

福井県におけるWilson病マススクリーニングの試み (分担研究：マススクリーニング対象疾患に関する研究)

中井昭夫¹、畑 郁江²、須藤正克¹

要約：福井県においてWilson病の新生児マススクリーニングを試みた。従来のマススクリーニング用乾燥濾紙血を用いて、ELISA法によりホロセルロプラスミンを測定した。乾燥濾紙血は、県衛生研究所はじめ関係機関、及び県内の産科医、小児科医の協力の下に、保護者の同意を得られたもののみを用いた。834例の新生児ホロセルロプラスミンを測定したところ、その平均は 17.77 ± 7.62 mg/dl (range 1.8-48.3)であった。在胎週数、出生時体重、出生から採血までの日数、および採血から検体受け付けまでの日数とホロセルロプラスミン濃度の間には特に相関はみられなかった。カットオフポイントを4mg/dlとすると再検率は0.96%となった。再検例はすべて正常であり、研究期間内にマススクリーニング陽性例を発見することはできなかった。

見出し語：Wilson病、マススクリーニング、ELISA、ホロセルロプラスミン

研究方法

1) 福井県におけるマススクリーニング導入への準備

福井県においてWilson病のマススクリーニングを始めるに当たり、以下のごとく関係各機関との連絡をはかった。

まず、県衛生研究所に乾燥濾紙血の提供等協力を要請したところ、各機関の調整が整えば協力できることを確認した。県健康増進課と協議の結果、検体は、従来のマススクリーニング用乾燥濾紙血を用い、保護者の同意の得られたもののみ測定するという方針に決定した。

そこで、福井県日母支部、日産婦部会を通じて県の産科各施設へ協力を呼びかけ、各施設に協力の有無を確認し、説明書および同意書を郵送した。結果的に、分娩を取り扱っている施設すべてから協力を得ることができた。同時に、未熟児、新生児を取り扱う小児科各施設にも、説明書および同意書を郵送した。

同意書と同時に県衛生研究所に送られてきた検体のみについて研究をおこなった。

2) 新生児濾紙血ホロセルロプラスミン濃度

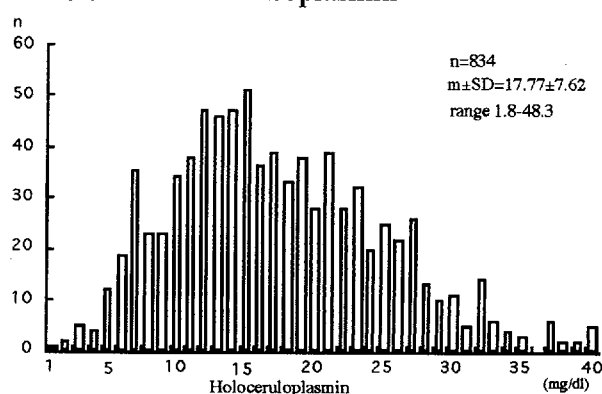
保護者の同意の得られた834検体について濾紙血中のホロセルロプラスミンの濃度をELISA法にて測定した。採血は通常のガスリー

法と同方法にて行い、常温で乾燥後、測定まで4℃で冷蔵保存した。直径3mmにpunch-outした濾紙血にPBS 5 mlを加え4℃、overnightで抽出を行い、100μlを測定に用いた。一次抗体は抗ヒトセルロプラスミンモノクローナル抗体、二次抗体は抗ヒトセルロプラスミンPPD oxidase活性部位モノクローナル抗体を用いた。

結果

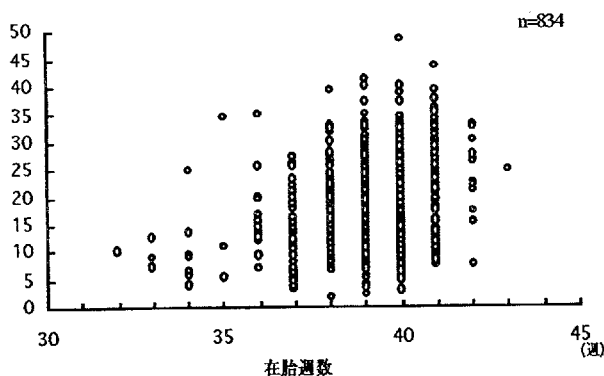
新生児濾紙血ホロセルロプラスミン濃度は、 $\text{mean} \pm \text{SD} 17.77 \pm 7.62$ mg/dl (range 1.8-48.3) (n= 834)であった。(図1)

