

# 第83回

## Medical & Surgical Ground Rounds

### トピック

Tandem mass spectrometry, SIDS,  
新生児マススクリーニング

文献: Lance. 207;369:37-42

発表者: 中村 泰大 (研修医)

コメンテーター: 齋藤 朋洋 (小児科)

2015/07/15

# 今日のポイント

- マス・スクリーニング
- アミノ酸代謝異常・有機酸代謝異常
- 脂肪酸代謝異常
- タンデム・マス法 ( Tandem mass spectrometry )

# マス・スクリーニング

- マス・スクリーニング  
「マス」=「ある集団全体」
- Wilson & Jungnerの集団検診の基準
  1. 放置すると重大な健康被害をもたらす。
  2. 自然歴が明らかな病気である。
  3. 効果的な治療法がある。
  4. 発症前に診断できる。
  5. 受け入れられる適切な検査法がある。
  6. 受け入れられる社会的合意が得られている。
  7. 診断・治療の施設が利用可能である。
  8. 患者や検査陽性者のフォローアップ体制ができている。
  9. 費用対効果のバランスが適切である。
  10. 事業の意味、内容に関して受検者の同意が得られている。

# 新生児マス・スクリーニングの歴史

- 新生児マス・スクリーニングの歴史

1977年 日本でも開始(フェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、メープルシロップ尿症、ガラクトース血症、ヒスチジン血症)

1979年 先天性甲状腺機能低下症 追加

1989年 先天性副腎過形成症 追加

1992年 ヒスチジン血症 除外

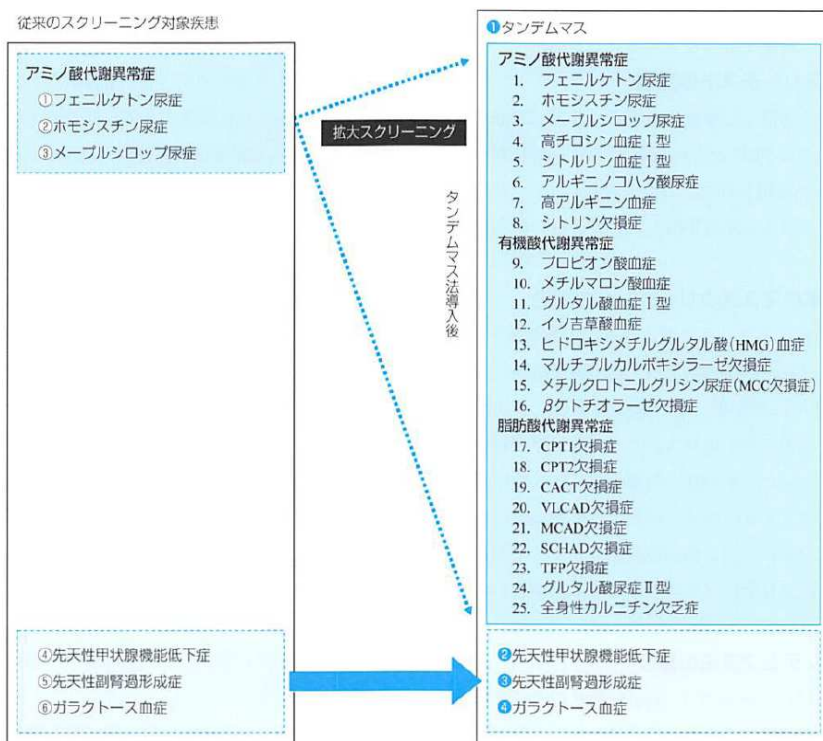
Guthrie R, Susi A. Pediatrics 32: 338-343, 1963

