

マス・スクリーニング対象疾患検討に関する研究

分担研究者 青木継稔

研究協力者 荒島真一郎、高田五郎、多田啓也
成澤邦明、北川照男、鈴木義之
小林正紀、折居忠夫、岡田伸太郎
田中あけみ、須藤正克、伊藤道徳
遠藤文夫、松井 陽、山口修一
寺本勝寛

研究目的:

本研究は、現在実施されているマススクリーニング対象患者に加えるべき新しい疾患を選択し、方法や実施時期などを検討するのが目的である。マススクリーニングに加えられるべき対象疾患の条件は、①発症頻度は稀であっても、ある程度存在すること（恐らく、出生数10万人に1人以内程度か）、②確実なマススクリーニング法が開発されていること、③効果的かつ有効な治療法があること、④早期発見あるいは症状発症前の発見と早期治療による障害発現の予防、⑤治療せず放置すれば不幸な転帰をとるか重篤な後障害を残す疾患であること、⑥費用効率や費用便益が考慮されること、などが含まれる。

平成4年度（昨年）の本研究結果において、①ウィルソン病、②胆道閉鎖症、③ムコ多糖類症の3疾患が指定された。平成5年度（本年）は、これら3疾患に加えて、④妊婦不規則抗体測定スクリーニングが検討されるべく加わった。

ウィルソン病マススクリーニングはWHOのマススクリーニングすべき疾患として勧告されているが決定的な方法がなかった。昨年度に抗ヒト活性型セルロプラスミンモノクローナル抗体がクローニングされ、ウィルソン病患児に従来測定されていた蛋白量を測定していたセルロプラスミン(Cp)の低値より活性型セルロプラスミン(ホロCp)値がさらに著明低値であり、1/2～1/3量であったことから新生児濾紙血への応用の可能性がクローズアップされた。したがって、今年度は新生児濾紙血を用いたマススクリーニングパイロット・スタディを中心に、9施設において検討することとした。胆道閉鎖症のマススクリーニングは1カ月児の便色調をカラー写真を用いて8段階の番号づけをしたカラーカード(母子健

康手帳に入る大きさ) 法によって、パイロットスタディを実施した。ムコ多糖類症スクリーニングは、骨髄移植法が有効とされ、スクリーニングの意義が高まってきている。乳児尿を用いる1,9-dimethyl-methylene blue(DMB) 法によるスクリーニングの基礎的検討およびパイロットスタディを一部実施した。今年度から新しく加わった妊婦不規則抗体スクリーニングは、山梨県において多くの妊婦に実施し、新生児溶血性疾患発症の予防について検討することにした。

研究結果:

1. ウィルソン病マススクリーニングについて

(1) 抗ヒト活性型セルロプラスミンモノクロナール抗体によるELISA 法を用いたスクリーニング法の基礎的検討

昨年発表し報告書にも記載した本法について、新生児濾紙血の抽出法、濾紙血斑の分布による差異、濾紙血の温度を中心とする保存条件と活性値の劣化率、濾紙血スタンダードの作成法および統一の必要性、測定キットの安定性、同一濾紙血を用いた再現性、毛細管血清と濾紙血抽出液との相関等について基礎的検討を行った。東邦大学第2小児科グループは、新生児濾紙血の保存による劣化率から採血後2週間以内の測定が良いこと、室温乾燥後、冷蔵庫保存にて1カ月・-20℃以上の保存にて数ヵ月間安定であること、濾紙血スタンダードの調整と統一化の必要性のあることを結論とし、本キットを用いるELISA法は有用なスクリーニングであると判断した(青木、冷牟田、清水)。一方、熊本大学小児科グループは、東邦大学グループと同様なホロセルロプラスミン測定法を独自に開発し、さらに、血液濾紙片から測定プレート上に直接Cpを抽出可能な方法を開発し簡便化を図った(遠藤、中村、栗田、松田)。

