

先天代謝異常症などの新しい マス・スクリーニングの開発的研究

東芝中央病院院長 森山 豊
国立武蔵療養所神経センター部長 成瀬 浩

当研究班の研究課題は、先天代謝異常症その他の疾患の早期発見のための、マス・スクリーニング法の開発と、現在行われている新生児スクリーニングの改善のための研究である。

I) 新しいマス・スクリーニング法の開発としては、まず酵素免疫測定法(以下EIA法と略す)の、新生児スクリーニングへの導入である。クレチン症(先天性甲状腺機能低下症)は、新生児スクリーニングのもっとも重要な対象であり、濾紙血中の甲状腺刺激ホルモン(TSH)、あるいはサイロキシン(T_4)を、ラジオイムノアッセイ(RIA)で測定する方法が採用されている。わが国では、TSHの測定が推しよされている。しかし、RIを使用するため、TSH測定のスクリーニングを実行しえないスクリーニングセンターが少なくない。

成瀬とその協同研究者は、TSH測定のためのEIAを開発し、本年2月までに、新生児検体30,352名について、EIAによるTSH測定を行った。これらの検体については、RIAによるTSHと T_4 の測定も行っており、RIAで発見されたクレチン症の疑いのある例は、全てEIAでも異常例として検出されていた。RIAによる測定値と、EIAによる測定値は、よい相関を示していた。このEIA法は、札幌市衛生研究所および大阪府衛生研究所においても、追試をうけている。両研究所の結果も、EIA法によるTSH測定は、RIAによるものと同様の効果をおさめており、充分使用可能ということであった。かくして、クレチン症スクリーニングのための、RIを用いない、新しい方法が確立されたのである。今後RI施設のないスクリーニングセンター、あるいは、RIAによるスクリーニングで、廃棄その他の面で困難な問題をかかえている所では、出来るだけ早くEIAに切替えることが望ましいと考えられる。

さらに、成瀬らは、同一の検体(3mmディスク2枚)から、TSHと T_4 を同時に測定するためのEIA法も確立した。この方法の予備検討を終了し、新生児検体について、この両者の同時測定をルーチンを行う研究を開始した。TSHあるいは T_4 のみを測定する方法と殆んど同一の結果が得られている。また、17-ヒドロキシprogステロンのEIA法についての研究も行われた。この物質は、後述の先天性副腎過形成症の場合に増加するものであり、同疾患のスクリーニングの有効な武器となるものと思われる。

入江及びその協同研究者は、静岡県西部地区の新生児7,550名について、濾紙血中の17-ヒドロキシprogステロンを測定、先天性副腎皮質過形成症のスクリーニングを実行した。そして1例の同症疾患患児を発見した。この例は臨床的には特記すべき症状がなかった。この例(男児)の姉も本症

であり、当然関係者は注意していたと思われるが、それでもスクリーニング結果がわかるまでは、全く本症に罹患しているとは思われていなかったとのことである。精査の結果、塩類喪失型の本症と診断された。この疾患は治療可能であり、しかも臨床症状での発見がむずかしい例も存在することから、やはり新生児スクリーニングの対象とすることが必要と考えられる。このために、早急にスクリーニング方法の十分な検討が大切であり、さらに将来の行政化を考慮しての研究も必要である。

さらに、新生児スクリーニングの対象として考慮されなければならない疾患の1つは、尿素サイクル異常症であろう。北川とその協同研究者らは、昨年につづき、枯草菌変異株(MB104 7/16)を用いて、濾紙血中のオルニチン、アルギニン、シトルリンを測定する方法により、尿素サイクル異常症のスクリーニングを実施した。79,910名の新生児について、検査を行ったが、この中からは、1例の患者も発見しえなかった。ただ、臨床的に既に診断されていた、高オルニチン血症を伴う gyrate atrophyの1例では、上述の方法により、濾紙血中のオルニチン値の高いことが確認された。ただ、既に高アルギニン血症であることがたしかめられている例の血液を検査した処、陽性とはならなかった。ただこの例では、血清アルギニン値が6 mg/dl であったので、もっとアルギニン値の高い症例なら発見しえたものと考えられる。

