

毛細管法による血漿 17-hydroxyprogesterone 測定成績

山梨医科大学小児科 加藤精彦

大山建司

藤本昌敏

【目的】 先天性副腎過形成のマススクリーニングの実施にあたり、技術的には濾紙法による血中 17-OH-Progesterone 測定法がほぼ確立しているが、本疾患がマススクリーニングの適応となるか否かの検討はまだ十分になされていない。マススクリーニング実施にあたっての問題点としては、1) 対象を単純型 21-hydroxylase 欠損とするのか、塩喪失型を含めるのか、2) 採血時期をいつにするのが適当か、の 2 点があげられる。対象に関しては塩喪失型はスクリーニングの結果がでる前に発症する例がかなり存在すると考えられ、'スクリーニングを行ったが診断が遅れた' という症例がでた場合に問題となる可能性がある。それ故塩喪失型を対象に含めるとすれば採血時期をなるべく早くせねばならないが、実際には生後 5 日以前に実施するのは困難である。採血時期に関しては、新生児期～乳児期の血中 17-OH-P の変動に関する検討が、我国ではまだ十分行われているとはいえ、特に単純型 21-hydroxylase 欠損での発症前の新生児期初期の血中 17-OH-P 変動が明らかになっていないため、false negative を最少限にする採血時間を決定できない。また血中 17-OH-P 測定にあたり、測定法、抗体の違いにより測定値が異なるため、各測定法毎に正常値および cut off point を検討せねばならない。以上のような問題点を解決する一助として今回我々は、小児期の血中 17-OH-P 変動を明らかにし、さらに新生児期における胎児副腎の影響の有無を検討した。

【方法】 血中 17-OH-P 測定は、新生児期は heel puncture によりヘマトクリット毛細管に採取し、遠沈分離後 24 時間以内に血漿 10 μ l を凍結保存した。また一部では血漿 cortisol (4) も測定した。乳児期以降は普通採血を行い、検体量は 10~20 μ l にて測定した。抽出はエチルエーテル 2 ml にて行った。RIA は CIS 社製キットを用い、検体量 10 μ l での血漿 17-OH-P 測定下限は 0.15 ng/ml であった。男児例での血清 DHEA 測定は帝国臓器製の抗体を用いて行った。新生児期の血漿 17-OH-P 測定は、満期正常新生児 247 例、未熟児及び低出生体重児 24 例で行った。

【結果】 毛細管採血による 17-OH-P の安定性を検討した結果を図 1 に示す。毛細管の両端を lock して 4 $^{\circ}$ C、26 $^{\circ}$ C で 4 日間保存した時の血漿 17-OH-P 値は、17-OH-P 5 ng、10 ng 添加共は同様の変動を示し、26 $^{\circ}$ C 下、4 日間保存でも約 10% の低下であった。×印破線で示した毛細管の片側のみ lock しておいた検体では、26 $^{\circ}$ C 保存で約 10%、17-OH-P 値の上昇が認められた。これは血漿の濃縮によるものと思われる。表 1 は生後 4 日から 10 日の満期正常新生児の血漿 17-OH-P 値を示したものである。検体採取した生後日数別の各群の出生時体重別性別および胎週数別性別の比較では各群間に有意差を認めなかつ