2011年 タンデムマス法 厚生労働省母子保健課長通達

2014年 山梨県でもタンデムマス法による新生児マス・スクリーニングが開始

# タンデムマス・スクリーニングとは

## • タンデムマス・マス・スクリーニング？



22疾患が一気に増えました。  
有機酸代謝異常？  
脂肪酸代謝異常？  
これは何？

表2 わが国のタンデムマス法による一次対象疾患、二次対象疾患とその発見頻度

	疾患	発見頻度 <sup>※1)</sup>
一次対象疾患	<b>アミノ酸代謝異常</b>	
	1) フェニルケトン尿症 <sup>※2)</sup>	1: 6万
	2) メーブルシロップ尿症 <sup>※2)</sup>	1: 156万
	3) ホモシスチン尿症 <sup>※2)</sup>	1: 78万
	<b>尿素回路異常症</b>	
	4) シトルリン血症 (I型)	1: 26万
	5) アルギニノコハク酸尿症	1: 40万
	<b>有機酸代謝異常症</b>	
	6) メチルマロン酸血症	1: 12万
	7) プロピオン酸血症	1: 5万
	8) イソ吉草酸血症	1: 52万
	9) メチルクロトニルグリシン尿症	1: 16万
10) 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸血症	—	
11) マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	1: 52万	
12) グルタル酸血症Ⅰ型	1: 18万	
二次対象疾患	<b>β酸化異常症</b>	
	13) MCAD欠損症	1: 10万
	14) VLCAD欠損症	1: 16万
	15) ミトコンドリア三頭酵素欠損症	—
	16) CPT1欠損症	1: 31万
	19) シトリン欠損症	1: 8万
	20) βケトチオラーゼ欠損症	—
	21) CPT2欠損症	1: 26万
	22) CACT欠損症	—
	23) 全身性カルニチン欠乏症	1: 26万
24) グルタル酸血症Ⅱ型	1: 31万	

一次対象疾患とは見逃しがきわめて少ない、発見されたとき治療効果が優れていると判断されている疾患で、二次対象疾患とは現時点では見逃しが相当数あると考えられ、また発見された後の診断治療が必ずしも容易でないため、引き続き検討が必要と判断されている疾患

※1: 1997~2011年のパイロットスタディ計156万人の検査結果 (1997年より福井大学で開始、2004年より厚生労働省研究班で開始)<sup>2)</sup>

※2: 従来のマススクリーニング対象疾患 (アミノ酸代謝異常症3疾患)

MCAD: 中鎖アシル-CoA 脱水素酵素, VLCAD: 極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素, CPT1, CPT2: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼⅠ、Ⅱ, CACT: カルニチン・アシルカルニチントランスロカーゼ

参考文献: タンデムマス・スクリーニングガイドブック

# アミノ酸代謝異常 有機酸代謝異常

- アミノ酸代謝異常

- ✓ アミノ酸代謝上流の酵素欠損が原因.
- ✓ 組織や臓器へのアミノ酸や代謝産物の蓄積による症状や、下流物質の欠乏による症状が出る.

- 有機酸代謝異常

- ✓ アミノ酸代謝下流の有機酸代謝酵素欠損が原因.
- ✓ 有機酸が組織や臓器に蓄積して様々な症状を起こす.
- ✓ 過剰になった有機酸は血中の遊離カルニチンと結合し、アシルカルニチンとなる.
- ✓ 血中の比較的 low molecular weight のアシルカルニチン濃度が上昇する.

