

ウィルソン病の新生児マス・スクリーニングの検討 (分担研究：マス・スクリーニング対象疾患検討に関する研究)

荒島真一郎*, 福士 勝**, 山口昭弘**, 菊地由生子**

要約： 活性型ホロセルロプラスミンモノクローナル抗体およびトータルセルロプラスミンポリクロナル抗体を用いる酵素免疫測定法によるウィルソン病の新生児マス・スクリーニングを検討した。いずれの方法でも現行の新生児スクリーニングで採血されている乾燥濾紙血液を用いてセルロプラスミン測定によりウィルソン病マス・スクリーニングが可能と考えられた。

見出し語： ウィルソン病、新生児マス・スクリーニング、セルロプラスミン

研究方法

対象： 検討の対象とした新生児乾燥濾紙血液は、平成5年11月から12月に札幌市内で出生し、保護者が先天性代謝異常症等6疾患の新生児マス・スクリーニングの検査を希望し、かつウィルソン病のスクリーニングの検討に同意した検体とした。

方法：

1) セルロプラスミン標準乾燥濾紙血液の作成

ヘキスト社のNORパルチゲン用蛋白標準血漿をPBS-0.1%BSA溶液で2倍希釈して1mg/dlから64mg/dlの標準溶液を作成し、これに洗浄赤血球を等量加えて混和後スクリーニング用濾紙にスポットして乾燥させ、使用時まで-20℃で保存した。なおこの標

準乾燥濾紙血液は-20℃保存で4ヶ月以上、4℃保存でも1ヶ月以上は安定であった。

2) 測定方法

活性型セルロプラスミンの測定は冷牟田らにより開発された出光興産中央研究所作成のELISAキットにより(以下出光法)¹⁾、トータルセルロプラスミンの測定は著者らが平成3年度の本研究班の報告書に報告した方法(以下札幌衛研法)^{2), 3)}により行った。なおいずれの方法も測定感度は1mg/dl以下であり、再現性もウェル間差およびプレート間差は認められず良好であった。

結果

1) 生後4日から7日の新生児セルロプラスミンの生下時体重と在胎週数に

* 北大医学部小児科・北教大小児保健

**札幌市衛生研究所

よる変化

生下時体重1500g未満群ではいずれの方法でも1500g以上のいずれの群よりもやや低値を示し、在胎週数40週以上群はいずれの方法でも他の4群よりも高値を示したが、各群に大きな差は認めなかった(表1)。

表1. 生下時体重と在胎週数による新生児乾燥濾紙血液セルロプラスミンの変動

生下時体重	N	出光法	札幌市衛研法
500-1500	5	10.1±2.9	10.4±2.4
1501-2000	6	11.7±6.0	12.3±7.0
2001-2500	71	12.1±4.6	12.4±4.5
2501-3000	476	12.0±4.0	12.1±3.5
1001-1500	649	12.4±4.2	12.7±3.7
3501-4000	196	13.1±3.9	13.1±3.2
4000-	20	12.5±4.1	12.9±4.2

在胎週数	N	出光法	札幌市衛研法
27-30	3	11.7±2.8	11.6±2.8
31-33	5	11.3±4.7	11.8±5.8
34-36	63	10.1±4.2	10.4±4.3
37-39	805	11.7±3.7	11.9±3.3
40-42	538	13.5±4.4	13.6±3.7

2) 採血日齢によるセルロプラスミン値の変化

現行の新生児スクリーニングの採血日である生後4日から7日までセルロプラスミン値は、いずれの方法でも変動は認められなかった。しかし、生後1ヶ月では明らかな増加が認められた(表2)。

表2. 新生児期の採血日齢によるセルロプラスミン値の変化

日齢	N	出光法	札幌市衛研法
4	45	12.9±5.0	12.7±4.5
5	579	12.1±4.0	12.4±3.6
6	158	12.7±4.0	12.6±3.2
7	26	12.6±4.2	13.5±4.2
30	20	15.6±4.5	16.7±4.2

