

先天性副腎皮質過形成マス・スクリーニングのカットオフ値の検討 (分担研究：今後開発すべきスクリーニング種目の検討)

松浦信夫¹⁾、藤枝憲二¹⁾、福土 勝²⁾、高杉信男²⁾

要約 先天性副腎皮質過形成の新生児スクリーニングにおけるカットオフ値について検討を行った。17-OHP の単独測定では抽出法で 8~10ng/ml、直接法で 35~40 ng/ml が妥当であり、Cortisol 測定を併用する場合は直接法 17-OHP の 97パーセント以上の検体を 17-OHP/Cortisol 比 0.3 をカットオフ値とすることにより、スクリーニングが可能である。

見出し語：CAH, Cut-off point

研究方法

1) 測定方法

17 α -hydroxyprogesterone (17-OHP) と Cortisol の測定は既報の第 2 抗体固体化マイクロプレートを用いる酵素免疫測定法 (ELISA) により行った。^{1,2,3)} また、17-OHP の測定では乾燥濾紙血液を直接測定する方法 (直接法) とエーテル抽出を行ってから測定する方法 (抽出法) の両者について行った。

2) 対象

対象とした正常新生児は生後 4~10日に採血された乾燥濾紙血液とし、抽出法では昭和 60年 4月から昭和 61年 1月に採血された 15,905 例 (低出生体重児 716 例を含む)、直接法では昭和 62年 4月から 12月までに採血された 13,286 例 (低出生体重児 701 例を含む) であり、17-OHP/Cortisol 比の算出のための Cortisol の測定は直接法による 75 回の測定で 97パーセント以上となった 447 例 (低出生体重児

160 例を含む) である。21-水酸化酵素欠損症 (21-OHD) の未治療検体はスクリーニングで発見された 8 例 21 検体と他医療機関より測定依頼された 4 例 6 検体の併せて 27 検体を対象とした。

3) カットオフ値の検討項目

17-OHP の抽出法と直接法ともにカットオフ値の変化により呼出し率がどの程度減少するかを検討し、21-OHD 患児の 17-OHP 値との比較を行った。17-OHP/Cortisol 比⁴⁾についても比を 0.2 から 0.4 まで変化させて呼出し率の減少の割合を検討し、21-OHD 患児のそれと比較した。

4) 新しく作製した抗 Cortisol 抗体の検討

全国的なスクリーニングが開始されたときに供給を可能とするため自家作製した Cortisol-6-CMO-BSA を抗原とする抗体を作製し、17-OHP/Cortisol 比への応用が可能かどうかについても検討した。

1) 北海道大学医学部小児科 (Dept. of Pediatrics, Hokkaido Univ., School of Medicine)

2) 札幌市衛生研究所 (Sapporo City Institute of Public Health)

研究結果

1) 抽出法17-OHP測定によるスクリーニングのカットオフ値と呼出し率の関係(表1)

抽出法17-OHP値のカットオフ値を5 ng/mlから10 ng/mlまで1 ng/ml毎に変えると、呼出し率は0.92%から0.18%まで減少した。この中で低出生体重児は全呼出し例の約 $\frac{1}{3}$ から $\frac{1}{2}$ を占めていた。

2) 直接法17-OHP測定によるスクリーニングのカットオフ値と呼出し率の関係(表2)

直接法17-OHPのカットオフ値を20 ng/mlから40 ng/mlまで5 ng/ml毎に変えると、呼出し率は3.15%から0.12%まで減少した。この中で低出生体重児は全呼出し例の約 $\frac{1}{3}$ を占めていた。

一方カットオフ値の各測定毎の平均値+3 SDおよび97パーセンタイル値とすると、呼出し率はそれぞれ1.22%と3.20%となり、低出生体重児が約 $\frac{1}{3}$ を占めていた。

3) 17-OHP/Cortisol比によるスクリーニングのカットオフ値(表3)

75回の直接法17-OHPの測定で97パーセンタイル以上となった447例(3.20%)の17-OHP/Cortisol比を0.2から0.4まで0.05毎に変えると、呼出し率は0.63%から0.06%となり直接法単独よりも $\frac{1}{3}$ から $\frac{1}{50}$ にまで減少し

た。さらに低出生体重児の割合も $\frac{1}{3}$ から $\frac{1}{5}$ となった。

4) 21-OHD患児の17-OHPおよび17-OHP/Cortisol比(表4)

治療前の21-OHD患児の抽出法17-OHP、直接法17-OHPおよび17-OHP/Cortisol比の範囲は食塩喪失型8例17検体で、それぞれ58.7~550 ng/ml、98.1~1374 ng/mlおよび2.10~17.98であり、単純男性化型4例10検体では、それぞれ14.1~134.7 ng/ml、67.8~575 ng/mlおよび0.43~3.11であった。