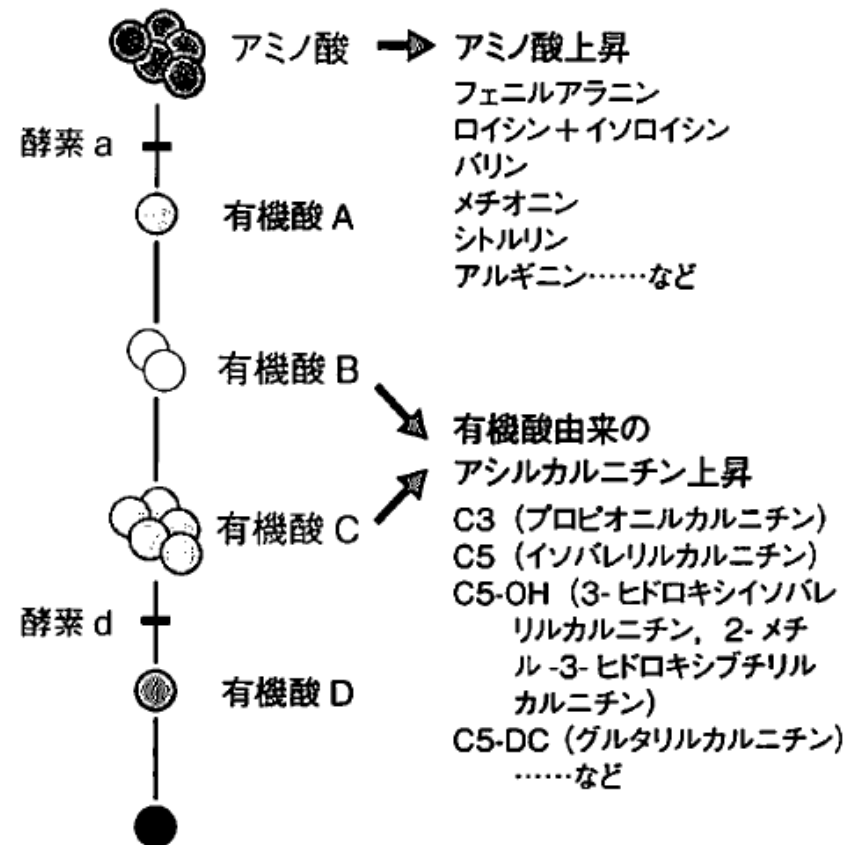


図 2 アミノ酸血症と有機酸代謝異常症の関係

# 脂肪酸代謝異常

- 長鎖と中鎖脂肪酸の代謝異常による。
- エネルギー消費量の大きい臓器やエネルギー貯蔵に関わる臓器(心筋,骨格筋,肝臓)が障害を受けやすく,飢餓時や感染症罹患時に心筋症,横紋筋融解,Reye症候群を発症する。

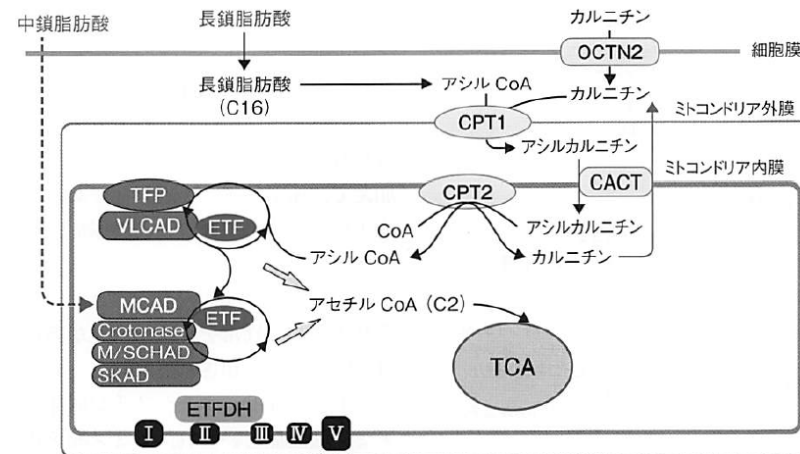


図1 ミトコンドリアβ酸化経路に関わる酵素や蛋白

カルニチンは OCTN2 によって能動的に細胞質に取り込まれ、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1 (CPT-1) によってアシル CoA となる。この形になりカルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ (CACT) によってミトコンドリア内へ移動されたのち、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-2 (CPT-2) によってアシル CoA へと再変換されたのち、はじめは VLCAD や TFP によって酸化を受け、アシル CoA が短くなると中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) を中心とした酵素群によりさらに酸化を受ける。アシル CoA から切り出されたアセチル CoA は TCA サイクルに入りエネルギーを生み出す。