3) 採血後受付までの日数によるセルロプラスミン値の変化

採血後郵送により送付され、受付られるまでに要する日数が8日までは、いずれの方法でも乾燥濾紙血液セルロプラスミン値に変化が認められなかった(表3)。

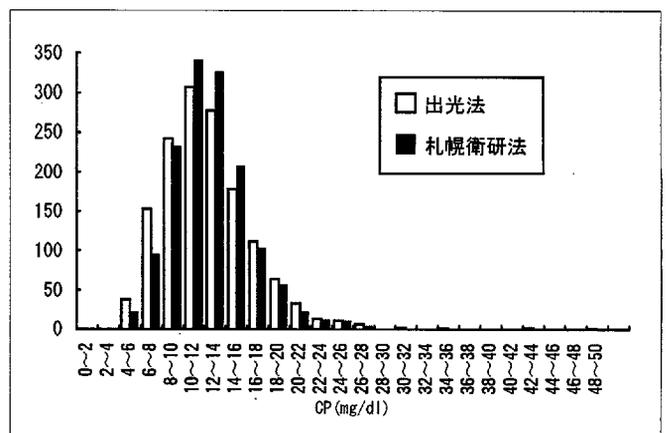
表3. 採血後郵送に要した日数によるセルロプラスミン値との関係

郵送日数	N	出光法	札幌市衛研法
0-2	502	11.9±3.9	12.3±3.7
3-4	649	12.4±4.2	12.5±3.6
5-6	155	12.7±3.8	12.5±3.3
7-8	80	13.5±4.0	13.0±3.1

4) 新生児乾燥濾紙血液セルロプラスミン値の分布

新生児1,440例の出光法と札幌衛研法による測定ではいずれも正規分布を示し、それぞれの平均値±標準偏差では12.4±4.1、12.6±4.5mg/dlとほぼ一致した(図1)。

図1. 新生児セルロプラスミンの分布



5) 新生児乾燥濾紙血液の出光法と札幌衛研法との相関

新生児1,440例の出光法と札幌衛研法による測定値の相関計数は $r=0.8483$ と良好な相関を示した(図2)。

6) ウィルソン病患者のセルロプラスミン値

10歳以上の治療中のウィルソン病患者8例の乾燥濾紙血液セルロプラスミン値は出光法で1.9mg/dl以下、札幌衛研法で3.1mg/dl以下と低値を示した(表4)。

ウィルソン病の新生児期のセルロプラスミン値を検討する目的で、4年間4℃で保存されていた患児と同一日に同一病院で採血された正常検体10例を比較すると、出光法では患児で1.8mg/dl、健常児では2.9~6.0mg/dlであり、札幌衛研法では患児で2.4mg/dl、健常児で3.9~7.2mg/dlといずれの方法でも患児は2SD以下の低値を示した(表5)。

考察

ウィルソン病の新生児期でのマス・スクリーニングの可能性を検討するため、冷牟田らが開発した活性型セルロプラスミンを認識するモノクローナル抗体によるELISA法¹⁾キットと当所で開発したトータルセルロプラスミンを認識するポリクローナル抗体によるELISA法^{2,3)}を用いてその有用性を検討した。測定感度および再現性では、乾燥濾紙血の測定に関していずれの方法にも問題はなかった。現行の新生児マス・スクリーニングの検体である乾燥濾紙血液を用いたセルロプラスミン値の検討では、
 1) 通常採血日齢の生後4日から7日ではいずれの方法でも大きな変化はない。
 2) 採血から受付までに要する日数は8日までならば、いずれの方法でも低下しない。
 3) いずれの方法でも、生下時体重はおよび在胎週数による変動は少ない。
 4) いずれの方法でも正規分布を示し、平均値と標準偏差に差がなく、両者の相関は良好である。
 6) いずれの方法でも治療中の10歳以上の患児では異常低値となり、4年間保存された新生児期の乾燥濾紙血液でも同時期