図1 Holoceruloplasmin



在胎週数とホロセルプラスミン濃度との間には、弱く正に相関する傾向がみられたが、有意なものではなかった。(図2)

図2 在胎週数



出生時体重、出生から採血までの日数、および採血から検体受け付けまでの日数とホロセルプラスミン濃度の間には特に相関はみられなかった。(図3-5)

図3 出生時体重

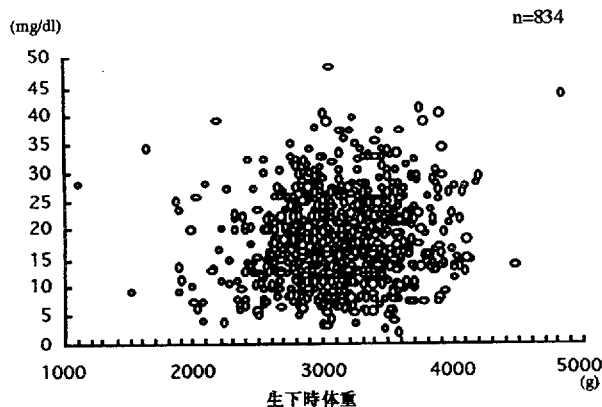


図4 出生から採血までの日数

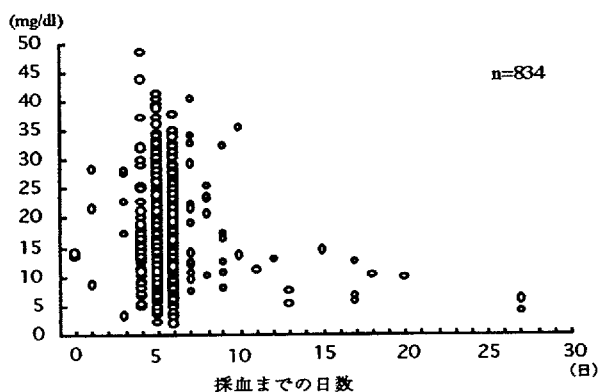
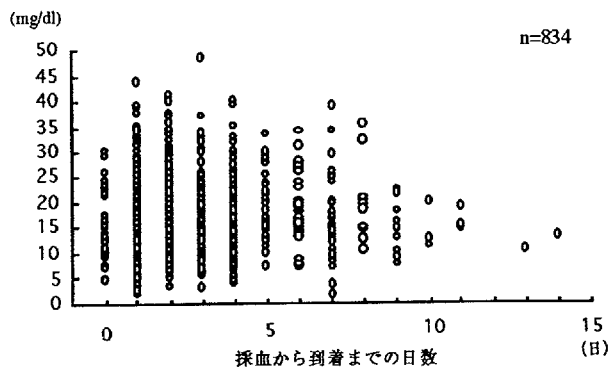


図5 採血から到着までの日数



カットオフポイントを5mg/dlとすると、再検例は12例となり、再検率は1.44%であった。これを4mg/dlとすると、再検例は8例となり、再検率は0.96%となった。再検例はいずれも再検にてカットオフポイント以上の値となり、研究期間内にマススクリーニング陽性例を発見することはできなかった。再検すると正常である原因を探るため、同一乾燥濾紙血検体での各スポット、また同一スポットの中央部と辺縁部について検討したが、これらにおいてはホロセルプラスミン濃度に差は認められなかった。

考察

本研究のELISA法に用いた抗ヒトセルプラスミンモノクローナル抗体、および抗ヒトセルプラスミンPPD oxidase活性部位モノクローナル抗体は、新生児の乾燥濾紙血から抽出したホロセルプラスミンを感度および特異性よく測定することができ、従来困難とされていた新生児期のWilson病のマススクリーニングの可能性も十分検討することができると考えられた。