大浦とその協同研究者も、MB 1047/16 の枯草菌を用うる方法について、種々の基礎的検討を行った。彼らは、アルギニン、オルニチン、シトルリンの定量については有効であり、さらにアルギニコハク酸の定量も可能であることを確認したが、現時点では、まだ再現性に乏しい傾向が存在すると判断している。このために、行政的スクリーニングに採用するには、方法のより一層の改善が必要であると考えている。

多田らは、やはり尿素サイクル異常症のスクリーニングのために、乳酸菌を用いたバイオアッセイで、アルギニン、シトルリン、オルニチンなどを定量する方法を研究している。乳酸菌の *Lactobacillus* SPNY 7 を使い、この菌の成長に適した培地より、これらの測定しようとするアミノ酸を除外したものを、測定用培地として利用している。現在まだ、その方法の基礎的検討が行われただけであり、その応用性についての評価は、今後の研究課題と思われるが、今迄の結果では、アミノ酸分析器による分析結果と、本法による結果とはよい相関を示し、500 検体についての疑陽性は 1.8 % であるとのことである。細かい操作法については、尚改善の余地があると思われるが、今後、マス・スクリーニングに応用しうる可能性が大であり、研究の継続が望ましい。

本疾患患児は、血中アンモニアの上昇が共通の症状である。そこで山下とその協同研究者は、簡易微量血中アンモニア定量法キット(アミテスト)及びアミテストメーターを用いて、ベッドサイドでスクリーニングを行うことを考え、そのための基礎的なデータをもとめて研究を行った。健康新生児(在胎週約40週で、平均体重約3,200g)と、低体重児(平均在胎週約35週で、平均体重約1,640g)と45例につき、生後1生日から7生日にかけ、1~4回の血中アンモニアを測定した。健康児群では、血中アンモニアは $150 \pm 30 \mu\text{g/dl}$ であり、 $200 \mu\text{g/dl}$ を超えるものはなかった。また低体重児群でもほぼ同様な値であり、今後 $200 \mu\text{g/dl}$ あたりの濃度が、スクリーニングのカットオフポイントになりう

ると考えている。この方法を採用すれば、全新生児あるいは多少でも、尿素サイクル異常症を思わせる症状のある新生児について、ベッドサイドで簡単にテストを行えるのであり、しかも正常が200 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 以下であるとすれば、軽度の高アンモニア血症も、見出すことが可能だと思われる。

いずれにせよ尿素サイクル異常症については、濾紙血を用いる方法と、ベッドサイドでアンモニアを測定する方法の2種が研究されており、近い将来スクリーニング法が確立されるものと思われる。先に述べた、先天性副腎皮質過形成症と、尿素サイクル異常症は、現行の行政スクリーニングに加えられ可能性がもっとも多いものであり、来年度の当研究班のもっとも重要な研究課題と考えられる。

新生児期あるいは乳児期のスクリーニングの次の重要な目標は、有機酸代謝異常に関する対策の樹立である。最近の生化学分析法の進歩に伴い、有機酸代謝異常が決して少なくないことがわかって来た。このためにいかに早く本症患児を発見するかということが大切な研究課題となりつつある。このスクリーニングとしては、尿を用いる方法がもっとも有力であり、何等かの有機酸代謝異常を思わせる所見のある新生児あるいは乳児の尿あるいは血液を分析することが必要である。さらには、現在アメリカ・マサチューセッツ州、カナダ・キューベック州などで行われている、全新生児～乳児の尿の分析も行えられる。当研究班としても、この研究を何人かの協力者に依頼した。

松本とその協同研究者は、ガスクロー質量分析計コンピューターシステムを用いて、有機酸代謝異常を発見する研究を行いつつあるが、今年度は、もっとも数の多いと予想される高乳酸血症について分析を行い、2例の患者を発見し、その酵素欠損部位の分析を行っている。臨床症状から有機酸代謝が考えられる、ハイリスク児の分析のためには、彼らの方法は極めて有効である。ただ、彼等の用いている機器は、極めて高価であり、操作も専任の技術者が必要であり、どこでも手軽に行える方法ではないので、二次スクリーニングとして使用することがもっとも有効なのではないかと考えている。

