

高速液体クロマトグラフィーと170H-Progesterone ELISA  
を用いた先天性副腎過形成の診断

(分担研究：副腎過形成症スクリーニング実施に伴う諸問題の検討)

楠田 聡<sup>1)</sup>，山入高志<sup>1)</sup>，大浦敏明<sup>2)</sup>，鶴原常雄<sup>1)</sup>

要約：先天性副腎過形成（CAH）の新生児スクリーニングで、検体中の170H-Progesterone (170HP)濃度を直接法で測定すると、CAH患児以外でも高値を示す例がみられる。これらは未熟児、あるいは何等かの原因でストレスにさらされている新生児である。これらの新生児をCAHと鑑別するためには、抽出法による170HP濃度の測定、170HP/Cortisol による判定が用いられている。しかし、前者では十分に疑陽性を鑑別できないし、後者は現時点では一般に広く用いることができない。そこで我々は、濾紙検体を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で分画したのちに170HP濃度をELISAで測定し、濾紙血中の170HP濃度を正確、簡便に測定する方法を確立した。本法を用いれば、血液濾紙検体だけからCAHの正確な診断が可能である。

見だし語：先天性副腎過形成、高

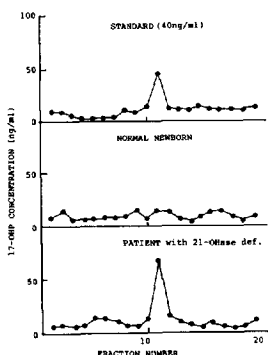
速液体クロマトグラフィー、  
ELISA

研究方法：血液濾紙より直径3mmのディスク2枚を打抜き、1mlのエーテルで抽出した。そしてこの試料をHPLCにアプライした。HPLCは、RP-18 (5 $\mu$ m)カラムを使用し、水：メタノール=40：60の移動相で、流速1ml/分でおこなった。試料注入後1mlのフラクションを20本採取した。各フラクションを蒸発乾固後、ELISAのサンプルバッファーで再溶解し、170HP濃度を測定した。

結果：ELISAキットに含まれている40 ng/mlの標準血液濾紙、正常新生児、CAH患児の治療前の検体をHPLCで分画後に各フラクションの170HP濃度を測定すると、図1のようになった。標準濾紙では11番目のフラクションに単一のピークみとめた。正常新生

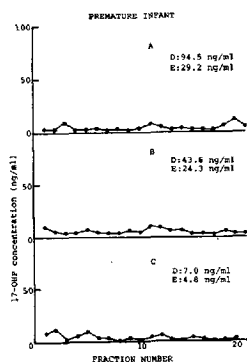
<sup>1)</sup> 大阪市立小児保健センター (Children's Medical Center of Osaka City)  
<sup>2)</sup> 大阪市更生療育センター (Osaka Municipal Rehabilitation Center)

図 1



児では全くピークを認めなかったが、CAH患児では11番目に大きなピークと、他の部位に小さなピークを認めた。次に、直接法による17OHP濃度の測定ではCAHと鑑別が困難なことが多い未熟児の検体を同様な方法で測定した。異なった3種の抗17OHP抗体を用いて測定した結果を図2に示す。

図 2

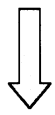


Aはキットに含まれた3位抗体、BはNIHより入手した3位抗体、Cはキットに含まれた7位抗体である。各々の抗体を使って測定した濾紙検体中の17OHP濃度は、直接法ではそれぞれ、94.5, 43.6, 7.0 ng/mlであった。抽出法ではそれぞれ、29.2, 24.3, 4.8ng/mlであった。一方HPLCによる分

画後の各フラクションの17OHP濃度は図に示すように、どの抗体で測定しても11番目には非常に小さなピークを認めるだけであり、明らかにCAHのそれとは異なっていた。したがって本法を用いれば、少量の血液濾紙で、正確にCAHの診断が可能であった。

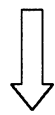
考案：CAHの新生児スクリーニングを実施して行くにあたり、スクリーニングで異常を示した新生児をできるかぎり正確にCAHと疑陽性にと鑑別していくことは大変重要である。なぜなら、本症であれば急速に症状が進行悪化する場合があります、できるだけ早く診断し治療しなければならない。一方、疑陽性例ではけっして過って治療されることがあつてはならない。

そこで、スクリーニングで異常、すなわち17OHP高値を示した例をできるだけ正確にCAHと疑陽性に鑑別する方法が必要である。我々が用いた方法は、正確にCAHを診断できること、少量の血液しか必要でないので、一次スクリーニングで使用した濾紙の残りを利用して検査できること、また検査日数も3日間ですむこと等から大変有用な方法と考える。今後は必要なフラクションのみの17OHP濃度を測定するだけで鑑別できるよう検討して行く必要がある。



## 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



要約:先天性副腎過形成(CAH)の新生児スクリーニングで、検体中の170H-Progesterone(170HP)濃度を直接法で測定すると、CAH患児以外でも高値を示す例がみられる。これらは未熟児、あるいは何等かの原因でストレスにさらされている新生児である。これらの新生児をCAHと鑑別するためには、抽出法による170HP濃度の測定、170HP/Cortisolによる判定が用いられている。しかし、前者では十分に疑陽僅を鑑別できないし、後者は現時点では一般に広く用いることができない。そこで我々は、濾紙検体を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分画したのちに170HP濃度をELISAで測定し、濾紙血中の170HP濃度を正確、簡便に測定する方法を確立した。本法を用いれば、血液濾紙検体だけからCAHの正確な診断が可能である。