

## MS/MS를 이용한 신생아 스크리닝

서울 의과학연구소 서울 임상병리검사센터 (SCL) 유전성대사질환팀

### 윤 혜 란

#### 서 론

최근 생화학적 혹은 기기분석학적 기법의 첨단화로 혈액 한 방울로 신속 저렴하게 간단한 신생아 스크리닝을 함으로써 20여종의 선천성대사이상질환을 진단할 수 있는 새 장이 열리게 되었다. 새로 탄생한 소중한 생명은 매우 저렴한 가격으로 이러한 첨단의료기술의 혜택을 받을 수 있다. 평생 육체적 정신적 고통 속에서 지내게 될지도 모를 치명적인 선천성대사이상질환을 신생아기에 스크리닝 함으로써 조기 치료 및 예방할 수 있는 스크리닝 기법이 생긴 것이다. 이러한 놀라운 일을 가능케 한 기기가 바로 이중질량분석기(tandem MS 혹은 MS/MS) 이다.

#### 1. 왜 신생아 스크리닝을 하는가 ?

수 많은 선천성(유전성)대사이상질환 중 신생아 스크리닝 검사종목으로 선정 가능한 criteria를 고려해보면;

- 1) 조기진단하지 않을 경우 손상된 뇌로 인해 비가역적인 장애를 초래할 수 있는 질환
- 2) 1)의 경우에 해당되지만 조기 진단 후 장애의 예방 및 치료가 가능한 질환
- 3) 임상증상만으로 신생아기에 진단이 곤란한 질환
- 4) 환자의 빈도수가 비교적 높은 질환 등으로 꼽을 수 있다.

즉, 전 세계적으로 국가적차원의 신생아 스크리닝은 유전성대사이상질환의 조기진단 및 예방을 그 목적으로 하고 있다. 이에 발맞추어 우리나라도 1997년부터 국고의 지원으로 2종의 질환은 현재 무료검사가 시행되고있다. 신생아 스크리닝을 통한 질환의 조기발견으로 국가는 국민에게 건강한 삶을 영위하는 기회를 주고, 조기발견하지 못했을 때 이 질환으로부터 야기되

는 비가역적 뇌 손상 후(정신박약 및 지체부자유자 등) 이의 치료 및 재활에 들어가는 막대한 의료비의 절감이 가능케 된 것이다.

#### 2. 유전성대사이상질환이란?

우리가 섭취하는 탄수화물 및 단백질, 지방으로부터 유래되는 대사산물인 유기산(organic acidemia), 아미노산(aminoacidopathy), 지방산의 대사질환(fatty acid oxidation disorder)은 각 화합물을 대사시키는 효소의 활성도가 떨어짐으로써 생체 내에서 적절하게 대사되지 못하고 체내에 과도하게 축적되거나 또는 비정상적인 경로로 대사 되어 혈액이나 뇨로 배설되는 질환이다. 즉 결함이 있는 하나의 유전자의 변이로 인해 생긴 질환(single gene disorder)이다. 축적되는 유기산이나 아미노산의 양은 결함이 있는 효소의 활성 정도에 따라 결정된다. 이러한 결과로써 생체 내 산, 염기의 균형은 깨어지고, 일부의 중간 대사체는 비정상적인 다른 경로로 대사 되어 인체에 유해한 독성물질로 대사, 배설되기도 한다. 다양한 표현형으로 나타나는 질병의 원인으로는 지방산, 가지형 아미노산, 비타민, 포도당, 글루타치온, 산화적 인산화의 대사이상이나 결함 등이 있다.

#### 3. MS/MS는 기존의 신생아스크리닝 방법과 무엇이 다른가 ?

유전성대사이상질환 중 2종(PKU, Hypothyroidism), 5종 (PKU, MSUD, Galactosemia, Homocysteinemia, Hyperhistidinemia) 혹은 7종(5종 외에 TSH, Free T4)이 효소비색법 등 기존의 신생아 스크리닝방법으로 검사되고 있다. 하지만 우리나라에서 드물지 않게 발견되고 있으며, 조기발견으로 그 예후도 비교적 양호한 유기산 및 아미노산 대사이상질환인 Propionic aciduria, Methylmalonic aciduria, Citrullinemia, Ornithine transcarbamylase deficiency 혹은 지방산대

사이상질환과 같은 대사이상질환은 검사는 기존의 방법으로 진단할 수가 없다.

MS/MS를 이용하면 적어도 주요한 유전성대사이상 질환인 유기산, 아미노산, 지방산대사이상질환은 스크리닝 및 진단이 가능하며, 이 기법은 사실상 현재의 첨단기술로 진단할 수 있는 중요한 small molecule의 질환은 거의 포함되어 있다고 본다.

## 본 론

### 1. MS/MS는 무엇이며 신생아 검체로부터 어떤 대사물을 분석하는가?

MS/MS는 MS (Mass spectrometry)가 2개 붙어 있는 기기이다. 이 두 기기의 접목은 단순한 합침 이상의 기능을 가지게 되었다. 즉 첫 번째 MS는 시료분석을 위해 도입된 수백 수천만의 물질 중 특정한 그룹으로 물질을 분류해서 그 그룹만 선택적으로 검출하고, 두 번째 MS에서는 선택되어진 물질들을 다시 캐트림으로써 화합물 특유의 스펙트럼을 얻을 수 있게 되었다. 이런 기능은 기기의 선택성과 감도를 증가시킴으로써 검사의 신속, 정확성 및 감도향상의 결과로 이어졌다.

