

ろ紙血からのCortisolの測定

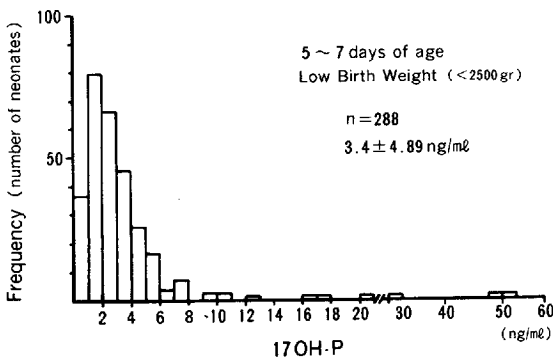
—先天性副腎皮質過形成新生児期マススクリーニングへの応用—

藤枝憲二, 松浦信夫, 三上裕平 (北大小児科)
 福士 勝, 高杉信男 (札幌市衛生研究所)

研究目的

現在札幌市で実施している先天性副腎皮質過形成マススクリーニングにおいて異常児を発見するため、ろ紙血170HP値のCut-off値を5 ng/mlに設定している。しかしこの設定値において再採血率は約1%近くあり、疑陽性者家族に心理的及び経済的負担がかかりマススクリーニング上の問題点として上げられる。このCut-off値をこえる値を示す要因として、ストレス、低出生体重及び児の未熟性が考えられる。それゆえこの高い再採血率を減らす方法として、第一に未熟児、低出生体重児に於て成熟新生児とは別のCut-off値を設定する(図1)。第2には一律にCut-off値を現在の5 ng/mlから10 ng/mlに上げる(表1)。第3に170HPの測定とともに他の内因性ステロイドを測定するなどの方法が考えられる。しかし、第1、第2点とも確診された本症患児がその新生児期にどの程度の170HP値をとるか知っておかねばならない。またCut-off値を高値に設定することで本症患児の見落としは許されない。そこで今回我々は他の内因性ステロイドであるCortisolをろ紙血で測定し、170HP/Cortisol比をとることとで再採血の割合を減少させようのではないかと考え、以下の検討をおこなった。

Histogram of 17-OH P levels in ϕ 3mm disc filter paper specimen



Cut Off Point 17-OH P (ng/ml)	Recall Rate (%)
5	0.92
6	0.58
7	0.40
8	0.34
9	0.21
10	0.18

図1 低出生体重児ろ紙血液17-OHP値のヒストグラム

表1 カットオフ値と再採血率の比較

研 究 方 法

対象；マススクリーニングで足底から採取したろ紙血及び北大病院小児科を受診した内分泌疾患のない小児の静脈から採取したろ紙血と血清を以下の検討に用いた。

ろ紙血及び血清Cortisolの測定；

Cortisolの測定は既報¹⁾の方法に準じておこなった。血清Cortisolの測定には50 μ l血清を用い、ろ紙血での測定には直径5mmのろ紙1枚をリン酸緩衝液(0.05M, PH7.4)0.2mlで4 $^{\circ}$ Cで一晩溶出させ、これに0.8mlのH₂Oを加え1mlとしDichloromethane10mlで抽出した。

抗Cortisol抗体はCortisol-6-CMO-BSAを抗原として作成された抗体を用いた。トレーサーとして³H-Cortisol(NET396)を用い、標準CortisolはDextran coated charcoal(DCC)処理したsteroid free 洗浄浮遊赤血球にとかしろ紙に浸潤させた process standardとして用いた。測定には0.05Mリン酸緩衝液(pH7.4)0.1ml, 抗Cortisol血清0.1ml, ³H-Cortisol 0.1mlを加え一晩 incubateし1mlDCCを加え遠心しその上清0.5mlをシンチレーションバイヤルにいれ5mlのAtomlight(NEF968)を加え2分間計測した。

