

## 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone の測定法の改良に関する検討 —前処理法による測定値の相違と スクリーニングへの応用の可能性—

( 分担研究：副腎過形成症スクリーニング  
の実施に伴う諸問題の検討 )

高杉 信男<sup>1)</sup>、福士 勝<sup>1)</sup>、藤枝 憲二<sup>2)</sup>、松浦 信夫<sup>2)</sup>

**要 約：** 副腎過形成症スクリーニングにおける患児，要再検査児，正常児を対象として，直接法-ELISA，抽出法-ELISA，HPLC-ELISA の 3 法によりその 17-OHP 値の比較を行い，スクリーニングでの有用性について検討した。

17-OHP 値はいずれの対象群でも，HPLC，抽出法，直接法の順でより高値を示した。しかし，いずれの方法を用いても患者群と要再検査児群の 17-OHP 値の分布を完全に識別することはできなかった。従ってスクリーニングでは最も簡便な直接法でも適切なカットオフ値を設定することにより効率的に行うことが可能と考えられた。

**見出し語：** 副腎過形成症，スクリーニング，ELISA

### 研究方法： 1) 対 象

スクリーニングで発見された CAH 患児 6 例，昭和 63 年 4 月から 12 月までのスクリーニングで再検査の対象となり，直接法で 50 ng/ml 以上または抽出法で 5 ng/ml 以上を示した 7 例，正常児 7 例の合計 20 例を検討の対象とした。

### 2) 測定方法

17-OHP の測定は第 2 抗体固相化マイクロプレートを用いる ELISA 法 (エンザプレート 17 $\alpha$ -OHP：チバ・コーニング社) を用いて行った<sup>1)</sup>。

濾紙血液の前処理はエーテル抽出後 ELISA を行う抽出法-ELISA，エーテル抽出後さらに，HPLC による分画を行う HPLC-ELISA，

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

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

の2つの方法を用い、さらにマス・スクリーニングで行っている直接-ELISAも同時に行った。なお、HPLCの条件は既報に従って行った<sup>2)</sup>(図1)。

## 研究結果： 1) HPLC-ELISA

HPLCによる17-OHPの保持時間は16.32分であり、その変動係数は0.5%以下と安定していた。標準17-OHP濾紙血液のHPLC分画の17番を用いてELISAを行うと再現性の良い標準曲線が得られた(図2)。そこで、HPLC-ELISAによる定量は、標準濾紙血液と検体を同一の処理を行いそれぞれの17番目の分画を用いて行った。

## 2) HPLC分画の17-OHP-ELISAによる吸光度のパターン

各検体のHPLC分画1~60番までを17-OHP-ELISAにより測定してその吸光度の変化を観ると、正常新生児および要再検査患児では17番以外にピークが認められないが、CAH患児では17番の他に9番にもピークが認められた。吸光度は正常児、要再検査児、CAH患児の順で低値(17-OHPは高値)となった。

## 3) 直接法、抽出法、HPLC-ELISAによる17-OHP値(表1)。

正常新生児7例では直接法ELISAで10.0~38.2ng/ml、抽出法-ELISAで1.0~3.8ng/ml、HPLC-ELISAで0.2~1.1ng/mlであった。要再検査児7例では直接法ELISAで50.5~198ng/ml、抽出法-ELISAで5.3~40.4ng/ml、HPLC-ELISAで1.7~19.1ng/mlであった。CAH患児6例では直接法ELISAで69.8~1250ng/ml、抽出法-ELISAで14.1~402ng/ml、HPLC-ELISAでは6.5~197ng/mlであった。

これら20例の直接法-ELISAと抽出法-ELISAの相関係数は $r=0.967$ 、直接法-ELISAとHPLC-ELISAの相関係数は $r=0.973$ 、抽出法-ELISAとHPLC-ELISAの相関係数は $r=0.989$ といずれも有意な相関を示した( $P<0.001$ )。

**考察：** 副腎過形成症のスクリーニングにおいて、患児以外の未熟児や病的新生児で17-OHP高値となる原因として抗17-OHP血清の特異性がひとつの要因としてある。この問題を解消するために、エーテル抽出やクロマトグラフィー等による前処理により特異性を高くすることが必要とされている。新生児スクリーニングにおいても直接法-ELISAで17-OHP高値の場合は抽出法による再検査で偽陽性を少なくすることが提案されている。今回の検討でも前処理により特異性が高くなるほど17-OHP値は低値を示したが、最も特異性のよいHPLC-ELISAでも患児群と非患児群の17-OHPの分布はオーバーラップしており、抽出法-ELISAと同様に直接法-ELISAで高値であったならばHPLC-ELISAでも高値となることが判明した。また3種の測定法間には高い相関を認めることから、大量検体を取り扱う新生児スクリーニングでは、簡便性、再現性、迅速性の点で最も秀れている直接法-ELISAによるスクリーニングだけでも、昨年度の報告書<sup>3)</sup>のように再検査または精検率を考慮してカットオフ値を設定すれば、十分精度の高いスクリーニングが可能と思われる。

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,  
: 「エンザプレート 17 $\alpha$ -OHP マス・スク  
リーニング」による乾燥濾紙血液 17 $\alpha$ -  
Hydroxy Progesterone 測定法の基礎的検討,  
ホと臨床, 35, 1049- 1054, 1987.
- 2) 水嶋 好清, 福士 勝, 荒井 修,  
高杉 信男, 藤枝 憲二, 松浦 信夫,  
: 先天性副腎過形成(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 2 報, 高速液体クロマトグラフィーによ  
る血中および羊水中ステロイドの一斉分析,  
内分泌誌, 63, 102-112, 1987.
- 3) 松浦信夫, 藤枝憲二, 福士 勝, 高杉信  
男: 先天性副腎過形成マス・スクリーニ  
ングのカットオフ値の検討, 厚生省心身障害  
研究「マス・スクリーニングに関する研究」  
昭和62年度報告書, 109-113, 1988.