유기산 프로파일의 정밀 검사 방법인 GC/MS분석과 비교할 때 MS/MS의 괄목할만한 장점은 검체 전처리 시간과 검체 분석 시간이다. GC/MS분석을 위해서는 검체 전처리 시간과 검체 분석시간이 각각 8시간 및 1.5시간 가량이 걸리나 MS/MS에서는 각각 1.5시간 및 2분이 걸린다. 일단 MS/MS 스크리닝 검사(유기산, 아미노산, 지방산 대사이상질환 등 모두 합쳐서 20여종의 스크리닝)에서 양성이나 나타나면 필요에 따라 소변 중 유기산 검사와 혈장 중 아미노산 검사 등으로 2차 정밀 검사를 시행해야 하여 필요에 따라 효소검사 및 DNA mutation study를 통해 확진해야 한다.

MS/MS를 이용하여 유기산, 아미노산, 지방산 대사이상질환을 진단하기 위해 분석하는 대사물은 아실카르니틴과 아미노산이다. 아미노산은 단백질의 분해산물이며, 아실카르니틴은 양쪽성이온 (zwitter ion)으로 극성이면서, 발색단(chromophore)이 없는 비휘발성 화합물이다. 소변이나 혈액, 혈장 중 아실카르니틴이 비정상적으로 증가했다는 것은 유기산이나 지방산 대사질환이 있다는 지표가 되며, 마찬가지로 아미노산의 비

정상적인 증가 혹은 감소는 아미노산 대사질환이 있다는 지표가 된다. 특히 미토콘드리아 내에서의 acyl-CoA 에스테르가 축적된 것을 의미하므로 이의 확인은 진단에 필수적인 매우 유용한 지표이다.

아실카르니틴은 Guthrie card (보통 PKU 카드)에 채취된 신생아 혈액으로부터 간단한 과정을 거쳐 분리한 후 FAB(fast atom bombardment)/MS/MS를 이용하여 1982년 최초로 Millington 박사에 의해 성공적으로 대사물의 프로파일분석에 적용되었다. 이후 1990년대에 좀더 진보된 방법인 ESI (electrospray)/MS/MS의 출현전까지 FAB/MS/MS는 몇 년 동안 신속, 정밀한 아실카르니틴의 분석방법으로써 유용하게 사용되어졌다. 90년도에 새로운 기법으로 선보이게 된 ESI/MS/MS는 아실카르니틴과 같이 생체대사물로서 용액 중 이온으로써 존재하고, 비휘발성이면서 열에 불안정한 화합물에 대한 검출감도가 뛰어난 것이 확인되었다.

실험적으로는 아실카르니틴이 MS/MS에서 검출되도록 butylester로 유도체화시킨다(Fig. 1). 이때의 장점은 이미 부틸아실카르니틴이 양전하를 가지고 있으므로 LC (Liquid chromatography)의 이동상에 검출이 용이하도록 소량의 acetic acid나 trifluoroacetic acid와 같은 첨가제를 넣지않아도 positive ESI/MS분석에 적합하다는 것이다. Q1, Q2, Q3로 구성된 MS/MS로부터 Q2인 Collision-induced Dissociation (CID)에 의해 부틸아실카르니틴이 (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>N과 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub> 그리고 곁가지의 아실그룹인 RCOOH로 분열되어 각각이 떨어져지고, m/z 85의 조각이온을 만들며 이 조각은 각기 다른 R그룹을 가진 아실카르니틴으로 다시 조각을 만들어 MS/MS스펙트럼을 생성한다(Fig. 2).

미토콘드리아에서는 탄소수 16개 이상의 장쇄 지방산이 산화되어 탄소수 2개인 가장짧은 acetyl CoA 까지 산화되며 이 과정에서 L-카르니틴은 과량의 acyl-CoA 그룹들을 아실카르니틴으로 만들어 제거하

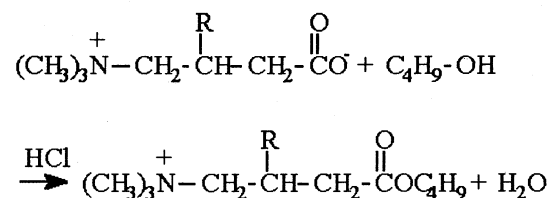


Fig. 1. Butyl esterification of acylcarnitine.

