

## 代謝異常スクリーニングに関する研究班

森	山	豊	(東芝中央病院)
成	瀬	浩	(国立神経センター)
青	木	菊 磨	(慈大・小児科)
荒	島	真一郎	(北大・小児科)
有	馬	正 高	(鳥取大・神経小児科)
大	浦	敏 明	(大阪市小児保健センター)
川	村	正 彦	(名城病院)
北	川	照 男	(日大・小児科)
高	坂	睦 年	(岡山大・脳代謝研)
五味	沢	政 人	(日本母性保護医協会)
鈴	木	義 之	(東大・小児科)
多	田	啓 也	(東北大・小児科)
塚	田	裕 三	(慶大・生理科)
皆	川	進	(国立国府台病院)
松	田	一 郎	(熊大・小児科)
藪	内	百 治	(阪大・小児科)
山	下	文 雄	(久留米大・小児科)
和	田	義 郎	(名市大・小児科)

当研究班の研究は次の如く分けられる。

- 1) 代謝異常スクリーニング体制の確立と改善。
  - 2) " " 普及のための問題点。
  - 3) 新しいスクリーニング方法の開発。
- 以下各々の項目について説明する。

### 1) 代謝異常スクリーニング体制の確立と改善

われわれは、先に代謝異常スクリーニングの全国の実施を必要とする旨の意見書を厚生省に提出し、それにもとづいて、昭和52年10月より、全国都道府県により、フェニルケトン尿症(PKU)、ガラクトース血症、メイプルシロップ尿症(MSUD)、ヒスチジン血症、ホモシスチン尿症の5種についての、マルチプルスクリーニングが始められた。いづれも、ガスリー法によるものである。つまり、生後5~7日目に、特定の採血用紙上に、4スポットの血液(合計約0.15ml)の血液をとり、これを郵送により、検査センターに送付し、スクリーニングテストを行うのである。このような全国スクリーニングを実施する上で

の問題点を分析し、よりより方向へ改善するための努力が1つの課題となっている。成瀬、青木、荒島、有馬、大浦、川村、北川、高坂、多田、松田、山下、らは各地区のスクリーニングセンターに関与し、スクリーニング技術についての検討を行い、これらの班員および鈴木、藪内らは、スクリーニングで発見され精密検査に廻された患者についてのフォローアップを行っている。

まず今年度の問題点としては、ヒスチジン血症の問題を取上げた。去年末の研究班統計によると、約20万人の新生児中、わづか1名ヒスチジン血症が見出されただけであったので、ヒスチジン血症スクリーニング技術の検討を行った。ガスリーの開発したBIA法(Bacterial Inhibition Assay)によるヒスチジン測定を改善、出来るだけ見易いプレートをつくるように努力し、血中ヒスチジン4~6mg/dl程度のものにも注意を向けた。更に用紙上の血液を用いて、ウロカン酸の存在の有無を判定する薄層クロマトを同時に実施するように方法の改善を行った。今年度のこのよう

な努力により、今年一年間で、上記の班員の関与するスクリーニングセンターにおいて、約25万名の新生児をテストして、26名のヒスチジン血症が発見された。つまり新生児9000名に1名程度の頻度であり、ガスリー、タルハーマーらのまとめた欧米のそれよりも、やゝ発生率が高いことがわかった。これらについては、多田等による治療基準にもとづいて、治療あるいは経過観察が行なわれている。

このような経験から、各スクリーニングセンターにおいては、ガスリーのBIA法と共に、ウロカン酸の薄層クロマトを採用することが不可欠であるという結論に到達した。更に今後は汚紙上の血液中のウロカン酸の分析のみでなく、更に他の方法を加えるべきでないかという疑問もあり、このためにはスクリーニングで発見された陽性例、疑陽性例を詳しく分析しながら、スクリーニング方法の改善、ヒスチジン血症の診断基準その他についての検討をつづけることが必要であるという結論に達した。この点については、松田及び多田が中心になり、今後小委員会を結成し、結論をまとめる作業を急ぐこととした。