た。血漿 17-OH-P 変動は表 1、図 2 に示した。満期正常新生児では生後 4~10 日で有意の変動を示さず、性差も認めなかった。平均値は 2.0~2.7 ng/ml の範囲にあり、+1SD は 5ng/ml 以下であった。なお全検体の最高値は 8.6 ng/ml であった。同一例で経時的に 17-OH-P を測定した結果を図 3 に示す。生後 1~2 日から 5~6 日にかけて血漿 17-OH-P は下降する例と上昇する例が約半数ずつ存在し、一定の傾向は認められないが、いずれも 6 ng/ml 以下での変動であった。未熟児、低出生体重児の血漿 17-OH-P 値を図 4 に示す。正常新生児に比し若干高値の傾向を示すものの有意差は認めなかった。母体血、臍帯血、生後 5、6 日の血漿 F 値を図 5 に示す。実線は普通採血、破線は毛細管採血により測定したもので、両者間に有意差を認めなかった。分娩時母体血中 F は 73.7+22.5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ と極めて高値、臍帯血 F は 9.2+4.4 $\mu\text{g}/\text{dl}$ であった。生後 5 日では、毛細管採血で 2.7+2.0 $\mu\text{g}/\text{dl}$ と臍帯血より有意に低下した ($P < 0.01$)。出生時から思春期前までの男児の血中 DHEA の変動を図 6 に示す。生後 5 日目で血中 DHEA は臍帯血よりさらに上昇し、思春期相当のレベルに達し、その後漸減するが、3 ヶ月までは高値を持続した。ACTH-Z 負荷に対する DHEA 分泌反応を検討した結果を図 7 に示す。生後 7 日の 2 例では DHEA の著明な分泌増加が認められ、1 才児でも明らかな増加が認められた。幼児期以降思春期発来前までは低反応であった。

〔考察〕 先天性副腎過形成のマススクリーニングは、生後 4 日から 7 日で血漿 17-OH-P は有意の変動を示さず、性差も認められないことから、生後 5 日目に実施することは可能であり、その場合の正常上限は、+1SD=4.2 ng/ml、+2SD=6.0 ng/ml、+3SD=7.7 ng/ml であった。そこで 7.7 ng/ml を上限とした場合正常新生児 247 例中 1 例が、これを超える値を示した。未熟児、低出生体重児では若干高値の傾向が認められたが、生後 5 日目では有意差は認めなかった。未熟児例で経時的に血漿 17-OH-P 変動を観察すると、生後 10~30 日頃に上昇してくる例が存在しており、注意を要すると考えられた。今後正常新生児および未熟児でさらに例数を増やして経時的な変動を観察し、同時に血中 F、DHEA 等の変動も検討していく予定である。その場合、毛細管採血は頻回な採血が可能であり、ビリルビン採血後の検体も使用できるため、有用性が高いと考えられた。毛細管採血を行った検体は両端を lock して速やかに遠沈分離後血漿を凍結保存することが望ましいが、室温で 4 日間までは保存が可能であった。生後 1 ヶ月以降 15 才までの小児期の各種ステロイドの加令変化とその絶対値から求めた 21-hydroxylation および 11 β -hydroxylation index の加令変化は既に 57 年度厚生省ステロイドホルモン産生異常症調査研究班研究報告書にて報告したが⁽¹⁾ (図 8、9)、その結果でも乳児期における変動が最も顕著であり、今後新生児期から乳児期にかけての変動を詳細に検討することは新生児期の副腎皮質機能を把握する上で重要と考えられる。生後 5 日目でマススクリーニングを実施する場合の一番の問題点は、21-hydroxylase 欠損の何%でこの時期に血漿 17-OH-P 高値が認められるかが明らかになっていないことである。我々も新生児期に確定診断し得なかった塩喪失型の女児例

1例と乳児期には異常を認めなかったと推測される late onset type の姉妹例を経験している。(2,3) 今回は血中 DHEA の変動から胎児皮質の影響を検討した。その結果、生後5日目では、男児では DHEA 基礎値は高値を示し、生後5日から7日にかけて行った ACTH-Z 負荷でも DHEA は極めて高反応を示した。この時期血中 F 基礎値はむしろ低値を示しているものの、ACTH-Z 負荷で同時に測定した血中 F 分泌反応は極めて高反応を示した。このことより、この時期は胎児皮質と永久皮質が共存して機能している可能性が強いと考えられる。そして胎児皮質の消退には個人差があり、その結果我々の経験した塩喪失型女児例のような発症の遅れる例が認められたと推測される。それ故マススクリーニングを生後5日で施行する場合、false negative を最少限にする血漿 17-OH-P 値の cut-off point をどこに定めるかを決定しかねており、今後さらに胎児皮質の影響を検討して、その点を明らかにしたいと考えている。なお late onset type に関しては胎児皮質の残存では説明できず、その発症に関しては、現在明らかにされていない。その原因を追求すると共に、その発生頻度は調査する必要があると考えられる。

