

(2) 札幌市における神経芽細胞腫マス・スクリーニング

— 尿中VMA, HVA測定値とその判定 —

高杉 信男, 佐藤 泰昌, 花井 潤師, 辻 慶子,
田口 武, 前田 博之, 青木 襄 (札幌市衛生研究所)
武田 武夫 (国立札幌病院北海道がんセンター小児科)

【目的】 札幌市では, 昭和56年4月のスクリーニング開始以来, 初回検査でVMAの定性に加え, HVAを薄層クロマトグラフィーで定量し, これらの結果が疑わしいものについては高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により, VMA, HVA等を定量し, その増量をクレアチニン比で判定するという方法でスクリーニングを実施してきた。

その後, HPLCの付属装置としてオートサンプラー, データ処理装置等に加え, 自動化を図るとともに, さらに高感度な電気化学検出器(ECD)を用い, 前処理法の簡素化, 測定時間の短縮化等の検討を加えた結果, 全ての検体をHPLCで測定するスクリーニング法を確立し, 本年度から実施している。

そこで今回は, 全検体をHPLCで行う方法について述べるとともに, この方法により, スクリーニング検体5,000件のVMA, HVA値から, クレアチニン補正の妥当性とスクリーニングにおけるVMA, HVAのカットオフ値について若干の知見を得たので報告する。

【方法】 ECDによるHPLC法についてはすでに前回の報告¹⁾で述べたが, 従来²⁾のけい光検出器に比べ感度が50~100倍上昇したことに伴い, ろ紙尿の前処理法等一部変更し, 精度の向上を図った(図1)。

なおVMA, HVA値は, 測定日ごとに標準液を添加した濃度既知の尿をろ紙に湿りこませ, 同様の前処理から得た検量線から算出した。

クレアチニンは, 溶出液の一部を使って, Follin-Wn法により測定した。

【結果と考察】 1. スクリーニング検査結果: 昭和59年4月から昭和59年12月までに11,235例のスクリーニングを行い, あらたに3例の患児を発見し, 治療を行った。スクリーニング開始以来では, 52,672例のスクリーニングから10例の患児が発見されており, 札幌市における現時点での発生頻度は5,267人に1人である(表1)。

2. クレアチン補正の妥当性について: 昭和59年9月から12月までにスクリーニングを受けた生後6か月から1歳未満の乳児,

表1 スクリーニング検査結果

期 間	被検者数	再検数(率)	精検数(率)	患者数
S 56.4~S 59.3	41,437	617 (1.5%)	28 (0.07%)	7
S 59.4~S 59.12	11,235	155 (1.4%)	13 (0.12%)	3
総 計	52,672	772 (1.5%)	41 (0.08%)	10

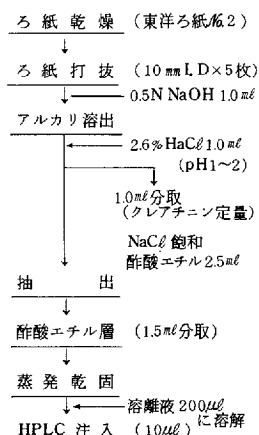


図1 ろ紙尿の前処理

5,000名（以後対象乳児という）について、その尿中VMA、HVA値とクレアチニン値から、クレアチニン補正の妥当性について検討した。

なお直径10mmに打ち抜いた採尿ろ紙（東洋ろ紙No.2）5枚中の測定限界は、VMAで0.005 μ g、HVAで0.01 μ g、クレアチニンで1.0 μ gであり、測定限界以下の検体は、測定精度や尿のつき方の不備等の理由から除外した。

(1) ろ紙尿中クレアチニン値：対象乳児のクレアチニン量を測定し、そのヒストグラムを作成した（図2）。

ろ紙尿中クレアチニン量は、対数正規分布をとることが認められ、直径10mmろ紙5枚当りの平均値は11.1 μ gであった。また最大値と定量下限値の比は、凡そ70倍であった。

(2) ろ紙尿中VMA、HVAの絶対量とクレアチニン量の相関：対象乳児について、直径10mmろ紙5枚中のVMA、HVAとクレアチニンの絶対量（ μ g）の相関を検討した。

