

1, 9-Dimethylmethylen Blueを用いたムコ多糖症マススクリーニング法の検討  
(分担研究：マススクリーニング対象疾患検討に関する研究)

折居 忠夫

遺伝性ムコ多糖代謝異常症は酸性ムコ多糖の分解に関与するリソソーム酵素の異常により発症する蓄積性疾患である。本症の治療は、有効な治療法が無く対症療法を繰り返すに留まっていたが、1981年にHobbsらにより本症への骨髄移植が施行されはじめ、その後の症例の集積により有効な治療法として評価されるまでに至った。そしてこれまでの経験から、乳児期早期の骨髄移植がより効果的であることも実証されてきている。したがって先天代謝異常症の中でも比較的多い疾患である本症では、発症前の早期診断が重要であり、乳児期マススクリーニングの開発が待たれている。

本研究では1, 9-dimethylmethylen Blue (DMB) を用いた簡易なムコ多糖症スクリーニング法を検討しているが、昨年度は①従来法（カルバゾール法）との相関性、②乳児期の尿中ムコ多糖月齢変化、③DMB反応に影響を及ぼす物質について検討したが、本年度は④サンプルとしての原尿と濾紙尿との比較、⑤岐阜県でのパイロットスタディを行い、本法のマススクリーニング法としての有用性について検討した。

見出し語：ムコ多糖症、1, 9-dimethylmethylen blue、尿中ムコ多糖、早期診断、骨髄移植

<研究方法>

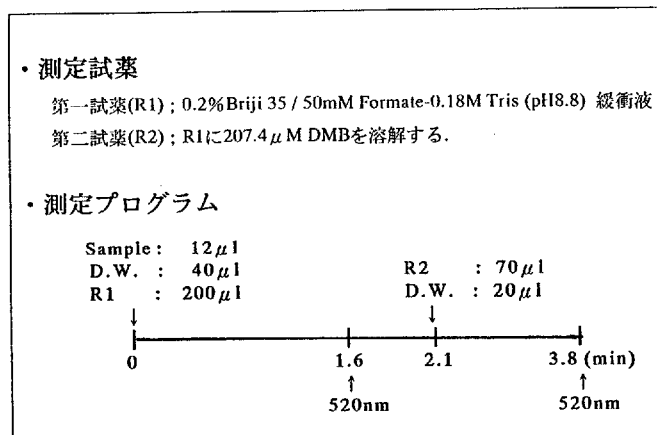
1. 尿は岐阜県で収集された神経芽細胞腫マススクリーニング検体のうちインフォームドコンセントが得られた6か月児尿と、1才未満のムコ多糖症尿を使用した。

2. ムコ多糖分析法：自動分析機（COBAS MIRA）

を用いたDMB試薬によるムコ多糖定量法を図1に示す。クレアチニンはJaffe法によった。

3. 尿（標準液）濾紙からの抽出：神経芽細胞腫マススクリーニングに使用されている東洋濾紙No. 327に尿または標準液（CS, DS, HS, KS）を浸して風乾し、蒸留水にて抽出した（表1）。

図1 ムコ多糖定量法



<結果>

1. 原尿と濾紙尿との比較

①原尿と濾紙尿にてムコ多糖/クレアチニン比を測定し比較した。標準液ではn=36, r=0.932と高い相関性を示した(図2a)。尿検体ではn=58 r=0.581と有意の相関は認められた(図2b)。

②精密性：両法にて測定値の日内変動と日差変動を検討した。結果は表2に示すごとく両法の測定値の変動は同程度であった。

以上の結果よりDMB法でのムコ多糖症マスキング検体は、原尿でも濾紙尿でも可能であると考えられた。

2. カットオフ値の設定：マスキングの施行対象として検討している6か月乳児原尿11925検体についてムコ多糖mg/クレアチニンgを測定した。結果を図3に示す。平均値209、標準偏差94であった。カットオフ値を平均値+2SD(400mg/g)に定めると陽性(要再検)率は3%であった。一方4例のムコ多糖症乳児の値は820(MPSII, 11か月) 1019(MPSIII, 1か月) 1205(MPSVI, 1か月) 541(MPSVII, 4か月)であり、カットオフ値より有意に高値を示した。

表2 精密性

1. 原尿法

同時再現性 (n=10)				日差変動 (n=10)			
試料	1	2	3	試料	1	2	3
Mean	20.9	76.6	139.5	Mean	27.4	84.2	136.8
SD	2.4	2.7	2.9	SD	3.6	7.5	5.6
CV (%)	11.4	3.6	2.1	CV (%)	13.1	8.9	4.1

2. 濾紙法

同時再現性 (n=10)				日差変動 (n=10)			
試料	1	2	3	試料	1	2	3
Mean	36.7	67	112.4	Mean	35.7	68.2	113.3
SD	2.1	4	5	SD	3.2	5.5	6.6
CV (%)	5.7	6	4.4	CV (%)	8.9	8	5.8

3. 岐阜県でのパイロットスタディ：6か月乳児尿にて本法によるマスキングのパイロットスタディを施行した。一次スクリーニング6178例中要再検例は162例(2.6%)であった。そのうちの130例(回収80%)につき二次スクリーニング(再検)を行ったところ陽性は0例であった。偽陽性の原因として、低クレアチニン尿、紙おむつの混入が大きな割合を占めていた。