(2) 新生児濾紙血・血清とウィルソン病疾患児の濾紙血・血清の活性型Cpの比較検討

東邦大学第2小児科グループは、新生児濾紙血と同時採血した毛細管血の総CpおよびホロCpを同時測定し比較検討した。新生児濾紙血と毛細管血清中の総CpとホロCp値の間には有意差がなかった。ウィルソン病疾患児の濾紙血と毛細管血清中のCp値は低値であり、ホロCp値はさらに低値であった。患児のホロCp値は、総Cp値の1/3～1/2であったが、濾紙血と毛細管血の間には差がなかった。また、正常新生児の総Cp値・ホロCp値は、ウィルソン病疾患児より明らかに高値を示し明確に区別され得た。とくに、ホロCp値の有意差($p < 0.01$)は著明であった(藤岡、冷牟田、清水、青木ら)。

(3) 新生児濾紙血を用いたウィルソン病マススクリーニングの多施設パイロットスタディ

① インフォームド・コンセントについて

各研究協力施設および関連グループの地域において、先天性代謝異常新生児マススクリーニング濾紙血を用いて、本症をスクリーニングすることにした。各地域の事情もあり、現行のマススクリーニング関連諸機関・検査機関とも協議し、地区日母支部・病院産科医や小児科医の了解の下に、説明と同意のあった新生児濾紙血について、本症のスクリーニングを実施した。説明文書と同意書は各地域で作製し

たが、一部の地域においては、口答あるいは産院にて説明文掲示などにより同意を求め、拒否のあったもののみを除いてスクリーニングを実施した。スタートするまで諸手続きにより長期間を要したところが多く、以下に述べるごとく、実質的にパイロットスタディ期間は平均数ヵ月しかなかった。

② 9施設におけるパイロットスタディ成績

北大グループは、1,440名に実施し再検率0%、再検後の陽性率0%であったが、実施期間中に3歳児ウィルソン病症例が発見され、患児の新生児期濾紙血冷凍保存していたことより、この濾紙血のホロCpを測定し有意に低値であったことを報告した（荒島、福士ら）。

秋田大グループは、903名に実施し、再検率0.9%であった（高田、石田ら）。

東北大グループは、1,860名に実施し、cut off 値を7.5mg/dlに設定した場合の再検率は2%であった（多田、大浦、白石）。

日大グループは、3,985名に実施し、再検率0.9%、再検後の陽性率0.03%であった。再検後の陽性例3例のfollow upを必要とした（北川、大和田、鈴木ら）。

東邦大グループは、818例に実施し、再検率0.5%であったが、再検を実施していない。同胞2名がウィルソン病患者であった母親から第3子が出生し、新生児濾紙血のホロCp値は11mg/dlであり、第3子はウィルソン病にはならないと推定した。3ヵ月時、再検しホロCp値は14.5mg/dlであり、今後数年間follow upする予定である（青木、清水、柴田、冷牟田ら）。

福井医大グループは、843名について実施し、cut off 値5mg/dlに設定した場合、再検率1.44%、4mg/dlの場合、0.96%であった。再検後の陽性例はなかった（須藤、中井、畑）。

名古屋市大グループは、約500例に実施し、再検率1.0%、再検後の陽性率0%であった（小林ら）。

徳島大グループは、徳島県と香川県において、6,612名について実施し、再検率0.3%、再検後の陽性例2名であった。2名については、今後follow upする予定である（伊藤、黒田ら）。

熊本大グループは、独自にホロCpを測定する簡便法を開発し、2,269名について実施し、再検率2.2%、再検後の陽性率0%であった（遠藤、中村、栗田、松田）。

以上、9施設のパイロットスタディ成績を平成6年1月15日を締切りに、アンケート方式にて中間集計を行い、検査総数19,199名であり、再検数154、再検率0.8%、未施行もあったが、再検後の陽性例5、陽性率0.03%となった。5名の陽性例については、ウィルソン病かどうかの確定診断のために数年間のfollow upが必要であるため、家族への精神的負担を考慮し、3～6ヵ月毎に血中ホロCp等の定期検査が行われる予定である（久保田、藤岡、青木）。

