

神経芽細胞腫マス・スクリーニング

— 高速液体クロマトグラフィーによる
尿中VMA, HVA 測定を中心として —

高 杉 信 男, 佐 藤 泰 昌
辻 慶 子, 田 口 武
前 田 博 之, 林 英 夫
(札幌市衛生研究所)

武 田 武 夫, 服 部 拓 哉
(国立札幌病院北海道がんセンター小児科)

は じ め に

札幌市では昭和56年4月から神経芽細胞腫マス・スクリーニングを開始し、昭和58年12月末までに36,667例のスクリーニングを行い、5例の神経芽細胞腫患児を発見し、治療を行った。

札幌市におけるスクリーニングのシステム及び方法等については、昭和57年度の研究報告書で報告している¹⁾。

そこで今回は、昭和58年12月までのスクリーニング結果について述べるとともに、スクリーニングから精密検査、さらにその後の経過観察までの高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によるVMA, HVA値測定の有効性について報告する。

なお全てのスクリーニングを自動化されたHPLC法により行うため、電気化学検出器を組合せたHPLC法についても検討を加えた。

スクリーニング検査結果

昭和56年4月から昭和58年12月末までに、36,677例のスクリーニングを行った。再検査数507例、1.4%、精密検査数24例、0.07%のうち5例が神経芽細胞腫と確定診断された(表1)。

表1 神経芽細胞腫スクリーニング結果 1981.4～1983.12

期 間	被検者数	再検数 率	精検数 率	患 者 数
'81.4～'82.3	10,634	66(0.6%)	2(0.02%)	0
'82.4～'83.3	15,007	190(1.3%)	9(0.06%)	4
'83.4～'83.12	11,036	251(2.2%)	13(0.12%)	1
総 計	36,677	507(1.4%)	24(0.07%)	5($\frac{1}{7,335}$)

昭和58年 8月現在スクリーニングを実施している全国集計²⁾ の発生頻度は 16,845人に1人であるが、札幌市での発生頻度は 7,335 人に 1 人となり、現時点では極めて高率である。

発見された患児の尿中 VMA, HVA 値について

発見された 5 例はいずれも生後 6 ～ 8 カ月で当スクリーニングを受けた。スクリーニング時の HPLC 測定による汚紙尿中 VMA, HVA 値は、症例 1, 症例 4 の再検査時の HVA 値を除きいずれも当所におけるカットオフ値、VMA 20 $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン、HVA 40 $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニンを越え精密検査となった。

精密検査時の 3 日間蓄尿による尿検査でもほぼスクリーニング時と同様の結果を示したが、症例 4 は、なお HVA 値が正常域にあり、VMA のみやや当所におけるカットオフ値を越える程度の症例であった。

5 例中、触診上の異常所見を認めたのは、上腹部に腫瘍を触知した症例 3 のみであったが、尿中 VMA, HVA 高値からその後、IVP, 腹部 CT, 選択的血管造影等が施行され、症例 5 を除く全例に異常所見を認め、神経芽細胞腫と診断されたものである。

症例 5 は尿中 VMA, HVA 値高値以外、他の異常が認められず退院となったが、その後の経過観察による測定値では、VMA, HVA 値がさらに上昇していたため、再度入院、精査となった。その後、坐薬による睡眠時に腫瘍を触知し、さらに CT 像などから、スクリーニング後約 5 カ月で神経芽細胞腫と診断され、VMA, HVA 値の追跡により発見できた例である (表 2)

表 2 発見した 5 症例の VMA, HVA 値

症 例		1 (女)		2 (女)		3 (男)		4 (女)		5 (女)	
検査項目		VMA	HVA	VMA	HVA	VMA	HVA	VMA	HVA	VMA	HVA
		陽性*	149**	陽性*	103**	陽性*	71**	陽性*	51**	陽性*	46**
スクリーニング	初 回 検 査	105	159	152	158	101	108	32	44	25	40
	再 検 査	73	105	61	17	91	89	38	38	44	95
精 密 検 査		70	76	107	128	51	61	25	26	35	54
		100	107	137	149	35	54	33	30	91	119

