

先天性胆道閉鎖症のマススクリーニング

一尿浸染濾紙 (Hawkinson-Watson法) および血液浸染濾紙 (高感度迅速HPLC法) による検討一

入戸野博, 佐々木栄一, 藪田敬次郎, 山内芳雄*, 富田 勉*, 千田正昭*
順天堂大学小児科, 日本分光工業㈱*

研究目的

先天性胆道閉鎖症 (congenital biliary atresia: CBA) の早期発見のために, 尿浸染濾紙中のビリルビン測定および血液浸染濾紙中の抱合型1次胆汁酸値の測定によってマススクリーニングをする方法を検討した。

研究方法

1) 尿浸染濾紙を用いた尿中のビリルビン簡易半定量は, Hawkinson-Watson法によって行った。今回は前年の基礎実験の結果をもとに, 産婦人科医の協力により, 新生児の産科退院時に尿浸染用の濾紙を家族に渡した。生後25~30日目頃に尿を滴下して得られた濾紙は, 自然乾燥後に当研究室に郵送され, これらを対象として用いた。図1および2は家族に対する説明書および尿の採取方法であり, 図3は尿浸染濾紙, 図4は返信用封筒および図5は結果を知らせる葉書である。

2) 血液浸染濾紙を用いた抱合型1次胆汁酸の測定は, 直径3mmのディスク3枚をとり, 高感度迅速HPLCで測定した。血液浸染濾紙中の胆汁酸の回収率を検討するためにGCA, TCA, GCDCAおよびTCDCAがそれぞれ50 nMol/mlを含む溶液を調製した後これらを混合し, この溶液をヒト全血1mlに0, 20, 50, 100, 150および200 μ lをそれぞれ添加後に濾紙に滴下して自然乾燥させた。この濾紙より直径3mmのディスク3枚を採取し, 100 μ lのMeOHに浸し, 60°C 1時間water bath中で振盪して胆汁酸の抽出を行った。HPLCへの注入は30 μ lを用いた。HPLCの条件は表1に示す。autosamplerおよびdata processorを組み込み, 大量検体の処理を行った。対象は生下時体重が1,000g未満の未熟児7例, 1,000~1,500g 10例, 2,500g以上の成熟児10例および術後CBA経過不良例3例(症例① 7M, 女児, ② 2Y 1M, 女児, ③ 2Y 8M, 女児)の計30例の血液浸染濾紙を用いた。

結 果

1) 尿浸染濾紙の郵送による方法

①昭和59年4月1日~昭和60年1月25日までに返送された尿浸染濾紙の総数は805枚であった。
②このうち黄疸(+)と記載されたものは72例であり, 灰白色便(+)と記載されたものは13例(全て誤記入)であった。
③ビリルビンの定性反応は1例(便の混入)を除き, 他は全て陰性であった。

2) 血液浸染濾紙法

①人工的に作製した各種胆汁酸濃度の濾紙中のGCA+TCA値およびGCDCA+TCDCA値は

ほぼ直線を示した。②1次胆汁酸の分析では、GCAとTCAのピークが重なり、GCDCAおよびTCDCAの計3つのピークを示した。③1検体の測定時間は15分であった。④濾紙中の胆汁酸値は、表2に示すように生下時体重が少ないほど高値であった。また術後CBA3症例では著しい高値を示した。

考 案

尿浸染濾紙の郵送によるマスキリーニングは安価であり、手技が簡単で特別の装置も必要としない利点がある。今回の実際のマスキリーニングの試みより、郵送による本システムは簡単に実施できるものと思われた。

またHPLCによる血液浸染濾紙を用いた方法では、生下時体重によって胆汁酸値が異なることが明らかとなった。このために、濾紙中の胆汁酸値でマスキリーニングを実施する場合には、生下時体重による補正を行う必要性を認めた。今後は症例数を増して更に検討する予定である。またCBAの血液浸染濾紙を入手し、正常児と比較検討してみたい。

(尿浸染濾紙の郵送にご協力いただいた多くの産科医に深謝します。またウロペーパーB‘栄研’をご提供いただいた栄研化学㈱に深謝します。)

参考文献

- 1) Sasaki, H.: Development of Bile Acid Metabolism in Neonates during Perinatal Period.
Part 2: Mass screening of congenital biliary atresia by radioimmunoassay using dried blood spot. Acta Paediatr. Jpn. 26(2): 161 ~ 168, 1984.
- 2) 入野博: 血液浸染濾紙を用いた先天性胆道閉鎖症の早期スクリーニング, 小児科, 22: 18, 1981.
- 3) 入野博: 先天性胆道閉鎖症のマスキリーニング, 小児科, 25(5): 609 ~ 610, 1984.
- 4) 松井陽ほか: 酵素蛍光法による乾燥血液ろ紙中の総胆汁酸定量法, 肝臓, 24: 1454, 1983.

