

17-OHP EIA法のマスキリング応用への問題点

山入高志, 長谷 豊, 鶴原常雄 (大阪市立小児保健センター)
大浦敏明 (大阪市更生療育センター)

研 究 目 的

新生児期における21-Hydroxylase欠損症のマスキリングには、ろ紙血中の17-Hydroxyprogesterone (17-OHP)の測定が最も有用である。我々は、いくつかのアッセイ法の中で、簡便さという点で有利であると思われるEIA・直接法により、ろ紙血中の17-OHP濃度を測定した。今回、EIA直接法を実際のマスキリングに応用していく上での問題点について検討したので報告する。

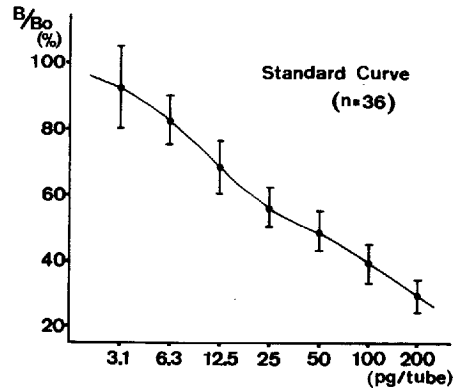
(図 1)

研 究 方 法

使用したEIAキットは栄研ICL製で、直接法により測定した。蛍光強度の測定は島津製作所のTSH-EIAセットを用いた。

研 究 結 果

図1は、標準曲線の安定性を見たもので、計36回のアッセイにおける標準曲線を、各標準濃度のB/BoのMean±SDで示す。低濃度域を中心にバラツキが大きく、安定した標準曲線が得られにくかった。



(図 2)

図2は、6.3, 25, 100 pg/tube各濃度のB/Bo値をロット・測定者で分けて、プロットしたものである。ロットによる差が見られ、また、測定者によっても差が見られる。同一測定者であってもロット内で変動があり、操作上の問題と考えられる。

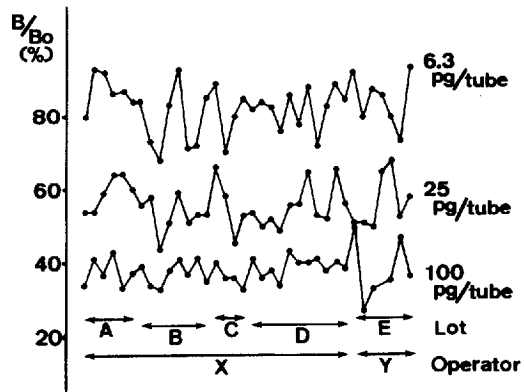


表1は、測定内誤差を見たものであ (表1)
 る。B/B₀のCVが0.8~12.9%
 で10%前後が多く、測定そのものの
 誤差があるうえ、標準曲線の傾きが十
 分な大きさでないために、測定値のC
 Vは非常に大きい。

INTRAASSAY CV

	17-OHP (pg/disc)	CV (%)	B/B ₀ (%)	CV (%)
1.	3.3±3.6	108.5	82.6±11.2	13.5
2.	6.3±2.3	36.8	80.3±6.1	7.6
3.	7.7±0.3	4.2	68.3±0.6	0.8
4.	10.0±6.8	68.0	63.5±5.3	8.4
5.	11.6±4.1	35.5	66.9±8.5	12.7
6.	17.0±4.8	28.1	58.1±4.8	8.2
7.	36.9±10.3	27.9	47.5±4.4	9.3
8.	44.7±32.4	72.5	47.8±6.2	12.9
9.	161.5±31.7	19.6	25.7±2.0	7.6
10.	180.9±34.8	19.2	24.6±1.9	7.8

現行の新生児マススクリーニング用 (図3)
 に採取されたろ紙血1444検体の測
 定値の分布を図3のヒストグラムに示
 す。
 50pg/tube より高値のものは7
 %に見られる。