いづれにわが国では、今迄は成長し、脳障害がひどくなり発見されたヒスチジン血症の家系が何例か知られていただけであるが、スクリーニング実施に伴い、予想以上に多数の例の早期発見が可能になった。そしてそれに伴い、ヒスチジン血症というのは、決して一様でないこともわかって来たので、今後の診断基準の確立、スクリーニングテストの標準化が不可欠である。

次にヒスチジン血症に次いで多いのが、PKUとガラクトース血症である。PKUの発生頻度については、今迄川村、岡田、成瀬らの、愛知県下の調査で、新生児3万名に1名程度と推定されている。その後更にスクリーニングがつづけられているが、未だ正確な発生頻度はわかっていない。PKUに関しては、血中フェニールアラニンの測定によるスクリーニングのみで問題はないと思われる。BIA法確立に伴って、スクリーニングは、順調に発展するものと思われる。

ガラクトース血症についても、去年迄のわれわれのスクリーニング結果では、米国、ヨーロッパ

の平均と大差ない。3~5万名に1名の発生頻度のようなものであるが、正確な発生率を出すためには、尚今後検査数を増さなければならないであろう。たゞガラクトース血症の場合にも、ガラクトース-1-P、ウリジルトランスフェラーゼ欠損による古典的なガラクトース血症、ガラクトースキナーゼ欠損によるもの、更にはエビメラゼの異常のものなどあり、しかも古典的なガラクトース血症については、何種かのヴァリエーションの存在することも知られている。

このように、決して一様のものでないので、スクリーニング方法についての検討がつづけられて来た。古典的なガラクトース血症は、最も症状も重く、早期に死亡するものも多い。それ故、今迄はトランスフェラーゼの活性を測定するポイトラー法が、マルチプルスクリーニングの中に導入されたのである。われわれも、スクリーニング方法を述べた49年度の意見書の中にも、ポイトラー法を、当面スクリーニング方法として採りあげるようにのべた。当時は、ガラクトースを測定する、E. coli W-5 を用いる方法やペイゲン法なども存在していたが、まだ全国的に経験も少く、毎日の検査技術として行うためには、不安定であり、意見書にとり入れることを中止した。

しかしガラクトースキナーゼの欠損症も、早期発見する必要があるという意見がつよく、このためには、ポイトラー法のみでは、不十分であるという見解がつよくなって来た。更にポイトラー法は、汚紙血液中のトランスフェラーゼを測定しているものであり、高温多湿の折には、正常でも、早くこの酵素活性が低下してしまい、疑陽性になることが少なくなく、疑陽性率を減らすために、ガラクトース測定法と、ポイトラー法の併用が大切であるという見解が多数の人から述べられていた。

川村の協同研究者である、名古屋市衛生研究所の藤村は、ガラクトース脱水素酵素を用い、汚紙血液の3%ディスク中のガラクトースを測定する方法を発表し、藤村法と称され、多数の班員により、追試されてその有用性がたしかめられた。この方法は、蛍光分光器が必要であるが、それがあれば、手技は簡便であり、容易に実施可能である。しかも川村、藤村らにより、ガラクトースと共に、

ガラクトース-1-Pの測定も可能となった。

更に大浦の協同研究者の大阪市環境保研の藤本により、ペイゲン法の培地を冷蔵庫に入れて、保存することにより、ペイゲン法がより判定しやすくなるということが発見され、成瀬の協同研究者の北里研究所の石井澄和らとの協力により、ペイゲン法もより安定化し、毎日日常的に使用することも可能となって来た。更に上記の石井の努力により、細菌の取扱いになれた者の居る所で、ペイゲン法に必要な大腸菌とファージ菌とを培養すること容易となって来た。

このような発展にもとづいて、ガラクトース血症のスクリーニング法として、ポイトラー法のみでなく、ペイゲン法か、藤村法を併用し、ガラクトースを測定することが必要であるという見解が研究班全員の一一致した見解となった。