宮尾とその協同研究者らは、やはり、尿を用いて、高乳酸血症を発見する方法の開発を志して研究を開始した。今年度はまず正常小児の尿中の乳酸の推移を、酵素法をもって分析した。そして、グルコースを付加した後に、尿中乳酸を分析することが、もっとも有効な方法であると判断しており、彼等の方法は、今後スクリーニングに採用可能と考えられる。つまり臨床症状から、多少とも高乳酸血症が考えられる例について、ハイリスクスクリーニングとして、彼等の方法で分析することが可能である。この様な対策についての実際の応用が期待される研究である。

青木とその協同研究者は、高速液体クロマト (HPLC) を用いて、有機酸代謝異常のスクリーニングを行うための研究を開始している。彼等は、将来濾紙血中の有機酸の定量を考えて、微量の血液を用いて、HPLCで有機酸分析を行うための蛍光法を検討中であり、一応の基礎条件の検討を終了した。今後、実際の検体についての応用研究が望まれる。

ウイルソン病も、治療が可能であり、早期発見が大切であり、そのために適切なスクリーニング法を確立することが大切である。有馬とその協同研究者は微量血液中のセルロプラスミンの測定を行うことによって、スクリーニングを行うための研究をつづけている。今迄に新生児期についての検討を行い、新生児では、正常児でもセルロプラスミンが低すぎで、患児の発見がむずかしいと判断し、乳児に

ついでの研究を開始している。3～4ヶ月児 3,120名、1才6ヶ月児約 1,400名につき、免疫プレート法でセルロプラスミンを測定し、3名の乳児について、異常低値を見出し、目下追跡調査中である。

荒島とその協同研究者は、尿中の銅を定量し、本症を発見しうるか否かの研究を行っている。彼等が臨床的に見出した本症児では、尿中銅が188ppbと高い。そこで、小学1年109名、小学6年114名の集団で、尿中銅を測定し、前者で 14.7 ± 6.3 、後者で 15.7 ± 7.5 であり、4～40ppbの範囲で分布することを見出した。このため、学童期の尿により、本症のスクリーニングを行うことが可能であると判断している。学童検尿が普及している我が国で、この方法は実用可能と思われるので、将来の実用化が期待される。

松田とその協同研究者は、ガスリー法で採集された濾紙血中の、抗甲状腺抗体の分析をつづけており、3,812名の新生児について抗甲状腺抗体を測定し、165名の陽性者を見出した。この中77人の新生児とその母について精密検査を行い、この中2人の新生児が一過性高TSH血症であったことを見出した。77名の母親の分析では、この中7名が甲状腺疾患を有し、5名に甲状腺疾患の既往歴があることを報告している。また30名が甲状腺腫を有し、9名が一過性甲状腺機能亢進症、1名が低下症を示した、この低下症を示した例は、臨床症状も出現し、治療が必要であった。この様に、新生児血の甲状腺抗体の出現は、母親由来であり、児及び母の甲状腺異常を知るための有力な手段と思われる。

藪内とその協同研究者は、高脂血症、ことに高コレステロール症のスクリーニングの研究を行った。高脂血症は、心疾患動脈硬化症などの原因であり、ヘテロ接合体者を早期発見し、治療を行うことが大切であるとされている。今回は小学5～6年生260名に採血を行い、コレステロールその他の分析を行った。この結果異常高値(250mg/dℓ以上)を示すものが3.5%もあり、この中にはヘテロ接合体者が存在するものと考え分析をつづけている。わが国でも食生活の変化に伴い、高脂血症は重要な問題となりつつあるので、適切なスクリーニングの開発が大切である。

鈴木とその協同研究者は、各種の物質の超微量定量に使用される、酵素学的サイクリング法の自動化の研究を行った。酵素学的サイクリング法は、生体液中の多数の物質の測定に利用出来るので、もし適当な自動化機器があれば、各種のマス・スクリーニングに応用しうる。まだ第一段階であるが、第1号機がつくられたので、今後のより一層の改善が期待される。