(4) 幼児濾紙血を用いたウィルソン病マススクリーニング実施成績

東邦大グループは、過去15年間本症のマススクリーニングを幼児を中心に実施してきた。

1歳6ヵ月児、3歳児健康診査や外来診察に来院した幼児のうち、同意の得られた毛細管血、採血した血清および濾紙血などを用い、PCFIA法を中心に実施してきた。最近、ELISA法による活性型Cpを測

定する方法を採用した。総計約 1 万名以上のスクリーニングを実施し、同胞 2 名の本症患者を発見したことは、すでに報告した（平成 4 年度本研究班報告書）。このスクリーニングを開始した 1977 年頃に比し、最近は、同意を得ることが難しくなっており、希望者について実施している。新生児濾紙血による本症マススクリーニングが実施されるようになれば、幼児期のマススクリーニングの必要性は薄れるが、万一、新生児マススクリーニングの実施が困難なときは、是非、必要となろう（青木、四宮）。

(5) 費用便益について

ウィルソン病の発症頻度は、約 3.5 ~ 4.5 万人に 1 人と推定されている。出生 5 万人に 1 人の患者が発生したと仮定した場合、5 万人に 1 人が生涯にわたって非生産者となったとし算定した費用の 30~40 % あるいはそれ以下の費用にて十分マススクリーニングできると結論した。したがって、本症をマススクリーニングする意義は大きいといえる（青木、藤岡ら）。

2. 胆道閉鎖症マススクリーニングについて

便の色調を写真撮影したものを基準に、色調を 8 段階としたカラーカードを作成したものを使って、胆道閉鎖症の早期発見を目的とした 1 カ月健診時マススクリーニングを実施した。栃木県、埼玉県、両県をフィールドとした。方法は、このカラーカードを産院退院時に母親に渡し、1 カ月健診時に、便色調をカラーカードの色調を表示した番号を記入して持参させるものである。カラーカードは、母子手帳に入る大きさであり、1 枚当たりの印刷費は 12 円である。産院の方へカラーカードを配布し、同意の得られた母親に渡すよう指導した。推定対象者数は、約 5 万 5 千人であった。2 カ月間のパイロットスタディであったが、2 例の胆道閉鎖症が発見され、2 例ともに生後 2 カ月以内に手術された（松井、山口）。

3. ムコ多糖症マススクリーニングの検討

ムコ多糖症は、出生 2 万 6 千人に 1 人以上の発症頻度とされ、近年、骨髄移植による治療が有効となってきており、症状発現前の早期診断の必要性が増してきた。昨年度は、岐阜大の乳児尿を用いた 1,9-dimethylmethylen blue (DMB) によるスクリーニング法が研究報告された。岐阜大グループは、10 μ l の微量尿を用い、4 カ月の乳児に実施すると良いと結論したため、今年度において、現行にて全国実施されている神経芽腫スクリーニング用尿濾紙にて検討することを中心とした。神経芽腫スクリーニング用尿濾紙を用いた場合は、同意を得たものに限って検討した。また、各研究協力者の施設等にての採尿は、ムコ多糖症のスクリーニングの同意を得たものである。

岐阜大グループは、原尿と濾紙尿抽出液を DMB 法によって比較し高い相関があり、濾紙尿抽出にても十分測定可能であるとした。6 カ月児 11,925 名の原尿を用いた cut off 値の設定を行い、岐阜県下にて、6,178 名のパイロット・スタディを実施した。再検率 2.6% であり、陽性例はなかった。偽陽性の原因は低クレアチニン尿、紙オムツの混入が主であった（折居）。東北大グループは、乾燥濾紙尿を用いて

のDMB法に対する基礎的研究を行った。採尿濾紙の問題（神経芽腫スクリーニング用尿濾紙よりのグリコサミノグリカンGSDの回収が悪いこと）、乾燥尿濾紙中のGSDと他の尿成分によりその回収ないし、呈色が阻害され蛋白分解酵素処理にて回収率の改善を得た成績を報告し、本症マススクリーニングの実施にあたって、さらに詳細な検討の必要性を考察した（成澤、呉ら）。

