

EIA を用いた17-OH-P 測定による CAH (21-水酸化酵素欠損症) の新生児マス・スクリーニング

— 静岡県西部地区における7カ月の経験について —

五十嵐良雄, 小川治夫, 疋田良典, 遠矢和彦

(浜松医大小児科)

山下裕次, 石黒 満 (静岡県予防医学協会)

研究目的

先天性副腎皮質過形成 (CAHと略)の大部分を占める21-水酸化酵素欠損症の新生児マス・スクリーニングは, 乾燥濾紙血液中の17 α -ヒドロキシprogesterone (17-OHP) の測定により行われている。静岡県西部地区では, 昭和59年3月まで東京医科歯科大学の下澤らと協同して, RIA法による17-OHP測定を行ってきた。昭和59年4月以降はEIA法による17-OHP測定を静岡県予防医学協会で行った。現在までの7カ月間に8,497名の新生児が一次スクリーニングを受けたが, 患者の発見には至っていない。この間の測定値についての検討を以下に報告する。

研究方法

EIA法による乾燥濾紙血液中17-OHPの測定には栄研ICL製の測定キットを使用した。直接法は乾燥濾紙血液3mmディスク1枚を採り, horse radish peroxidase (HRP) で標識した17-OHPと抗17-OHP-3-carboxymethyloxime-BSA血清を加え, 室温で一夜放置後第二抗体 (抗家兎IgG山羊抗体) 固相化ビーズを加え4℃で一夜放置。反応したビーズをTween-20 saline 溶液で洗浄し基質 (3-p-hydroxy phenyl propionic acid) と過酸化水素を加え, 37℃ 1時間放置後反応停止液 (NaN₃ · NaOH) を加え蛍光を測定した。抽出法は乾燥濾紙血液3mmディスク2枚を採り, 生理食塩水0.5mlで4℃一夜抽出後ジエチルエーテル4mlを加え5分間振盪。エーテル層2mlを分取し蒸発乾固, その後は直接法と同様に操作した (図1)。二次精検については昨年疋田らが報告した方法にておこなった。

研究結果

1) Disc 17-OHP の測定

当初5万倍希釈された酵素標識17-OHP試薬を使用し3,650検体を測定した。その後蛍光強度の劣化が認められたため, 昭和大学辻教授より分けて頂いた10倍希釈の試薬に変更した。この試薬は凍結保存し, 用時4万倍に希釈して使用し2,710検体を測定した。更に現在の栄研ICL製の測定キットに変更した。この試薬は酵素標識17-OHP試薬を500倍希釈にて凍結保存してあり

用時 5 万倍希釈にて使用した。この試薬にて 2,134 検体を測定した。上述 3 種の試薬を用いたヒストグラムには有意の差は認められなかった (図 2)。直接法の結果は 60pg/disc 以内に 80% の検体が含まれ、更に抽出法にて 90% の検体が 20pg/disc 以下となった。

2) 二次精検

二次検診者は 65 名であったが、直接法にて 90パーセントタイルの検体を抽出法にて測定し、90パーセントタイルあるいは 50pg/disc 以上を 二次精検の対象とした。

図 3 に初回採血における直接法と抽出法の相関を示した。 $r = 0.578$, $p < 0.05$ にて有意の相関を示した。また図 4 に二次採血における濾紙血液 EIA 直接法と同一血清 RIA 法による測定値の相関を示したが、 $r = 0.430$, $p < 0.05$ にて有意の相関を示した。初回採血抽出法と二次採血における血清 RIA 法の相関を図 5 に示した。血清 RIA 法で 200ng/dl 以上の検体は初回採血 EIA 抽出法では 40pg/disc 以上となった。また出生体重と濾紙血 EIA 直接法測定値との相関は特に認められなかった。

考 案

一次採血の際の EIA 抽出法と二次検診の血清 RIA 法の測定値から推察すると、例数は少ないが血清 17-OHP 200ng/dl 以上を要経過観察とすると一次採血抽出法にて 40pg/disc 以上の検体を二次精検者とする と全例含まれることになる。リコール率を低下させるためには抽出法 40pg/disc を要二次精検者の基準にしてよいと思われ今後検討していく予定である。

文 献

1) 五十嵐良雄, 疋田良典他

：先天性副腎皮質過形成症 (21-hydroxylase 欠損症) の新生児マス・スクリーニング,
厚生省心身障害マス・スクリーニングに関する研究班,
昭和 58 年度研究報告書, 256 : 1984.

2) 五十嵐良雄, 下澤和彦他

：先天性内分泌代謝異常の新生児マス・スクリーニング,
産婦人科の世界 36 : 315-322, 1984.

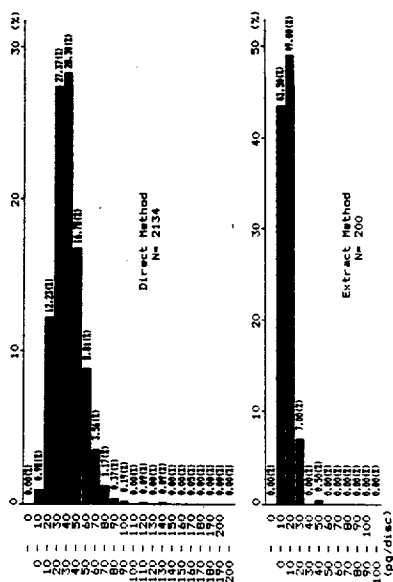
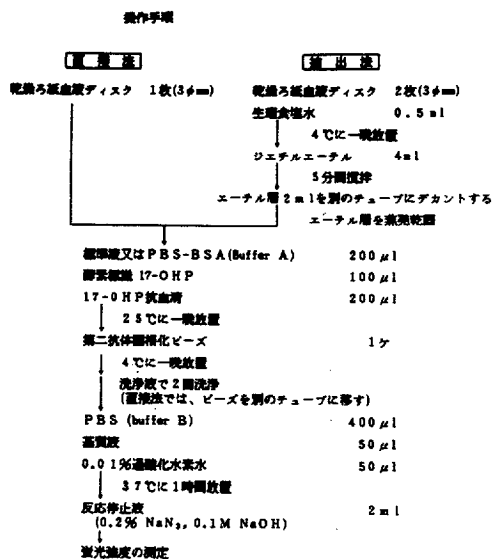