Ⅱ) 現行の新生児スクリーニングの改善の研究としては、大浦らが、ガラクトース血症スクリーニングの改善のための方法を検討し、薄層クロマトグラフにより、ガラクトース血症の3つのタイプを分類する方法を考案した。また和田とその協同研究者は、未熟児の採血を何時行うべきかの検討を行っている。今迄の結果では、アミノ酸代謝異常に関しては、未熟児でも、0～7日の早期に採血しても、それ程異常な結果は得られないとの結論であり、未熟児でも、まず生後5～7日に採血することが望ましいという意見であった。未熟児の採血をどうするかは、大きな問題なので、今後の継続が望まれる。

川村は、新生児スクリーニングに関する厚生省統計結果と、現実の最終診断とのズレについての分析を行い、55年度の厚生省発表にもとづき、ホモシスチン尿症あるいは高メチオニン血症として報告

されたものについて、1例ずつの詳しい追跡を行った。そして55年度の高メチオニン血症として報告された例は全て高メチオニン血症であることを見出した。現在スクリーニングは、血中メチオニンを測定しているだけであるので、一部の県では、高メチオニン血症として扱い、一部ではホモシスチン血症としているためと思われる。今後は、報告の折の基準を明確にすることが必要であり、ホモシスチン血症と高メチオニン血症の2つの項をつくるよりも、「ホモシスチン血症を含む高メチオニン血症」、あるいは「高メチオニン血症」という項目1つにまとめた方がよいと思われる。

森山、五味淵、皆川及びその協同研究者は、日本母性保護医協会と、各地のスクリーニングセンターについて調査を行い、全国の新生児スクリーニングの実施状況を分析している。昭和55年度の実施率は、全国平均92.8%であった。県によって実施率は、かなりの巾があるが、彼等の分析によると、低いと思われる地域は、里帰り分娩の多い所であり、実際には、各地域とも、かなりよい実施率であるとのことであった。ただ各地で、濾紙血を採取するときの手技が適切でないため、採血不備による検査不能検体が、各都道府県で0.2～2.2%あり、しかもこれらの中20%余が、再度よい検体を送る様という依頼に応じられてないこともわかった。この点、今後採血する医師などへの働きかけが大切である。

厚生省の毎年発表する統計は、確定診断の下されていないものも含んでいるため、今後正確な発生率を知るための努力が必要であることが、各協力者から強調されている。今後のことを考えると、どこか一定の機関あるいは学会などにより、正確な調査が行われ、確定診断にもとづく、統計が行われることが必要であり、そのためには、当研究班を含め、関連研究班の合同討議が必要と思われる。

新生児スクリーニングへの酵素免疫測定法の導入

国立神経センター診断研究部	成瀬 浩
	石井 澄和
	加藤 進昌
	百瀬 妙
昭和大学薬学部	辻 章夫
	荒川 英俊

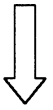
I) EIAによるクレチン症スクリーニング

我々は、現在RIA法によって行われているクレチン症スクリーニングに、EIA法を導入し、3万検体余についてTSHを測定した。測定方法等についての変更はなく、昨年度と同様である。現在までのスクリーニング結果を表に示した。この間、クレチン症6例を発見したが、いずれもEIA法



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



当研究班の研究課題は、先天代謝異常症その他の疾患の早期発見のための、マス・スクリーニング法の開発と、現在行われている新生児スクリーニングの改善のための研究である。

)新しいマス・スクリーニング法の開発としては、まず酵素免疫測定法(以下 EIA 法と略す)の、新生児スクリーニングへの導入である。クレチン症(先天性甲状腺機能低下症)は、新生児スクリーニングのもっとも重要な対象であり、濾紙血中の甲状腺刺激ホルモン(TSH)、あるいはサイロキシン(T4)を、ラジオイムノアッセイ(RIA)で測定する方法が採用されている。わが国では、TSH の測定が推しようされている。しかし、RI を使用するため、TSH 測定のスクリーニングを実行しえないスクリーニングセンターが少なくない。