

静岡県西部地区における先天性副腎皮質過形成（21-水酸化酵素欠損症）の新生児マス・スクリーニング

—第1次スクリーニングの方法と成績—

矢田 純一¹、下澤 和彦¹、税所 純敬¹
櫻田 則之¹、五十嵐良雄²、疋田 良典²
小川 治夫²、川波 和子²、入江 実³
兵頭 常一³、上芝 元³、岡田 和親⁴

（1 東京医科歯科大学医学部小児科）

（2 浜松医科大学小児科）

（3 東邦大学医学部第1内科）

（4 静岡県西部地区産婦人科医会）

研究目的

静岡県西部地区を対象として先天性副腎皮質過形成（CAH）の大部分を占める21-水酸化酵素欠損症（21-OHD）の新生児マス・スクリーニングを試験的に施行し、将来広域で施行する際の問題点について検討することを目的とした。なお疾患マーカーには乾燥濾紙血液中の17 α -hydroxyprogesterone（Disc-17-OHP）値を用いたが、その測定に際しての問題点についても検討した。

研究方法

I. Disc-17-OHP値の測定

Disc-17-OHP値の測定は主に〔1, 2, 6, 7-³H〕-17-OHPによる直接法¹⁾（Fig.1）にて行なった。

直接法によるDisc-17-OHP値は血中濃度と比較して有意に高値のため、ジエチルエーテル抽出およびSolyomら²⁾のMixed polar solvent抽出による測定法と比較検討した。具体的には全血にunconjugated steroidとして〔1, 2, 6, 7-³H〕-17-OHPと〔1, 2-³H〕-DHAを、sulfoconjugated steroidとして〔7-³H〕-DHA-Sを各々添加した濾紙血をバッファーによる溶出のみ（A）、（A）をジエチルエーテルにて抽出（B）とMixed polar solvent（Methanol:Diethyl ether:Ethyl acetate=50:45:5）にて溶・抽出（CおよびD）の各方法にて処理し、各々の回収率を求めた。また全血に17 α -hydroxypregnenolone-sulfate（17-OH- Δ^5 P-S）を添加し各方法により測定されるDisc-17-OHP値を求めた。

II. マス・スクリーニングの方法

静岡県西部地区にて昭和56年5月～昭和58年10月に出生した新生児34,314名を対象として、Fig.2に示す方法にて行なった。すなわち同一濾紙血による再検で99パーセント以上の高値を示したものを要精密検査者として専門医療機関（主に浜松医科大学小児科）を受診させ、

21-OHDか否かを診断した。

研 究 結 果

I. Disc-17-OHP値の測定

Table 1に直接法(A), 抽出法(B), Mixed polar solvent法(CおよびD)によるステロイドの溶出・抽出率を示した。Unconjugated steroidは, (A)法~(D)法で平均値91.1~99.2%と大差なかったが, sulfoconjugated steroidは(A)法95.1±3.86%, (B)法20.0±0.16%であり, (A)法では硫酸抱合体のほぼすべてが溶出し, (B)法ではそのほとんどが除去されることが示された。一方(C), (D)法では各々59.8±5.31%, 63.2±7.61%で, (A)法, (B)法の間際の性質を有していた。

また17-OH- Δ^5 P-Sを添加した濾紙血による検討では, Fig.3に示したように(B)法ではその影響は全く認めず, (A)法および(D)法では, 840 pg/discの添加で各々30.0 pg/disc, 26.9 pg/discとなり多大な影響が認められた。

II. マス・スクリーニングの成績

Fig. 4に, 対象新生児のうち 3 H-直接法にて測定された33,287名のDisc-17-OHP値のヒストグラムを示した。Disc-17-OHP値は19.8±9.54 pg/disc (Mean±SD)であり, 基準により精密検査を必要とされたものは335名(0.98%)であった。精密検査に応じたものは208名の62.1%であり, このうち21-OHDと確定診断されたものは3例であった。Patient 1は食塩喪失型の男児で初回のDisc-17-OHP値は99.0 pg/disc, 診断時では988 pg/disc, Patient 2は食塩喪失型の女児で初回127 pg/disc, 診断時322 pg/disc, Patient 3は単純男性化型の女児で初回53.1 pg/disc, 診断時294 pg/discであった。

疑陽性者は332名の0.97%であった。疑陽性者での低出生体重児, 早産児, 分娩時の異常ならびに採血時合併症の頻度はTable 2に示したように高頻度であり, 新生児の未熟性や周産期でのストレスが疑陽性を示す要因としてきわめて重要であった。