* VMA定性検査

** HVAの TLCによる定量検査 (単位は $\mu\text{g}/\text{ml}$ 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)

術後の VMA, HVA 値では、腫瘍を全摘出した Stage I の症例 1, 症例 4 が術直後とともに正常値となった (図 1)。

しかし手術により肝転移巣を残した症例 2 は、術後なお高値が続き、化学療法による肝転移巣の明らかな縮少とともに、術後約 4 カ月で VMA, HVA とも正常値となった (図 2)。また病理

学的に転移を認めた症例5も術直後VMA 56, $71 \mu g/mg$ クレアチニン, HVA 81, $72 \mu g/mg$ クレアチニンと依然高値であり, 治療が進められている。

なお精密検査をおこなった11例中, 異常の認められなかった7例については, 経過観察を続けているが, いずれも異常は認められていない。

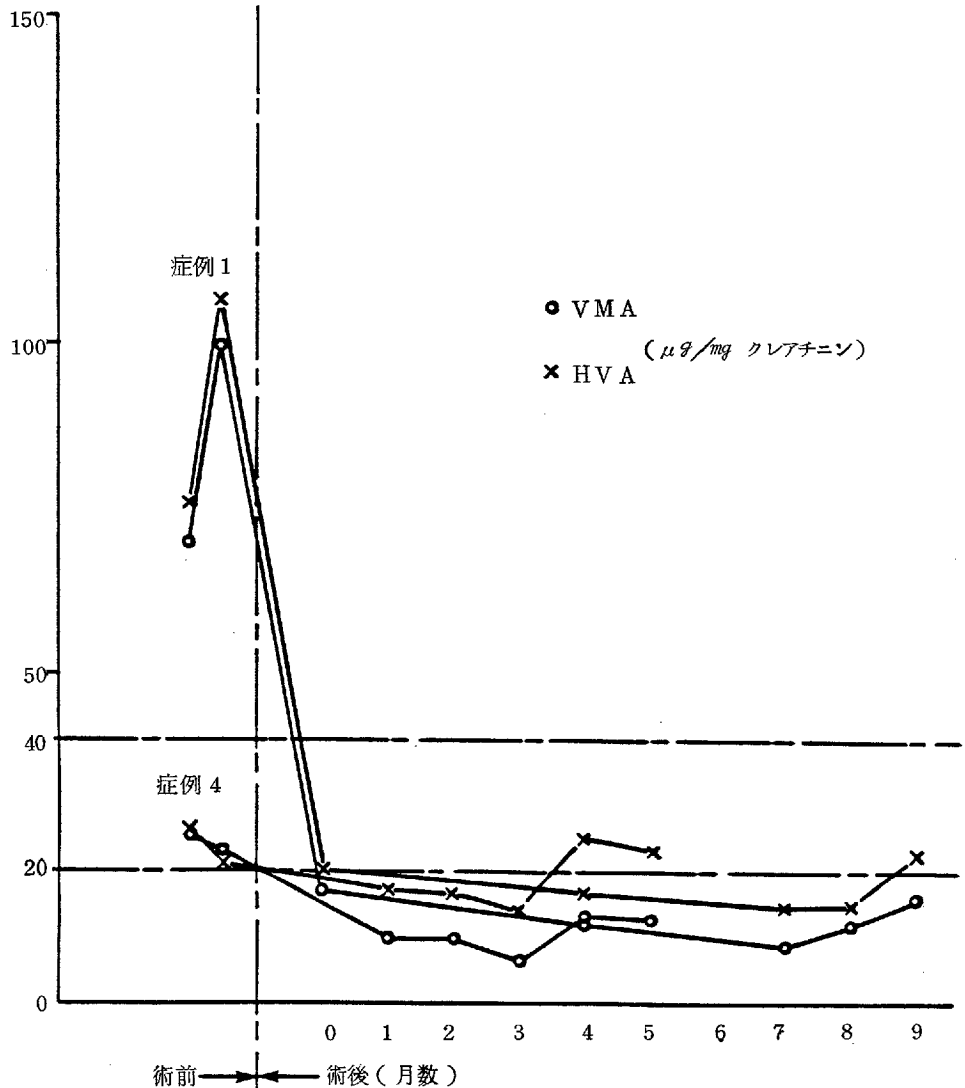


図1 尿中VMA, HVA値の経過(症例1, 4)

