

新しいマススクリーニングの開発に関する研究

昭和 58 ～ 60 年度研究の総括

分担研究者 諏訪 城 三

(神奈川県立こども医療センター 小児科)

1. 昭和60年度研究の総括

研究計画

昨年度に引き続き先天性副腎皮質過形成症、先天性尿素サイクル異常症、先天性胆道閉鎖症を主な対象疾患として、その早期発見のための新生児マススクリーニングの研究を行うこととした。

先天性副腎皮質過形成はマススクリーニング対象疾患として適しており、有効に実施できる可能性のあることは前年度までの研究で明らかになった。そこで本年度は実効的検査法の開発についての研究、ならびにマススクリーニングの実施によって障害発生が防止できるかの予測を検討した。尿素サイクル異常症のマススクリーニングは、従来の検査法では不完全な面もあることが判明したので、より優れた検査法開発の再検討を行うこととした。先天性胆道閉鎖症については、マススクリーニングの可能性について再検討を行い新生児マススクリーニングの対象疾患の可否について検討を加えることとした。

研究経過

先天性副腎皮質過形成症の障害、特に中枢神経系の障害については本研究班員施設の症例を対象にアンケート調査を行った。

各研究協力者の研究成果は下記の通りの会議で報告をうけ討議した。

昭和61年2月9日 研究成果報告の班会議(於 日本都市センター、研究報告23題、出席者50名)。

研究結果

1) 先天性副腎皮質過形成症

本研究班員のうち13名の小児科所属班員の症例につき診断名、周産期状況、家族歴、治療開始時年齢とその時の所見、中枢性思春期早発・知能・脳波所見・けいれんの有無などの中枢神経系障害などにつきアンケート調査を行い、諏訪が集計し報告した。マススクリーニングの対象となり得る21-水酸化酵素欠損は219例で、治療開始年齢は最も早い女児塩喪失型でも18.7±14日(男児は27.4±16日)であり、単純型ではかなり遅く、女児3歳8カ月±3歳10カ月、

男児6歳6カ月±2歳8カ月であった。すなわち約10年前の調査（厚生省心身障害研究，先天性副腎皮質機能障害の調査ならびに研究）と大きな差を認めず，臨床症状に頼っている現状の診療では早期発見という点で限界にきていることが明らかとなった。症状の発現年齢をみると，重篤症状を示す塩喪失型の嘔吐，脱水，ショックなどは約 $\frac{1}{4}$ ～ $\frac{1}{5}$ が日齢15以前に発症していたが， $\frac{3}{4}$ はそれ以後であり，しかもこの日齢を境に急増していることが分った。低Na血症も日齢15を境として，それ以前は14/32例（43.8%）であったが，以後では43/47例（91.5%）と増加していることも分った。以上の結果は，マスキングの結果判明の最短が日齢15ごろとすれば，塩喪失型の半数以上，単純型のはほとんどの症例が早期発見できることを示唆していると考えられた。脳波異常は28%に，知能の遅れ（IQ 80以下）は塩喪失型の4%，単純型の5%に認められ，れいれん歴は塩喪失型で6%，単純型で14%に，男っぽい性格（女児患者）は23%に，中枢性思春期早発症は塩喪失型で14%，単純型で60%（女48%，男80%）に併発していることが分り，このような中枢神経系障害は本症発見の遅れによる可能性もあり，マスキング実施後の頻度と比較する資料として貴重な結果であった。以上の如く，本症の発見が症状発現によっている現状に比べ，マスキングによれば効果的な早期発見ができるものと考えられ，しかも障害発生防止に役立つ可能性も高いことが分った。