考 按

21-OHDの発生頻度とそれにより算出される保因者頻度は各々1/11,438と1/54であり, 従来の報告よりはるかに高頻度であることが示唆され, マス・スクリーニングの重要性が再確認された。

今回施行したパイロットスタディでは疑陽性を示す要因として新生児の未熟性と周産期でのストレスが重要であることが示され, この点についてはPangら³⁾も報告しているが, 我々の行ったDisc-17-OHP値の測定が直接法であったことはこのような傾向をより強める結果となった。すなわち用いた抗体(帝国臓器製薬製, 抗17-OHP-3-CMO-BSA血清)が17-OH- Δ^5 P-Sと1.66%の交叉反応性を有するため胎児副腎皮質の遺残の程度が強い未熟児の多くが疑陽性者として扱えられる結果となった。21-OHDをマス・スクリーニングプログラムに乗せるために不可欠な要素は, Disc-17-OHP値の測定が正確かつ簡便であることであ

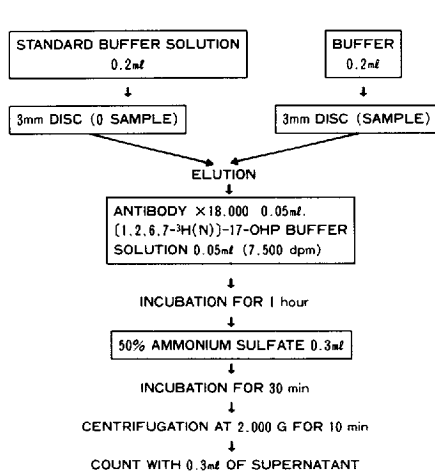
り，ことに新生児期に高値とされる各種ステロイドの硫酸抱合体 ($\Delta^5\text{P-S}$, $17\text{-OH-}\Delta^5\text{P-S}$, DHA-S 等)との交叉反応性のきわめて低い(理想的には0.01%以下)抗体を使用すれば,ジエチルエーテル抽出あるいはMixed polar solvent抽出を行わずに正確な 17-OHP の測定が理論的には可能である。これにより少なくとも新生児の未熟性による硫酸抱合体の高値による疑陽性は除かれ noise の大巾な減少が期待できる。

Disc- 17-OHP 値の測定に今回は ^3H 法を用いたが,これを広域に適用することは設備,経費,労力や放射性廃棄物の点から明らかに不可能であり, ^{125}I によるRIAあるいは現在幾つかの方法が開発されているEIAが望ましい。

21-OHD のマス・スクリーニングにおいて他の多くの現行の対象疾患と異なることは,その診断の迅速性と正確性である。その意味からも簡便かつ特異的な測定が必須であるが,更に進んで高速液体クロマトグラフィー等による濾紙血を用いた高感度のステロイド一斉分析が可能となれば,より特異性の高い 21-OHD あるいは広くCAHのマス・スクリーニングが可能となると思われる。

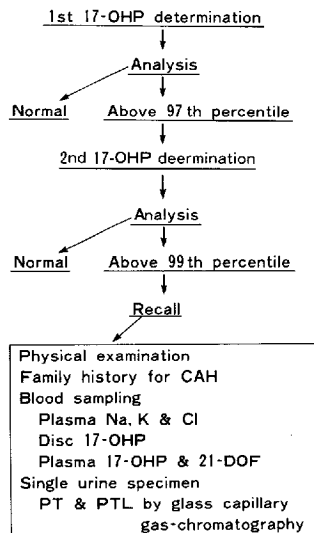
文 献

- 1) 下澤和彦;先天性副腎皮質過形成(21-水酸化酵素欠損症)の新生児マス・スクリーニングに関する研究 第一編 乾燥濾紙血液による血中 $17\alpha\text{-hydroxyprogesterone}$ の測定. 日内分泌会誌, 59:1845~1859, 1983.
- 2) Sólyom, J. et al.:A method for identification and follow-up of patients with a steroid- 21-hydroxylase deficiency. Clinica Chimica Acta, 92:117~124, 1979.
- 3) Pang, S., et al.:A pilot newborn screening for congenital adrenal hyperplasia in Alaska. J. Clin. Endocrinol. Metab., 55:413~420, 1982.