電気化学検出器によるHPLC測定法

これまでHPLCにオートサンプラー、データ処理装置等を組合せた自動化されたHPLCによる全検体のスクリーニング法についてその可能性を検討してきた。その結果、従来の蛍光検出器は測定感度が低く、そのため尿紙尿の量及び前処理後の濃縮液量等に制約を受け、実質的にオートサンプラーによる全検体の処理は困難に思われた。そこで蛍光検出器に比べ感度の面で特に優れている電気化学検出器をHPLCに組合せた尿紙尿中VMA、HVA等の測定法を検討した。

電気化学検出器(Bioanalytical System LC-4B)の設定加電圧は+0.85V(VS・Ag/AgCl)感度10nAとし、他のHPLC条件及び尿紙尿の前処理等は全て従来法³⁾に従って行った。その結果

1) 混合標準液各2.0ngのクロマトグラムから、VMA、VLA、HVA及び尿中にある他の主な代謝産物のうち、3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニルエチレングリコール(MHOPG)、3,4-ヒドロキシフェニル酢酸(DOPAC)、5-ヒドロキシインドール酢酸(5-HIAA)、パニリン酸(VA)との分離は良好であり、蛍光検出器に比べ50~100倍の感度をもつことが確認された(図3)。

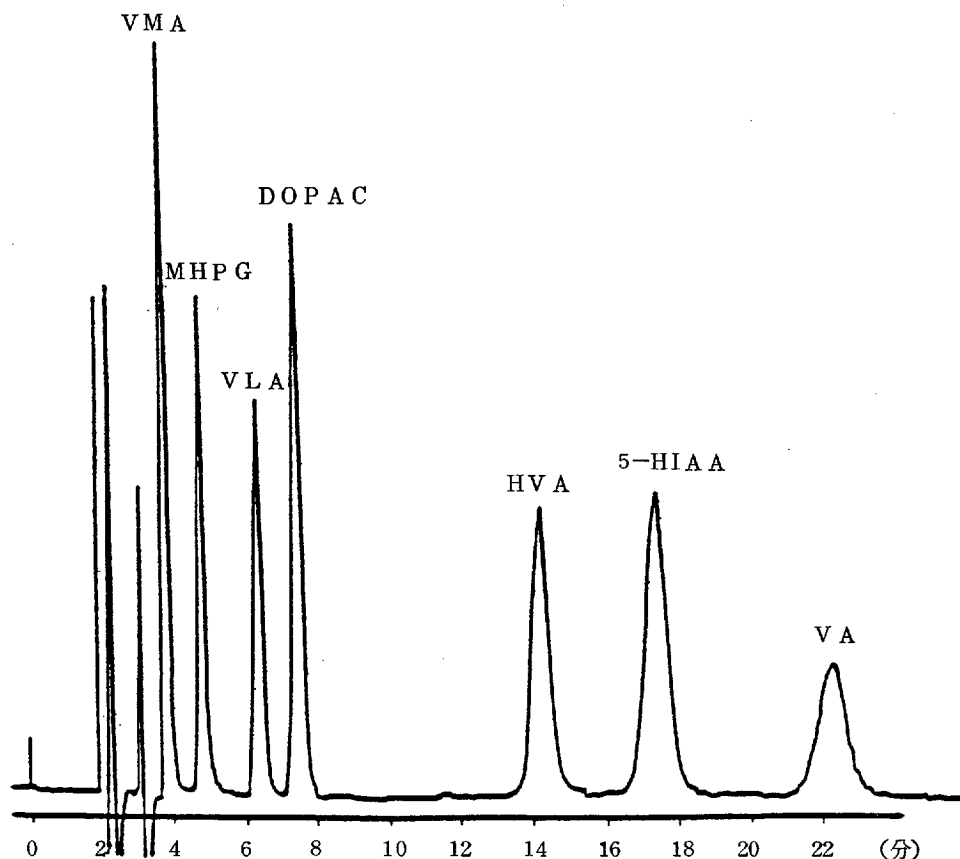


図3 電気化学検出器によるCA代謝産物標準液(各2ng含有)のクロマトグラム

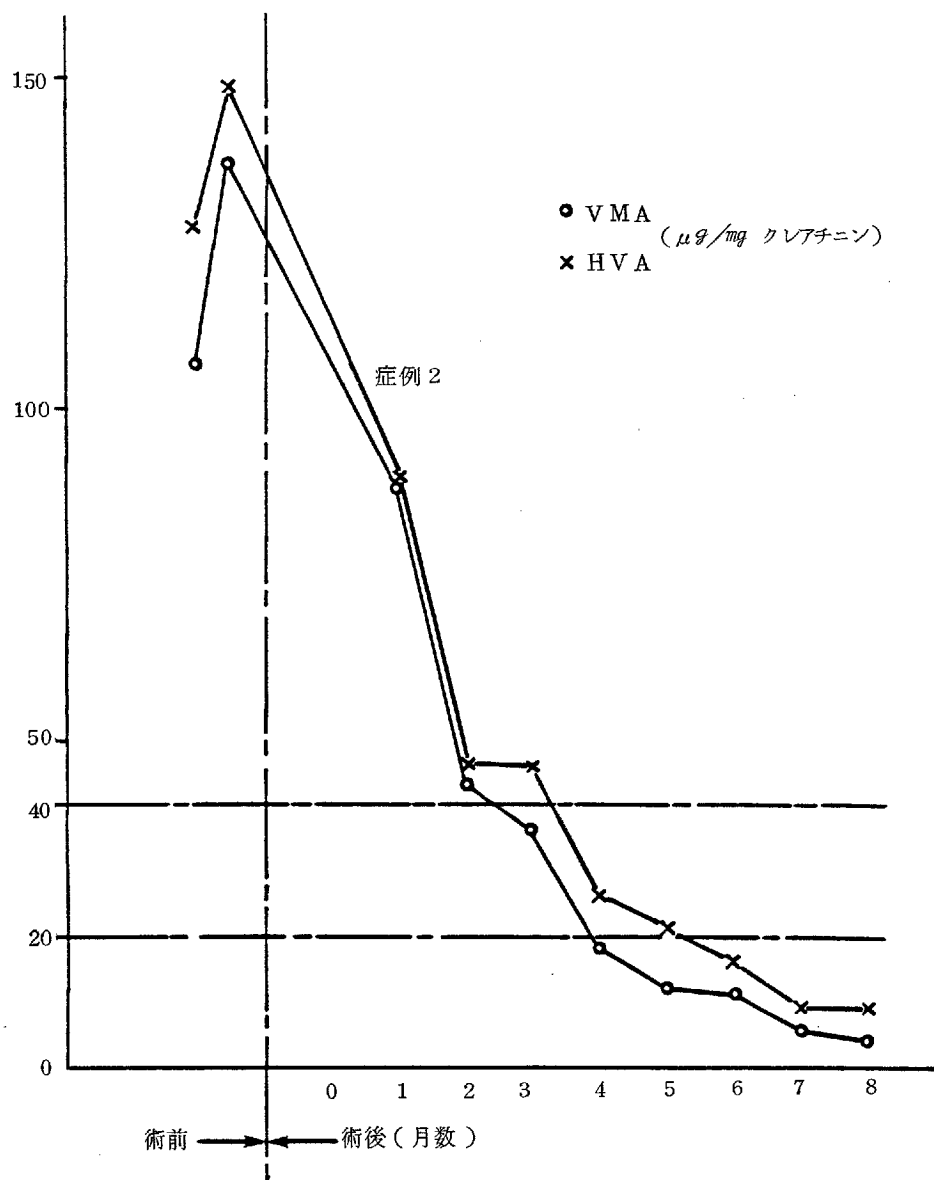


図 2 尿中 VMA, HVA 値の経過 (症例 2)