21-水酸化酵素欠損のマスキングは濾紙17-hydroxyprogesterone (17-OHP)の測定によるのがよいことは前年度の研究で明らかであるが，神戸川は更にこの点を確認する結果を報告した。そこで17-OHPをスクリーニング検査項目とした場合の検査方法改良についての研究が進められた。田苗らは ^{125}I -RIA法，tube法によるEIA（酵素免疫測定）法，microplate法によるELISA（enzyme-linked immunosolvent assay）法のいずれもが濾紙血中17-OHP測定に有用であるとしたが，大浦らはEIA法は測定値のバラツキやロット間の差が大きいことを指摘した。すなわちRIA法は安定した測定結果を得るには優れているが放射性物質である点が問題となり，EIA法（ELISA法を含む）は試薬キットにより安定した測定値が得られにくいこともある点が再確認された。成瀬らはglucose oxidaseを17-OHPに結合させたconjugateを標識として濾紙血17-OHPのEIAを考案し，マスキングに応用可能としたがロットによるばらつきがでる可能性があり，改良の余地ありとした。新生児，特に未熟児の血中には硫酸結合などの水溶性 Δ ステロイドが大量に含まれ，これが17-OHP（非水溶性）と交差反応を示すことが測定技術上で大きな支障となっている。これを消去するために，エーテルなど有機物質による抽出法，特異性の極めて高い17-OHP抗血清の作成，測定値のcut-off pointの設定などさまざまな工夫が研究されてきた。辻らは17-OHPの4位結合BSA（牛血清アルブミン）を抗原とした抗17-OHP抗血清を作り，標識として17-OHPの4位結合peroxydase（HRP）を用いてのELISA測定系を考案し，交差反応が少ないとした。また17-OHPモノクローナル抗体作成の試みも報告した。松浦らは濾紙血の17-OHPと同時にcortisolもELISAで測定し，17-OHP/cortisol比をとることで21-水酸化酵素欠損スクリーニングの特異性の高まることを未熟児などで検討し，高杉らはこれを札幌市マスキングに応用した結果，再採血率が $\frac{1}{4}$ に

減少したと報告した。

矢田らは東京都におけるEIA法による試験的マススクリーニングの結果を昨年度報告以後の例を加えて再集計して報告した。2年間で54,693例の新生児を対象として5例のCAHを発見し、うち2例は臨床症状ですでに本症を疑われていたが3例はスクリーニングで発見されたとした。すなわちマススクリーニングで本症の早期発見例が増加するであろうとのアンケート調査結果からの諏訪の推論を裏付けるものとなった。五十嵐らも静岡県西部地区での4年9カ月間の65,883例のマススクリーニングの結果発見された3例の臨床像を報告し、早期発見は障害発生防止に有用であることを指摘し、さらにこのような早期発見例の経過を詳細に追跡して各施設間での情報交換をする必要性のあることを強調した。

入江らは高速液体クロマトグラフィー（HPLC）とRIAを組合せて血中ステロイドホルモンの定量分析を行い、CAHの迅速確定診断に有用であるとした。本症の予防的治療がクレチン症の予防的治療の如く容易に行い得ないことや、塩喪失型の如く急速に重篤状態に陥る可能性の高い疾患である点などを考えると、要精検児の迅速診断の重要性はマススクリーニング実施と併行して研究がすすめられなければならないであろう。

2) 尿素サイクル異常症など

高アンモニア血症をきたす疾患の一群として尿素サイクル異常症があり、先天的に欠損する酵素により5病型が知られている。各病型毎の頻度は必ずしも高くないが、これらをまとめて早期発見できればマススクリーニングの対象となり得る。しかし、前年度の報告の如く、マススクリーニングの検査方法が確立されているとはまだ言えない。

大浦らは大阪における100,198検体についてauxotroph assay法でマススクリーニングを行い、1例のアルギニノコハク酸血症と1例の一過性高シトルリン血症を発見したと報告。本法はオルニチン血症、シトルリン血症、アルギニノコハク酸尿症、アルギニン血症の4疾患の同時スクリーニングに用い得るとした。一方北川らは、昨年度の報告で225,934例の同法によるマススクリーニングで1例も患児を発見できなかったこと、アルギニン血症を1例見落していたことに鑑み、本法ではアルギナーゼ欠損（アルギニン血症）を発見できないと考え、赤血球中アルギナーゼの新しい測定法を開発し、マススクリーニングに応用可能とした。また川村らはNADHの蛍光をresazurin→resorufinによる色素変換系に置換えることによりオルニチンアミノ転移酵素とアルギナーゼをスポット法で判別できるスクリーニング法を考案した。本法はアルギニノコハク酸合成酵素、アルギニノコハク酸分解酵素、オルニチントランスカルバミラーゼの測定にも応用可能であろうとした。中島らは現在のマススクリーニングで高メチオニン血症のため精査となった例のなかに高アンモニア血症が3例発見されたことを報告した。