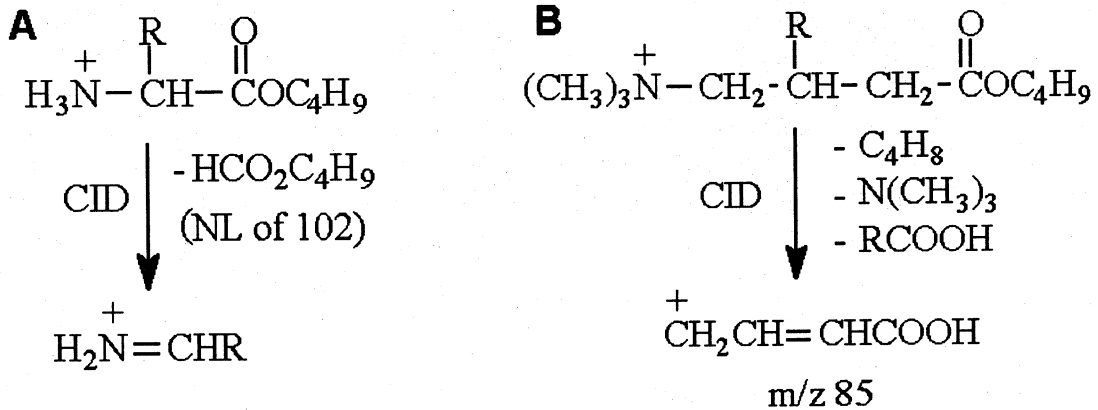


Fig. 2. CID fragmentation pattern of acylcarnitine and amino acid butyl esters. (A) Common neutral loss ion of m/z 102 from CID of amino acid butylesters; (B) Common fragmentation of m/z 85 from CID of acylcarnitine butylesters.

고 미토콘드리아의 항상성을 회복시켜주는 무독화제 (detoxifying agent)로서의 역할을 한다. 소변이나 혈액, 혈장 중 아실카르니틴이 비정상적으로 증가했다는 것은 특히 미토콘드리아내에서의 acyl-CoA 에스테르가 축적된 것을 의미하므로 유기산이나 지방산 대사질환이 있다는 근거로 진단에 필수적인 매우 유용한 지표가 된다<sup>1-6)</sup>.

## 2. 실험부

### 1) 표준품 및 labeled stable isotope internal standards

Acetyl-[d3-methyl]carnitine, octanoyl-[d3-methyl]carnitine, palmitoyl-[d3-methyl]carnitine, alanine-2,3,3,4-d<sub>4</sub>, valine-d<sub>4</sub>, leucine-5,5,5-d<sub>4</sub>, methionine-methyl-d<sub>3</sub>, phenylalanine-ring-d<sub>5</sub>, tyrosine-ring-d<sub>4</sub>를 Cambridge Isotope Laboratories로부터 구입하였다. 기타 아미노산과 지방산, 유기산 표준품들은 Sigma와 Aldrich로부터 구입하였다.

### 2) 시료

혈액은 filter paper (Schleicher and Schunel, S&S #903; Dassel, Germany)에 채취한다. 24시간동안 실온에서 건조한다. 분석할 때까지 polypropylene bag에 담아서 보관한다. 환자의 소변시료는 분석 전까지 -20℃로 보관한다.

### 3) 혈액시료 제조

혈액(blood spot)을 5 mm의 원형으로 펀치하여 glass vial에 담는다. 시료는 400 μl 메탄올에서 초음파

로 30분간 추출한다. 상층을 새 vial로 옮겨 헬륨 하에 증발 건조시킨 시료는 건조한 n-부탄올 200 μl와 아세틸클로라이드 두방울에 녹인다. Vial을 뚜껑으로 밀봉하고 65도에서 30분간 가열한다. 혼합액은 건조시켜 메탄올 200 μl에 다시 녹여 자동분석 vial로 옮긴다.

### 4) 소변시료 제조

소변 2 mL에 100 nmol의 3-phenylbutyric acid와 100 nmol의 heptadecanoic acid를 내부표준액으로 첨가한다. 시료를 pH 1로 산성화하고(4N HCl 3 방울) NaCl로 포화시킨다. 2 mL의 ethyl acetate 및 diethylether로 각각 2회 추출한다. 상층은 원심분리하여 (2500 rpm, 10분) 합하고 무수 magnesium sulfate로 수분제거후 질소 건조시킨다. 건조잔사는 200 μl 아세토니트릴에 녹여 bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) (1% trimethylsilyl chloride), 피리딘과 함께 (4:1, v/v) 80도에서 1시간 가열한다. 가열한 시료는 200 μl 아세토니트릴에 녹여 자동분석 vial로 옮긴다.

### 5) Tandem Mass Spectrometry

ESI-MS/MS는 Perkin Elmer Wallac triple quadrupole mass spectrometry를 Perkin Elmer Wallac HPLC pump와 autosampler로 장착하여 20 μl 시료 loop 와 함께 사용하였다. 질소는 충돌가스로 사용되었고, 충돌에너지는 25-45 eV로 설정하였다. 이온소스 온도는 70℃였다. 아실카르니틴 프로파일을 얻기 위해서 m/z 250-500의 범위에서 m/z 85의 parent ion을

피크 scan을 하도록 설정하였다. 아미노산 분석을 위해서는 neutral loss 102 (Fig. 3), 혹은 119 혹은 그밖에 neutral loss scan 기능이 사용되어졌다.

