

先天性代謝異常検査について

疫学室 永山 修
仲地国夫

まえがき

先天性代謝異常症とは、新陳代謝が生まれながらに著しく異常となる状態をいい、その多くは生体のひとつの酵素が先天性に動きをもたない患者である。

生体の代謝過程は、極めて多数の酵素によって円滑に行なわれているが、この多数の酵素の生成はすべて遺伝子が支配しており、遺伝子に異常があると酵素に異常がおこり代謝異常を生ずる。遺伝子は染色体上において整然と並んで分布している。この遺伝子のうちのひとつが一对の染色体上の一方において異常がある場合をヘテロ接合体といい、両方に異常がある場合をホモ接合体とよんでいる。

ヘテロ接合体において遺伝子異常に基づく症状がみられる場合を優性遺伝、ヘテロにおいてみられないが、ホモにおいて症状がみられる場合を劣性遺伝とよんでいる。このような常染色体上の遺伝子による疾患を常染色体遺伝病という。先天性代謝異常症は常染色体劣性遺伝で、この場合は両親がヘテロ接合体（保因者）の時にホモ接合体の患児が生まれることが多く、子のまに患児が発生する。

先天性代謝異常症は、検査の対象となっている疾病に共通してみられるのが、脳障害による精神薄弱である。その他に身体的障害があり、中には早期に死亡する疾病もある。いづれにしても早期に発見し、早期に治療することによって、この疾病は救われるのである。

厚生省は、昭和52年10月から先天性代謝異

常検査実施要綱に基づき全国的に実施するよう各都道府県に通達を出した。

本県においては、昭和52年11月からこの検査を実施した。

今回は、開始当初から54年12月までの沖縄県の実施状況を報告する。

検査対象疾病

アミノ酸代謝異常であるフェニルケトン尿症、メイプルシロップ尿症、ヒスチジン血症、ホモシスチン尿症及び糖質代謝異常であるガラクトース血症の5種類。（表1）

採血用紙と封筒の配布

採血用紙と封筒は各保健所（那覇保健所を除く）と那覇市医師会臨床検査センターに相当数を保管して頂いてあるので各病、医院は最寄りの保管場所で必要数を受取る。

新生児の採血

原則として生後5～7日目に各病、医院の産婦人科及び小児科において、足の裏（内外側足底動静脈の走行部）から採血し、十分にしぼり出して、所定の採血用紙に付着吸収させる。オモテからウラに浸み込ませるのであるが、勿論オモテとウラは同じ大きさでなければいけないし、むしろ円を気にせず、円からはみ出した方がよい。記載事項はもれなく記入、チェックし、そして十分に乾燥（直射日光、熱いものを避けて風通しのよい場所や

表-1 代謝異常検査の主な対象

疾患名	血中に増加する物質	代謝異常で阻害される酵素	主な症状
フェニールケトン尿症	フェニールアラニン	フェニールアラニン水酸化酵素	精神薄弱、けいれん、色素減弱
ホモシスチン尿症	メチオニン	シスタチオニン合成酵素	精神薄弱、水晶体偏位、骨格異常
ヒスチジン血症	ヒスチジン	ヒスチジン- α -デアミナーゼ	精神薄弱、色素減少、言語発達障害
メイプルシロップ尿症	ロイシン、イソロイシン、バリン	分枝アミノ酸脱炭酸酵素	精神薄弱、嘔吐、けいれん、意識障害、異常尿臭（早期死亡）
ガラクトース血症	ガラクトース、ガラクトース-1-P	ガラクトース-1-Pウリジルトランスフェラーゼ	精神薄弱、肝硬変、黄疸、嘔吐、白内障（早期死亡）

或いは扇風機等で一時間内外で乾燥可能)させたあと冷蔵庫に保存し、3日以内にできるだけ早く郵送する。採血用紙には2枚のコピーがついているので、1枚は控えとして取っておき、残りの1枚を採血用紙につけたまま送るようにする。

方法及び原理

フェニールケトン尿症、メイプルシロップ尿症、ヒスチジン血症、ホモシスチン尿症の検査はガスリー (Guthrie) 法で、ガラクトース血症の検査はポイトラー (Beutler) 法で行なう。

1. ガスリー法

枯草菌の発育に必要な各種アミノ酸に対する代謝阻害剤を適量含んだそれぞれの寒天培地中で、枯草菌を培養すると、菌のアミノ酸代謝がおさえられ発育しにくくなる。この培地上に血液を浸み込ませたディスクを置きそれに各種測定アミノ酸の陽性対象として数

種類のアミノ酸含有の標準血液ディスクを置いて16-18時間、37℃で培養すると菌は血液中のアミノ酸を利用して発育し、含まれているアミノ酸量に比例して枯草菌の発育円を生じる。それを、標準血液ディスクのそれぞれの含有発育円の大きさと比較しながら判定を行なう。