参考文献:小児内科 Vol.46 No.4 タンデムマ・スクリーニング

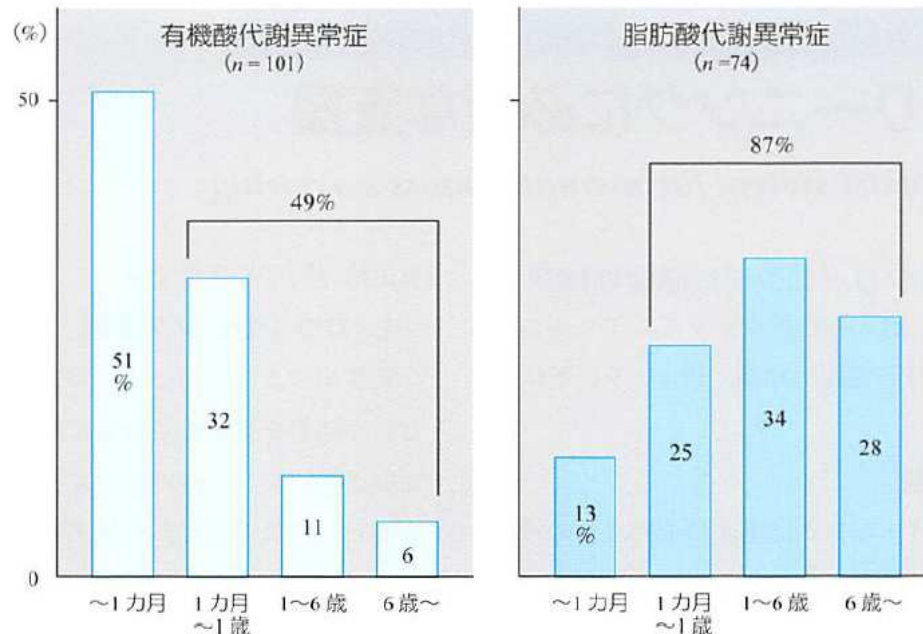
# 拡大スクリーニングになった理由

- 乳幼児突然死症候群 (SIDS) や突然死, 脳炎・脳症を減らせるかもしれない.
  - ✓ 突然死での代謝異常症の割合
    - 14/313例: SIDS剖検例で脂肪酸代謝異常
    - 66/7058例: 小児の原因不明の死亡例で代謝異常症
    - 3/79例: 5歳未満突然死でβ酸化異常症
    - 10/307例: 3歳未満突然死で有機酸・脂肪酸代謝異常症
- MCAD欠損症による4歳までの死亡・重症化例を減らすことが出来た(オーストラリア, 前向き研究). (欧米MCAD欠損症: 1/1~2万人, 日本パイロットスタディ: 1/11万人)
- 早期発見で発達異常を防ぐことができる.
  - 発達正常な有機酸代謝異常: MS発見例83% 発症後診断例19%
  - 発達正常な脂肪酸代謝異常: MS発見例89% 発症後診断例48%



# 検査上の問題点

- 脂肪酸代謝異常は、飢餓状態でのみ検査異常を呈することがある。
- アミノ酸代謝異常や有機酸代謝異常は、栄養が確立してから検査異常を呈するようになる。
- 現在の日本のマススクリーニング施行時期は、日齢4～5の哺乳が確立した頃である。  
→脂肪酸代謝異常症が漏れてしまう事があるので注意が必要。



参考文献: タンデムマス・スクリーニングガイドブック

表2 急性脳症様症状で発症するおもな先天代謝異常症

疾患	発見可能
有機酸代謝異常症	
1. HMG血症	○
2. メチルマロン酸血症	○
3. プロピオン酸血症	○
4. イソ吉草酸血症	○
5. マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	○
6. グルタル酸血症Ⅰ型	○
7. 複合型グリセロールキナーゼ欠損症	×
脂肪酸代謝異常症	
1. MCAD欠損症	○
2. VLCAD欠損症	○
3. CPT1欠損症	○
4. CPT2欠損症	○
5. CACT欠損症	○
6. グルタル酸血症Ⅱ型	○
7. 全身性カルニチン欠乏症	○
その他	
1. OTC欠損症	○
2. シトルリン血症	○
3. アルギニノコハク酸尿症	○
4. メープルシロップ尿症	○
5. FBPase欠損症	×
6. ミトコンドリア呼吸鎖異常	×
7. 高インスリン性低血糖	×

○: タンデムマス検査で発見可能な疾患, ×: タンデムマスでは診断できない疾患

HMG: 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸, MCAD: 中鎖アシル-CoA脱水素酵素, VLCAD: 極長鎖アシル-CoA脱水素酵素, CPT: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ, CACT: カルニチン・アシルカルニチントランスロカーゼ, FBPase: フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ(糖新生系), OTC: オルニチントランスカルバミラーゼ(尿素回路)

# 診断上の問題点

- 突然死や重篤例から判明した疾患がある。  
→軽症例の自然歴は不明のまま。
- 突然死を起こす疾患でも一生発症しない例もある。  
→遺伝子変異部位？表現型？環境因子？
- 先天性疾患 ≡ Germline mutation  
→遺伝と密接に結びついている。  
→遺伝子診断や家族の検査は、どうしますか？

# 制度上の問題点

- 保険診療で確定診断がつかないものがほとんどである  
(**遺伝子診断や酵素活性の測定が必要**).
- 専門とする医師が少なく、フォロー体制に不備がある.
- 新生児以外に検査を行う場合、山梨県では未だ体制に不備がある.