### 3. 유기산, 지방산 및 아미노산 대사질환의 진단

#### 1) 유기산 대사질환의 개요

유기산 대사질환은 아미노산이나 지방산 대사이상으로 인해 아미노기가 떨어져나간 유기산이 축적되어 소변으로 배출되는 유전질환이다. 이 질환은 대개 하나 이상의 원인을 가지고 있다. 예를 들면 combined

carboxylase deficiency는 biotinidase deficiency와 holocarboxylase synthetase defects가 원인이 될 수가 있고, methylmalonic acidemia는 methylmalonyl-CoA mutase 혹은 adenosyl-B12와 같이 mutase coenzyme의 합성과 관련된 여러 효소 중 하나가 결함이 생겼을 수가 있다.

유기산 대사질환은 다양하게 발현되기 때문에 고암모니아증이나 산성케톤증, 저혈당증이 있는 응급의 급성 환자들로부터 잘 구별하여 진단해야 할 필요가 있다. 성장한 어린이에게서 Reye's like syndrome, 저혈당,

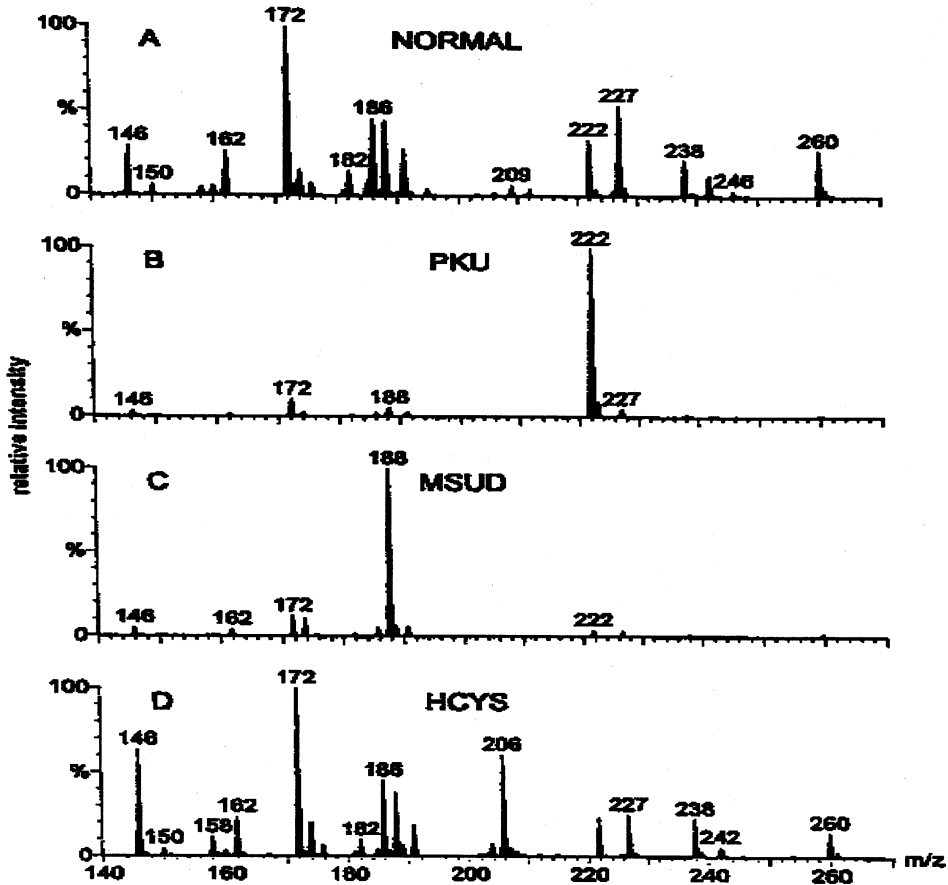


Fig. 3. Blood amino acid profiles obtained by ESI-MS/MS analysis, scanning for a constant neutral loss of 102 D. (A) Normal; (B) a case of PKU; (C) a case of maple syrup urine disease (MSUD); (D) a case of homocystinuria (HCYS). The signals in the profile corresponded to the protonated molecular ions (MH<sup>+</sup>) of amino acid butyl esters. Their masses are as follows: alanine (146; d4-labeled isotope 150), serine (162), proline (172), valine (174; d8-labeled isotope 182), threonine (176), pyroglutamic/deammoniated glutamine and lysine/pipecolic acid (186), leucine/isoleucine (188; d3-labeled isotope 191), asparagine/ornithine (189), glutamine/lysine (203), methionine (206; d3-labeled isotope 209), histidine (212), phenylalanine (222; d5-labeled isotope 227), arginine (231), citrulline (232), tyrosine (238; d4-labeled isotope 242), aspartate dibutyl ester (246), tryptophane (261), and glutamate dibutylester (260).

저케톤성 저혈당증, 점진적인 근긴장이상질환, 발진, 탈모증, 보행실조, 발진 등이 나타날 수 있다.

