



低ホスファターゼ症疑い症例の尿メタボローム解析

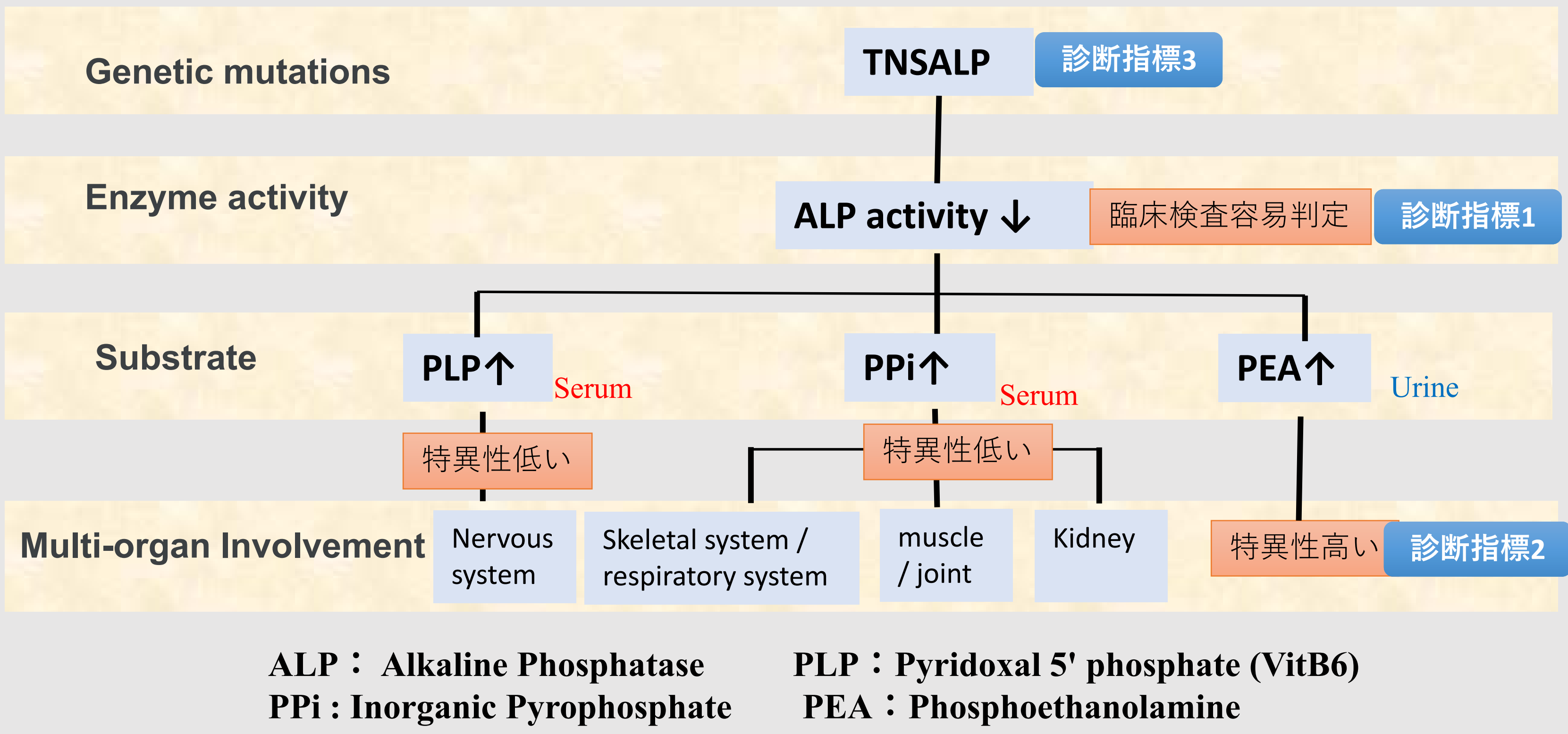
Urinary metabolomics for hypophosphatasia suspected case

○金 明姫、張 春花、阮 宗海、王 旭陽、万 婷々、唐 劍慈
ミルスインターナショナル 検査・研究開発部
○Mingji Jin, Chunhua Zhang, Zonghai Ruan, Xuyang Wang, Tingting Wan and Jianci Tang
Department of research & development of MILS International

背景と目的

症例情報と試料

The Pathogenesis and Multi-organ Involvement of Hypophosphatasia (HPP)



HPPの診断に特異性が高い尿中PEA上昇は尿中アミノ酸分析で判定可能ですが、TMS化のみの誘導体化法はアミンの検出効率は乏しいため、メトキシム化を加えるTMS誘導体化法によるメタボローム解析法でPEA排泄レベルを検討した。

