

先天性副腎皮質過形成症マスキリーニングに関する研究

- I. 濾紙血17-OHP(EIA)における濾紙血資料の保存条件に関する検討
- II. CAH-high risk児および超未熟児における新生児期濾紙血17-OHP値の経過追跡について

国立小児病院内分泌代謝科 田苗綾子, 野崎佳枝, 坂井光子, 田中敏幸
埼玉小児医療センター 甲田直也
都立八王子小児病院 繁友憲郎

I. 保存条件と濾紙血17-OHP値

種々の保存条件下におけるEIA測定による濾紙血17 α -hydroxyprogesterone(17-OHP)値の2週間以内の変動について検索を行なった。

資料としては臍帯血清を蒸留水で10倍希釈し濾紙に浸透させ、その3mm discを用いた。測定方法は前処置としてmethanol/ethylether/ethyl acetate(50:45:5, V/V%)の混合液にて直接抽出後、荒川ら(昭和40)の方法に従い、酵素としてHRPを用い蛍光発色を測定した。保存条件としては、1) 20~25℃の室温にそのまま放置、2) 封筒に入れ室温保存、3) ビニール袋に入れ室温保存、4) 30℃の恒温槽にそのまま放置、5) ビニール袋に入れ4℃で保存、6) ビニール袋に入れ-20℃で保存、以上6条件に設定した。血清濾紙資料数については0時間は20 disc、その他は10 discずつ施行し、その平均値、SDを求めた。

結果として、図1に各実測値の平均値を0時間の平均濾紙血17-OHP値に対するパーセント値として示す。6条件とも類似の減少パターンを示し、3日目以降14日目まで最も減少度の低いのは“封筒に入れ室温保存”の条件であった。一方、2日目以降14日目まで最も減少度の高かったのは“30℃に放置”の条件であった。しかし、14日目における濾紙血17-OHP値は、これらの中で最良の条件下で56.4%、最悪にて49.3%を示し、両者に著しい差は認められなかった。6条件とも、1日目には約85%、5日目には約65%、14日目には約55%に減少しており、以上より、種々の保存様式および温度条件による減少度の差は小さく、むしろ、保存日数に減少度は影響を受けることが示唆された。しかしながら、直接抽出法では溶出過程を省略しており、濾紙繊維の水分による膨張過程が省かれ、日数を経た濾紙血資料の測定にあたっては実際の17-OHP値より低くでる可能性があり、測定までに日数を要する資料に当っては溶出が必要であると思われた。今後この点に関して検討して行く。

II. CAH-high risk 児と超未熟児の濾紙血17-OHP 値とその経過追跡

21-OH lase 欠損CAH 4例(塩喪失型(1), (2)の2例, 単純男性化型1例, non classical form 1例), 11 β -OH lase 欠損CAH 1例, 超未熟児2例について, 濾紙血17-OHP 値を測定した(直接抽出, EIA法)。

新生児マススクリーニング(ガスリーテスト)時の濾紙血余剰分を各県よりバックアップしてもらい, 保存濾紙血と, 発症または入院時の新鮮濾紙血について測定した。確定診断のためにはGCによる尿中アンドロジェン系ステロイド分析およびHPLCによる血中 Δ^4 ステロイド分析を施行した。

[結果]

1) 21-OH lase 欠損CAH児では新生児期の値は保存条件との関係を考慮する必要があるものの, CAHの病型や重症度に応じて巾広い変動を示した(表1)。

塩喪失型(1)は, 重症型で, 生後9日のガスリーテストの返却濾紙血では513 pg/disc, 発病入院時の新鮮濾紙血17-OHP 値は生後8日で1000 pg/disc, その時の血清17-OHP 値は, 58,000 ng/dl と異常高値を示した。

塩喪失型(2)は, 発病が34日と遅れており, (1)よりは軽症で色素沈着もほとんどなかった。患児のガスリーテストの返却濾紙血17-OHP 値は生後5日で32.1 pg/disc とあまり高値をとらず, 生後34日の新鮮濾紙血17-OHP 値は345 pg/disc で, その時の血清17-OHP 値は26,000 ng/dl であった。

単純男性化型は新生児期のものは入手不能であったが, 1才1カ月の入院時の濾紙血17-OHP 値は64.2 pg/disc でその時の血清17-OHP 値は4,600 ng/dl とさほど高いものではなかった。軽症と考えられた。