특히 isovaleric acidemia나 glutaric aciduria type II는 종종 심한 발냄새가 나기도 한다. Glutaric acidemia type I은 3-6개월 동안은 정상이다가 1살이 되면서부터 추체의로계의 운동장애가 나타난다. Propionic acidemia, methylmalonic acidemia,  $\beta$ -ketothiolase deficiency는 종종 신생아기에 고암모니아성 혼수로 나타나거나 유아기나 어린이가 되어서는 빈혈, 고글리신혈증, 호흡중추감소증, 혈소판감소증으로 나타난다. Biotinidase deficiency는 탈모, 보행실조, 발진, hydroxymethylglutaric acidemia로 나타난다. 대부분의

유기산 대사질환은 상염색체성 열성유전을 하며 cultured fibroblast에서 효소결핍을 확인할 수 있다. 대부분의 질환들이 cultured amniotic cell에 의해 효소 검사로 산전검사가 가능하다. 이 중 isovaleric acidemia, propionic acidemia, methylmalonic acidemia, glutaric acidemia는 임신초기 양수에서 특징적인 유기산으로 확인할 수 있다.

## 2) 지방산 대사질환의 개요

최근 들어 미토콘드리아에서의 지방산 산화대사이상을 유발하는 유전질환(fatty acid oxidation disorders, FAOD)에 대한 인식이 고조됨에 따라 소아과나 신경과뿐만 아니라 소화기과나 간질환 연구 분야의 학자들

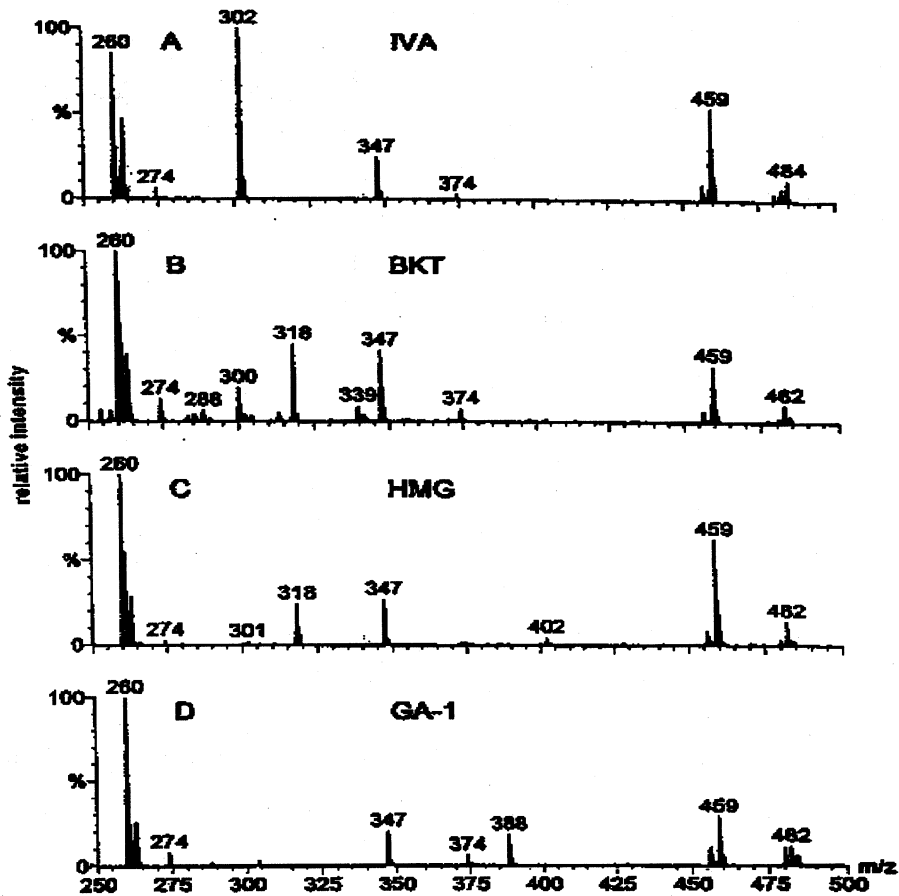


Fig. 4. Blood acylcarnitine profiles obtained by ESI-MS/MS analysis, scanning for precursor ions of  $m/z$  85. (A) A case of isovaleric acidemia (IVA); (B) a case of B-ketothiolase deficiency(BKT); (C) a case of HMG; (D) a case of GA type 1 (GA-1). The signals in the profile are the molecular ions( $M^+$ ) of the acylcarnitine butyl esters. Their masses are as follows: acetyl(260).

사이에서도 FAOD에 대한 기전 및 생화학적, 화학적 진단, 분자유전학적 연구가 활발히 진행되고 있다.

미토콘드리아에서의 지방산 베타산화는 공복시 당으로부터의 에너지공급이 저하되었을 때, 에너지공급원으로써 중요한 역할을 한다. 지방산 대사질환은 이 대사계에 관련된 효소의 결핍으로 야기되는 선천성 대사질환이다.

미토콘드리아에서의 지방산 대사질환은 약 15년 전부터 체계적으로 확립되기 시작하였고 비교적 새로운 영역의 질환이다. 26여종 이상의 다양한 효소결핍증이 있으며, 최초로 발견된 환자는 1973년 근형 CPT결핍증 환자이다. 1982년 백인에서 호발하는 MCAD결핍증 환자의 발견이후 이 질환은 전세계적인 주목을 받게되었고 이후 새로운 환자의 진단횟수도 점차 증가하게되었다. 이렇게 새환자의 진단이 증가하게된 이면에는 실용적인 생화학/화학 진단법, 효소진단법의 개발 및 베타산화계에 알려져 있지 않았던 새로운 효소의 발견도(예를 들면 극장쇄형아실 CoA 탈수소효소, 3-하이드록시지방산산화효소) 한 몫을 하였다. 지방산 대사질환은 Reye syndrome이나 SIDS와 유사한 증상을 나타내는 경우도 있어 이런 증상의 원인질환으로 여겨지기도 했고, 반면 MCAD결핍증의 경우는 백인에게서 상당히 흔히 발견됨으로써 이 분야의 연구를 급속도로 촉발시키기도 하면서 새로운 유전질환의 한 그룹으로 급부상했다.