ろ紙血170HP測定；既報²⁾のEIA法によった。

Microfilter paper method for Cortisol radioimmunoassay

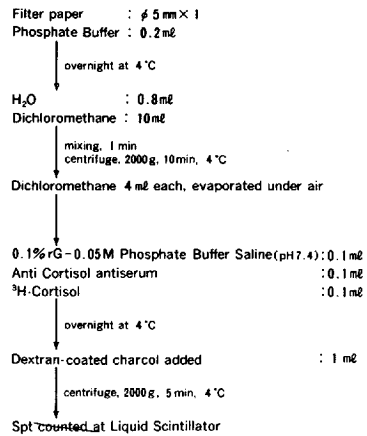


図2. ろ紙血Cortisol測定法

結 果

1) Cortisol RIA (ろ紙血)

標準曲線；標準Cortisol 1.25 μ g/dlから80 μ g/dlまで直線性を示し最低検出感度は2 μ g/dlであった。またbuffer standardとも良好な平行性を示した。測定間誤差は13%(9 μ g/dl, n=10), 11%(21 μ g/dl, n=10), 測定内誤差は4%(9 μ g/dl, n=5), 8%(21 μ g/dl, n=5)と良好で、また再現性もきわめて良好であった。(図3)

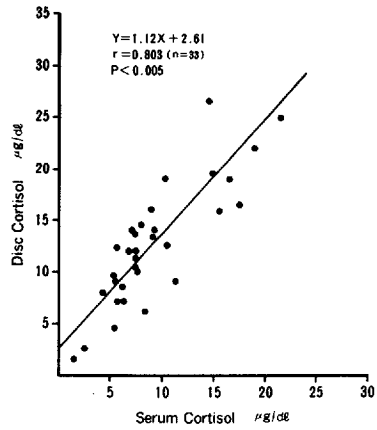
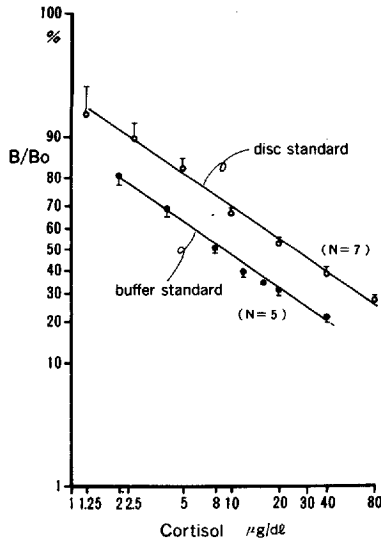


図4. 血清値とろ紙血値との比較

血清値とろ紙血値との相関をみると $r = 0.803$ ($p < 0.005$) であるがろ紙血値がやや高値をとる傾向にあった。(図4)ろ紙血の安定性は 4°C 2カ月保存で変化を認めなかった。2)ろ紙血 170HP/Cortisol比(図5, 6, 7)；

確診された3例の先天性副腎皮質過形成児の治療前の170HP/Cortisol比は全例1以上をとった。170HP値が 5 ng/ml 以上を示していた疑陽性例では、その比は 0.03 ± 0.01 ($M \pm SD$)、未熟児 ($2,500\text{ g}$ 以下, 35週以前)では 0.05 ± 0.04 、正常満期産児では 0.03 ± 0.03 、幼児以降の年長児で 0.002 ± 0.002 であった。