# 新生児タンデムマス・スクリーニング の現状

- Wilson & Jungnerの集団検診の基準
  1. 放置すると重大な健康被害をもたらす。
  2. 自然歴が明らかな病気である。
  3. 効果的な治療法がある。
  4. 発症前に診断できる。
  5. 受け入れられる適切な検査法がある。
  6. 受け入れられる社会的合意が得られている。
  7. 診断・治療の施設が利用可能である。
  8. 患者や検査陽性者のフォローアップ体制ができている。
  9. 費用対効果のバランスが適切である。
  10. 事業の意味、内容に関して受検者の同意が得られている。

# 山梨県の現状

## 2014年1月～2015年6月

- 出生数:約1万人
- メチルマロン酸血症(軽症) 1名
- メチルクロトニルグリシン尿症(軽症) 1名
- 母親がメチルクロトニルグリシン尿症 1名
  
- 日本のパイロットスタディでは,1/9000人の割合でタンデムマス法で異常が見つかっている.
- 山梨県でもパイロットスタディとほぼ同じ確率で発見されている.

# タンデムマス法とは

- 日本語だと解りにくいので...

Tandem mass spectrometry

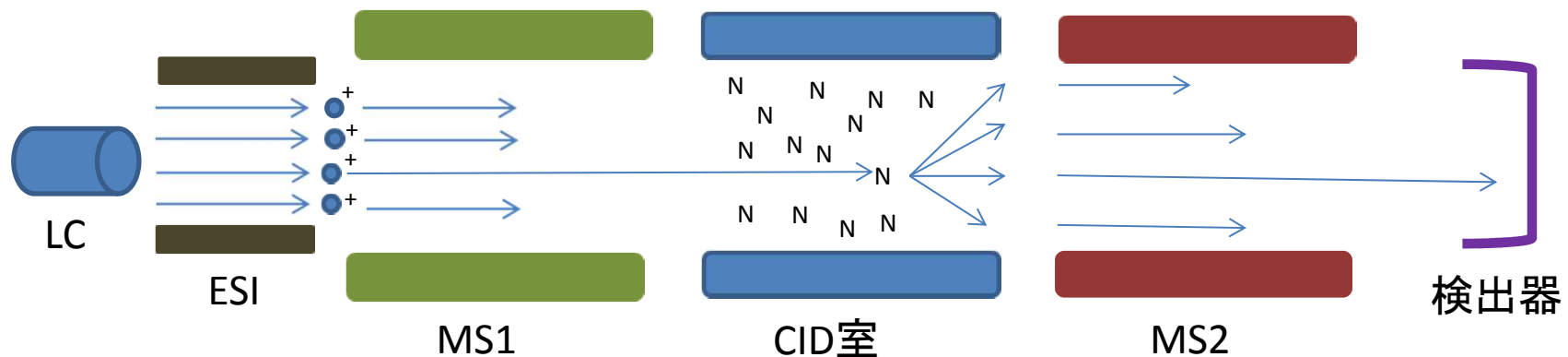
=タンデム型質量分析計

LC: 液体クロマトグラフ

ESI: エレクトロイオン化スプレー装置

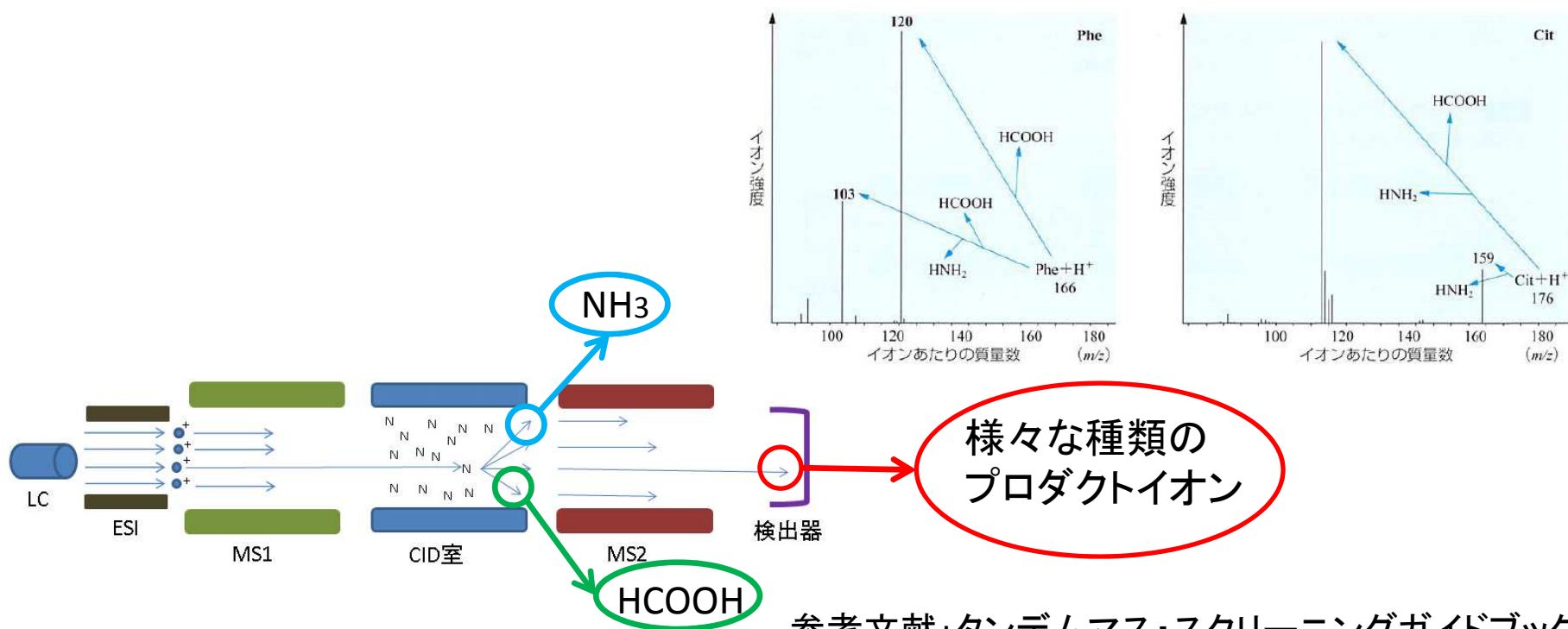
MS: 質量分析計

CID室: 衝突誘起解離室



# アミノ酸濃度の測定

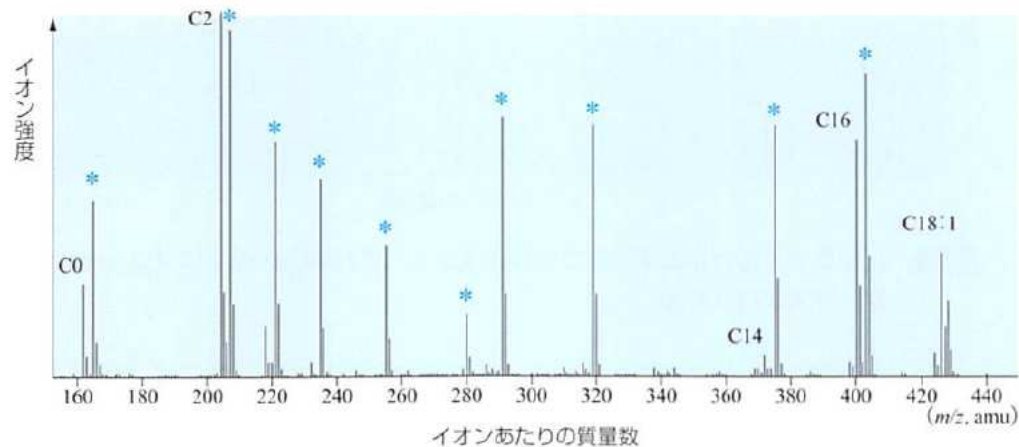
- アミノ基 (-NH<sub>2</sub>)とカルボキシル基 (-COOH)をCID室で外し,残りのプロダクトイオンの質量とモル数を計測して濃度を算出.