- 日本人、日齢 1 、二絨毛膜二羊膜双胎第 2 男児
- 大腿骨幹部骨折と著明な四肢短縮を認めた。
- 家族異常歴がある。
(過去の妊娠で同様骨系統疾患が疑われた)
- 血清ALP値 1U/L 。（基準値185.5 ～ 563.5 U/L)
- 重症型HPPを強く疑い。
- 日齢 1 から酵素補充療法を開始したが、PEA分析依頼してきた検体は酵素補充療法前の尿検体である。
- PEA標準試薬は富士フィルム和光純薬から購入した。

方法

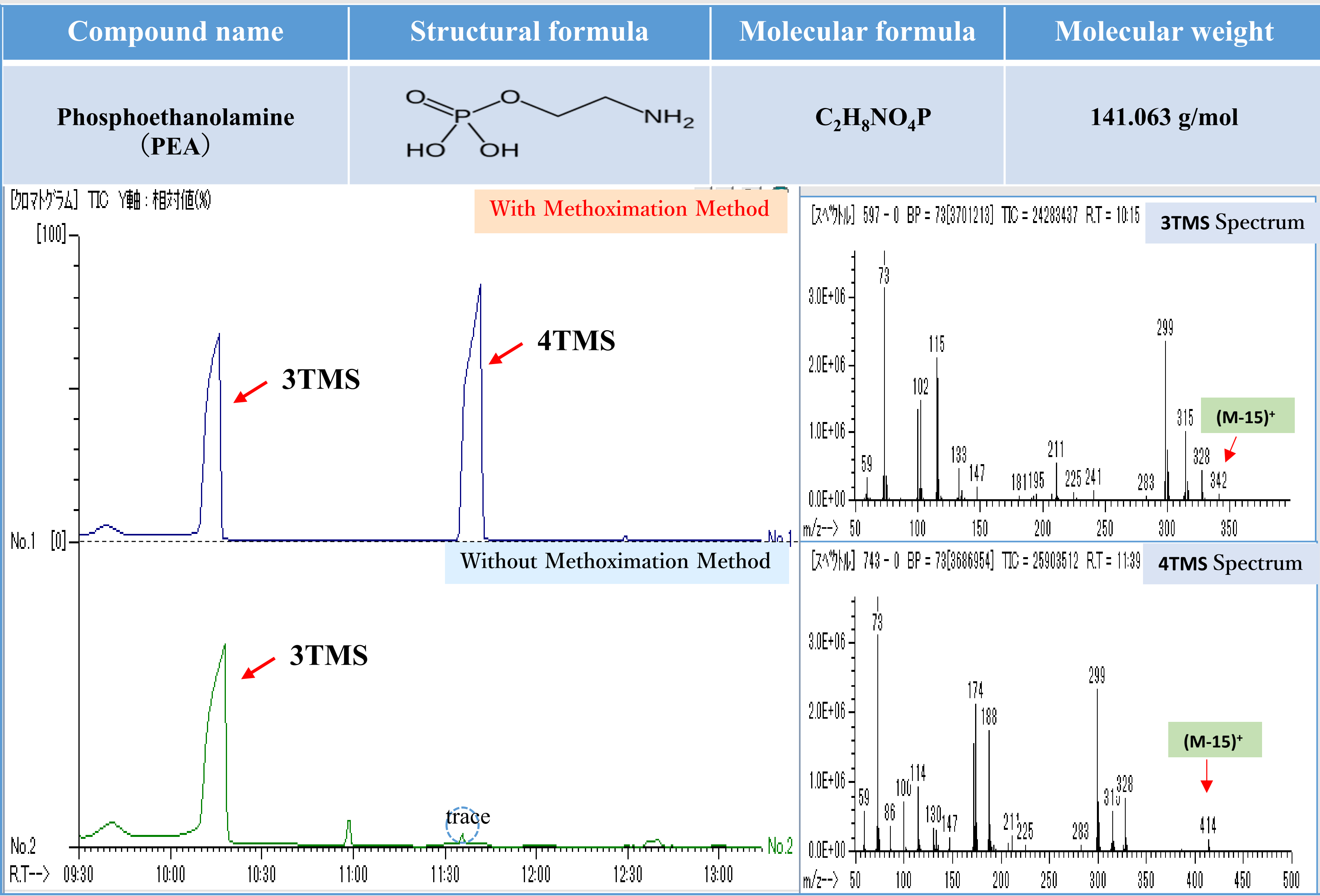
PEA標準品のGCMS 分析結果

検体処理法

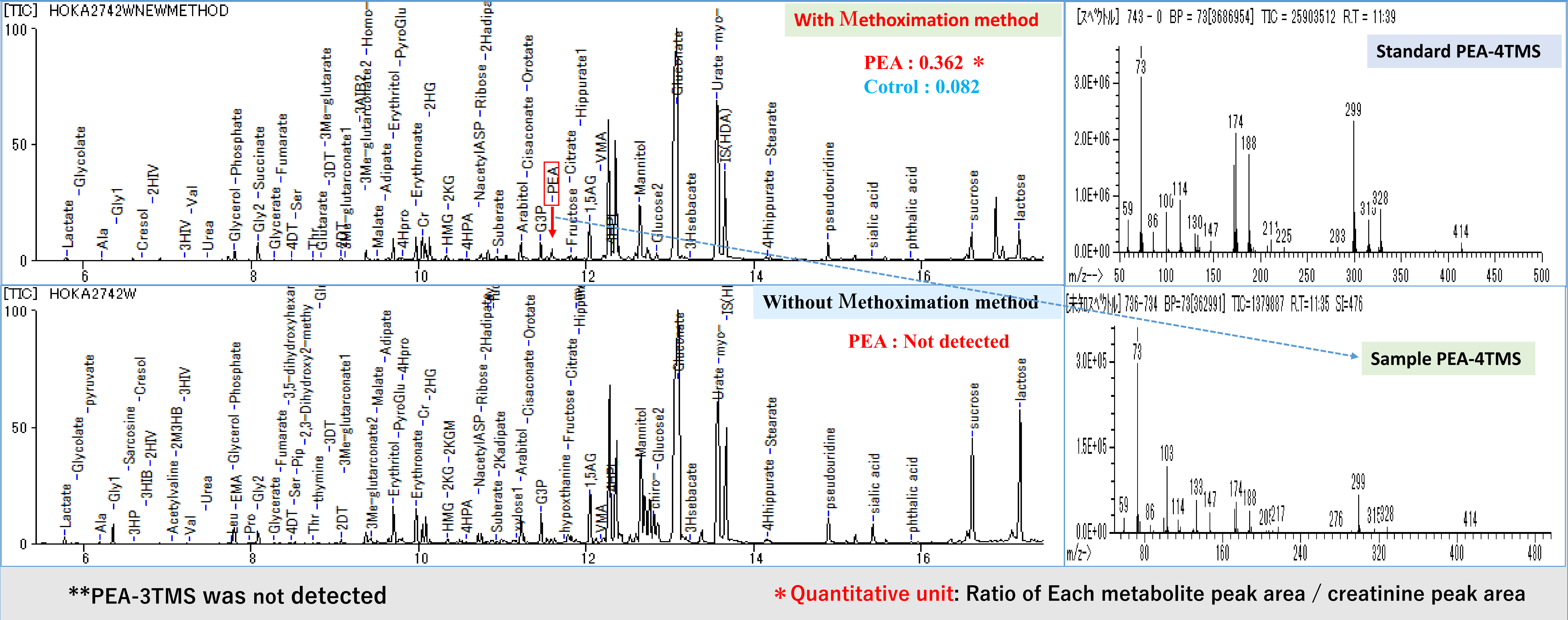
- | | |
|--|---|
| 1. 従来ウレアーゼ法
① 尿100ul +urease 40u 37℃ 15min
② IS (HAD) 100ul + EtOH 1ml
③ 高速遠心 除蛋白。
④ 4ml バイアル瓶に移す。
⑤ 乾固 TC8F、 N ₂ 吹き乾燥。
⑥ BSTFA 100ul + TMCS 10ul 90℃ 40min
⑦ GCMS測定。 | 2. メトキシム化法加えたウレアーゼ法
① 尿100ul + urease 40u 37℃ 15min
② IS (HAD) 100ul + EtOH 1ml