に採血された検体と比較すると-2SD以下である。以上のことから、新生児期の乾燥濾紙血液を用いたセルロプラスミン測定によるウィルソン病のマス・スクリーニングが可能であることが示された。

図2. 出光法と札幌衛研法との相関

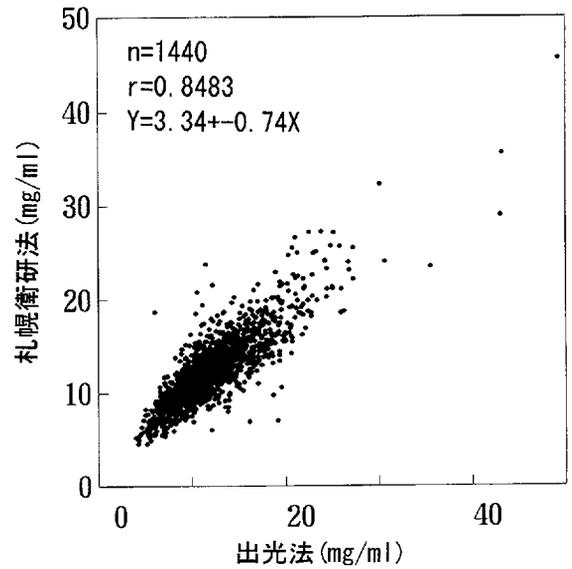


表4. ウィルソン病患者のセルロプラスミン

症例	出光法	札幌市衛研法
1	1.2	1.7
2	1.6	2.8
3	1.1	1.3
4	1.0	1.2
5	0.9	1.2
6	0.9	1.2
7	1.1	2.2
8	1.9	3.1

全例年齢10歳以上の治療中患者

表5. 4年間保存されたウィルソン病患者と健常児の新生児乾燥濾紙血液セルロプラスミン値の比較

	出光法	札幌市衛研法
患児	1.8	2.4
健常児 (n=10)	3.8±1.0 (2.9-6.0)	5.0±1.3 (3.9-7.2)

残された問題点は1)測定時の検体希釈が繁雑であることから、直接測定できるように簡便化すること。2)マス・スクリーニング時のカットオフ値については、今回の検討対象となった新生児1,440例と患児のセルロプラスミン値から考慮すると、いずれの方法でも平均値-2SDである4~5 mg/dlを暫定カットオフ値としてスクリーニングが可能と思われる。しかし、行政レベルで全国的に実施されるためには数十万規模のパイロットスタディを行い、実際に発見される患児のセルロプラスミン値から妥当なカットオフ値が決定されるべきであろう。

文献

- 1) 冷牟田修一 他：抗活性型セルロプラスミン抗体を用いた新規ウィルソン病マス・スクリーニング法の開発，厚生省心身障害研究「マス・スクリーニングシステムの評価方法に関する研究」平成4年度研究報告書，p 147-149，1993.
- 2) 水嶋好清 他：ウィルソン病の濾紙血中セルロプラスミン値測定によるマス・スクリーニングの検討，厚生省心身障害研究「代謝・内分泌疾患等のマス・スクリーニング、進行阻止及び長期管理に関する研究」平成3年度研究報告書，p 215-217，1992.
- 3) 水嶋好清 他：ウィルソン病マス・スクリーニングの基礎的検討，札幌市衛研年報，19，79-85，1992.



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約: 活性型ホロセルロプラスミンモノクローナル抗体およびトータルセルロプラスミンポリクローナル抗体を用いる酵素免疫測定法によるウィルソン病の新生児マス・スクリーニングを検討した。いずれの方法でも現行の新生児スクリーニングで採血されている乾燥濾紙血液を用いてセルロプラスミン測定によりウィルソン病マス・スクリーニングが可能と考えられた。