〔結語〕 先天性副腎過形成のマススクリーニングにあたり、新生児期の血中 17-OH-P、F、DHEA の分泌動態を明らかにすると共に、胎児皮質の影響について検討し、スクリーニング実施にあたっての問題点に言及した。

〔文献〕 1) 加藤精彦, 大山建司: 小児期における 0-21 ステロイド生合成の加齢変化。

厚生省特定疾患〔ステロイドホルモン産生異常症〕調査研究班 昭和57年度研究報告書 p.341~345, 1983

2) 野崎豊, 加藤精彦 他: 塩類喪失傾向を伴う副腎機能低下を5ヶ月に至って初めて示した 21-OH lase 欠損性副腎過形成の1例。ホルモンと臨床 26:1189, 1978

3) 野崎豊, 加藤精彦 他: 緩徐な男性化を示した先天性副腎過形成の2姉妹例。ホルモンと臨床 27:1038, 1979

表1 Plasma 17-hydroxyprogesterone levels in newborn infants.

items		days of age				
		4	5	6	7	8~10
birth weight (gr)	male	3362 ± 397 (n=15)	3263 ± 329 (n=41)	3280 ± 377 (n=57)	3254 ± 386 (n=21)	3190 ± 253 (n=12)
	female		3260 ± 351 (n=44)	3248 ± 393 (n=47)	3121 ± 217 (n=10)	
gestational age (week)	male	39.7 ± 1.0 (n=15)	39.7 ± 1.1 (n=41)	39.5 ± 1.3 (n=57)	39.5 ± 1.2 (n=21)	39.7 ± 1.2 (n=12)
	female		39.6 ± 1.2 (n=44)	39.5 ± 1.2 (n=47)	39.0 ± 0.9 (n=10)	
plasma 17-OH-P (ng/ml)	male	1.88 ± 1.49 (n=15)	2.53 ± 1.73 (n=41)	2.06 ± 1.21 (n=57)	2.72 ± 2.32 (n=21)	2.40 ± 1.16 (n=12)
	female		2.12 ± 1.22 (n=44)	2.20 ± 1.35 (n=47)	2.00 ± 1.07 (n=10)	