VMAの平均値は0.12 μ gでクレアチニンとの相関係数は $r=0.9107$ であった。またHVAの平均値は0.19 μ gであり、クレアチニンとの相関は $r=0.8942$ であり、ともに $p<0.001$ で有意な相関が認められた。対象乳児中、任意の100例について、その相関を示す（図3）。

以上、尿量や尿濃度が不明なる紙尿においては、クレアチニン量に大幅な差があること、そのクレアチニン量とVMA、HVAの絶対量は比例することから、その増量の判定は、クレアチニンで補正したもので行うべきであると考ええる。

3. VMA、HVAのカットオフ値について：従来、VMA、HVAのカットオフ値については、文献的考察からVMAで20 μ g/mgクレアチニン、HVAで40 μ g/mgクレアチニンに設定し、スクリーニングを行ってきた。しかしこれらの数値は、測定方法もまちまちであり、また本症スクリーニングのためのカットオフ値設定を目的としたものではない。

そこで今回、HPLCにより測定した対象乳児のVMA、HVA値から、そのカットオフ値について再検討した。

(1) ろ紙尿中VMA、HVA値：対象乳児の1mgクレアチニン当りのVMA、HVA値を求め、そのヒストグラムを作成した（図4）。

VMA、HVA値は、ともに正規分布になることが認められ、その平均値（ \bar{X} ）と標準差（SD）は、VMAで11.7 \pm 5.3 μ g/mgクレアチニン、HVAで17.1 \pm 5.9 μ g/mgクレアチニンであった。

(2) VMA、HVAカットオフ値：求めた対象乳児のVMA、HVAの

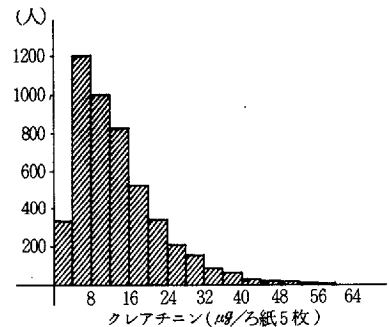


図2 ろ紙尿中クレアチニン値のヒストグラム

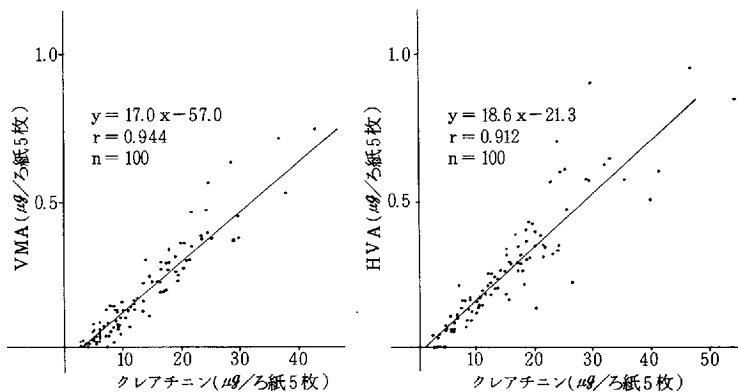


図3 ろ紙尿中クレアチニン値とVMA、HVA値の相関

平均値と標準偏差から、再検率等を考慮し、そのカットオフ値について検討した。

カットオフ値を $\bar{X}+2SD$ とした場合、VMA、HVA各々がカットオフ値を超える割合は1.7%と2.6%となり、どちらか一方がカットオフ値を超える割合（再検率）は4.0%と高くなった。そこでカットオフ値を $\bar{X}+2.5SD$ に設定したところ、各々がカットオフ値を超える割合は、VMAで1.0%、HVAで1.1%とほぼ均等になり、再検率も2.0%と妥当な率となった（表2）。

またこの時のカットオフ値であるVMA 25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチンとHVAの32 $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチンを、これまでの発見症例についてみると、スクリーニングから医療機関での精密検査に至るまで、VMA、HVAがともにこのカットオフ値以下となる例はない。

なお発見症例の初回検査でのVMA、HVAの絶対量とクレアチンの関係を、設定したカットオフ領域とともに示す（図5）。

以上のことから、再検率を考慮した見逃しのない値として、VMAで25 $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチン、HVAで32 $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチンが本症スクリーニングにおけるカットオフ値として適当であると考える。

