

2) 神経芽細胞腫マス・スクリーニング

1. 札幌市における神経芽細胞腫マス・スクリーニング結果
2. HPLCによるVMA, HVAの直接測定法

高杉信男, 佐藤泰昌, 花井潤師 (札幌市衛生研究所)
 武田武夫 (国立札幌病院小児科)

1. 札幌市における神経芽細胞腫マス・スクリーニング結果

本年度, 昭和60年12月までに, 新たに3例の神経芽細胞腫患児を発見した。昭和56年4月のスクリーニング開始以来では, 68,832例の受診者から計14例の患児を発見しており, これまでの札幌市における発生頻度は4.917人に1人と高率である。

また従来, 有料としていた検査料金は, 本年度より, 国の補助制度にあわせ無料としたが, 全出生数に対する受診率は, これまでの約75%台から80%台へとやや上昇した(表1)。

新たに発見した3症例は, いずれも当所で定めたカットオフ値であるVMA 25, HVA 32 μ g/mgクレアチンを超え^{1), 2)}, 精査の結果, 神経芽細胞腫と診断されたもので, 症例14の摘出腫瘍は, 初めての10g以下での発見例である(表2)。

表1 神経芽細胞腫マス・スクリーニング検査結果

S. 56. 4 ~ S. 60. 12

期 間	受診者数 (受診率)	再検数 (率)	精検数 (率)	患者数
S. 56. 4~S. 57. 3	10,634 (63.0%)	66 (0.6%)	2 (0.02%)	0
S. 57. 4~S. 58. 3	15,007 (74.3%)	190 (1.3%)	9 (0.06%)	4
S. 58. 4~S. 59. 3	15,796 (76.1%)	361 (2.3%)	17 (0.11%)	3
S. 59. 4~S. 60. 3	15,474 (75.9%)	173 (1.1%)	14 (0.09%)	4
S. 60. 4~S. 60. 12	11,921 (81.4%)	59 (0.5%)	10 (0.08%)	3
総 計	68,832 (74.1%)	849 (1.2%)	52 (0.08%)	14

(発生頻度: 4,917人に1人)

表2 スクリーニング発見症例

1985. 4 - 1985. 12

症 例		12.S.T.	13.Y.T.	14.Y.S.
スクリーニング時月令		7か月	8か月	7か月
ス ク リ ン グ 結 果	初回検査	VMA 44 HVA 66	32 62	31 50
	再 検 査	VMA 39 HVA 35	34 64	34 47
精密検査		VMA 69 HVA 65	27 48	25 36
手術時月令		9か月	10か月	9か月
原 発 部 位		後腹膜	右副腎	左副腎
原発腫瘍の 大 き さ		43g 5×4×3cm	10.5g 2×2.5×3cm	7.5g 1×2.5×3.5cm
病 期		Ⅲ	Ⅱ	Ⅰ
経過 '85.12現在)		良好	良好	良好

* 測定値はすべてHPLCによる定量結果 (単位: μ g/mgクレアチニン)

2. HPLCによるVMA, HVAの直接測定法

【研究目的】

札幌市では, 昭和59年4月から, 全検体について, HPLCに高感度な電気化学検出器を装着し, ろ紙中のVMA, HVAの定量を試料の導入からデータ処理まで, すべて自動化したシステムでスクリーニングを実施している^{1), 2), 3)}。

今回, さらに操作の簡便化と精度の向上を図る目的で, 尿ろ紙中のVMA, HVAを, 酢酸エチル抽出を行わず, 簡単な振とう抽出のみで測定する方法(直接法)を開発した。

【研究方法】

1. 採尿ろ紙: 30×56mmサイズの東洋ろ紙(No.63)に幅8mm, 奥行20mmの切り込みを入れ採尿した。

2. 測定方法：8×20 mm分の尿ろ紙を10mlの試験管に入れ、0.05 M酒石酸塩緩衝液 (pH3.3) を2.0ml加え10分間振とうする。遠心分離後、その上清10 μlをHPLCに注入する。

カラムに日立ゲル 3013-Oを充填し、移動相は0.05 M酒石酸塩緩衝液 (pH3.3) とアセトニトリル500：65の混液を用い、カラム温度40℃、電気化学検出器の設定加電圧900 mVで測定した。