図1 Assay Procedure of Disc 17-OHP Enzymeimmunoassay 図2 Distribution of Disc 17-OHP Enzymeimmunoassay

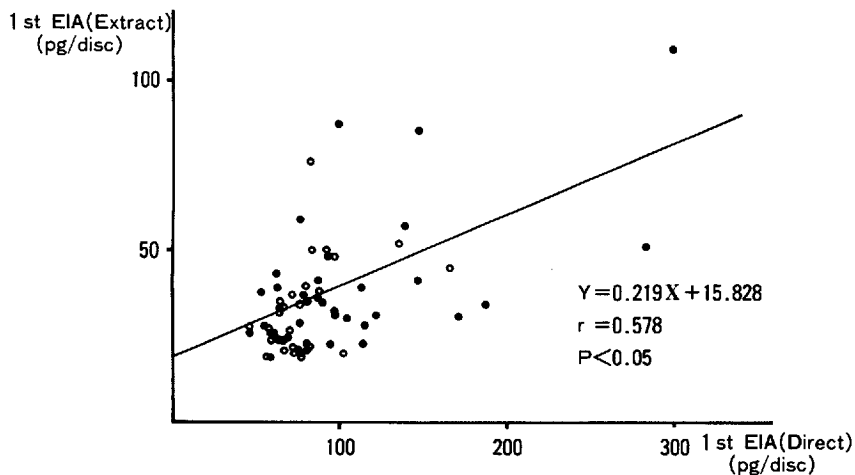


図3 Correlation between Direct & Ether Extracted Disc 17-OHP Values by EIA on First Screening

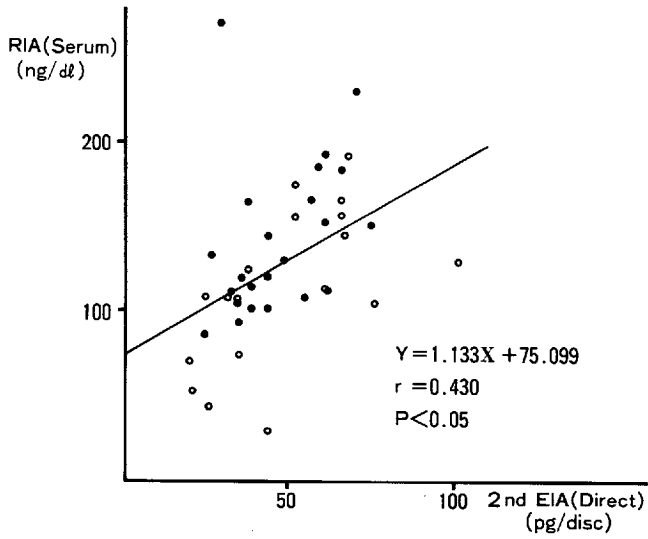


图4 相关性 between Direct Disc 17-OHP Values by EIA on Second Screening & Serum 17-OHP Values by RIA

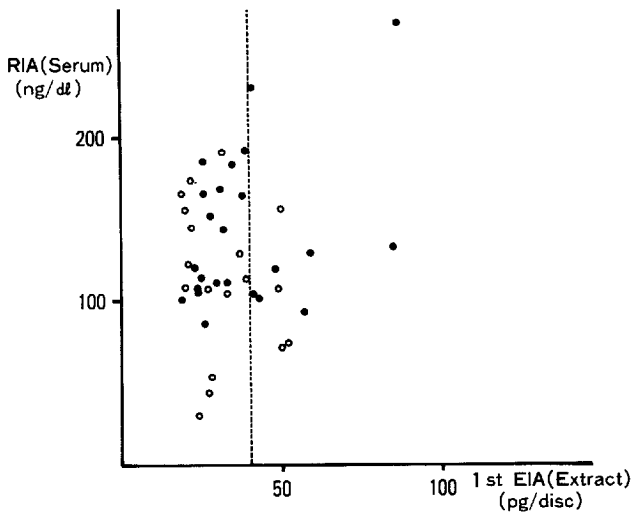


图5 相关性 between Ether Extracted Disc 17-OHP Values by EIA on First Screening & Serum 17-OHP Values by RIA



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

先天性副腎皮質過形成(CAH と略)の大部分を占める 21 ー水酸化酵素欠損症の新生児マス・スクリーニングは,乾燥濾紙血液中の 17 ーヒドロキシprogesterone(17-OHP)の測定により行われている。静岡県西部地区では,昭和 59 年 3 月まで東京医科歯科大学の下澤らと協同して,RIA 法による 17-OHP 測定を行ってきた。昭和 59 年 4 月以降は EIA 法による 17-OHP 測定を静岡県予防医学協会で行った。現在までの 7 ヶ月間に 8,497 名の新生児が一次スクリーニングを受けたが,患者の発見には至っていない。この間の測定値についての検討を以下に報告する。