【文献】1) 高杉信男, 佐藤泰昌他: 神経芽細胞腫 マス・スクリーニング 一高速液体クロマトグラフィーによる尿中VMA, HVA測定を中心にして一, 昭和58年度厚生省マス・スクリーニングシステムに関する研究班報告書

2) 佐藤泰昌, 佐藤勇次他: 尿ろ紙中VMA, HVA測定による神経芽細胞腫マス・スクリーニング 一高速液体クロマトグラフィーをとり入れて一, 小児科, 24: 1133, 1983

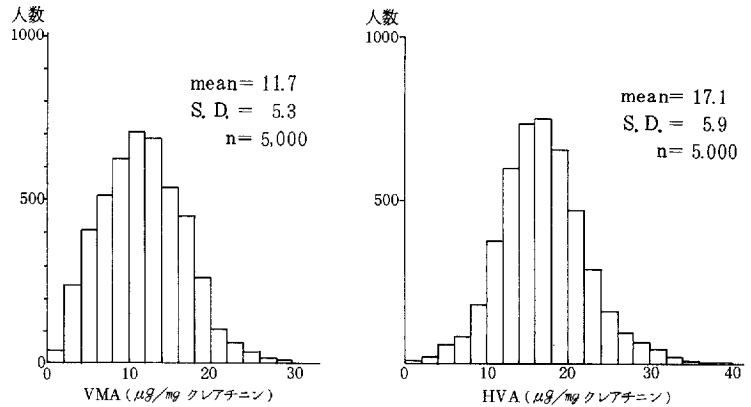


図4 ろ紙尿中VMA, HVAヒストグラム

表2 カットオフ値と再検率

	X+2SDの場合		X+2.5SDの場合		従来の場合	
	VMA	HVA	VMA	HVA	VMA	HVA
カットオフ値	23	29	25	32	20	40
カットオフ値を超える割合	1.7%	2.6%	1.0%	1.1%	4.7%	0.3%
再検率※	4.0%		2.0%		5.0%	

※ 再検率はVMA又はHVAのどちらか一方がカットオフ値を超える割合をさす。(n=5,000)

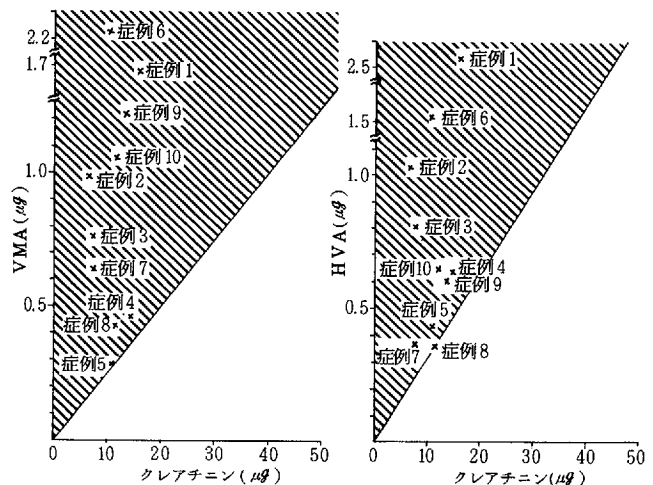
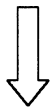


図5 発見症例の初回検査時のVMA, HVA値とカットオフライン (斜線部分は設定したカットオフ値以上の領域を示す)



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



【目的】札幌市では、昭和 56 年 4 月のスクリーニング開始以来、初回検査で VMA の定性に加え、HVA を薄層クロマトグラフィーで定量し、これらの結果が疑わしいものについては高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により、VMA、HVA 等を定量し、その増量をクレアチニン比で判定するという方法でスクリーニングを実施してきた。

その後、HPLC の付属装置としてオートサンプラー、データ処理装置等に加え、自動化を図るとともに、さらに高感度な電気化学検出器(ECD)を用い、前処理法の簡素化、測定時間の短縮化等の検討を加えた結果、全ての検体を HPLC で測定するスクリーニング法を確立し、本年度から実施している。

そこで今回は、全検体を HPLC で行う方法について述べるとともに、この方法により、スクリーニング検体 5,000 件の VMA、HVA 値から、クレアチニン補正の妥当性とスクリーニングにおける VMA、HVA のカットオフ値について若干の知見を得たので報告する。