Non classical form の1例は兄が塩喪失型で, 患児は女児で羊水診断では正常羊水17-OHP 値を示し, 出生時外生殖器は正常女性型であるが, ガスリーテストの返却濾紙血17-OHP 値は128 pg/disc と高値を示した。3.5カ月後135 pg/disc, 血清17-OHP 値は3050 ng/dl であった。生下時より哺乳力低下, 発育不良, 発熱時低Na血症, 高K血症の塩喪失症状を示すため, また, 血清テストステロン, アルドステロン, 血漿レニン活性, ACTHの上昇があり, 一時的にlate-onset typeを示しているもので, 生後7カ月にはフロリネフと食塩投与下で血清17-OHP 値が低下してきている。将来cryptic typeになる可能性大である。

2) 11 β -OH lase 欠損CAH患児では, 生後21日のガスリーテストの返却濾紙血17-OHP 値は38.3 pg/disc であった。生後2カ月の濾紙血17-OHP 値は24.5 pg/disc, その時の血清17-OHP 値は510 ng/dl と高値ではなかった。

3) 超未熟児(在胎26週, 生下時体重750 g, 男児)のガスリーテスト返却濾紙血17-OHP 値は51.0 pg/disc であった。生下時体重2000 gの低生下時体重時の生後27日の濾紙血17-OHP

値は 13.3 pg/disc と正常値を示した。

4) 濾紙血 17-OHP 値の経過追跡(図 2) 未治療 21-OH lase 欠損重症型では 160~1000 pg/disc の間を変動し、軽症型では新生児期には超未熟児の値よりも低い値を示すが発症(塩喪失症状)と共に上昇してきた 1 例を経験した。

また、単純男性化型も軽症型で 1 才 1 カ月で入院した時に 64.2 pg/disc の値を示した。

いずれもハイドロコルチゾン他の治療にて急速に低下している。

Non classical form や 11 β -OH lase 欠損 CAH 児の値は経過中不変で正常よりは高値にあり、新生児マススクリーニングを 17-OHP 測定にする時、必ず陽性者の中に入ってくるので鑑別診断が必要である。

一方、超未熟児は 16.5 から 63.5 pg/disc の間の値を示し、これも陽性者として必ず拾いあげられる率が高い。生後 3 カ月後に正常化している。

5) 24 時間尿中アンドロジェン系ステロイド分析と濾紙血 17-OHP 値(表 2)をみると、新生児期のプレグナントリオール、トリオロンでは 21-OH lase 欠損症と 11 β -OH 型の鑑別が困難である。しかし、16-OH プレグネノロンと 16-OHDHEA を測定し、その比をみると、超未熟児では 16-OHP/16-OHDHEA は 1 以下で、CAH では 1 以上である。

21-OH lase 欠損では 2.5~9.3 とさらに大であったので鑑別に有用であった。

6) 血中 Δ^4 ステロイド分析は内標に 6 メチル-17-OHP を用い、東洋曹達 HPLC 装置使用にて行なった。図 3 は 21-OH lase 欠損 CAH 児の分析で、大きな 17-OHP ピークを見出し、11 β -OH lase 欠損 CAH 児では図 4 の如く DOC および $\Delta^4 \cdot A \cdot dione$ のピークをみとめ、両者の鑑別は容易であった。

[まとめ]

21-OH lase 欠損 CAH のマススクリーニングにおいては CAH の病型により、新生児期早期の濾紙血 17-OHP 値に大きな巾があることがわかった。また、超未熟児、11 β -OH lase 欠損 CAH、non classical 21-OH lase 欠損 CAH などの患者においても陽性となることがある。

未熟児の尿中アンドロジェン系としては 16-OH-DHEA が多く、CAH 群では 16-OHP が多く排泄され、16-OHP/16-OH-DHEA 比で CAH を拾い出すことができた。CAH の酵素欠損部位の異なる病型の確定診断には、HPLC による血中ステロイド分析が迅速、かつ血清の 0.1 ml の少量で多くの情報が得られ、有用と思われた。

[文献]

- 1) Schackleton, C.H.L. Mitchell, F.L., and Farguhar, J.W. : Difficulties in the diagnosis of the adrenagenital syndrome in infancy. *Pediatrics*, 49:198, 1972.
- 2) Honour, J.W., Anderson, J.M., and Shackleton, C.H.L. : Difficulties

in the diagnosis of congenital adrenal hyperplasia in early infancy : the 11 β -hydroxylase defect. Acta Endocr., 103 : 101, 1983.