都臨床研グループは、原尿を用いるDMBの直接法にて患者群と対照群の間の判別は可能であったが、乾燥尿濾紙からの抽出度が低く、今後改良する必要があるとした（鈴木、桜庭ら）。

大阪大グループは、原尿を用いてDMB法を検討した。尿中ムコ多糖症は年齢依存性があり、加齢とともに減少し、生後0～5カ月児の対照群尿中ムコ多糖値は、ムコ多糖症患者とオーバーラップするfalse positiveが含まれてくると考えられ、生後6カ月以降の採尿が望ましいとした（岡田、乾、塚本）。

大阪市大グループは、本症のマススクリーニングをHPLC法にて実施した成績を発表し、有用であるとした（田中ら）。

4. 妊婦不規則抗体のスクリーニングの検討

山梨県において、血液型不適合妊娠による新生児溶血性疾患（HDN）の予測および対応準備のために、赤血球不規則抗体測定によるスクリーニングシステムを完成させた。本スクリーニングシステムに理解と同意の得られた妊婦について、妊娠初期と妊娠30～34週の2回、開業産科医の下にて採血し、民間検査センターに検査依頼する。不規則抗体は、不規則抗体スクリーニング用血球を用いる間接Coombsテストに統一した。平成5年10月現在、5,690名の妊婦に不規則抗体スクリーニングを実施し、抗体陽性例61名（陽性率1.07%）であった。妊婦抗体陽性率は、妊娠していない献血女性の0.14%、献血男性の0.11%に比し約8～10倍の高値であった。不規則抗体陽性例の血液は、山梨赤十字センターにて無料で抗体同定を行った。陽性者61例中48例の抗体同定がなされた。高力値抗D+、E抗体陽性妊婦は病診連携により、ハイリスク妊婦として設備の整った大病院に送院され管理され、無事出産となった例があった（寺本）。

考察および結論：

1. ウィルソン病マススクリーニング；昨年度は、ホロCpあるいは活性型Cpを測定できる本症のマススクリーニング法が開発され、1歳6カ月児を中心とする幼児期において検討され、本法は感度・精度が高く有用であることが確認された。しかし、問題点として、①幼児に対する採血の困難、②説明と同意の困難さ、などが指摘された一方、現行の新生児マススクリーニング用血液濾紙にて、新生児期マススクリーニングの可能性があるとされた。今年度は、9施設にて、新生児濾紙紙を用いてパイロット・スタディを実施した結果、①本法は、新生児期においても、正常新生児の濾紙血とウィルソン病患者との間に判別が可能である、②Cpの不安定性があり濾紙血採集後2週間以内の測定が望ましいこと、③19,199

名の新生児濾紙血を用いたスクリーニング成績は、再検率0.8%、陽性率0.03% となり、5例の低Cp血新生児が発見されたこと、などの成績が得られた。新生児濾紙血による本症マススクリーニングを実施するに際し、新たな問題点として、①ウィルソン病患者の最年少例が本邦および世界において2歳であり、本症患者の新生児期から低Cp血を呈するのか、②ウィルソン病の確定診断は現状において生体に銅が蓄積されていることを証明することであるため、銅蓄積されることが明らかとなる2～3歳まで待たねばならないこと、それに伴う家族の精神的不安の招来を除去する必要のあること、の2点がクローズアップされた。とくに、今回のパイロット・スタディにて発見された5例の低Cp血新生児がウィルソン病を確定診断できるまで数年間を要すると考えられる。最近(1993)、本症の遺伝子がクローニングされたので、本症の遺伝子解析が進めば、新生児期に確定診断ができる可能性もあるため、②の新しい問題の解決策は見出させるかもしれない。①の新しい問題を解決するためには、やはり、あと2～3年のパイロット・スタディと発見された低Cp新生児の数年間の追跡調査によって結論されよう。