ペイゲン法と藤村法のいずれがよいかについては、必ずしも見解は一致していないが、ペイゲン法のみでは、疑陽性が多いので、ペイゲン法を実施している所でも、必要に応じて、藤村法により、ガラクトースあるいはガラクトース-1-Pの測定を行っていくことが望ましいという見解が多く、現実に三者併用するスクリーニングセンターがふえているのである。またヴァリアントの分析も必要であり、トランスフェラーゼ活性変化のあるものの、ヴァリアントタイプの検索の重要性が、川村により実証されている。

MSUD、ホモシスチン尿症、チロジン血症等については、今年度は各班員によりスクリーニングが続けられているが、確認例は発見されなかった。たゞ大浦により、ホモシスチン尿症ではない、高メチオン血症例が発見され、目下研究中である。

上記のマルチプルスクリーニングの発足に伴い、各スクリーニングセンターでの検査の精度管理が必要となって来た。われわれは、班員の大半が参加した代謝異常スクリーニング研究会（於米子）の折に、班会議を行い、精度管理についての実施案をまとめ提出した。精度管理は、日本公衆衛生協会が実施することとなった。本年度は、同協会と、われわれ研究班とが協力し、以下の事業を行った。

(1)外部標準検体送付による、各スクリーニングセンターの検査技術の評価と標準化。

各スクリーニングセンターが、出来る限り同一のスタンダードを使用可能な様な条件をつくり、更に毎週10検体の血液濾紙を送り、異常なものを見出し報告するというシステムを確立した。1月末迄に作業を行っているスクリーニングセンターが43あるが、1月中の検体送付に対し、1センター以外は解答を行い、42の中、34センターは、異常検体は全て正しく見出していることがわかった。正答が出来なかった所に対しては、適時アドバイスを行っている。

#### (2)特別なレファランスセンターの設置

各スクリーニングセンターで実施している中に、各技術者が判断に迷う様な検体があった時には、直ちにアミノ酸、ガラクトース、ガラクトース-1-P、トランスフェラーゼ、ウロカン酸などの分析依頼を行えるような、特別なレファランスセンターを、2カ所設立した。10月以後各地のスクリーニングセンターより、多数の依頼検体を送られている。

#### (3)発見もれの追究

非典型例は、いかに正しい検査が行なわれても、発見されない可能性がある。更にスクリーニング技術の問題から発見もれとなる例もある。また検査を受けなかった為に発見されない例もある。これらについては、各地区の班員に調査を依頼することになるが、この面の活動の詳細については、大浦班員が中心になり今後の活動方針をまとめることとなった。このための小委員会を設立する。

## 2) 代謝異常スクリーニングの普及の為の問題点の分析と対策

代謝異常スクリーニングは、全国に普及することが大切であるが、そのためには多数の問題があり、この分析については、主として、森山、五味瀧、皆川と、協力者の浜田病院岡田紀三男が実施した。

産婦人科医が採血を行うことが、ガスリー法の実施の第一歩であるが、採血部位に関しては必ずしも見解は統一されていなかった。この点に関して、全国の産科医の意見、小児科医の意見を調査し、専門家とも相談し、足蹠の外側部下部より採血するという統一見解が提示され、目下全国で追試されている。

採血日に関しては、種々の見解もあるが、やはり、生後5~7日目を中心とすることが、全員の

一致した見解となった。

産婦人科施設でない所で分娩するものについては、採血はどうかについては、目下その対策を検討中である。

発見もれその他による紛争のおこった時の責任の所在についてどう考えるのかという問題もあるが、これも尚検討中である。

普及の為の努力としては、産婦人科医、全国のこれに関係する検査技術者に対しては、十分な啓蒙が行なわれつつあると思われるが、小児科その他の医師、保健婦その他の公衆衛生従事者、一般国民への啓蒙はまだ不十分であり、この点については今後対策が進められなければならない。