지방산 산화대사이상으로 의심될 수 있는 임상증상은 다음과 같다.

- ① 이른 아침이나 공복시 발병되는 경우가 많다
- ② 감염, 설사, 과로가 계속될 때 발병하는 경우가 많다.
- ③ 근긴장 저하, 간종대, 심확대 등이 나타난다.
- ④ SIDS, Reye like 증후군 및 원인불명의 신생아 사망으로도 나타난다.
- ⑤ 2 세 이전에 대개 발병한다.
- ⑥ 신생아기에 특이한 병력을 갖고 있는 경우가 많다.
- ⑦ 가족력에 이상이 있는 경우가 많다.

GC/MS를 이용한 유기산 분석이나 유리 지방산 분석을 이용하여 지방산 대사질환을 진단하는 것은 상당히 어려운데 그 이유는 환자의 건강히 좋을 때나 치료 중 일때는 진단에 유용한 대사물이 매우 낮은 농도로

체내에 존재하기 때문이다. 특히 acyl-CoA 결핍증 (Acyl CoA dehydrogenase deficiency)은 대사물들의 배설양상이 유사하여 구별하여 진단하기 어렵다. 분자생물학적 방법에 의한 확인이나 좀더 나은 진단법을 이용하기 전에는 흔히 이 질환은 오진되거나 진단이 안되거나 종종 치명적인 결과를 가져올 수가 있었지만, ESI/MS/MS에 의한 아실카르니틴 분석을 이용하면 이러한 단점을 어느 정도 극복할 수 있다.

### 3) 아미노산 대사질환 개요

우리가 흔히 많이 들어 왔던 PKU는 섭취한 페닐알라닌을 간에서 타이로신으로 전환시키는 효소인 phenylalanine hydroxylase의 deficiency로 일어나며 추체외로 증상 등이 나타나며 정신박약아가 된다. Tyrosinemia type I은 타이로신이 대사되는 동안 fumarylacetoacetase의 결핍으로 fumarylacetoacetate가 축적되어 alkylating agent로 작용하여 간에 손상을 준다. 축적된 fumarylacetoacetate는 비정상적인 경로로 대사되어 succinylacetone을 만들어 소변과 혈액으로 분비한다. 이때 환자에서는 간질환의 지표가 되는 효소의 작용이 저하하며 심한 간장애가 일어나고, 신장에서는 Fanconi syndrome (hyperamino aciduria, glucosuria, hyperphosphaturia)이 나타나며 구루병이 생긴다. 합병증으로 심한 간암에 이르고 사망한다. Urea cycle disorder는 5가지의 질환이 잘 대별되어 있다. 이 과정을 거쳐 섭취한 단백질로부터 생성되는 암모니아는 urea로 무독화하여 배설되어지므로 이 대사에 문제가 생겼을 경우, 고 암모니아혈증이 생기며 각각의 질환에 따라 다른 종류의 아미노산이 뇨나 혈액에 배출된다. 임상양상은 매우 다양하여 식욕부진, 축늘어짐, 구토, 짜증을 잘내고 발달장애나 성장장애가 온다. 이 질환군에는 carbamyl phosphate synthetase deficiency, ornithine carbamyl-transferase deficiency, argininosuccinic synthetase deficiency 및 argininosuccinate lyase deficiency, arginase deficiency가 포함된다. 메치오닌이 호모시스테인을 거쳐 시스타치오닌 및 시스테인으로 대사되는 과정에 문제가 있는 cystathionine  $\beta$ -synthase deficiency에서는 homocystinuria가 배설됨으로써 질환을 확인한다. 이 질환에서는 호모시스테인이 축적되어 혈관계에 손상을 주며 혈전증과 같은 합병증을 일으킨다.

정상인과 유기산 대사질환(Fig. 4), 지방산 대사질환

(Fig. 5), 아미노산 대사질환(Fig. 3)의 혈액 시료로부터의 ESI/MS/MS상에서의 다양한 패턴의 아실카르니틴 프로파일이 각 질환에서의 특징적인 이온들과 함께 잘 분리되며 확인되었다<sup>7-14</sup>. 본질적으로 FAB/MS/MS의 프로파일과 유사하다.