判定基準は、日本公衆衛生協会編研修用ノート「先天性代謝異常マスキングの理論と実際」に従い、フェニールアラニン4mg/dl、メチオニン2mg/dl、ヒスチジン6mg/dl、ロイシン4mg/dl以上を陽性とし、それに近いものを疑陽性とした。陽性、疑陽性のは、再採血による再検査を行ない更に確認検査を特別スクリーニングセンターへ依頼してその結果によって、異常と正常を決めた。

2. ポイトラー法

ガラクトース血症の検査法である。

検査試薬として、ガラクトース-1-リン酸UDP-グルコース、TPN緩衝液、EDTA、

表-2 ガスリー法の各種アミノ酸測定に使用する寒天、培地、代謝阻害剤及び枯草苗株(芽胞懸濁液)

a) フェニールアラニン測定

寒 天	OXOID AGAR No. 1
培 地	B I A 濃縮培地
阻 害 剤	10 ^{mM} β -2-thienylalanine 水溶液
枯草苗株	ATCC 6633

b) メチオニン測定

寒 天	OXOID AGAR No. 1
培 地	B I A 濃縮培地
阻 害 剤	1 ^{mM} L-Methionine-DL-Sulfoximine 水溶液
枯草苗株	ATCC 6633

c) ヒスチジン測定

寒 天	BACTO AGAR
培 地	B I A 濃縮培地
阻 害 剤	2 ^{mM} DL-1,2,4-triazole-3-Alanine 水溶液
枯草苗株	ATCC 6633

d) ロイシン測定

寒 天	OXOID AGAR No. 1
培 地	B I A 濃縮培地
阻 害 剤	100 ^{mM} 4-Aza-DL-Leucine 水溶液
枯草苗株	ATCC 6051

標準血液ディスクはそれぞれ測定する各種のアミノ酸を一定量ずつ含有させた標準血液濾紙を用いる。

サポニンを含むものを用意し、3mm径の血液ディスクを入れたものに0.1mlずつ加え、37℃で3～4時間置く。そうすると血液ディスクに含まれるガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ(G-1-PUT)、フォスフォグルコムターゼ(PGM)、グルコース-6-リン酸脱水素酵素(G-6-PDH)の3酵素の働きにより、最終反応としてNADPHが生じる。この反応液の一滴を濾紙上にスポットし、長波長(3650Å)の紫外線ランプ下で蛍光の有無を観察する。G-1-PUTの欠損又は形成不全の場合は、反応が進行せずNADPHを生じないため蛍光を発しない。

ガスリー法で、陽性又は疑陽性のものについては、同一検体で再検査を行ない、その結果、陽性又は疑陽性のものは再採血を要請しその結果、尚陽性又は疑陽性のものは、特別スクリーニングセンターである大阪市環境保健協会(責任者、大阪市立小児保健センター大浦敏明先生)へ確認検査を依頼し、その結果で陽性(異常)と確認された場合は、早速出生した産婦人科へ連絡し、県立病院の小児科で治療を受けるよう、患児の母親に連絡して頂くようにする。同時に、予防課へも連絡する。

ヒスチジンが陽性又は疑陽性の場合には、

薄層クロマトグラフィーによるウロカニン酸の定性検査を行ない、ウロカニン酸の検出されないものについて再採血を要請し、その結果、疑わしいものを特別スクリーニングセンターへ送り確認検査を依頼する。

特に血中ロイシンが6 mg/dℓ以上の場合には、死亡率の高いメイプルシロップ尿症が疑わしいので、もし不機嫌、嘔吐、後弓反張、けいれん、メイプルシロップ様の甘い尿臭など、メイプルシロップ尿症にみられる症状があれば、再採血による再検査の結果を待たず直ちに専門の病院で精密検査を受けるようにということなので、早急に連絡をするようにしている。又、ポイトラー法で蛍光がみられず、嘔吐、重症黄疸、肝肥大、体重増加不良

など、ガラクトース血症にみられる症状があれば、やはり再採血による再検査の結果を待たずに、乳糖を含まないミルクを与えるよう早急に連絡する。

検査依頼病、医院数

昭和54年12月現在72施設となっており、その内訳は次のとおりである。

内訳：沖縄本島 64、久米島 2、宮古 3、八重山 3。

検査結果

52年11月に検査を開始してから、54年12月までに実施した延検査件数は、44,091件で、月別の延検査件数は、表3のとおりであった。

表-3 月別延検査件数

月別 年次	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計
52年											1,397	1,594	2,991
53年	1,728	1,467	1,670	1,475	1,676	1,675	1,595	1,926	1,812	1,838	1,760	1,423	20,045
54年	1,837	1,574	1,581	1,528	1,938	1,665	1,622	1,929	1,841	2,030	1,826	1,684	21,055
												総計	44,091

表-4 再採血要請数及び再採血検査実数、回収率

()は再採血検査実数

月別 年次	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計
52年											23 (15) 65.2%	29 (10) 34.5%	52 (25) 48.1%
53年	20 (17) 85%	19 (10) 52.6%	51 (27) 52.9%	55 (27) 49%	44 (24) 54.5%	58 (33) 56.9%	27 (20) 74%	47 (25) 53.2%	29 (19) 65.5%	46 (35) 76.1%	13 (8) 61.5%	34 (23) 67.6%	443 (268) 60.5%
54年	33 (21) 63.6%	31 (20) 64.5%	46 (35) 76.1%	44 (37) 84.1%	48 (41) 85.4%	36 (34) 94.4%	52 (45) 86.5%	63 (55) 87.3%	41 (36) 87.8%	51 (41) 80.4%	29 (25) 86.2%	22 (16) 72.7%	496 (406) 81.9%