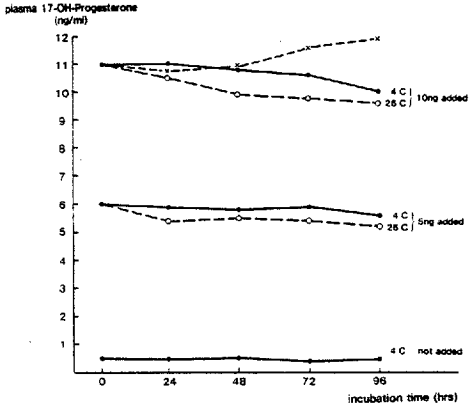


Fig 1 Stability of samples

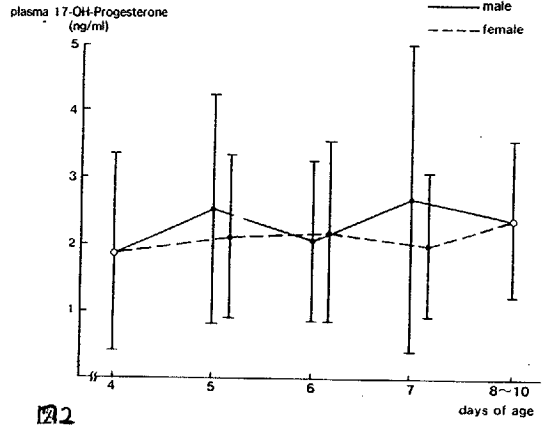


Fig 2 Plasma 17-hydroxyprogesterone levels in newborn infants

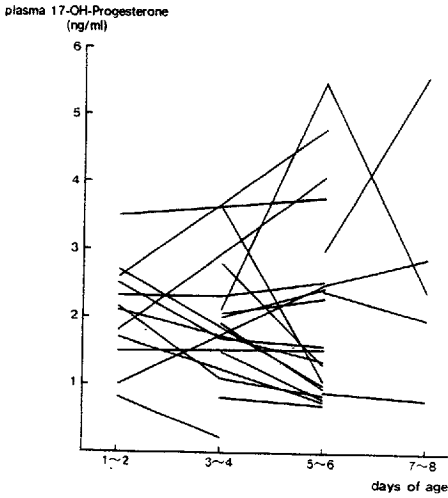


Fig 3 Changes of plasma 17-hydroxyprogesterone level

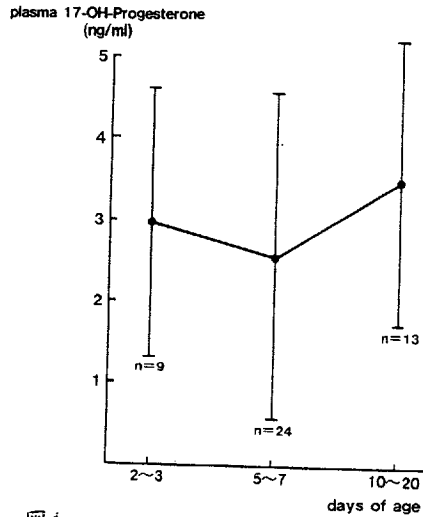


Fig 4 Plasma 17-hydroxyprogesterone levels in premature infants

Subjects
 male 13, female 11
 birth weight 1380~2480 gr.
 gestational age 30~40 wks.