2. 胆道閉鎖症マススクリーニング；今回開発された便色調を基準とするカラーカードは母子手帳に入る大きさであり、大変に簡便であり極めて有用である。本症は出生9千人に1人の発症頻度といわれ、比較的稀ではあるが他の現行のマススクリーニング対象疾患と比較すれば頻度は高い。第1次治療は生後60日以内の手術が予後に大きく影響するといわれる。したがって、2か月以内に診断しなければならない。本法は、産院を退院する母親にこのカラーカードを渡し、1か月健診時に、カラーカードの8段階の色と便の色調を比較させた番号を持参するというものである。今年度は、栃木、埼玉の両県にて実施し、すでに2例が発見され手術されている。判定は、母親が行うものであり、false positiveやfalse negativeの頻度の増加が懸念され、感度や精度を把握する必要がある。全国実施に向けて、あと1～2年のパイロット・スタディを経て実現可能となろう。

3. ムコ多糖症マススクリーニング；乳児の6か月児神経芽腫スクリーニング尿濾紙にて、DNB法が可能であれば、マススクリーニング実施への道が拓ける。乾燥尿濾紙の問題、スクリーニング時期等の基礎的検討をさらに行う必要がある。乾燥尿濾紙によるマススクリーニングが困難なとき、再尿法について検討すること、尿の輸送や保存による影響などについて詳細な検討が必要である。

4. 妊婦不規則抗体マススクリーニング；新生児溶血疾患の発生頻度、重症例の頻度、交換輸血例の頻度、費用便益などの検討が必要と考える。とくに、不規則抗体マススクリーニングを実施した場合の妊婦の管理方法、新生児溶血性疾患の予防あるいは対応法を定める必要があり、さらに、スクリーニングを実施しない場合のリスクを明確化し、数量化あるいは危険率などを求める必要もあると考えられた。



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:

本研究は、現在実施されているマススクリーニング対象患者に加えるべき新しい疾患を選択し、方法や実施時期などを検討するのが目的である。マススクリーニングに加えられるべき対象疾患の条件は、発症頻度は稀であっても、ある程度存在すること(恐らく、出生数10万人に1人以内程度か)、確実なマススクリーニング法が開発されていること、効果的かつ有効な治療法があること、早期発見あるいは症状発症前の発見と早期治療による障害発現の予防、治療せず放置すれば不幸な転帰をとるか重篤な後障害を残す疾患であること、費用効率や費用便益が考慮されること、などが含まれる。

平成4年度(昨年)の本研究結果において、ウイルソン病、胆道閉鎖症、ムコ多糖類症の3疾患が指定された。平成5年度(本年)は、これら3疾患に加えて、妊婦不規則抗体測定スクリーニングが検討されるべく加わった。

ウイルソン病マススクリーニングはWHOのマススクリーニングすべき疾患として勧告されているが決定的な方法がなかった。昨年度に抗ヒト活性型セルロプラスミンモノクローナル抗体がクローニングされ、ウイルソン病患児に従来測定されていた蛋白量を測定していたセルロプラスミン(Cp)の低値より活性型セルロプラスミン(ホロ Cp)値がさらに著明底値であり、1/2~1/3量であったことから新生児濾紙血への応用の可能性がクローズアップされた。したがって、今年度は新生児濾紙血を用いたマススクリーニングパイロット・スタディを中心に、9施設において検討することとした。胆道閉鎖症のマススクリーニングは1ヵ月児の便色調をカラー写真を用いて8段階の番号づけをしたカラーカード(母子健康手帳に入る大きさ)法によって、パイロットスタディを実施した。ムコ多糖類症スクリーニングは、骨髄移植法が有効とされ、スクリーニングの意義が高まってきている。乳児尿を用いる1,9-dimethyl-methylene blue(DMB)法によるスクリーニングの基礎的検討およびパイロットスタディを一部実施した。今年度から新しく加わった妊婦不規則抗体スクリーニングは、山梨県において多くの妊婦に実施し、新生児溶血性疾患発症の予防について検討することにした。