<考察>

DMBによる尿中ムコ多糖測定法は簡便で感度の高い方法としてマスキングへの応用が期待されている。本法の精度、有効性に対する評価は、今後パイロットスタディを進める中で確認できると考える。

表1 ろ紙からの抽出法

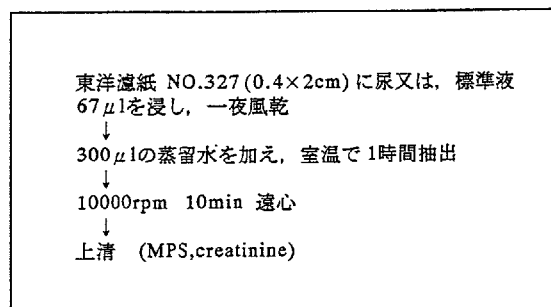


図2 (a) 原液法とろ紙法との相関性 (標準溶液)

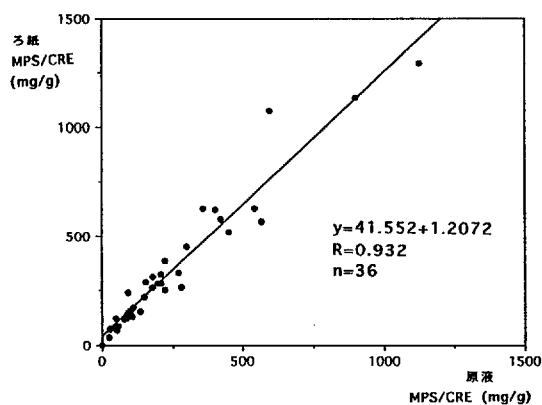


図2 (b) 原液法とろ紙法との相関性 (尿)

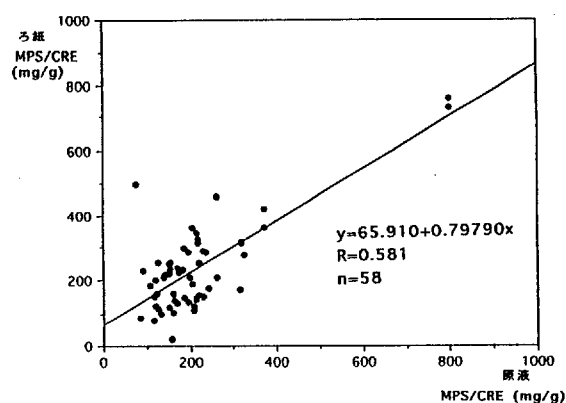
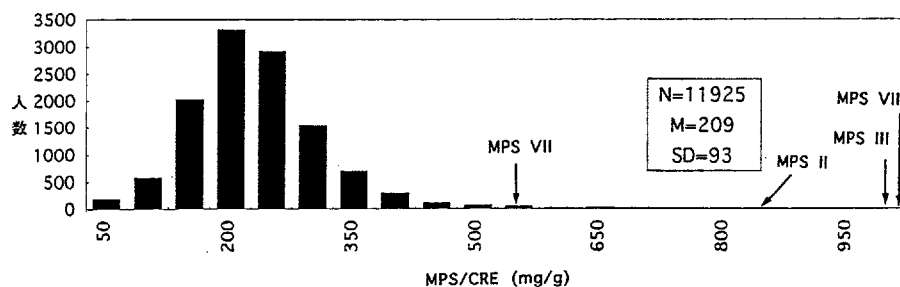


図3 DMB法による6カ月児の尿中ムコ多糖排泄量



### Abstract

#### Mass Screening Procedure for Mucopolysaccharidoses Based on 1,9-Dimethylmethylene Blue

Tadao Orii

The direct DMB method of quantifying excessive excretion of glycosaminoglycans was confirmed to suit to mass screening programs for MPS diseases. Test results of this method using freeze-dried urine specimens correlated with the test results using urine specimens on paper. In addition, based on our previous research and the pilot scheme, we would support that this method is useful as mass screening for MPS diseases.

岐阜大学小児科 (Dep. of  
Pediatrics, Gifu Univ.)



## 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



遺伝性ムコ多糖代謝異常症は酸性ムコ多糖の分解に関与するリソソーム酵素の異常により発症する蓄積性疾患である。本症の治療は、有効な治療法が無く対症療法を繰り返すに留まっていたが、1981年に Hobbs らにより本症への骨髄移植が施行されはじめ、その後の症例の集積により有効な治療法として評価されるまでに至った。そしてこれまでの経験から、乳児期早期の骨髄移植がより効果的であることも実証されてきている。したがって先天代謝異常症の中でも比較的多い疾患である本症では、発症前の早期診断が重要であり、乳児期マススクリーニングの開発が待たれている。

本研究では 1,9-dimethylmethylene Blue(DMB)を用いた簡易なムコ多糖症スクリーニング法を検討しているが、昨年度は 従来法(カルバゾール法)との相関性、乳児期の尿中ムコ多糖月齢変化、DMB 反応に影響を及ぼす物質について検討したが、本年度は サンプルとしての原尿と濾紙尿との比較、岐阜県でのパイロットスタディを行い、本法のマススクリーニング法としての有用性について検討した。