5) 新しく作製した抗Cortisol抗体の検討

表5に従来から使用している抗体と今回作製した抗体の特異性を示した。両抗体を使用したときのそれぞれの標準曲線は、感度および測定範囲ともに同等であった。

表6に正常新生児1000例と21-OHD患児の両抗体で測定したCortisol値、および17-OHP/Cortisol比を示した。正常新生児および21-OHD患児ともにCortisol値は新しい抗体で低値を示しており、17-OHP/Cortisol比は正常新生児で0.06~1.05、食塩喪失型で2.55~22.13、単純男性化型で1.69~4.77と高値となったが、正常新生児と21-OHD患児の判別は従来と同様に可能であった。

表1

Cut-off points (Extract 17-OHP ng/ml)	No. of recalled infants		
	Total (n=15,905)	Normal infants (n=15,189)	LBWI (n=716)
5	147(0.92%)	92(0.61%)	55(7.68%)
6	93(0.58%)	51(0.33%)	42(5.87%)
7	64(0.40%)	35(0.23%)	29(4.05%)
8	54(0.34%)	27(0.18%)	27(3.77%)
9	34(0.21%)	18(0.12%)	16(2.23%)
10	28(0.18%)	15(0.10%)	13(1.82%)

表2

Cut-off points (Direct 17-OHP ng/ml)	Total (n=13,987)	No. of recalled infants	
		Normal infants (n=13,286)	LBWI (n=701)
20	491(3.51%)	320(2.41%)	171(24.39%)
25	153(1.09%)	104(0.78%)	49(7.00%)
30	66(0.47%)	41(0.31%)	25(3.57%)
35	32(0.22%)	18(0.14%)	14(2.00%)
40	17(0.12%)	12(0.09%)	5(0.71%)
mean + 3 SD	171(1.22%)	121(0.91%)	45(6.42%)
97 percentile	447(3.20%)	287(2.16%)	160(22.8%)

表3

Cut-off points (Direct 17-OHP : 97 percentile & 17-OHP/Cortisol radio)	Total (447/13,987)	No. of recalled infants	
		Normal infants (287/13,286)	LBWI (160/701)
0.20	88(19.68%/ 0.63%)	60(20.91%/ 0.45%)	28(17.50%/ 3.99%)
0.25	54(12.01%/ 0.39%)	34(11.85%/ 0.26%)	20(12.50%/ 2.85%)
0.30	36(8.05%/ 0.26%)	24(8.36%/ 0.18%)	12(7.50%/ 0.43%)
0.35	15(3.36%/ 0.11%)	12(4.18%/ 0.09%)	3(0.88%/ 0.43%)
0.40	8(1.79%/ 0.06%)	8(2.79%/ 0.06%)	0

表4

	Direct 17-OHP (ng/ml)	Direct cortisol (ng/ml)	17-OHP/cortisol	Extract 17-OHP (ng/ml)
Normal infants (n=1,000)	11.0 ± 4.3* 3.4 - 38.3**	75.7 ± 36.2 10.0 - 242.3	0.16 ± 0.06 0.05 - 0.39	1.5 ± 0.9 0.1 - 6.7
21-OH deficiency Salt losing (n=17)	703.2 ± 387.5 98.1 - 1374	115.7 ± 79.9 61.5 - 199.5	6.64 ± 4.31 2.10 - 17.98	290.7 ± 147.9 58.7 - 550
Simple virilizing (n=10)	247.9 ± 165.8 67.8 - 575	133.4 ± 56.8 55.9 - 212.9	1.98 ± 0.85 0.43 - 3.11	75.1 ± 38.3 14.1 - 134.7

* mean ± SD ** range

表5

Steroids	Cross reactivity(%)	
	routinely used antibody	Newly prepared antibody
Cortisol	100.0	100.0
Cortisone	10.0	8.5
11-deoxycortisol	26.8	0.4
21-deoxycortisol	11.4	14.2
17-hydroxyprogesterone	0.1	0.2
Corticosterone	8.9	11.5
11-deoxycorticosterone	0.1	0.1
Androstenedione	0.1	0.8
Testosterone	0.1	0.1
Progesterone	0.1	0.1

表6

	cortisol-1 (ng/ml blood)	cortisol-2 (ng/ml blood)	ratio-1	ratio-2
Normal infants	75.7 ± 36.2* 10.0 - 242.3**	44.1 ± 32.4 4.1 - 207.0	0.16 ± 0.06 0.05 - 0.39	0.33 ± 0.16 0.06 - 1.05
21-OH deficiency	115.7 ± 79.9	70.5 ± 27.1	6.64 ± 4.31	7.80 ± 4.60
Salt losing	61.3 - 199.5	54.3 - 198.8	2.10 - 17.98	2.55 - 22.13
Simple virilizing	133.4 ± 56.8 55.9 - 212.9	54.6 ± 22.3 30.5 - 105.5	1.98 ± 0.85 0.43 - 3.11	4.65 ± 2.53 1.69 - 4.77

cortisol-1: routinely used antibody, cortisol-2: newly prepared antibody
* mean ± SD, ** range

