんかん、精神運動発達遅延などの神経症状が認められる小児について、新生児マススクリーニングの対象となっている前述の5疾患に加え、近年、病態、治療面での研究成果が著しくかつDBS試料を用いて検出可能となった、アミノ酸代謝異常症(尿素サイクル代謝異常症の一部)、有機酸代謝異常症(高乳酸血症、メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症)、BD欠損症、APRT欠損症およびHPRT欠損症の各疾患についてもスクリーニングを行い、これら代謝異常症の検索を試みた。

*北海道大学医学部小児科

2. 方法

2-1 対象および試料

北海道大学医学部附属病院小児科に、てんかん、ジストニア、精神運動発達遅延などのため、通院あるいは入院中の3カ月から19歳の患児202例（男125例、女77例）を対象とした。試料はすべて全血を新生児先天性代謝異常症等検査用採血ろ紙にスポットして調整したDBSを用いた。

2-2 測定方法

- (1) アミノ酸・オルトフタルアルデヒドケイ光検出—イオンペアモードのアミノ酸分析計⁴⁾により、Tau, Asp, Ser, Glu, Thr, Gly, Cit, Ala, Tyr, Val, Met, Ile, Phe, Leu, Trp, His, Orn, Lys, Argの19種アミノ酸を測定した。チオール基を有するCys, HcySHはジチオエリトリール還元条件下抽出後、SBD-Fケイ光誘導体として高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により測定した⁵⁾。
- (2) ガラクトース・ガラクトース脱水素酵素を用いた微量ケイ光定量法⁶⁾により測定した。
- (3) 有機酸・乳酸脱水素酵素法および紫外検出HPLC法⁷⁾により乳酸、メチルマロン酸、プロピオン酸を測定した。
- (4) BD活性・N-ビオチニル-p-アミノ安息香酸を基質としたマイクロプレート比色法⁸⁾によりBD活性を測定した。
- (5) APRT, HPRT活性・アデニン、ヒポキサンチンを基質として生成するアデノシン—リン酸、イノシン—リン酸をHPLCで測定する方法⁹⁾によりAPRT, HPRT活性を測定した。

3. 結果

3-1 スクリーニング結果

対象疾患、測定項目、異常検出数を表1に示した。202例中8例（3.96%）に何らかの測定値の異常が認められた。

表1 神経疾患児（n=202）に対する代謝異常症ハイリスクスクリーニング結果

対象疾患	測定項目	異常検出数
アミノ酸代謝異常症	Phe, Tyr	1
	分枝鎖アミノ酸	1
	HcySH	1
	Cit, Orn, Arg	0
ガラクトース血症	ガラクトース	0
	有機酸代謝異常症	3
	プロピオン酸	0
BD欠損症	メチルマロン酸	0
	BD活性	2
	APRT欠損症	0
HPRT欠損症	HPRT活性	0
合計		8(3.96%)

3-2 アミノ酸異常例

アミノ酸の異常値は3例で認められ（表2）、1例目はPhe 174mg/dl, Tyr 0.53mg/dlとPhe高値、Tyr低値を示した。2例目は分枝鎖アミノ酸Val, Ile, Leuがそれぞれ4.45, 1.77, 270mg/dlと微増していた。3例目はHcySHが0.68mg/dl検出された例でMet値は正常であった。

3-3 有機酸異常例

乳酸の高値例が3例認められ（表3）、このうち1例目はAlaの増大を伴っていた。

3-4 BD活性異常例

BD活性は2例が3.31, 378pmole/min/disc, コントロール値に対する残存活性38, 48%と完全、あるいは部分欠損症ではないもののヘトロ保因者レベルの低下が認められた（表4）。

その他の測定項目、尿素サイクル関連アミノ酸（Cit, Orn, Arg）、ガラクトース、メチルマロン酸、プロピオン酸、APRT, HPRT活性は全例正常範囲内の値であった（表1）。