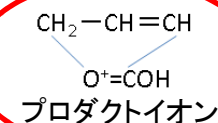
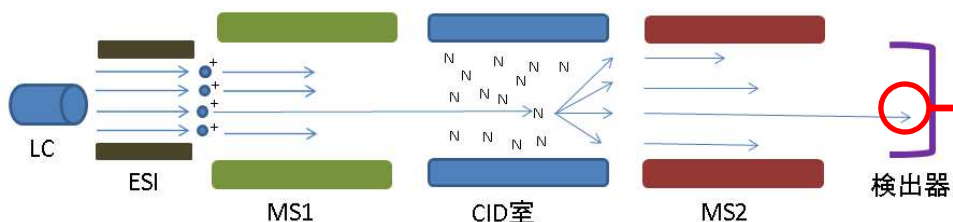
参考文献: タンデムマス・スクリーニングガイドブック

# アシルカルニチン濃度の測定

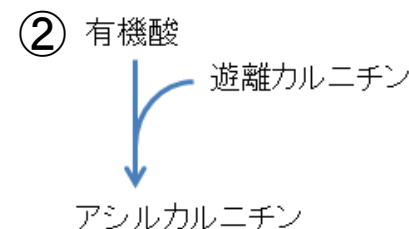
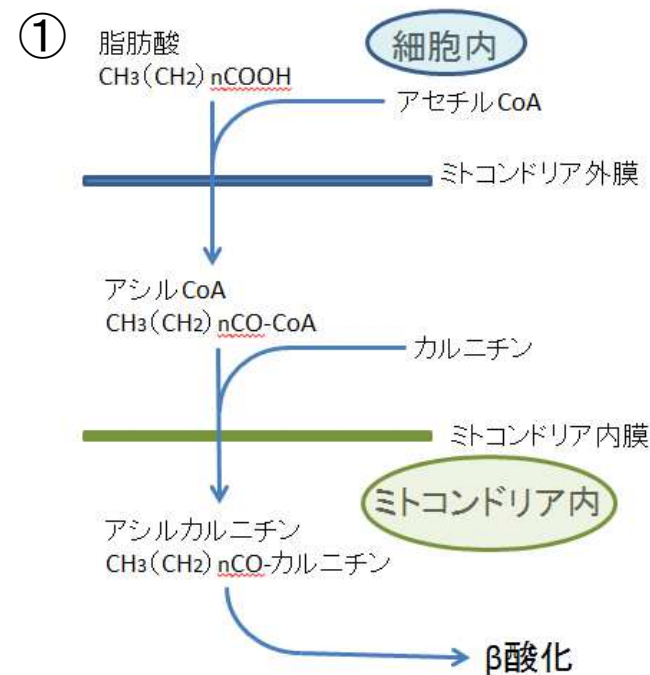
- アシルカルニチン濃度 = 有機酸濃度
- アシル基 (CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CO) にカルニチンが結合したもの。
- CDI室での分解後の産物で特有のプロダクトイオンを生じる。



\* : 重水素標識アシルカルニチン



参考文献: タンデムマス・スクリーニングガイドブック





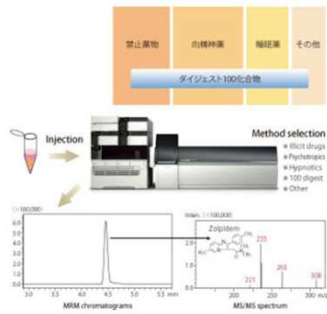
# タンデムマス法の利用方法

- ステロイドや薬物(毒物など)の血中・尿中・唾液中濃度を測定可能.

→各種代謝産物の血中濃度を迅速かつ正確に測定できる.

法薬毒物メソッドパッケージ 化合物数: 286  
 スタートアップキット P/N: 225-24850-01 (メソッドパッケージCD-ROMは別送)

法薬毒物メソッドパッケージは、法医学分野で行われている薬毒物スクリーニング分析におけるトリプル四重極型質量分析計の利用を前提として開発されたメソッドパッケージです。被験者から採取した尿や血液中に禁止薬物等が混入しているかどうかをMRMをトリガーとしたプロダクトイオンスキャン測定(Synchronized Survey Scan<sup>®</sup>, 以下SSS)で確認します。本メソッドパッケージには、禁止薬物(87)、向精神薬(105)、睡眠薬(70)、その他(24)のそれぞれのSSSメソッドが含まれているだけでなく、救命救急や検死の際に重要な化合物群を研究者からのインプットに基づいてまとめたダイジェスト100化合物(禁止薬物: 30、向精神薬: 18、睡眠薬: 37、その他: 15)のSSSメソッドも含まれています。さらに、計286化合物の化合物情報とプロダクトイオンスキャンスペクトルがライブラリに登録されていることに加え、各化合物のMRM条件やプロダクトイオンスペクトル測定パラメータも最適化されたものが含まれていますので、必要な化合物のみを選択した新規測定メソッドを作成可能です。  
 ※仕様等詳細については当社営業支店までお問い合わせください