ASSAY PROCEDURE OF DIRECT DISC-17-OHP RADIOIMMUNOASSAY

Fig. 1



Screening & recall program for detection of congenital adrenal hyperplasia (CAH) due to 21-hydroxylase deficiency.

Fig. 2

Table 1 COMPARISON OF ELUTION AND EXTRACTION METHOD

PERCENT RECOVERY OF LABELLED 17-OHP, DHA, AND DHA-S DRIED ON FILTER PAPER

(n = 3, MEAN $\pm$ SD)

METHOD	(1,2,6,7- $^3\text{H}(\text{N})$) 17-OHP	(1,2- $^3\text{H}(\text{N})$) DHA	(7- $^3\text{H}(\text{N})$) DHA-S
A) BORATE BUFFER 0.5ml	96.1 $\pm$ 3.49	93.5 $\pm$ 1.40	95.1 $\pm$ 3.88
BORATE BUFFER 0.5ml			
B) DIETHYL ETHER 4.0ml	96.4 $\pm$ 2.67	95.4 $\pm$ 3.16	2.00 $\pm$ 0.16
VORTEX FOR 30sec			
C) POLAR SOLVENT 1.0ml	87.9 $\pm$ 1.67	91.1 $\pm$ 3.52	59.8 $\pm$ 5.31
SONICATION FOR 20min			
D) POLAR SOLVENT 1.0ml	99.2 $\pm$ 2.06	99.2 $\pm$ 2.40	63.2 $\pm$ 7.61
FOR 60min.			
WITHOUT SONICATION			

POLAR SOLVENT: METHANOL DIETHYL ETHER/ETHYL ACETATE : 50/45/5 (V/V)

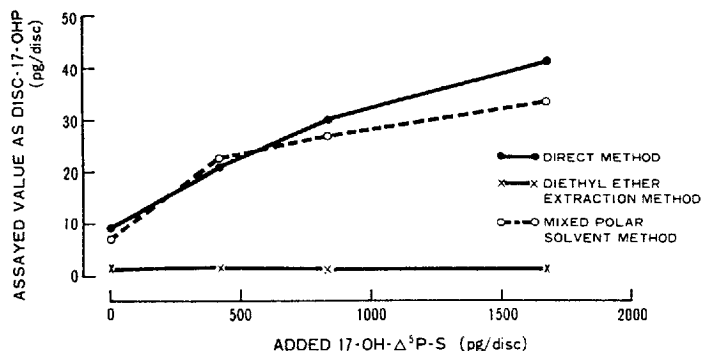


Fig. 3 INTERFERENCE OF 17-OH- $\Delta^3\text{P-S}$ TO DISC-17-OHP RADIOIMMUNOASSAY

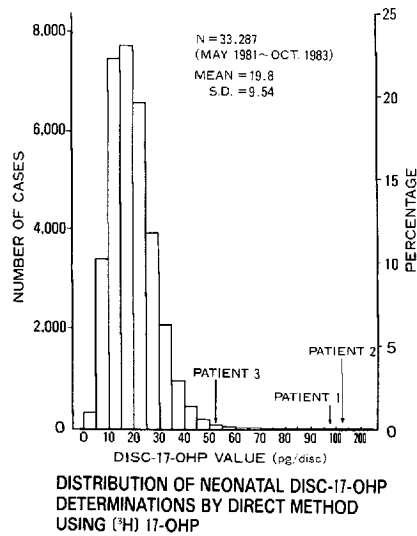


Fig. 4

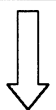
Table 2 PROBLEMS AT DELIVERY AND DURING EARLY NEONATAL PERIOD IN RECALLED INFANTS

(I) BIRTH WEIGHT 2,500g>	143/323 (44.3%)
(II) GESTATIONAL AGE 37weeks>	50/204 (24.5%)
(I) and/or (II)	152/323 (47.1%)
(III) PROBLEMS AT DELIVERY	120/208 (57.7%)
(IV) PROBLEMS DURING EARLY NEONATAL PERIOD	37/208 (17.8%)
(III) and/or (IV)	138/208 (66.3%)



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



研究目的

静岡県西部地区を対象として先天性副腎皮質過形成(CAH)の大部分を占める 21-水酸化酵素欠損症(21-OHD)の新生児マス・スクリーニングを試験的に施行し、将来広域で施行する際の問題点について検討することを目的とした。なお疾患マーカーには乾燥濾紙血液中の 17a-hydroxyprogesterone(Disc-17-OHP)値を用いたが、その測定に際しての問題点についても検討した。