以上の如く尿素サイクル異常症のマススクリーニングは測定方法が開発途上の点もあり、実用化へ向けての工夫が今後の課題と考えられた。

多田らは高オルニチン血症は早期発見とプロリン治療で網脈絡膜萎縮の発生防止が可能であ

ろうとし、藤村らの酵素法で濾紙血オルニチン測定することでマススクリーニングの有用性を示唆した。今後検討をすすめるに値するものと考えられた。

高杉らは biotinidase 欠損のスクリーニングを試み、本邦でも研究されてよいものと指摘した。しかし本症は本邦では極めて稀れにしか報告されておらず、マススクリーニングの対象として適しているか否か今後の調査・研究に基づいて検討されるべきものと討議された。

3) 先天性胆道閉鎖症

本症には家族例のあることを角田らは報告した。また胆道閉鎖症のためのマススクリーニングの有効な検査法の確立を臨床医として強く要望した。これに対し、入戸野らは、濾紙血による胆汁酸測定によるマススクリーニングでは false negative が存在するため、1カ月齢での尿を用いた抱合型ビリルビン測定の併用がよいと提案した。松井らは推計学的に本症の胆汁酸測定によるマススクリーニングについて展望し、濾紙血マススクリーニングを行えば、発見率は現状の3倍に上ると考えられるが、疑陽性率が6%にも達すると推測し、新生児マススクリーニングを胆道閉鎖症に応用することは実際問題として不可能に近いと結論した。そして今後のマススクリーニングの方向としては新生児濾紙血中の胆汁酸以外のものの測定の考案、あるいは1カ月検診での発見方法を工夫する必要があるとした。

4) システム化の検討

安達は、現行マススクリーニングの実態と将来へ向けての意識調査(58年度, 59年度)に基づき、神奈川県における現状分析により新しい疾患追加を前提としたマススクリーニングシステムのあり方について総括的検討を行った。結論として、将来の新しい疾患追加に対して大多数の検査センターと産科医療機関は賛同と協力の意向を示していたとし、ともすればマンネリ化する傾向のある現在のマススクリーニングに再活力を与えるためにも新疾患の組入れ検討は有意義であるとした。

5) その他

加藤らは学童の手XPによる骨年齢を正常児517名で行い、思春期早発症、下垂体性小人症などの集団学童スクリーニングに役立てようと検討した。

2. 過去3年間の研究の総括

先天性副腎皮質過形成症は新生児マススクリーニングの対象疾患としてすべての点で適するといえた。生後4日～5日の濾紙血を用いる現行のマススクリーニングの一部として組入れることも可能であると決論できた。17-hydroxyprogesteroneを濾紙血を用いてenzyme immunoassay (EIA) または radioimmunoassay (RIA) 法で測定することで早期発見の手がかりがつかめるものと考えられた。いずれの測定方法が最もすぐれているかは今後の行政的ないしは

研究的なマススクリーニングの実際を通して決められ、改良されていくものと考えられる。本症が1万出生に1人で発生し、早期治療をしなければ約半数が新生児期に重篤状態に陥り、ほぼ全例が何らかの障害を残すことを考えると、全国レベルでのマススクリーニングとして現行マススクリーニングに一日も早く組入れられることが望ましい。

先天性尿素サイクル異常症はマススクリーニングの対象となり得るもので、実施も可能と考えられるが、濾紙血の酵素や異常産物の測定技術についてはさらに研究をすすめ検討すべき点も多く残されていることも事実である。今後の研究続行が望まれる。

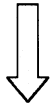
先天性胆道閉鎖症は、現在の測定技術ではマススクリーニングとして新生児濾紙血を用いることには問題があり、新しいシステムの工夫が必要と考えられる。

研究発表論文(昭和60年度)

