

# 先天性胆道閉鎖症のマススクリーニング

—尿浸染濾紙および血液浸染濾紙による検討—

順天堂大学小児科, \*東日本学園大学薬学部

入戸野博, 佐々木栄一, 藪田敬次郎, \*池川繁男

## 研究目的

先天性胆道閉鎖症 (congenital biliary atresia : CBA) の早期発見のために, 郵送による尿浸染濾紙 (dried urine spot : DUS) 中の抱合型ビリルビンの半定量および血液浸染濾紙 (dried blood spot : DBS) 中の  $3\beta$ -hydroxy-5-cholenoic acid の測定によってマススクリーニングをする方法を検討した。

## 研究方法

1) CBA のマススクリーニングの郵送システムを検討するために, 生後25~30日目に採取し返送された濾紙に浸染した乾燥尿中の抱合型ビリルビンを既報<sup>1)</sup>に従い測定した。また一定期間における100検体について, 尿を付着してから当研究室で判定されるまでの日数も検討してみた。

2) 生下時体重が1,500g以上の未熟児および新生児計81例におけるDBS中の $3\beta$ -hydroxy-5-cholenoic acidの測定は, 特異性の高い抗血清<sup>2)</sup>を用いた。DBSより直径3mmのディスク1枚を採取し, 1検体につき2回RIA法で測定した (Table 1)。

## 結果

### 1) 尿浸染濾紙 (UDS) の郵送による方法

①昭和59年4月1日より昭和60年5月14日までに返送されたDUSの総数は983枚であり, 回収率は54.3%であった。②983枚のうち, 黄疸(+)と記載のあったのは78枚 (7.9%) であった。③灰白色便(+)と記載のあったのは18枚 (1.8%) であり, retrospectiveに調査した結果, これらは全例とも誤記入であった。④濾紙中の抱合型ビリルビンの有無の半定量結果は, 便の混入のための陽性が1例だけ存在し, 他の982枚は陰性であった。⑤一定期間に返送された100枚のDUSで, 尿を付着してから抱合型ビリルビンの有無の半定までに要した日数は1~12日であり, その平均は3.85日で, 4日以上が47%存在した。

### 2) 血液浸染濾紙 (DBS) 中の $3\beta$ -hydroxy-5-cholenoic acid 値

直径3mmのDBS中の $3\beta$ -hydroxy-5-cholenoic acid値を, 生下時体重の違いにより比較すると, 以下のようであった。すなわち1,500g~1,999g (n=20) :  $0.96 \pm 0.44$ , 2,000g ~

2,499 g (n=20) : 0.80±0.35, 2,500 g ~2,999 g (n=20) : 0.97±0.40, 3,000~3,499 g (n=16) : 0.84±0.23, 3,500 g 以上 (n=5) : 0.79±0.35 ng/disc であった。以上より、DBS中の3β-hydroxy-5-cholenoic acidのRIA法による測定は可能であり、生下時体重による明らかな違いは認められなかった。またDBS中の3β-hydroxy-5-cholenoic acidの値は、0.33~2.33 ng/discと大きな幅を認めた。

## 考 案

UDSの回収率は実施医療施設間での差が著しく存在し、32%から77.5%の幅があった。これは産科医、看護婦および母親のCBAに対する理解度の違いによるものと考えられ、CBAに対する啓蒙の必要性を認めた。また濾紙に尿を付着させてから、著者らの研究室で試薬を滴下して判定するまでに平均3.85日を要し、4日以上経過したものが47%も存在した。このために今後の問題としては、尿付着後に母親にいかにか早く濾紙を返送させるかが重要なポイントと考えられた。本法の感度は、尿中ビリルビン濃度が0.1 mg/dl以上であると報告されており、生後1カ月頃のCBAではほとんどの症例が陽性となることが考えられた。またDBS中の3β-hydroxy-5-cholenoic acidの測定は可能であり、今後はCBA患児の濾紙を用いて測定したい。

これまでの研究より、CBAの現実的なマススクリーニングの実施方法としては、①一次スクリーニングは現在用いられているDBSの残りの一部(直径3 mmのディスク2枚)を用いてある種の胆汁酸(ケノデオキシコール酸, 3β-hydroxy-5-cholenoic acid, その他)をRIA法または酵素免疫測定(EIA)法などを用いる。②2次スクリーニングとしては同じくDBS中の抱合型1次胆汁酸分画を既報<sup>3)</sup>のように測定することが考えられる。また③CBAは既報<sup>4)</sup>のように生後しばらくは血中胆汁酸値の上昇が著明でないfalse negativeを示す症例(生後発症と考えられる)も存在するため、更に生後1カ月頃の尿浸染濾紙中の抱合型ビリルビンの測定を郵送または1カ月健診の現場で実施すれば、false negativeの極めて少ない確実なマススクリーニングになると考えられる。

## 文 献

1. 入野博, 他: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(3):416~421, 1985
2. Ikegawa, S., et al.: Preparation of specific antisera to 3β-hydroxy-5-cholenoic acid by immunization with conjugates attached to protein through the C-3 position. Chem. Pharm. Bull., 33(2):831~836, 1985.
3. 入野博, 他:高感度迅速HPLCによる乾燥血液濾紙中の胆汁酸の分析—先天性胆道閉鎖症のマススクリーニングへの応用, 医学のあゆみ, 135(2):153~154, 1985
4. Sasaki, H.: Development of bile acid metabolism in neonates during perinatal period; 2. Mass screening of congenital biliary atresia by radioimmunoassay

Table 1

Methods

Buffer : 0.01 M phosphate buffer containing 0.9% NaCl, 0.1% gelatin, 0.01% sodium azide, pH(7.4).

The assay steps were as follows:

- 1) One disc (3 mm ID) punched out from dried blood filter paper was placed in a test tube (12x75 mm)
- 2) 100  $\mu$ l of the buffer was added to the each tube and was vortexed, and then allowed to stand at 4°C overnight.
- 3) 100  $\mu$ l of [<sup>3</sup>H] labelled  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -ol (9000 dpm) and 100  $\mu$ l of antiserum (1:10<sup>3</sup> dilution)
- 4) The mixtures were incubated at 4°C overnight.
- 5) 0.5 ml of dextran (0.03%) coated charcoal (1%) was added to each tube, and the resulting mixtures were vortex mixed and allowed to stand at 4°C for 10 min.
- 6) The solutions were centrifuged at 3000 rpm for 10 min at 4°C.
- 7) The supernatants were decanted into the vial containing 10 ml of EX-H scintisol (Dozin Chemical Institute).
- 8) The radioactivity was counted for 2 min.



## 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

先天性胆道閉鎖症(congenital biliary atresia:CBA)の早期発見のために、郵送による尿浸染濾紙(dried urine spot:DUS)中の抱合型ビリルビンの半定量および血液浸染濾紙(dried blood spot:DBS)中の3-hydroxy-5-cholenoic acidの測定によってマススクリーニングをする方法を検討した。