4. 考察

新生児先天性代謝異常症マススクリーニングの開始は、昭和52年10月であることから、それ以前に

表2 アミノ酸異常例

症例	年齢	性別	アミノ酸	測定値*	コントロール値 (n=36)* 平均 ±SD	診断結果
T.Y	9Y	M	Phe Tyr	1.74 ↑ 0.53 ↓	0.74 ± 0.14 2.01 ± 0.73	ジヒドロプテリジン還元酵素欠損症
K.Y	6Y	M	Val Ile Leu	4.45 ↑ 1.77 ↑ 2.70 ↑	1.77 ± 0.44 0.70 ± 0.23 1.26 ± 0.28	分枝鎖ケト酸脱水素酵素複合体障害?
S.T	19Y	M	HcySH Met	0.68 ↑ 0.22	ND < 0.1 0.35 ± 0.08	葉酸代謝障害?

* mg/dl-blood

? 未確定

表3 乳酸高値例

症例	年齢	性別	乳酸*	Ala*	診断結果
M.O	7Y	F	63.7 86.4	3.84 5.36	チトクロムCオキシダーゼ欠損症
K.K	2Y	M	41.1	2.17	?
H.A	1Y	F	44.7	2.47	?
コントロール(n=50) 平均 ±SD			19.9 ± 3.5	2.41 ± 0.60	

* mg/dl-blood

? 未確定

出生した小児については、現在マススクリーニングの対象となっている疾患を受検していないことから、これら疾患が発見されていない可能性がある。さらにマススクリーニングを受けたとしても、見落としあるいは新生児期に異常値を示さなかったため、その時点で発見されなかった患児が存在することも十分考えられる。これらの観点からも、今回のハイリスクスクリーニングの結果は重要な意味を持つと考えられる。

症例T.Y(表2)は、Phe高値、Tyr低値なことからフェニルアラニン水酸化酵素の障害が考えられる訳であるが、本酵素の欠損による古典的フェニル

表4 ビオチニダーゼ活性低値例

症例	年齢	性別	ビオチニダーゼ活性*	診断結果
H.D	14Y	F	3.78(44%)	ヘテロ保因者?
M.S	15Y	F	3.31(38%)	ヘテロ保因者?
コントロール(n=7) 平均 ±SD			8.65 ± 1.76	

* pmole/min/disc

? 未確定

ケトン尿症の場合Phe値は20mg/dl以上を示すのに比べ、本例では正常レベルの2~3倍程度の微増にとどまっている。本児は、その後の精密検査の結果、フェニルアラニン水酸化酵素の補酵素であるテトラヒドロビオプテリンの生体内レベル維持に重要な、ジヒドロプテリジン還元酵素(DHPR)の欠損症と診断されている。本児は11歳であり、当所において新生児スクリーニングが開始された、その年に受診していたが、スクリーニング結果は正常となっている。マススクリーニングで発見されなかった原因としては、ガスリー法におけるPheのカットオフ値は4mg/dlであり、DHPR欠損症の本児の場合、おそらく新生児期においてもPheはカットオフ値以下であったためと考えられる。

症例K.Y(表2)は、分枝鎖アミノ酸が正常値

の2~3倍程度の増大を示した例であり、やはり古典的なメイプルシロップ尿症ではないものの間欠型、中間型など分枝鎖ケトン酸脱水素酵素複合体の障害が考えられる。診断のためには分枝鎖アミノ酸レベルの繰り返し測定と酵素活性測定を行っていく必要がある。

症例S.T(表2)はHcySHが検出された例でMet, メチルマロン酸はともに正常であったことから、シスタチオニン合成酵素欠損症あるいはコバラミン代謝障害によるものではなく、葉酸代謝障害によるホモシスチン尿症が考えられる。確定診断のためには、やはり関連酵素活性の測定が必要である。本児は19歳であるが、新生児マススクリーニングは受けていない世代であり、現行のガスリー法においてはMetを指標としてスクリーニングされているため、もし受けていたとしても本例のようなMet増大を伴わないホモシスチン尿症は、検出されないことに注意する必要がある。

