

札幌市における神経芽細胞腫 マス・スクリーニング

高杉信男 佐藤泰昌 佐藤勇次
田口 武 林 英夫(札幌市衛生研究所)
武田武夫 服部拓哉(国立札幌病院小児科)

1. はじめに

札幌市では、昭和56年4月から乳幼児の採尿ろ紙による神経芽細胞腫マス・スクリーニングを開始した。

スクリーニングは、尿中バニールマンデル酸(VMA)の定性、ホモバニリン酸(HVA)の薄層クロマトグラフィー(TLC)による定量に加え、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による定量を行い、クレアチニン比からVMA、HVAの増量を判定している。

この方法により、昭和58年1月末までに、2,2852例のスクリーニングを行い、3例の神経芽細胞腫患児を発見し、治療を行った。

今回は、これまでのスクリーニング方法と結果について述べ、あわせてHPLCによるスクリーニング法について若干の知見を得たので報告する。

2. スクリーニング検査方法

2-1 採尿

ろ紙(東洋ろ紙№2, 10cm×7cm)を体とおむつの間にはさみ、尿を染みこませたものを検体とした。

2-2 ろ紙尿の前処理

TLC及びHPLCの試料とするために、採尿されたろ紙の前処理を行った(図1)。

2-3 VMAの定性

試料10μlをセルロース板にスポットし、ジアゾ化パラニトロアニリン試薬で発色後、デンストメーターでその濃度を測定した(波長560nm)さらにこの濃度のクレアチニン比を求め、その値の上位約10%につきHPLCによる測定を行った。

2-4 TLCによるHVAの定量

試料10μlを濃縮ゾーン付シリカゲルプレート

にチャージし、ベンゼン:酢酸:水=2:3:1の溶媒で展開し、風乾後、1Nのフォーリン試薬及び10%Na₂CO₃を噴霧し発色させ、デンストメーターでその濃度を測定した(波長610nm)。各プレート板ごとに検体と同じ前処理をした標準液をチャージし、その検量線から濃度を算出した。この濃度のクレアチニン比から35μg/mgクレアチニン以上のものにつきHPLCによる測定を行った。

2-5 クレアチニンの定量

溶出液の一部0.5mlを小試験管に分取し、Folin-Wu法により濃度を測定した。

2-6 HPLCによるVMA, HVAの定量

HPLCによる測定は、VMA, HVAのもつ自然蛍光を、励起波長282nm、蛍光波長315nmで測定した(表1)。この条件により、約15分でVMA, HVAの定量を行うことができる。また、ろ紙尿中の各濃度は、検体の他に検体に標準液を添加したものを用意し、その対比から算出した。測定の結果、VMAで20μg/mgクレアチニン、HVAで35μg/mgクレアチニンを超えるものについて再採尿による再検査を行い、再検査の結果、なおカットオフ値を超えるものについて、医療機関への精密検査を依頼することとした。

2-7 HPLCによる新スクリーニング法の検討

酸化還元にあづかる物質のみを検出し、その上、電位の設定による選択性をも兼備した電気化学検出器をHPLCにつけ、さらにオートサンプラー、データー処理装置を組合せたHPLCによるスクリーニング法を現在検討中である。電気化学検出器は、従来の蛍光検出器に比べ、数十倍感度を上げることができることから、少量のろ紙尿から、多量の試料を得ることができる。従ってこの検出器のもつ特性も合せ、精度の向上が期待でき、また、通常のオートサンプラーの導入も容易となった。これにより従来のVMAの定性、TLCによるHVAの定量にかわり、全検体を自動化されたHPLC法によりスクリーニングすることが可能と思われ、現在、従来法との比較等につき検討中

である。

3. スクリーニング検査の結果及び考察

神経芽細胞腫スクリーニング開始以来、昭和58年1月末までの検体総数は22,852例で、うち再採尿による再検査を行ったものは216例、0.9%、精密検査を行ったものは8例、0.04%であった。また精密検査を依頼した8例中3例が神経芽細胞腫と確定診断された(表2)。

精密検査を行った8例のスクリーニング検査結果と受診後蓄尿された尿検査結果を比較検討すると、神経芽細胞腫を否定された5例の受診後の尿検査の結果はいずれもVMA、HVA値が、スクリーニング結果より大幅に低くなっていた。これは受診後の尿検査が24時間蓄尿であるのに対し、スクリーニングが一時尿であるためと思われるが、さらにこれら5例のクレアチニン値が、スクリーニング時も含めいずれも低値であるのが特徴的であった。このことから、一時尿をクレアチニン比で判定するスクリーニング法の場合、クレアチニン異常低値の検体については、再採尿を行う等の考慮が必要かと思われる。なお、神経芽細胞腫と臨床診断された症例3、症例6、症例7の受診後の尿検査では、いずれもVMA、HVAともに50 µg/mgクレアチニン以上であった(表3)。