またクレアチニンは、遠心分離後の上清100 μlをマイクロプレートに分取し、0.5%ピクリン酸と0.75 N-NaOHの等量混液150 μlを加え、20分間室温放置後、マイクロプレートリーダーにより510 nmの吸光度で測定した。

【結果および考察】

1. HPLC条件：

従来の酢酸エチル抽出法に比べ、直接法では特にVMA前後に多くの不明ピークが生じた。そこでHPLC条件を種々検討したところ、移動相にpH3.3, 0.05 M

の酒石酸緩衝液とアセトニトリルを500：65に混合したものをを用いると、VMA, HVAとも、他の爽雑物から明瞭に分離することができた。なおこの条件下での保持時間はVMAが4.2分、HVAが13.5分である(図1)。

2. 溶出率：ろ紙に標準液を添加し、溶出率を検討した。VMA, HVAの溶出率は、低濃度側でそれぞれ92, 96%, 高濃度側で83, 89%であった。

またクレアチニンは、すべて95%以上の溶出率であった(表3)。

3. 従来法との比較：100例の尿ろ紙について、本法と従来の酢酸エチル抽出法との測定値を比較した。

VMAは回帰式 $y=0.927x+0.007$ 、相関係数 $r=0.954$ 、HVAは $y=0.974x+0.003$ 、 $r=0.968$ とともにはほぼ原点を通る傾き1の良好な相関が認められた。

またマイクロプレートを用いたクレアチニンも従来法とは $y=0.96x+3.3$ 、 $r=0.969$ と良い相関を示した。

以上直接法は、繁雑な酢酸エチル抽出が不要で、前処理時間も1/10程度で済み、かつ測定値の信頼性も高いことから、HPLCによる本症スクリーニングに最も適した方法であると考えられる。

文 献

- 1) 高杉信男他：日本医事新報, 3216号：28, 1985
- 2) 佐藤泰昌他：日児誌, 89：2665, 1985
- 3) 佐藤泰昌他：小児科, 24：1133, 1983

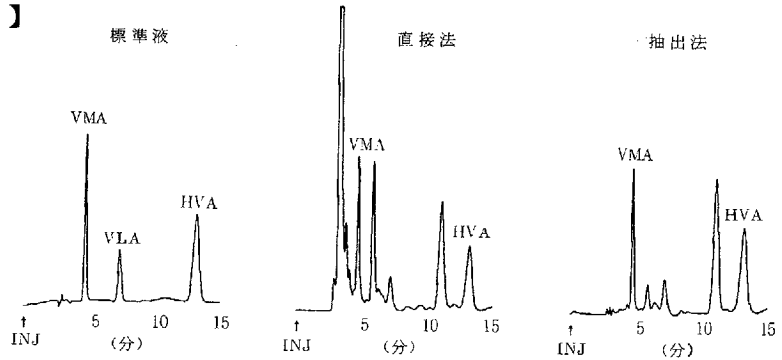


図1 直接法と抽出法によるVMA, HVAのクロマトグラム

表3 標準添加ろ紙からのVMA, HVA, クレアチニンの溶出率 (n=10)

成分	添加量 (μg)	測定値 (mean±SD μg)	溶出率 (%)
VMA	0.5	0.46±0.01	92.4
	1.0	0.83±0.02	82.7
HVA	1.0	0.96±0.03	96.1
	2.0	1.78±0.04	88.9
クレアチニン	10	9.75±0.13	97.5
	25	24.21±0.16	96.8
	50	49.20±0.59	98.4
	100	99.79±1.12	99.8



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



【研究目的】

札幌市では、昭和59年4月から、全検体について、HPLCに高感度な電気化学検出器を装着し、ろ紙中のVMA、HVAの定量を試料の導入からデータ処理まで、すべて自動化したシステムでスクリーニングを実施している。

今回、さらに操作の簡便化と精度の向上を図る目的で、尿ろ紙中のVMA、HVAを、酢酸エチル抽出を行わず、簡単な振とう抽出のみで測定する方法(直接法)を開発した。