- 3) 田苗綾子, 吉永裕子, 香川二郎: HPLC による血中ステロイド分離に関する基礎的検討. 厚生省特定疾患「副腎ホルモン産生異常症」調査研究班, 昭和59年度報告書, 1985.

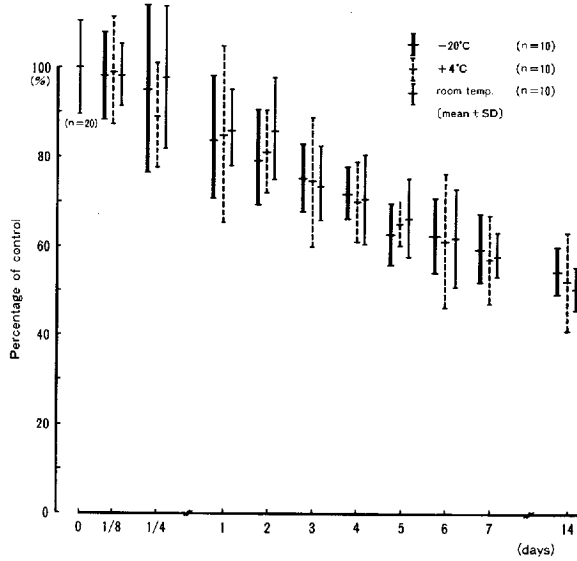


図 1 Daily changes of disc 17-OHP values under -20°C , $+4^{\circ}\text{C}$ and room temperature conditions (by EIA).

表 1 The relationship of disc 17-OHP between at the neonatal screening and the onset of diseases

Patients	Neonatal Screening		At the Onset		
	Age (days)	Disc 17-OHP (pg/tube)	Age (days)	Disc 17-OHP (pg/tube)	S-17-OHP (ng/dl)
21-OHlase def.					
CAH					
(1)salt-losing	9	513	8	1,000	58,000
(2)salt-losing	5	32.1	34	345	26,000
simple			395	64.2	4,900
non classical	5	128	105	135	3,050
11 β -OHlase def.					
CAH	21	38.3	60	24.5	510
Very low birth weight infant	7	51			
Low birth weight infant	27	13.3			