2) VHA, VLA, HVA の混合標準液による検量線は良い直線性を示した(図4)。

3) 尿紙尿抽出液により蛍光検出器による測定値と比較したところ, VMA で相関係数 $r=0.979$ $y=1.11x+0.39$, HVAで $r=0.981$, $y=1.06x-0.49$ とともに良い相関を示した(図5)。

これらの結果から, 従来法に比べ少ない尿紙尿により, より精度の高い全自動化されたHPLC法によるスクリーニングが可能であり, 現在その実施を検討中である。

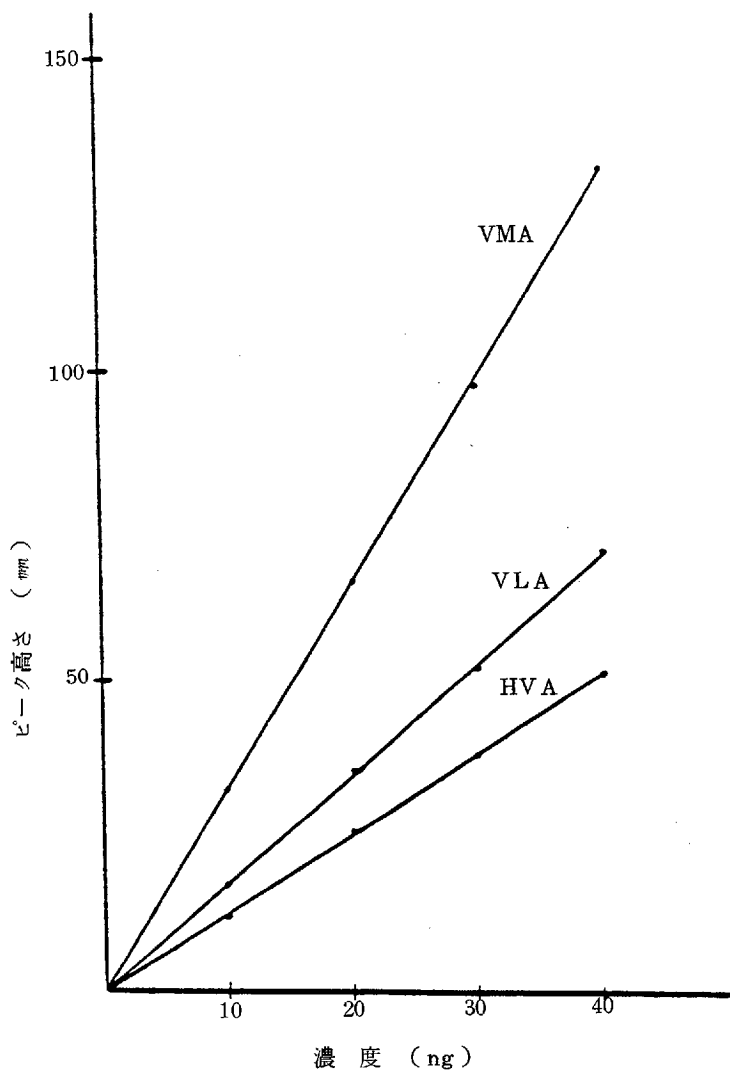


図4 電気化学検出器による検量線

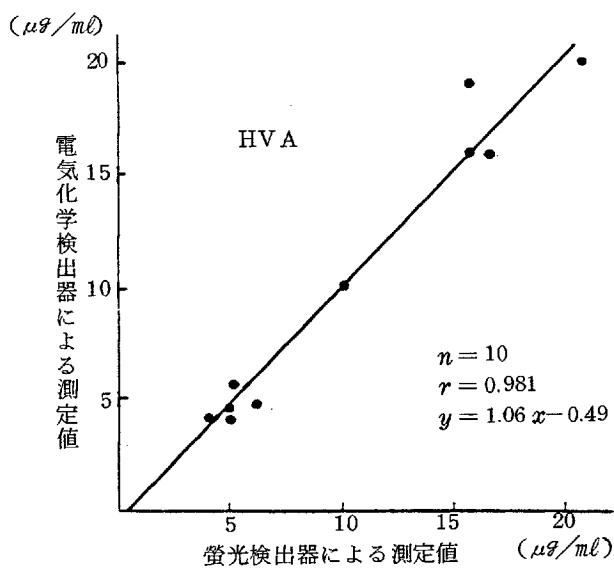
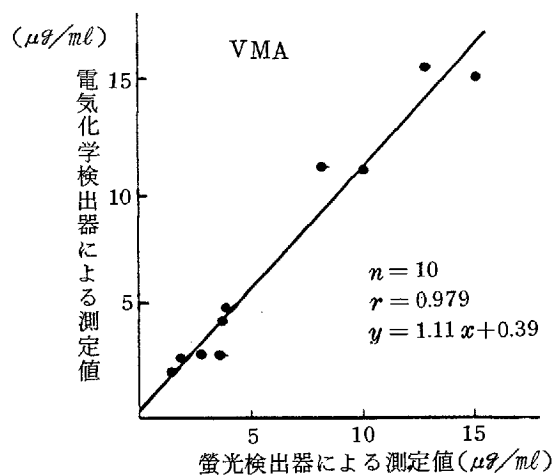


図 5 電気化学検出器と蛍光検出器による測定値の比較

ま と め

前回の報告¹⁾後、改たに2例の患児を発見し治療を行った。これまでの発生頻度は、7,335人に1人と高く、本症スクリーニングの重要性が再確認された。

われわれは、これまで尿紙尿によるスクリーニングから、尿による精密検査、さらにその後の経過観察までのVMA, HVA値をHPLCにより測定してきた。その結果

1) 再検率を1.4% , 精検率を0.07%と著しく低くすることができ、またVMA, HVA排泄量の少なかった患児についても、その定量測定値から、早期に発見することができた。

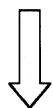
2) HPLCによるVMA, HVA測定値は、腫瘍の有無をよく反映し、精密検査やその後の治療の効果、予後の判定の有力な指標となることが確認できた。

現在われわれは、感度の高い電気化学検出器を用いた自動化されたHPLC法による全検体のスクリーニング法を検討し、実用化にむかっている。