1. 諏訪城三：今後スクリーニングが期待される疾患。先天性副腎皮質過形成症。医学のあゆみ 133:501, 1985。
2. 諏訪城三：小児内分泌疾患概論, 診断学。新小児医学大系 16 巻B, p.198, 1985年, 中山書店。
3. 立花克彦, 大秋美治, 山本弘, 永田典子, 前坂機江, 諏訪城三：鎖肛・Hirschsprung 病・多合指症・二分喉頭蓋および視床下部過誤腫を合併した下垂体欠損による先天性汎下垂体機能低下症の1例。小児科診療, 49:123, 1986。
4. 立花克彦, 内藤勉, 勝又規行, 前坂機江, 諏訪城三：21水酸化酵素欠損患児, 正常新生児および低出生体重児の血清 17OH-progesterone と 17OH-pregnenolone sulfate の測定 —— 先天性副腎皮質過形成症 マスクリーニングへ向けての検討。ホルモンと臨床 33:971, 1985。
5. 諏訪城三：先天性副腎皮質過形成症 —— 概念とマスクリーニングへの期待 ——。周産期医学 15:149, 1985。
6. Maesaka, H., Suwa, S., Tachibana, K. and Katsumata, N. : Prolonged activation of hypothalamo-pituitary-ovarian axis during early infancy in female patients with salt-losing 21-hydroxylase deficiency. Pediatric Research 19:1258, 1985。
7. 加藤敬子, 三上裕平, 野原八千代, 藤枝憲二, 藤田仁子, 松浦信夫：特発性思春期早発症における発症年令からみたアンドロケール効果の検討。日独医報 30:51, 1985。
8. 藤枝憲二, 松浦信夫：先天性副腎皮質過形成の出生前診断・治療。代謝異常スクリーニング研究会々報 9:8, 1985。
9. 松浦信夫：先天性副腎皮質過形成のスクリーニング —— 現状と問題点, 産婦人科の世界, 投稿中。
10. 福土勝, 松浦信夫：先天性副腎皮質過形成(21-水酸化酵素欠損)のマスクリーニングに関する研究。日本内分泌学会雑誌, 投稿中。
11. 藤枝憲二, 松浦信夫：慢性副腎皮質機能低下症。小児医学, 投稿中。
12. 下沢和彦, 税所純敬, 矢田純一, 神戸川明：血中 17 α -hydroxypregnenolone, 17 α -hydroxypregnenolone sulfate および 17 α -hydroxyprogesterone の同時測定法。日本内分泌学会雑誌 61:653, 1985。
13. 下沢和彦, 税所純敬, 矢田純一, 神戸川明：小児期における血中 17 α -hydroxypregnenolone および 17 α -hydroxypregnenolone sulfate 濃度の年齢的推移。日本内分泌学会雑誌 61:785, 1985。
14. 下沢和彦, 矢田純一, 北川照男, 松浦幹夫, 村田光範, 土屋裕, 山内邦昭：東京都における先天性副腎皮質過形成症の試験的マスクリーニング —— 昭和59年1月からの1年間の成績 ——。日本小児科学会雑誌 89:2678, 1985。
15. 野崎佳枝, 田苗綾子：先天性副腎皮質過形成(21-水酸化酵素欠損型)のマスクリーニ