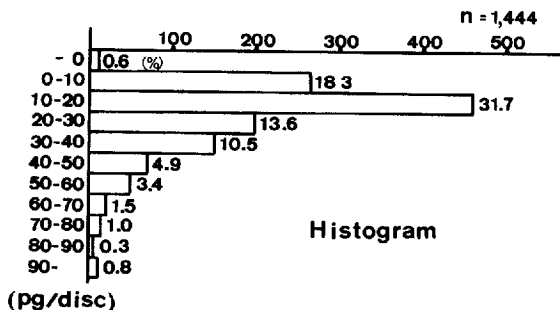
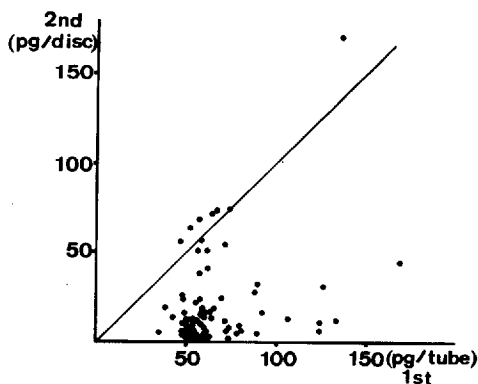


図4は、3パーセンタイルで異常と (図4)
 判定した検体の、初回測定値(1検体
 につき1チューブ)(横軸)と再検値
 (縦軸)をプロットしたものである。
 初回測定値と再検値の相関が悪く、再
 検時は低値を示すものが多かった。こ
 のことから、異常と判定した中に、測
 定上の誤差によるFalse positive
 が多数含まれていたと考えられる



次に、他の測定法との比較の意味 (表 2)

で、表 2 に 21-Hydroxylase 欠損症と診断した 1 患児の生後 1 日目の血清およびろ紙血中の 17-OHP 値を示す。我々が測定したろ紙血の EIA 直接法による値は、血清 RIA 法、ろ紙血の EIA 抽出法に比べ、かなり高値である。また、一般的に EIA 法に比べて高値をとりやすいといわれる ELISA 法と比較してもなお高値である。我々の正常新生児での測定値と比べると著しく高値であるが、未熟児の測定値とはオーバーラップがあった。

PATIENT S. M. FEMALE AGE 1 DAY			
21-HYDROXYLASE DEFICIENCY			
(SALT LOSING TYPE)			
17-OHP ASSAY			
(SAMPLE)	(METHOD)	17-OHP	(LABO.)
SERUM	RIA	153	BML
DRIED BLOOD	EIA (DIRECT)	533.3	OSAKA
	EIA (EXTRACT)	81.6	SAPPORO
	ELISA (DIRECT)	320.9	SAPPORO
		[ng/ml]	

考 察

ろ紙血中の 17-OHP の測定法として、種々のアッセイ法があり、検討が加えられている。また、すでに大規模なマススクリーニングが実施され、成果をあげている地域もある。しかし、マススクリーニングを全国的規模で実施していくにあたって、どのアッセイ法がよいかは、いまだ結論づけられていないように思われる。

EIA 直接法は、ラジオアイソトープや有機溶媒を用いないという意味で、簡便であるという利点を持っている。

しかし、今回示したように 1) 安定した標準曲線が得られにくい 2) 測定誤差が大きい 3) ロットによる差、測定者による差が見られる などマススクリーニングに応用していくためには解決していかなければならない問題点がある。

Cut off point 付近の測定誤差が大きく、その対策として操作の習熟とともに、キットそのものをより改良していく必要があろう。

21-Hydroxylase 欠損症においては、今回提示した 1 症例のように、一般の検体では見られないような高値を示し、見のがす危険性は少ないと考えられる。しかし、患児でも 17-OHP の上昇が軽度のことがあり、今後のマススクリーニング実施に当たっては、現状の測定誤差の大きさを無視することはできない。さらに、前年度報告したように、未熟児では高値を示す例が多く、今回示した症例の値とオーバーラップがある。

以上のような点から考えると、再検査の手段として、より精度の高い検査法を考慮しておく必要がある。

このような問題点はあるにせよ、EIA 直接法には、他の方法に比べ簡便であるという普及面での利点がある。我々は実際のマススクリーニングを行う立場から、今後より安定したキットへの改良を望むとともに、さらに測定検体数を増して EIA 直接法のスクリーニングへの応用について検討していきたい。



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

新生児期における 21-Hydroxylase 欠損症のマススクリーニングには、ろ紙血中の 17-Hydroxyprogesterone(17-OHP)の測定が最も有用である。我々は、いくつかのアッセイ法の中で、簡便さという点で有利であると思われる EIA・直接法により、ろ紙血中の 17-OHP 濃度を測定した。今回、EIA 直接法を実際のマススクリーニングに応用していく上での問題点について検討したので報告する。