4. おわりに

昭和56年4月に開始した神経芽細胞腫スクリーニングは、昭和58年1月末までに22,852例のスクリーニングを行い、3例の神経芽細胞腫患児を発見するという成果をあげた。

発見された3例についての病理診断によるステージ分類では、第1例目の症例はステージIであったが、第2例目の症例はステージVI-Sですでにリンパ節、肝への転移を認め、また、3例目はステージIIIで、原発巣が正中線をを超えて浸潤していたことから、現在実施しているスクリーニングの時期について早期実施等の検討が必要であると思われる。

今後われわれは、現在検討中であるHPLCの

自動化によるスクリーニング法の開発等を含め、新しい方法による、より簡易で、より確実な測定法を確立し、小児がん神経芽細胞腫スクリーニングの向上を図りたいと考える。

図1. ろ紙尿の前処理

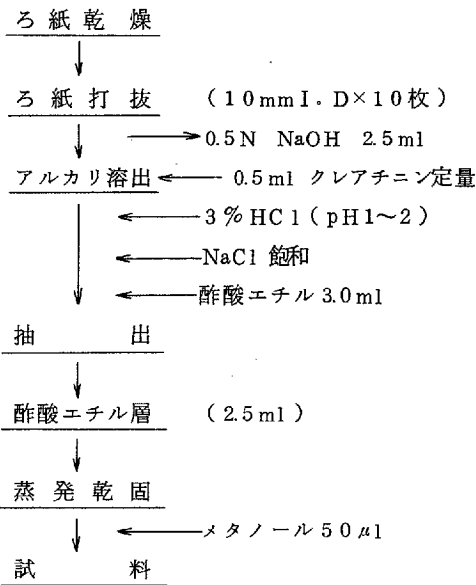


表1. HPLC条件

カラム	日立ゲル #3013-0 5 µm (2.6mm I.D×250mm)
移動相	0.05M酒石酸緩衝液(pH3.5) ;アセトニトリル(500:70)
カラム温度	40℃
圧力	115 kg/cm ²
流量	1.0 ml/min
測定波長	Ex 282nm, Em 315nm
チャート速度	5.0 mm/min
注入量	10 µl

表 2 神経芽細胞腫スクリーニング検査結果

期 間	被検査数	再検査数 (率)	精検査数 (率)	患児数
56.4～57.3	10,634	66 (0.6%)	2 (0.02%)	0
57.4～58.1	12,218	150 (1.2%)	6 (0.05%)	3
総 計	22,852	216 (0.9%)	8 (0.03%)	3

表 3 神経芽細胞腫精検例検査結果

昭和56年4月～昭和58年1月

症 例	スクリー ニング 時 月 令	スクリーニング検査				受 診 時 尿 検 査		臨床診断
		初 回 検 査		再 検 査		VMA	HVA	
		VMA	HVA	VMA	HVA			
1. M.N(♂)	6ヶ月	陽性* 26	61** 97	156	411	18	31	神経芽細胞腫 (Stage I)
2. S.K(♂)	11ヶ月	陽性* 41	49** 32	70	128	31	33	
3. E.A(♀)	8ヶ月	陽性* 105	149** 159	73	105	70	76	
4. N.K(♀)	6ヶ月	陽性* 30	132** 80	82	208	13	25	
5. S.Y(♀)	7ヶ月	陽性* 54	61** 85	35	56	30	38	
6. M.N(♀)	6ヶ月	陽性* 152	103** 158	61	17	107	128	神経芽細胞腫 (Stage IV-S)
7. T.Y(♂)	6ヶ月	陽性* 101	71** 108	91	89	51	61	神経芽細胞腫 (Stage III)
8. M.S(♂)	6ヶ月	陽性* 26	44** 35	38	29	10	18	

* VMA定性検査

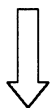
** HVAのTLCによる定量検査 (単位は $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン)

他の測定値はいずれもHPLCによる定量検査 (単位は $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン)



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



1. はじめに

札幌市では、昭和 56 年 4 月から乳幼児の採尿ろ紙による神経芽細胞腫マス・スクリーニングを開始した。

スクリーニングは、尿中バニールマンデル酸(VMA)の定性、ホモバニリン酸(HVA)の薄層クロマトグラフィー(TLC)による定量に加え、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による定量を行い、クレアチニン比から VMA, HVA の増量を判定している。

この方法により、昭和 58 年 1 月末までに、22,852 例のスクリーニングを行い、3 例の神経芽細胞腫患児を発見し、治療を行った。

今回は、これまでのスクリーニング方法と結果について述べ、あわせて HPLC によるスクリーニング法について若干の知見を得たので報告する。