次に新生児マススクリーニングの対象とはなっていない疾患についての結果であるが、近年ガスクロマトグラフィー質量分析計¹⁰⁾の尿中異常代謝物分析への効果的な応用により、数多くの有機酸代謝異常症の存在が明らかにされ、病態解明、治療法の開発が精力的に進められている。これら有機酸代謝異常症の中でも特に高乳酸血症、ついでメチルマロン酸血症、プロピオン酸血症の発生頻度は高く、数万人に1人と考えられている¹¹⁾。我々のスクリーニングにおいても3例の高乳酸血症が認められている。このうち1例(表3, 症例M.O)は、本スクリーニング以前にも高乳酸血症が疑われていた例であるが、その後の精密検査の結果、チトクロムCオキシダーゼ欠損症と診断されている。高乳酸血症においてAlaの増大を伴う場合が知られており、本例では明らかにAla値も上昇している。血中乳酸値は運動負荷、採血条件などの要因で変動し易く; また高乳酸血症を来す酵素欠損部位は数多く存在することから、他の2例の解析は乳酸値の繰り返し測定とともに

に尿中有機酸代謝物分析、関連酵素活性測定を進めて行く必要がある。

BD欠損症は1984年Wolfら¹²⁾によってその原因、病態が解明されて以来、DBSを用いた簡便なスクリーニング法の開発¹³⁾と相まって、世界各国でパイロットスクリーニングが実施されている。その結果、欧米人の発生頻度は数万人に1人と考えられているが、我国においては20万人近い新生児がスクリーニングされたにも係わらず、患児は発見されていない。しかし、最近、大泉ら¹⁴⁾により、皮膚疾患患児のなかにBD残存活性が数%の部分欠損症と考えられる症例が何例が報告され、ビオチンの動態との関連が注目されてきている。今回のスクリーニングでも部分欠損症を含め患児は発見されなかったが、症例H.D, M.S(表4)の2例のBD活性はヘテロ保因者レベルの低値を示しており、血清を用いた再測定に加えビオチンの測定も検討して行く必要があろう。

APRT, HPRT欠損症についても、患児は発見されていないが、今回のハイリスク対象は神経疾患児であり、特にAPRT欠損症の場合は、腎不全、結石症患児に対するスクリーニングが有効となるであろう。

5. 結 語

神経症状を呈する小児202例を対象に代謝異常症ハイリスクスクリーニングを行った結果、アミノ酸異常3例、乳酸高値3例、BD活性低値2例の合計8例において異常値が認められたが、以後の精密検査において、このうち、DHPR欠損症、チトクロムCオキシダーゼ欠損症の2例が確定診断された。他の異常例についても、現在、精密検査を進めているところである。

6. 文 献

- 1) 佐伯武頼, 他: 蛋白質核酸酵素(臨時増刊), 33(5), 421-424, 1988.

- 2) Guthrie, R. and Susi, A. : *Pediatrics*, **32**, 338-343, 1963
- 3) 青木菊麿・特殊ミルク情報, **18**, 73-77, 1989.
- 4) Hayashi, T. et al : *J. Chromatogr.*, **274**, 318-324, 1983.
- 5) 山口昭弘, 他・臨床小児医学, **37**(3), 109-113, 1989.
- 6) Yamaguchi, A. et al : *Clin. Chem*, **35**, 1962-1964, 1989.
- 7) 水嶋好清, 他・日児誌 (投稿中)
- 8) Yamaguchi, A. et al : *Tohoku J. exp. Med*, **152**, 339-346, 1987.
- 9) 山口昭弘, 他 : 札幌市衛研年報, **16**, 59-64, 1989.
- 10) Tanaka, K. and Hine D. G. : *J. Chromatogr.*, **239**, 301-322, 1982.
- 11) 多田啓也, 他・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, p 68-71, 1984.
- 12) Wolf, B. et al : *Clin. Chim Acta*, **131**, 273-281, 1983
- 13) Heard, G.S. et al : *Clin. Chim.*, **30**, 125-127, 1984.
- 14) Oizumi, J. et al : *J. Pediat.*, **110**, 818, 1987