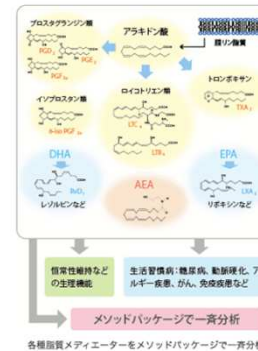


脂質メディエーター  
 LC/MS/MSメソッドパッケージ Ver. 2

幅広い脂質メディエーター群の分析をUFMS技術がカバーします

脂質メディエーター(生理活性脂質)は、生体内で重要な生理機能を担うとともに、糖尿病やアレルギー疾患など生活習慣病にも関与します。本メソッドパッケージでは、アラキドン酸カスケードに由来する脂質メディエーターとその関連物質158成分の一斉分析条件を用意しました。これらの一斉分析において必要となる分析条件検討や各化合物に対するMSパラメータの最適化など、煩雑な作業をすることなく分析をはじめることができます。また、広範な極性範囲の脂質メディエーター群も、LCMS-8050の高感度極性反転性(5ミリ秒)により、例えば脂肪酸のイオン化はESI(-)、システイニルロイコトリエン類にはESI(+))のイオン化が1回の分析でおこなえます。(Ver.2を2014年11月19日発売)

⇒製品詳細はこちら



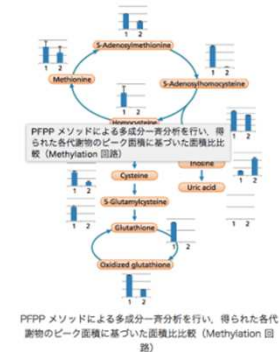
各種脂質メディエーターをメソッドパッケージで一斉分析

一次代謝物  
 LC/MS/MSメソッドパッケージ Ver.2

解糖系、TCA回路、ペントース・リン酸回路、アミノ酸、ヌクレオチドからなる55成分の代謝物(イオンペア試薬使用メソッド)と97成分の代謝物(PFPFカラム使用メソッド)を登録 New!

生体内主要代謝経路に含まれる一次代謝物やアミノ酸・ヌクレオチドを含む55成分の一斉分析及び個別メソッドが含まれており、生体内における代謝物変動を多成分一斉分析にて解析できます。また、生体組織から組織抽出物を調製するまでのプロトコルが含まれており、実験のある前処理法を使うことで手法開発の手間を減らし、安定したLC/MS/MS分析を行うことができます。PFPF(Pentafluorophenylpropyl)カラムを用いた分析メソッド(代謝物97成分)を追加したバージョン2を発売(2014年9月2日)

⇒製品詳細はこちら



PFPFメソッドによる多成分一斉分析を行い、得られた各代謝物のピーク面積に基づいた面積比比較(Methylation回路)

島津製作所 ホームページより

# 今日のポイント

- マス・スクリーニング
  - ✓ SIDSや脳炎・脳症の一部を予防できるかもしれない。
  - ✓ 代謝異常による発達障害の多くを防げる。
  - ✓ タンデムマス・スクリーニングは、将来施行される様になるかもしれない遺伝子スクリーニングの予備段階？
- アミノ酸代謝異常・有機酸代謝異常
  - ✓ 必要な物質が足りなく、不要な物質が溜まってしまう疾患。
- 脂肪酸代謝異常
  - ✓ 必要な時に脂肪を燃焼できない疾患。
- タンデム・マス法（ Tandem mass spectrometry ）
  - ✓ 短時間で特定の種類の物質を網羅的に計測できる方法。

# 参考文献

- タンデムマス・スクリーニングガイドブック
- 有機酸代謝異常ガイドブック
- 小児内科 Vol.46 No.4 タンデムマ・スクリーニング
- Boles RG et al. J Pediatr **132**:924-933, 1998
- Chace DH et al. Clin Chem **47**:1166-1182, 2001
- Lundemose JB et al. Mol Pathol **50**:212-217,1997
- 山口清次.日周産期・新生児会誌 **45**:973-976,2009
- 国立感染症研究所 (IASR Vol. 36 p. 87-89: 2015年5月号)
- 島津製作所 ホームページ