今後、神経芽細胞腫の早期発見、早期治療のために、精度の高いHPLC法が広く一般的に用いられるべきであると考える。

文 献

- 1) 高杉信男, 佐藤泰昌, 佐藤勇次他: 札幌市における神経芽細胞腫マス・スクリーニング, 昭和57年度「母子保健, 医療に関する管理体系システムの開発に関する研究」研究報告書, pp164-166
- 2) 角岡秀彦, 佐々木信義, 加藤敬純他: 神経芽細胞腫マス・スクリーニング — 全国各地の現況と発見症例・見逃し症例の検討 —, 小児外科, 15:29, 1983.
- 3) 佐藤泰昌, 佐藤勇次, 田口武他: 尿尿紙中VMA, HVA測定による神経芽細胞腫マス・スクリーニング — 高速液体クロマトグラフィーをとり入れて —, 小児科, 24:1133, 1983.



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



はじめに

札幌市では昭和 56 年 4 月から神経芽細胞腫マス・スクリーニングを開始し,昭和 58 年 12 月末までに 36,667 例のスクリーニングを行い,5 例の神経芽細胞腫患児を発見し,治療を行った。札幌市におけるスクリーニングのシステム及び方法等については,昭和 57 年度の研究報告書で報告している。

そこで今回は,昭和 58 年 12 月までのスクリーニング結果について述べるとともに,スクリーニングから精密検査,さらにその後の経過観察までの高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による VMA,HVA 値測定の有効性について報告する。

なお全てのスクリーニングを自動化された HPLC 法により行うため,電気化学検出器を組合せた HPLC 法についても検討を加えた。