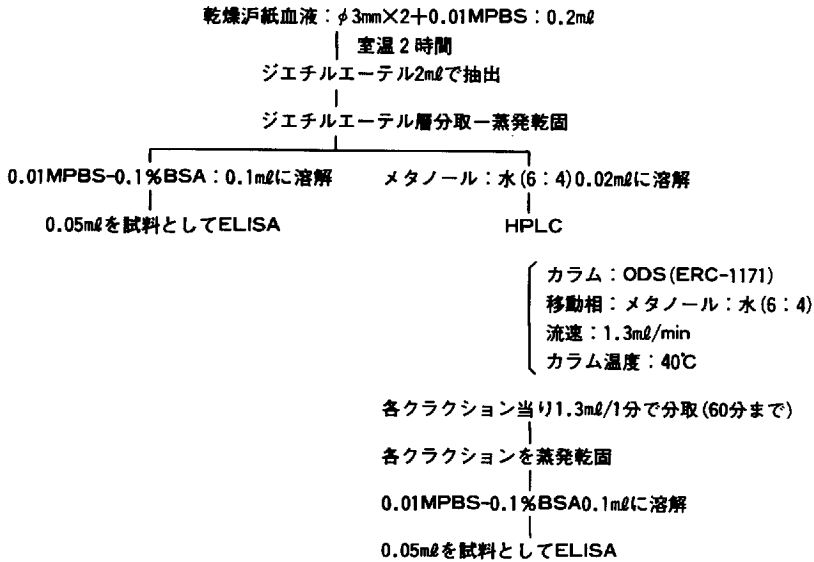


図 1. HPLC-ELISA による 17-OHP 測定

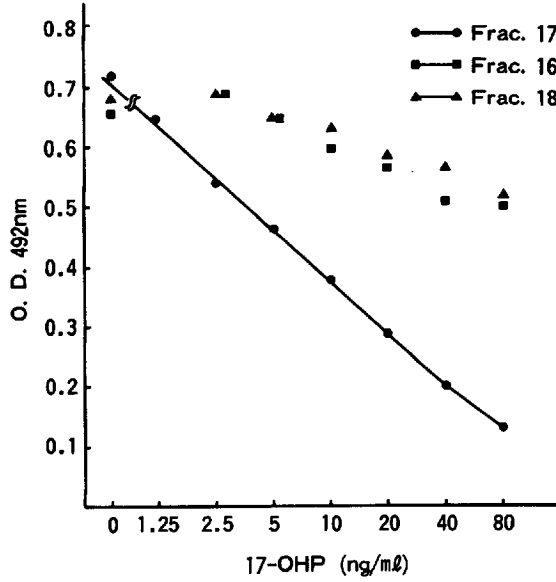
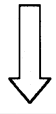


図 2. HPLC-ELISA の標準曲線

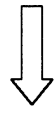
表 1. 直接法、抽出法、HPLC-ELISA による 17-OHP 値

		17-OHP(ng/ml)		Cortisol(ng/ml)	Ratio	
		ELISA				HPLC-ELISA
		Direct	Extract			
<b>CAH</b>						
Salt losing	1 (M. S)	1250	402	196.6	61.3	20.49
	2 (T. I)	1200	354	156.0	132.9	9.03
	3 (I. S)	619	422	142.5	54.3	111.40
	4 (K. K)	440	163	74.1	58.4	7.53
Simple virilizing	1 (M. T)	109	21.3	11.1	33.4	3.22
	2 (K. S)	69.8	14.1	6.5	30.5	2.29
<b>Recall</b>						
Low birth weight	1 (8802500)	130	40.4	19.1	62.8	2.07
	2 (8805802)	66.6	5.4	1.7	67.2	0.99
	3 (8811717)	178	20.2	7.0	53.7	3.33
	4 (8811766)	50.5	5.3	2.6	106.4	0.47
Normal birth	1 (8802753)	198	11.3	6.5	130.7	1.51
	2 (8803546)	91.9	17.0	4.5	>640	<0.1
	3 (8807458)	108	27.2	9.8	>640	<0.1
<b>Normal</b>						
	1 (8813484)	20.4	1.5	0.2	116.1	0.18
	2 (8813458)	23.3	1.8	0.3	123.0	0.19
	3 (8813561)	20.4	2.7	0.6	89.0	0.23
	4 (8815139)	38.2	3.8	1.1	68.5	0.56
	5 (8815154)	23.1	1.9	0.4	50.0	0.46
	6 (8815246)	10.8	1.0	0.2	61.1	0.17
	7 (8815160)	10.0	1.6	0.2	47.5	0.21



## 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:副腎過形成症スクリーニングにおける患児,要再検査児,正常児を対象として,直接法-ELISA,抽出法-ELISA,HPLC-ELISAの3法によりその17-OHP値の比較を行い,スクリーニングでの有用性について検討した。

17-OHP値はいずれの対象群でも,HPLC,抽出法,直接法の順でより高値を示した。しかし,いずれの方法を用いても患者群と要再検査児群の17-OHP値の分布を完全に識別することはできなかった。従ってスクリーニングでは最も簡便な直接法でも適切なカットオフ値を設定することにより効率的に行うことが可能と考えられた。