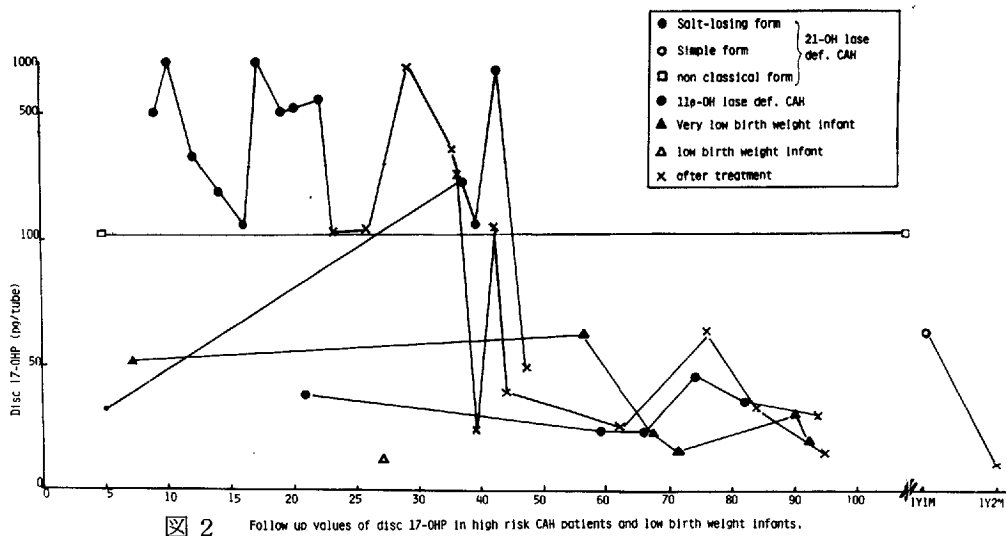
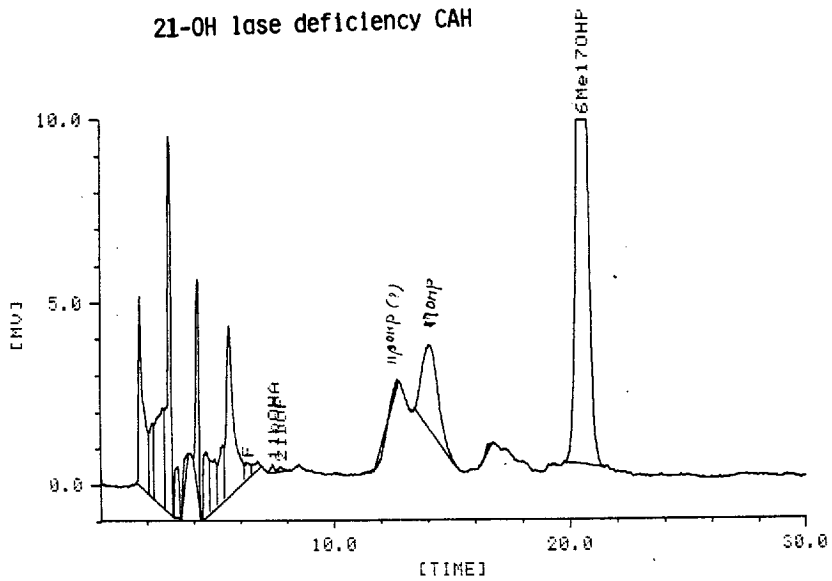
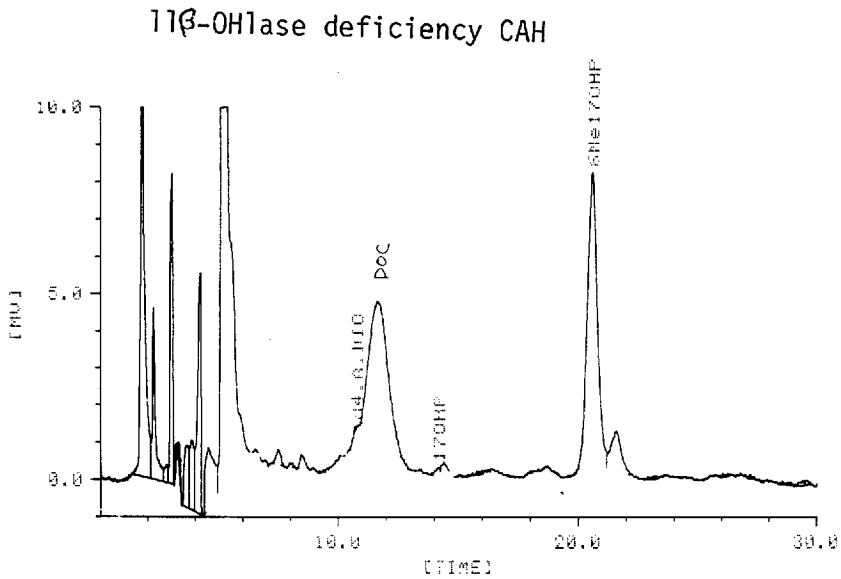


表 2 24時間アンドロジェン系ステロイド分析とDisc17 α -OHP値

		日令 (日)	Disc 17 α -OHP (Pg/tube)	16-OHP (ng/day)	16-OHDHEA (ng/day)	$\frac{16-OHP}{16-OHDHEA}$	Pts (ng/day)	Pts-one (ng/day)
CAH	21-OH lase欠損 Case 1	0	—	9.07	0.98	9.3	0.27	0.99
	Case 2	9	513	11.40	2.52	4.5	0.89	1.00
	Case 3	34	900	1.58	0.63	2.5	1.80	1.50
	11 β -OH lase欠損 Case 1	43	54.0	12.19	6.28	1.9	0.27	1.7
超未熟児	Case 1	90	41.0	2.81	4.69	0.6	0.13	0.12



☒ 3 Pattern of serum steroid hormone in a patient with 21-OH-lase deficiency CAH at the 9 days after birth.



☒ 4 Pattern of serum steroid hormone in a patient with 11β-OH-lase deficiency CAH at the 31 days after birth.



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



〔まとめ〕21-OH lase 欠損 CAH のマススクリーニングにおいては CAH の病型により, 新生児期早期の濾紙血 17-OHP 値に大きな巾があることがわかった。また, 超未熟児, 11-OH lase 欠損 CAH, non classica 121-OH lase 欠損 CAH などの患者においても陽性となることがある。

未熟児の尿中アンドロジェン系としては 16OH-DHEA が多く, CAH 群では 16-OHP が多く排泄され, 16-OHP/16-OH-DHEA 比で CAH を拾い出すことができた。CAH の酵素欠損部位の異なる病型の確定診断には, HPLC による血中ステロイド分析が迅速, かつ血清の 0.1ml の少量で多くの情報が得られ, 有用と思われた。