### 3) 新しいスクリーニング技術の開発

現在ガスリー法により、多数の新生児より、血液が集まる体制が確立されたので、この血液により、出来るだけ多数の疾患が発見されることが望ましい。このため、現在全国実施に至った検査の他にも、多数の検査が研究されつつある。新しいスクリーニング法として、もっとも重要なものは、クレチン症のスクリーニングであったが、これに対しては別に研究班が樹立されたので、この研究班からは除外した。

アミノ酸異常の分析には、ガスリーのBIA法が全国で採用された。この方法は極めてすぐれた方法であるが、決して完全ではなく、改善すべき点も多い。成瀬は、味の素中央研究所鈴木直雄と協力し、ガスリー法の欠点を補う方法として、乳酸菌を用いたバイオアッセイ法により、沔紙上血液3mmディスクを用いて、フェニールアラニン、ロイシン、メチオニン、ヒスチジン、チロジンの定量が可能なることを報告し、大浦・荒島らにより追試された。また多田は、フェニールアラニンを測定するための細い条件を分析した。この研究は尚継続中であるが、これが完成すれば、ある点ではガスリー法よりすぐれた方法であり、殊に比較的簡単に自動化も可能であるので、有用なものと思われる。

血液沔紙中のアミノ酸を定量的に測定することは、スクリーニングの精度を上げる上に極めて重要である。アミノ酸自動分析器の改良により、3mmディスク(血液2 $\mu$ l)中のアミノ酸を測定する研究が成瀬・大林により完成した。テクニマン社

TSM-1を用い、O-フタルアルデヒドによる蛍光分析を導入して、3mmディスク1ケでアミノ酸の定量が可能になり、現在のマススクリーニングの対象疾患に関連するアミノ酸のみならず、一日80検体までは定量可能である。大浦らは、島津製作所製高速液体クロマトを用い、同様の分析を開始し、一応現実に使用可能となった。

ウィルソン氏病は、PKUと同程度またはそれ以上の発生頻度であり、早期治療が必要な疾患である。沔紙上血液を用い、ウィルソン氏病を早期発見する試みが報告された。荒島班員は、セルロプラスミンの免疫反応による定量試薬を、寒天にまぜプレートに流し、その上に3mmディスクをおき、セルロプラスミン量を測定する方法を発表した。成瀬班員の協同研究者の青木継総(東邦大、小)は、セルロプラスミンのジアミン酸化活性を比色定量し、3mmディスク中のセルロプラスミンの量を測定する方法を発表した。こうして、新生児血中のセルロプラスミン測定がマススクリーニングのレベルで可能となったので、今後これを実際に応用し、新生児血によるウィルソン氏病の早期発見が可能であるか否かの分析を行うことが可能になった。これは今後の重要な課題となると思われる。

藪内班員は、尿を用いて有機酸代謝異常の分析を行う方法を研究中である。有機酸代謝異常の一部は、治療が確立しており、やはり早期発見法の確立が希望されている。現在まではマサチューセッツ州スクリーニングセンターで、その研究が行われているのみであり、藪内の研究は、今後のスクリーニング対策の推進に極めて重要である。

川村班員は、名古屋市衛研米沢と協力し、ガラクトース測定法のペイゲン法の改良を研究し、ペイゲン法のファージC21を用うる代りに、U-3を用いる方法を確立した。これはペイゲン法よりも判定が容易であるという利点をもつ。この方法が、全国的に使用可能か否かも検討中であり、全国スクリーニングの技術改善のためには重要な研究であり、今後継続する。

以上の如き、諸研究を行い、現実面でも大きな成果をあげている。現実のスクリーニングにかゝりのある事項については、今後研究班内に小委員会を確立し、検討を続行する。(以上)

↓ **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

当研究班の研究は次の如く分けられる。

- 1)代謝異常スクリーニング体制の確立と改善。
- 2) " 普及のための問題点。
- 3)新しいスクリーニング方法の開発。

以下各々の項目について説明する。