#### 4. 신생아스크리닝(Newborn Screening)과 MS/MS

유전성 대사질환의 신생아 스크리닝의 시도는 Milington박사 등에 의해 처음 시도 되었고<sup>15</sup>, 이어서 Rashed<sup>16</sup>, Chace<sup>17</sup>, Shigematsu 등<sup>18</sup>에 의해 각 나라의 특성에 맞게 MS/MS를 이용한 신생아 스크리닝

프로그램이 진행되고 있다. MS/MS를 이용하여 진단할 수 있는 선천성 대사질환은 대표적인 유기산, 아미노산, 지방산 대사 이상을 들 수 있고, 이의 뛰어난 장점은 시료 전처리 시간이 짧다는 것이다. 예를 들면 기구나 대상질환 등이 나라마다 차이는 있지만 가장 최근에 보고된 Rashed 등<sup>13</sup>도 CAMPA라 불리는 microplate sample process를 이용한 전자동화 시스템을 실험실내에 수 분 내에 200여개 이상의 시료를 분석함으로써 high-throughput capacity가 가능하다는 실례를 보여주었다.

이와 같이 ESI/MS/MS는 1) 모든 아실카르니틴과 아미노산의 부틸에스테르 유도체화가 단 한번에 가능

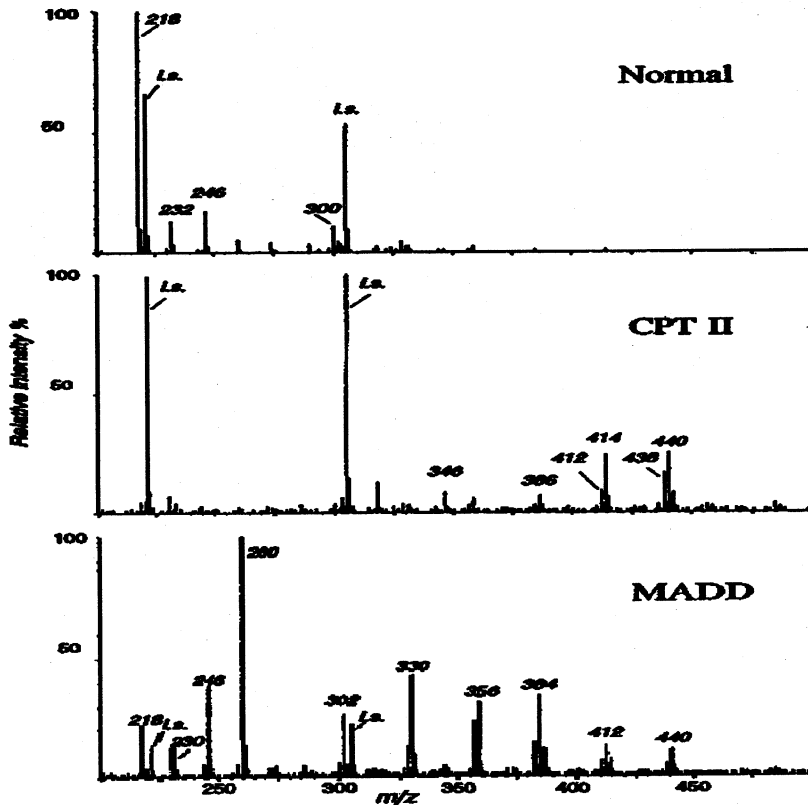


Fig. 5. Comparison of normal plasma acylcarnitine profile with those from patients with enzymatically confirmed fatty acid oxidation defects. The signals in these profiles are the molecular ions (M+) of acylcarnitine methyl esters. They form a homologous series as follows: acetyl (M+=218), propionyl (232), butyryl (236), 2-methylbutyryl+isovaleryl (260), hexanoyl (274), octanoyl (302), C10 (330), C12 (358), C14 (386) C16 (414). Their dehydro-analogs form another series 2 mass unit less, e.g. C14:1 (384) and hydroxy-analogs appear at 16 mass units higher, e.g. OH-C16 (430), OH-C18:1 (456). The peaks marked "i.s." are isotopically labelled forms of acetylcarnitine and octanoylcarnitine added to check recovery and quantify individual acylcarnitines.

하다. 2) 또한 관심있는 그룹의 화합물 성격에 따라 다양하게 scan mode를 바꿀 수가 있다. 3) 재현성이 뛰어나고 LOQ가 낮다 4) 반복적으로 대량의 검체분석이 가능하다 5) 자동화가 쉽다는 여러장점이 있다. 한가지 생체시료 연구목적으로 MS/MS를 이용시 가장 큰 단점은 초기의 고가의 기기비용이다. 여전히 고가이긴해도 최근 몇몇 기기회사에서는 이전보다 비교적 합리적인 가격에 사용하기 편리한 benchtop 형식의 MS/MS를 생산함으로써 생체시료분석, 특히 대사질환 연구를 진일보시키는 견인차 역할을 하고 있다.

ESI/MS/MS는 주단위나 국가적 단위의 신생아 스크리닝 프로그램으로 점차 확대되고 있으며, 유전성대사질환의 조기진단을 위한 신생아 스크리닝방법으로 많은 가능성을 예측케한다.