真向 3798

No. 3798

113-00

子どもの氏名
子ども生年月日
尿をつけた日
生 後
病歴者氏名
住 所
電話番号
尿尿の際に臭いがあるか(有・無)
生まれてから1度でも白っぽい(灰白色)または
グリーン色の便がでたことがあるか(有・無)
生まれた病院名

先天性胆道閉鎖症尿検査結果通知

あなたのお子さんは、今回の尿検査の結果 でした。

昭和 年 月 日

東京都文京区本郷2-1-1
順天堂大学医学部小児科
胆汁酸代謝研究室
電話 03-813-3111 (内)2543

東京都文京区本郷二一
順天堂大学小児科
胆汁酸代謝研究室 御中

図3

図4

図5

先天性胆道閉鎖症検査を希望される方へ

先天性胆道閉鎖症とは、生まれつきまたは生後に胆管が閉鎖している状態で、黄疸が長く続き、2か月以内に手術が必要な疾患です。

わが国では、毎年かなりの子どもがこの病気で亡くなっていますが、幸いにして、早期発見することができれば、高い治癒率を上げることができますので、次の方法で尿検査を受けようとおすすめします。

1. 生後25～30日になったら、裏面「尿の採り方」を参考に試験ろ紙に尿をつけ、自然にかわかしした後、すぐ送るようにしてください。
なお、子ども氏名等必要事項は、ボールペンで記入してください。
2. 結果通知用封筒に保護者の住所・氏名・郵便番号を記入し、切手を貼って試験ろ紙と同封の上、順天堂大学小児科に送ってください。

尿紙 子どもの氏名 子ども生年月日 尿をつけた日 生後 日 保護者氏名 住所 電話番号 ・尿採取時に黄疸があるか (有、無) ・生まれてから1度も白っぽい(灰白色)またはクリーム色の便が出たことがあるか (有、無) 生まれた病院名
尿を円筒いばいに つける。

3. ろ紙を送ってから1か月たっても結果通知のこない場合は、下記にお問い合わせください。

東京都文京区本郷2-1-1
 順天堂大学医学部小児科
 胆汁酸代謝研究室
 電話 03 813 3111 (内3325)
 代表 入野 博
 ことの

☒1

☒2

表1

column	: Bilepak III (0.46φ×5.0cm)
flow rate	: 0.6ml/min
eluent	: CH ₃ CN/CH ₃ OH/30mMCH ₃ COONH ₄ (pH 6.8) = 25/25/50
column temp	: 40°C
reagent	: NAD ⁺
flow rate	: 1.0ml/min

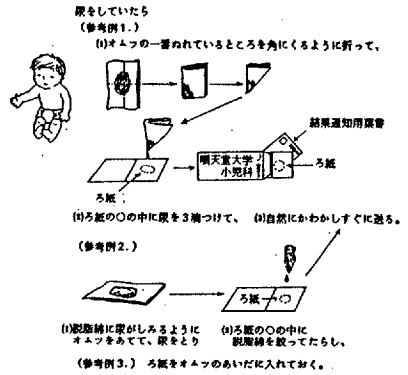
表2

血液浸染濾紙中の胆汁酸値 (pMol/disc)

	GCA+TCA	GCDCA	TCDCA	Total
1,000g未満 (n=7)	5.63±5.30	1.54±1.31	13.13±13.93	20.27±20.40
1,000g~1,500g (n=10)	8.44±8.96	2.58±1.64	7.41±5.85	18.35±11.80
2500g以上 (n=10)	3.74±5.12	0.56±0.75	1.99±1.48	6.31±6.07
術後CBA症例 1	61.8	78.8	105.0	245.6
〃 2	145.8	42.5	52.5	240.9
〃 3	45.8	87.5	42.5	175.8

尿のとり方

1. 尿のとり方

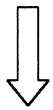


2. 注意事項

- ろ紙につける尿には、便が胞体に混じらないようにしてください。反応が弱性となります。
- 尿を飲んでいるときは、止めてからにしてください。
- もし、尿を止めることができないときは、そのことをろ紙に書いてください。
- この検査は、赤ちゃんの尿をしらべることによって、異常を発見しようとするものですが、これによって100%異常が発見できるわけではありません。
- また、この検査の性質上、今回の検査では異常がみられなくても検査の後に発病することもあります。



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



研究目的

先天性胆道閉鎖症(congenital biliary atresia:CBA)の早期発見のために,尿浸染濾紙中のビリルビン測定および血液浸染濾紙中の抱合型1次胆汁酸値の測定によってマススクリーニングをする方法を検討した。