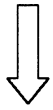
- ングに関する研究。第1編 乾燥濾紙血中 17α -hydroxyprogesteroneの測定に関する検討。日本小児科学会雑誌 89:1402, 1985。
16. 野崎佳枝, 田苗綾子: 同上。第2編 新生児期の血中 17α -hydroxyprogesterone濃度に及ぼす因子に関する検討。日本小児科学会雑誌 89:1410, 1985。
17. 永瀬成夫, 田苗綾子, 日比逸郎, 森川征彦: Trilostaneが術前治療として有効であった副腎皮質癌によるクッシング症候群の1女児例。日本小児科学会誌 89:2231, 1985。
18. 田苗綾子: Cushing 病。新小児医学大系 16 巻B, p 371, 1985, 中山書店。
19. 甲田直也, 山口修一, 渡辺博, 田苗綾子: 濾紙血 17α -hydroxyprogesterone測定により経過観察できた塩喪失型先天性副腎皮質過形成症の1新生児例。小児科診療 48:1574, 1985。
20. 入戸野博, 渡辺豊彦, 佐々木栄一, 中津典子, 大日方薫, 新島新一, 藪田敬次郎, 宮野武, 出口英一, 姉小路みどり: 尿浸染濾紙による先天性胆道閉鎖症のマススクリーニングの検討。順天堂医学 31:416, 1985。
21. Naruse, N., Suzuki, E., Irie, M., Tuji, A., Takasugi, N., Fukusi, M., Matsuura, N. and Simozawa, K.: Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in Japan. Ann. N. Y. Academy of Sciences 458:103, 1985。
22. 成瀬浩: 先天代謝異常症のスクリーニング。神経研究の進歩 29:432, 1985。
23. 成瀬浩: 先天代謝異常——乳幼児期・学童期における特定の疾患のスクリーニング——新小児医学大系 26 巻, p 403, 1985, 中山書店。
24. 鈴木恵美子, 成瀬浩: マスクリーニングとその結果。新小児医学大系 7 巻C, p 233, 1985, 中山書店。
25. 野崎豊, 加藤精彦, 篠塚徹, 藤本昌敏, 大山建司, 市村一義: Gaschromatography (GC) / Mass spectrometry (MS) による血中副腎皮質ステロイド測定法の確立。日本内分泌学会雑誌 61:1167, 1985。
26. 市村一義, 野崎豊, 加藤精彦: GC/MS による血中副腎ステロイドの同時測定法。医用マス研究会講演集 10:27, 1985。
27. 加藤精彦, 大塚美子: 発達遅滞, 小児科Mook, No. 39:77, 1985, 金原出版。
28. 大竹明, 高柳正樹, 小倉成美子, 中島博徳: 量的異常型Ornithine transcarbamylase 欠乏症の1女児例。日本小児科学会雑誌 89:1780, 1985。
29. Ohtake, A., Takayanagi, M., Ogura, N., and Nakajima, H.: A case of transient neonatal citrullinemia. Eur. J. Pediatr. 141:60, 1983。
30. Kakinuma, H., Ohtake, A., Ogura, N., Takayanagi, M. and Nakajima, H.: Two sblings with complete carbamyl phosphate synthetase I deficiency. Acta Paediatr. jap. 26:16, 1984。
31. 松井陽: 胆道閉鎖症のプロフィールと早期発見のためのスクリーニング。茨城県立病院医学誌 2:257, 1984。

32. 松井陽：乾燥血液濾紙の総胆汁酸測定による胆道閉鎖症のマススクリーニング。小児科年鑑 1985 - 1986, p188, 1985。
33. Matsui, A., Fujimoto, T., Takazawa, Y., Kasano, Y., Okaniwa, M. and Kamoshita, S. : The screening of patients with extrahepatic biliary atresia by measuring total bile acids absorbed in dried blood spots. Acta Paediatr. Jpn 27:198, 1985。
34. Matsui, A., Fujimoto, T., Takazawa, Y., Okaniwa, M. and Kamoshita, S. : Serum bile acid levels in patients with extrahepatic biliary atresia and neonatal hepatitis during the first 10 days of life. J. Paediatr. 107:255, 1985。
35. 安達健二, 住吉好雄, 春木英一, 諏訪城三, 磯崎昭夫, 朝倉亨, 渡辺史朗, 畑啓一：神奈川県における新生児マススクリーニングの現況と問題点。神奈川医学雑誌 13:26, 1986。



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



研究計画

昨年度に引き続き先天性副腎皮質過形成症,先天性尿素サイクル異常症,先天性胆道閉鎖症を主な対象疾患として,その早期発見のための新生児マススクリーニングの研究を行うこととした。

先天性副腎皮質過形成はマススクリーニング対象疾患として適しており,有効に実施できる可能性のあることは前年度までの研究で明らかになった。そこで本年度は実効的検査法の開発についての研究,ならびにマススクリーニングの実施によって障害発生が防止できるかの予測を検討した。尿素サイクル異常症のマススクリーニングは,従来の検査法では不完全な面もあることが判明したので,より優れた検査法開発の再検討を行うこととした。先天性胆道閉鎖症については,マススクリーニングの可能性について再検討を行い新生児マススクリーニングの対象疾患の可否について検討を加えることとした。