### 결론 및 전망

1996년부터 2001년까지 Society for the study of inborn errors of metabolism (SSIEM)과 International society of neonatal screening (ISNS), Society for the inherited metabolic disease (SIMD) 등 여러 국제 학회에서 핫이슈가 되었던 부분은 바로 MS/MS를 이용한 신생아 스크리닝 프로그램을 어떻게 발전시키겠는가 하는 것이었다. 선진국에서는 점차로 ESI/MS/MS의 사용이 증가하며 해마다 미국, 영국, 독일, 등 유럽과 아르헨티나, 사우디아라비아에서 이를 이용한 신생아 스크리닝 프로그램이 신설되고 있는 추세이며 현재 일본은 pilot study중이다. 본 기관에서 약 2년 반 동안 국내에서 실시한 대사질환 검사 결과 고위험도군의 환자에서 대사질환의 발견율이 약 9.8% 이상 이었다. 따라서, 앞으로 우리나라에서도 현재 시행중인 2종(페닐케톤요증, 갑상선기능저하증)의 질환뿐만 아니라 우리나라실정에 맞게 스크리닝 해야 할 대사질환을 취사 선별하여 현재 실시하는 국가적인 신생아 스크리닝 프로그램의 종목전환과 확대실시가 있어야 할 것으로 본다. 혹은 MS/MS를 이용하는 방법의 도입도 고려해 볼 만하다. 이러한 새로운 시도를 통하여 우리나라에서 흔히 발생하는 선천성대사이상질환에 대한 빈도조사 및 이의 예방 및 치료를 위한 분자생물학적 생화학적 기초학문의 연구도 한층 더 활발해지리라 본다.

### 참 고 문 헌

- 1) Divry P, Vianey-Saban C, Mathieu M. Determination of total fatty acids in plasma: cis-5-Tetradecenoic acid (C14: 1 $\omega$ -9) in the diagnosis of long-chain fatty acid oxidation defects. *J Inherit Metab Dis* 1999;22:286-288.
- 2) Ding JH, Roe CR, Chen YT, Matsubara Y, Narisawa K. Mutation in medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Lancet* 1990;336:748-749.
- 3) Hale DE, Stanley CA, Coates PM. Genetic defects of acyl-CoA dehydrogenases: studies using an electron transferring flavoprotein reduction assay. In: Tanaka K, Coates PM (eds) "Fatty Acid Oxidation: Clinical, Biochemical and Molecular Aspects", New York, Alan R. Liss. 1990;333-348.
- 4) Heales SJR, Leonald JV. Rapid diagnosis of medium chain acyl CoA dehydrogenase deficiency by measurement of cis-4-decenoic acid in plasma. *Abstr. 29th SSIEM Ann Symp (London)* 1991:57.
- 5) Wilcken B, Wiley V, Sherry G, Carpenter K. *J Inher Metab Dis* 1998;21(Suppl.2):139.
- 6) Smith RD, Lo JA, Edmonds CG, Barinaga CJ, Udesth HR. New developments in biochemical mass spectrometry:Electrospray ionization. *Anal Chem* 1990;62:882-899.
- 7) Chace DH, Hillman SL, Millington DS, Kahler SG, Roe CR, Naylor EW. Rapid diagnosis of maple syrup urine disease in blood spots from newborns by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1995;41:62-68.
- 8) Chace DH, Millington DS, Terada N, Kahler SG, Roe CR, Hofman LF. Rapid diagnosis of phenylketonuria by quantitative analysis for phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1993;39:66-71.
- 9) Chace DH, Sherwin JE, Hillman SL, Loley F, Cunningham GC. Use of phenylalanine to tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry improve newborn screening for phenylketonuria on early discharge specimens. *Clin Chem* 1998;44:2405-2409.
- 10) Palmer T, Oberholzer VG, Levin B. Amino acid levels in patients with hyperammonaemia and argininosuccinic aciduria. *Clin Chim Acta*, 1974
- 11) Pohlandt F. J Plasma amino acid concentrations in newborn infants breast-fed ad libitum.



- 12) Rabier D, Kamoun P. *Amino Acids* 1995;9:299.
- 13) Rashed MS, Ozand PT, Bucknall MP, Little D. Diagnosis of Inborn Errors of Metabolism from Blood Spots by Acylcarnitines and Amino Acids Profiling Using Automated Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Pediatr Res* 1995;38:324.
- 14) Rothenberg MB, Sills EM, Iatrogenesis: the PKU anxiety syndrome. *J Am Acad Child Psychiatry* 1968;7:689-692.
- 15) Millington DS, Kodo N, Norwood DL, Roe CR. Tandem mass spectrometry: a new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism. *J Inher Metab Dis* 1990;13:321-324.
- 16) Rashed MS, Bucknall MP, Little D, Awad A, Jacob M, Alamoudi M, Alwattar M, Ozand PT. Screening blood spots for inborn errors of metabolism by electrospray tandem mass spectrometry with a microplate batch process and a computer algorithm for automated flagging of abnormal profile. *Clin Chem* 1997;43:1129-1141.
- 17) Chace DH, Hillman SL, Shushan B, Corr J. Multiple metabolic profiles of dried filter blood spots. Recent advances in tandem mass spectrometry and genetic disease screening. Abstract, 7th International Congress of Inborn Error of Metabolism, 1997;209.
- 18) Shigematsu Y, Hata I, Nakai A, Kikawa Y, Sudo M, Tanaka Y, Yamaguchi S, Jakobs C. Prenatal Diagnosis of Organic Acidemias Based on Amniotic Fluid Levels of Acylcarnitines. *Ped Res* 1996;39:680.