註：哺乳不良の再採血数を除く

表一 5 抗生剤投与による判定不能件数

事項 年次	検査件数	抗生剤投与数	率
52年 11～12月	2,991	5	0.2%
53年	20,045	85	0.4%
54年	21,055	69	0.3%
計	44,091	159	0.4%

表一 6 年次別検査実数

事項 年次	延検査数	再採血検査数	検査実数
52年 11～12月	2,991	25	2,966
53年	20,045	268	19,777
54年	21,055	406	20,649
計	44,091	699	43,392

註：哺乳不良による再採血検査数を除く

表一 7 年次別検体不備数

事項 年次	検査依頼数	検体不備数(%)	検査件数
52年 11～12月	3,063	72(2.35%)	2,991
53年	20,089	44(0.21%)	20,045
54年	21,093	38(0.18%)	21,055

検体不備とは次のようなものである。

1. 血液がオモテとウラに平均して十分に塗布されていない。
2. 乾燥不十分。
3. ミルク、アミノ酸輸液、その他の薬品等で汚染されている。
4. 生後4日目までに採血されたもの。

再採血検査を除く検査実数は、表6のように、43,392件であった。表4、6の(註)哺乳不良の再採血数を除く、とあるのは、哺乳不良の場合は、結果報告のとき、結果用コピーに、「哺乳良の状態です再採血願います」と記載して結果を送っているが、この場合、再採

血検体に、「再検」の表示がない限り、我々のところでは、再採血による再検査がなされたかどうかは不明のため、今回は止むを得ず除くことにした。再採血検査に関係するものは表4、5、6、7のとおりであるが、再採血を要請する場合には、次のものが対象となる

1. 検体不備のもの(検査不可能)但し、4日目以内に採血された早期採血検体については一応検査をする。
2. 検査の結果、陽性、疑陽性となったもの。
3. 抗生剤の投与により、枯草菌発育阻止のため判定不能となったもの。
4. 哺乳不良で、特に低体重と重なった場合(この場合は、4日目以内の採血と同様に、異常であっても血中アミノ酸の増加が不十分なので、正常と判定される恐れがあるため)。従ってこの場合は、哺乳状態が良好となってから一週間前後に再採血した方が良いかと思われる。

以上のような再採血事由を考慮して、今後更に医療機関の御協力を得て、不必要な再採血は出来るだけ避けるようにしたい。

薄層クロマトによるウロカニン酸の定性検査は、54年11月から開始し、54年12月現在、100件について検査した。その結果、ウロカニン酸が検出されなかったのが2件で、54年12月現在再採血を要請した。

52年12月、ガラクトース血症疑陽性1例、53年5月、フェニールケトン尿症疑陽性1例が発見された。

54年12月、ヒスチジン陽性の患児を発見、ウロカニン酸も検出されなかったため、直ちに再採血を要請し、その検体を特別スクリーニングセンターで確認して頂いた結果、要治療とのことで、出生した産婦人科より母親に連絡、55年1月現在、県立病院小児科にて、治療、経過観察中である。

まとめ

昭和52年11月から検査を開始したが、当初は検体不備も多く、我々も検査に習熟してないこともあって、培地作成上最も重要な枯草菌と阻害剤の条件設定が安定するまでは随分と苦心した。

検体不備は、その都度、医療機関に電話や説明書を送ったりしてお願いし、検体不備の防止に努めたので、段々と減少してきた。

抗生剤の投与で、枯草菌の発育阻止による検査不能も、52年11月から54年12月現在までに、表5、のように159件(0.4%)であった

この場合、再採血を要請して再検査を行なうのであるが、抗生剤の投与中止後1週間内外で採血すれば、ほとんど問題はないものと思われる。又早い時期の初回の採血であれば投与中は避けて採血すれば、5～7日以後にずれても、差つかえない。むしろ不必要な再採血をしないで済む。

どのような抗生剤が影響するのか、抗生剤

の種類と投与期間が、記載されないのがほとんどなので不明だが、特にピクシリン使用の場合には影響が大きいように思われる。

55年度からは、更にクレチン症(先天性甲状腺機能低下症)の検査も加わることになっている。

参考文献

- 1) 日本母性保護医協会：先天性代謝異常の早期発見と治療、研修ノートNo.8、昭和51年。
- 2) 日本公衆衛生協会：研修用ノート「先天性代謝異常マスキングの理論と実際」
- 3) 成瀬 浩、他：先天性代謝異常マスキング法(ガスリー法を中心として)モダンメディア第23巻11号、509-521、昭和52年。
- 4) 大浦敏明：先天性代謝異常スクリーニング(最近の進歩)、CLINICAL LABORATORY, 1976。