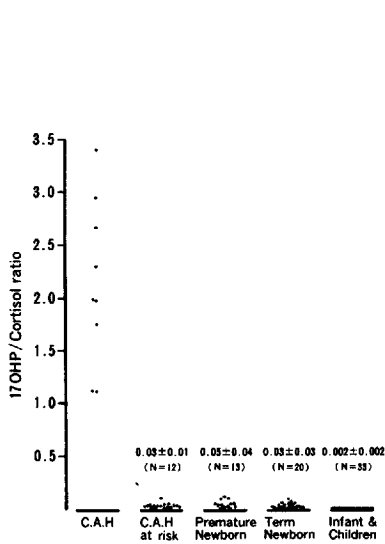


図5. 170HP/Cortisol比

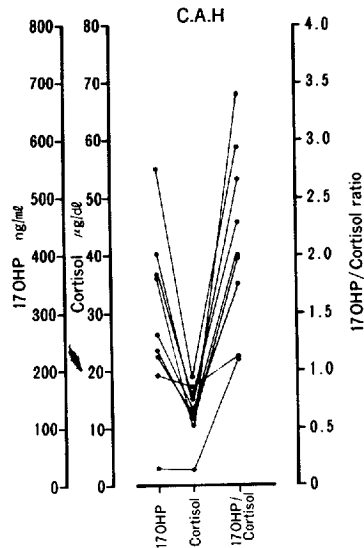


図6. C.A.H.児の170HP/Cortisol比

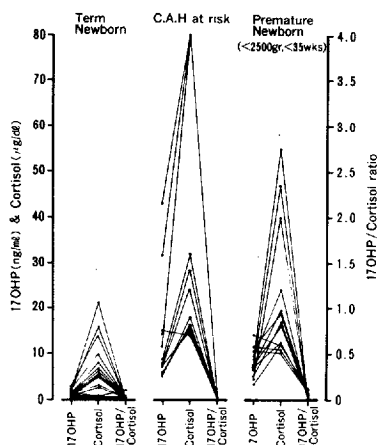


図 7. 疑陽性, 未熟児, 正常満期産児の
170HP/Cortisol比

考 按

以上の検討結果からろ紙血でのCortisolの測定は可能でありまた170HP/Cortisol比をとることで先天性副腎皮質過形成児と他の要因で170HP値が高値をとるcaseとの判別が可能となることが解った。それゆえ、マススクリーニングを実施して初回の170HP値がCut-off値をこす値を示した場合には、直ちにCortisolを測定し170HP/Cortisol比をとり、これが高値をとった場合のみ再採血を要請するという方法で現在の高い再採血の割合を減らすことが出来ると考えられた。

文 献

- 1) Blankstein, J., Fujieda, K, Reyes, F. I. Faiman C and Winter, J. S. D: Cortisol, 11-desoxycortisol, and 21-desxycortisol concentrations in amniotic fluid during normal pregnancy. Am. J. Obstet. Gyn. 137: 781-784, 1980.
- 2) 高杉信男, 福士 勝, 荒井 修, 水嶋好清, 前田博之, 林 英夫, 松浦信夫, 藤枝憲二: 酵素免疫測定法による先天性副腎皮質過形成のマススクリーニング, 厚生省心身障害研究「マススクリーニングシステムに関する研究班」昭和58年度報告書, P 260-263, 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



研究目的

現在札幌市で実施している先天性副腎皮質過形成マススクリーニングにおいて異常児を発見するため、ろ紙血 170HP 値の Cut-off 値を 5ng/ml に設定している。しかしこの設定値において再採血率は約 1%近くあり、疑陽性者家族に心理的及び経済的負担がかかりマススクリーニング上の問題点として上げられる。この Cut-off 値をこえる値を示す要因として、ストレス、低出生体重及び児の未熟性が考えられる。それゆえこの高い再採血率を減らす方法として、第一に未熟児、低出生体重児に於て成熟新生児とは別の Cut-off 値を設定する(図 1)。第 2 には一律に Cut-off 値を現在の 5ng/ml から 10ng/ml に上げる(表 1)。第 3 に 170HP の測定とともに他の内因性ステロイドを測定するなどの方法が考えられる。しかし、第 1、第 2 点とも確診された本症患者がその新生児期にどの程度の 170HP 値をとるか知っておかねばならない。また Cut-off 値を高値に設定することで本症患者の見落としは許されない。そこで今回我々は他の内因性ステロイドである Cortisol をろ紙血で測定し、170HP/Cortisol 比をとることで再採血の割合を減少させうるのではないかと考え、以下の検討をおこなった。