考察 マス・スクリーニングのカットオフ値は偽陽性 (false positive) をできるだけ少なくし、偽陰性 (false negative) を皆無とするように設定しなければならないが、実際にスクリーニングを行うと正常者と患者の分布が重複するのが一般的であり、発生頻度や呼出し率等を考慮して検討されなければならない。

我々が昭和57年から行っている先天性副腎皮質過形成のスクリーニングでのカットオフ値は、抽出法17-OHP、直接法17-OHPおよび17-OHP/Cortisol比いずれもかなり見逃しを少なくするよう設定されており、呼出し率も0.5%以上と高くなっている。しかし、これまでのスクリーニングで11万人の新生児から8例の患児を発見し、見逃し例は経験していない。そこで、これまでの正常児と患児のデータおよびカットオフ値による呼出し率の変化について検討してみた。抽出法17-OHPでは8~10ng/mlで呼出し率が0.34%から0.18%、直接法17-OHPでは35~40ng/mlで呼出し率0.22%から0.12%であり、ほぼ妥当な呼出し率が得られ、17-OHP値もこれまでに経験した患児のそれよりも十分に低い値であることから十分にスクリーニング可能と思われた。しかし、より軽症の患児での17-OHP値がどの程度まで低下するかはさらに症例を増加させる必要があることから、直接法での17-OHP値のカットオフ値を各アッセイ毎の97パーセントイル以

上(17-OHP値で20~25ng/mlに相当)となった3.2%についてCortisolを測定し17-OHP/Cortisol比を算出して、そのカットオフ値を0.2、0.25、0.3、0.35、0.4と設定すると、呼出し率を17-OHP単独測定よりも1/2から1/50に減少させることができ、かつ、患児の17-OHP/Cortisol比は0.43が最低の値であることからカットオフ値を0.3として呼出し率を0.26%と妥当な値にできることが判明した。さらに、今回新たに開発した抗Cortisol抗体を用いても同様な結果が得られたことから全国的スクリーニングの開始にも対応できるものと考ええる。

文献

- 1) 福士 勝, 荒井 修, 水嶋好清, 高杉信男, 藤枝憲二, 松浦信夫: 先天性副腎皮質過形成(21-水酸化酵素欠損症)のマス・スクリーニングに関する研究, 第1報, 乾燥汚紙血液17 α -hydroxyprogesteroneの酵素免疫測定法の基礎的検討と新生児マス・スクリーニングへの応用, 日内分泌会誌, 62:683-696, 1986.
- 2) 福士 勝, 荒井 修, 水嶋好清, 高杉信男, 藤枝憲二, 松浦信夫: 先天性副腎皮質過形成(21-水酸化酵素欠損症)のマス・スクリーニングに関する研究, 第3報, マイクロプレートを用いる乾燥汚紙

血液 17α -hydroxyprogesteroneの酵素免疫測定法の開発, 日内分泌会誌, 63:113-122, 1987.

- 3) 福士 勝, 荒井 修, 水嶋好清, 高杉信男, 藤枝憲二, 松浦信夫: 先天性副腎皮質過形成(21-水酸化酵素欠損症)のマス・スクリーニングに関する研究, 第4報, マイクロプレートを用いる乾燥濾紙

血液Cortisolの酵素免疫測定法の開発と新生児マス・スクリーニングへの応用, 日内分泌会誌, 63:205-214, 1987.

- 4) 藤枝憲二, 松浦信夫, 福士 勝, 高杉信男: 濾紙血Cortisolの測定と先天性副腎皮質過形成マス・スクリーニングへの応用, 医学のあゆみ, 138:989-990, 1986.

Abstract

Evaluation on Cut-Off Point of 17-OHP and 17-OHP/Cortisol Ratio in CAH Mass-screening

Nobuo Matsuura, Kenji Fujieda, Masaru Fukushi and Nobuo Takasugi

Department of Pediatrics, Hokkaido University School of Medicine and Sapporo City Institute of Public Health, Sapporo, Japan

In the screening, cut-off point should be set not to miss true patient and not to recall false positive cases. Therefore, various cut-off point levels were evaluated to get the most reasonable one in the actual CAH screening settings.

These analysis showed that it is more appropriate to use $8-10\text{ng}/\text{ml}$ in extracted method and $35-40\text{ng}/\text{ml}$ in direct method when 17-OHP measurement alone is used in the screening.

If cortisol measurement in addition to 17-OHP is used, it is shown that 17-OHP/Cortisol ratio should be set at 0.3 level.



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



要約 先天性副腎皮質過形成の新生児スクリーニングにおけるカットオフ値について検討を行った。17-OHP の単独測定では抽出法で 8~10ng/ml、直接法で 35~40ng/ml が妥当であり、Cortisol 測定を併用する場合は直接法 17-OHP の 97 パーセントイル以上の検体を 17-OHP/Cortisol 比0.3をカットオフ値とすることにより、スクリーニングが可能である。