今回の研究により正常新生児の乾燥濾紙血ホロセルプラスミン濃度の基準値を推定することができたと考えられる。ELISA法による新生児のホロセルプラスミン濃度は、従来報告されているRaven法や免疫拡散法での成人の正常値(それぞれ 31.8 ± 5.1 mg/dl、 34.5 ± 13.9 mg/dl)に比べ、平均値は低値であったが、逆に成人レベルを示すものも少なくなかった。

在胎週数、出生時体重とホロセルプラスミン濃度との間には相関はなく、新生児マス

スクリーニングとして開始する場合、この2つのファクターについては考慮しなくてよいということになるが、実際には、更に検体数を増やしての検討が必要である。また、今回の検討では出生から採血までの日数、および採血から検体受け付けまでの日数とホロセルロプラスミン濃度の間には特に相関はみられなかった。しかし、従来報告されているように、採血後の濾紙血の保存状態（温度、湿度、細菌の繁殖など）により急速に濾紙血中のホロセルロプラスミンは失活するので、単に今回用いた検体が比較的保存状態がよかった可能性がある。特に高温多湿となりやすい夏期の検体の保存、送付には注意が必要であろう。

カットオフポイントを4mg/dlとすると、再検率は0.96%となり、マススクリーニングの効率という点からいうと、この辺りがカットオフポイントとして妥当かもしれない。しか

し、研究期間内にマススクリーニング陽性例を発見することはできなかったため、実際のカットオフポイント設定には、新生児患者の値を考慮すべきである。

再検例はいずれも再検にてカットオフポイント以上の値となるため、同一検体で各スポット間、また同一スポットでのパンチ部位について検討したが、これらにおいては差は認められなかった。その他の要因が影響していると思われる、これら技術的な点については更に検討が必要であると考えられた。

文献

Early diagnosis of Wilson's disease
Shuichi Hiyamuta, Keiko Shimizu, Tsugutoshi Aoki
The Lancet 1993; 342:56-57.

Abstract

A Study on Neonatal Mass Screening of Wilson Disease in Fukui Prefecture

Akio Nakai¹, Ikue Hata², Masakatsu Sudo¹

¹ Department of Pediatrics, ² Department of Emergency Medicine, Fukui Medical School

Although effective treatment of Wilson disease is now available, the early detection of this disease is difficult due to the low ceruloplasmin levels found in neonates. Recently, however, very sensitive and specific monoclonal antibodies to holoceruloplasmin were developed. We measured holoceruloplasmin in dried blood spots obtained from neonatal mass screening for PKU and other diseases. Fully informed written consent was obtained from all parents. Mean \pm SD was 17.77 ± 7.62 and the range was 1.8-48.3 (n=834). The concentration of holoceruloplasmin showed no significant correlation with gestational age or birth weight. With the cut-off level set to less than 4 mg/dl, 0.96% of the total samples should be re-checked. Thus, this value might be suitable for the cut-off level of holoceruloplasmin, regarding the efficiency of mass screening. During this study, however, there was no positive case after re-checking the samples under the cut-off level.

Key words: Wilson disease, Mass Screening, ELISA, Holoceruloplasmin

福井医科大学小児科¹, 救急部²

(¹ Department of Pediatrics, ² Department of Emergency Medicine, Fukui Medical School)



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:福井県において Wilson 病の新生児マススクリーニングを試みた。従来のマススクリーニング用乾燥濾紙血を用いて、ELISA 法によりホロセルロプラスミンを測定した。乾燥濾紙血は、県衛生研究所はじめ関係機関、及び県内の産科医、小児科医の協力の下に、保護者の同意を得られたもののみを用いた。834 例の新生児ホロセルロプラスミンを測定したところ、その平均は $17.77 \pm 7.62 \text{mg/dl}$ (range 1.8-48.3)であった。在胎週数、出生時体重、出生から採血までの日数、および採血から検体受け付けまでの日数とホロセルロプラスミン濃度の間には特に相関はみられなかった。カットオフポイントを 4mg/dl とすると再検率は 0.96%となった。再検例はすべて正常であり、研究期間内にマススクリーニング陽性例を発見することはできなかった。