③ 高速遠心 除蛋白。
④ 4ml バイアル瓶に移す。
⑤ 乾固 TC8F、 N ₂ 吹き乾燥。
⑥ 100ul 20mg/ml Methoxyamine hydrochloride (pyridine solution) 90℃ 20min
⑦ BSTFA 100ul + TMCS 10ul 90℃ 40min
⑧ GCMS測定。 |
|--|---|

データ解析法

当施設代謝異常症解析プログラムによるデータ解析を行い、PEAの尿中排泄レベルをチェックした。



HPP患者尿の従来法とメトキシム-TMS誘導体化法の解析結果



考察

- 初めてメトキシム化を加えた方法で、HPP疑い症例の尿メタボローム解析にてPEAの高排泄を確認した。
- ピロリン酸とピリドキサル 5'リン酸の異常は確認できなかった。
- PEAは単なるトリメチルシリル誘導体化でGCMS分析の検出効果は乏しい点があるため、メトキシム化を加えることにより、PEAの検出効果は高まることは分かった。
- HPP患者の診断に応用できることを裏付けた。今後さらに症例を重ねて検討続けてゆきたい。

一般社団法人日本医用マススペクトル学会
C O I 開示

筆頭発表者名： 金 明姫

本発表演題に関連して開示すべきCOI 関係にある企業などはありません。