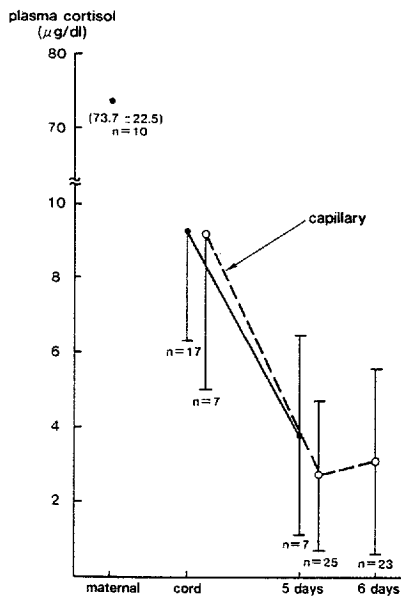


図5

Plasma cortisol levels in maternal and cord blood, and newborn infants

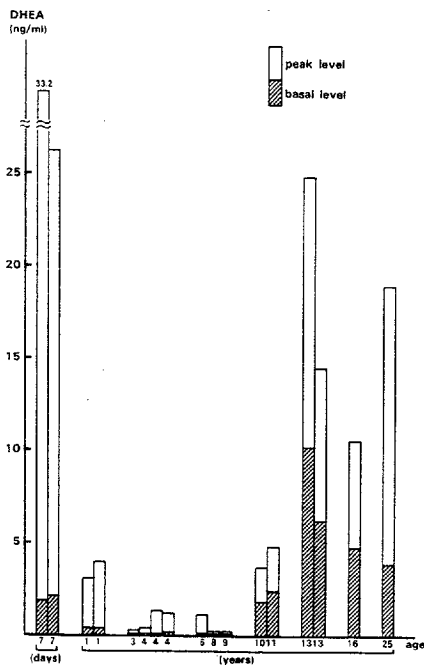


図7 Serum DHEA response to ACTH

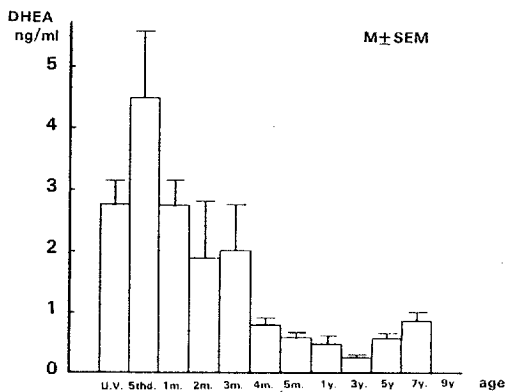


図6 Changes in serum DHEA levels in boys from birth to 8 years of age.

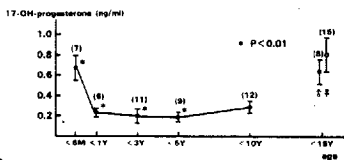
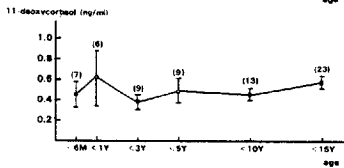
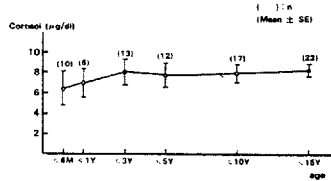


図8

小児期における血中 cortisol, 11-deoxycortisol, 17-hydroxyprogesterone 値の変動 (Mean ± SE)

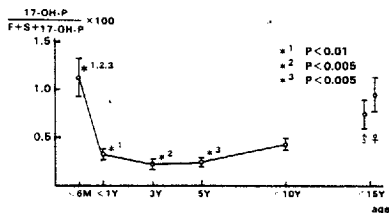
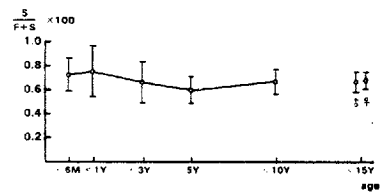
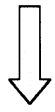


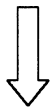
図9

血中 cortisol (F), 11-deoxycortisol (S), 17-hydroxyprogesterone (17-OH-P) よりみた 11β-hydroxylation, 21-hydroxylation の加齢による変動



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]先天性副腎過形成のマスクリーニングの実施にあたり、技術的には濾紙法による血中 17-OH-Progesterone 測定法がほぼ確立しているが、本疾患がマスクリーニングの適応となるか否かの検討はまだ十分になされていない。マスクリーニング実施にあたっての問題点としては、1)対象を単純型 21-hydroxylase 欠損とするのか、塩喪失型を含めるのか、2)採血時期をいつにするのが適当か、の2点があげられる。対象に関しては塩喪失型はスクリーニングの結果がでる前に発症する例がかなり存在すると考えられ、スクリーニングを行ったが診断が遅れた。という症例がでた場合に問題となる可能性がある。それ故塩喪失型を対象に含めるとすれば採血時期をなるべく早くせねばならないが、実際には生後 5 日以前に実施するのは困難である。採血時期に関しては、新生児期～乳児期の血中 17-OH-P の変動に関する検討が、我国ではまだ十分行われているとはいえ、特に単純型 21hydroxylase 欠損での発症前の新生児期初期の血中 17-OH-P 変動が明らかになっていないため、false negative を最少限にする採血時間を決定できない。また血中 17-OH-P 測定にあたり、測定法、抗体の違いにより測定値が異なるため、各測定法毎に正常値および Cut Off point を検討せねばならない。以上のような問題点を解決する一助として今回我々は、小児期の血中 17-OH-P 変動を明らかにし、さらに新生児期における胎児副腎の影響の有無を検討した。