

「エンザプレート 17 α -OHP」キットによる血清 17 α -Hydroxy-
progesterone の測定法に関する基礎的ならびに臨床的検討
(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)

五十嵐 良雄, 柴田 幸信, 小川 治夫

要約 先天性副腎皮質過形成症(以下 CAH)の新生児マス・スクリーニングの二次精検における血清 17 α -hydroxyprogesterone(以下 17-OHP)の ELISA 法による測定の妥当性について検討した。ELISA 法は高感度で再現性にすぐれ測定法が簡便で一般検査室での取り扱いが可能であった。CAH 未治療患児 2 名はそれぞれ 720.0 ng/ml, 366.4 ng/ml, マス・スクリーニング偽陽性児 4 名の平均は 3.88 \pm 2.43 ng/ml と明らかに鑑別可能であった。本法は HPLC 法に比し迅速性にやや欠ける点を除けば二次精検としてすぐれた方法であり今後広く用いられる条件を備えている。

見出し語：CAH, 17-OHP, ELISA

研究方法 17-OHP の測定は「エンザプレート 17 α -OHP」キット(チバコーニング社製)および SJeia AUTO READER(三光純薬社製)により行なった。測定対象は健常者群として健康成人男女 32 名, 患者群として日令 2 日と 15 日の未治療患児 2 名, 当科にて治療中の患児 11 名, 一部には Rapid ACTH 負荷試験を行なった。Prader 症候群の患児 1 名および CAH マス・スクリーニングでの要精検者 4 名を対象とした。検体の

一部は RIA 法による測定も行なった。結果の検定は Student t 検定を行ない, P Value 0.05 以下を有意水準とした。測定原理は 96 ウェルの第 2 抗体固相プレートに反応させた第 1 抗体に対し 17-OHP にペルオキシダーゼを標識した酵素標識抗原と 17-OHP を競合させる二抗体法で O-フェニレンジアミンをペルオキシダーゼによる酵素反応で発色させ吸光度を測定する。測定法の概略を Fig 1 に示す。標準液または

浜松医科大学小児科 (Dep. of Pediatrics,
Hamamatsu Univ. School of Medicine)

検体として血清 20 μ l をエーテル抽出，蒸発乾固し緩衝液で溶解した内容をプレートに分注し抗原抗体反応，酵素反応を行ない吸光度を測定した。測定条件は諸検討の結果反応温度 25 $^{\circ}$ C，第 1 反応 18 時間，第 2 反応 30 分とした。

結果 1. 基礎的検討：同一のプレートを用いて 5 回同時に測定した平均標準曲線を Fig 2 に示した。吸光度比 B/B₀ の変動係数は 0.91 ~ 4.45%，50% 置換値は 1.97 ng/ml，最低検出感度は 0.2 ng/ml で高感度で安定な曲線が得られた。また再現性は同時に 10 回の測定を行なって得られた測定内変動係数は 17-OHP 濃度 1.11 ng/ml で 5.92%，5.33 ng/ml で 6.87% であった。5 回の異なる測定で得られた測定間変動係数は，17-OHP 濃度 1.03 ng/ml で 7.57%，5.08 ng/ml で 7.51% であった。一方正常成人血清 2 検体に 0.5，1，2，4 ng/ml の 17-OHP を添加して得られた平均回収率は 103.3% および 107.5% であった。同時測定した RIA 法との相関を Fig 3 に示す。相関係数は $r = 0.9982$ ($P < 0.001$) 回帰式は $Y = 0.859X - 1.813$ と良好な相関を示したが ELISA 法では RIA 法より高値となる結果を示した。

2. 臨床的検討：健康成人の 17-OHP は 1.52 ± 0.97 ng/ml，未治療の患児はそれぞれ 720.0 ng/ml，および 366.4 ng/ml，マス・スクリーニングでの要精検児の平均は 3.88 ± 2.43 ng/ml であり，CAH 患児と偽陽性児は明らかに鑑別できた。(Fig 4) 治療中の CAH 患

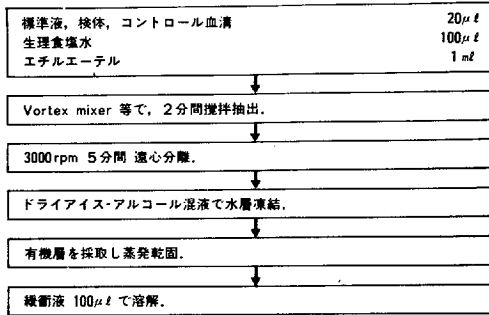
児の Rapid ACTH 負荷試験の結果を (Fig 5) に示す。30 分値が低値の 2 名はいずれの時間でも RIA 法では感度以下であったが，ELISA 法ではその変動をとらえることが可能であった。

考察 CAH の診断に血清 17-OHP の測定は欠くことのできないものである。当測定系では CAH 患児と偽陽性児の鑑別は容易であった。また偽陽性児の 17-OHP 値は健康成人より若干高値を示したが，健康新生児の 17-OHP 値も成人より若干高値を認める傾向にあり，健康新生児と大きな差はないと思われた。今回我々が検討した ELISA 法は測定方法が簡便で一般検査室での取り扱いが可能であり高感度で再現性にすぐれていた。迅速性は HPLC 法よりも若干劣るものの 24 時間以内に結果が判明することから欠点とはいえず，他の特性と合わせれば今後広く用いられる条件を備えていると考えられる。

文献

- 1) 五十嵐良雄ら：静岡県西部地区における 21-hydroxylase 欠損症の新生児マス・スクリーニング-EIA の応用と発見された患児について - 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 61 年度研究報告書 P39-45, 1987
- 2) 福土勝ら：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：日内分泌会誌，63，113，1987

1. 抽出操作



2. 抗原抗体反応

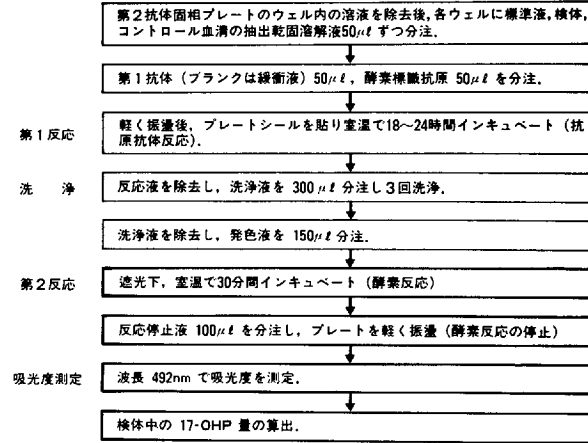


Fig 1

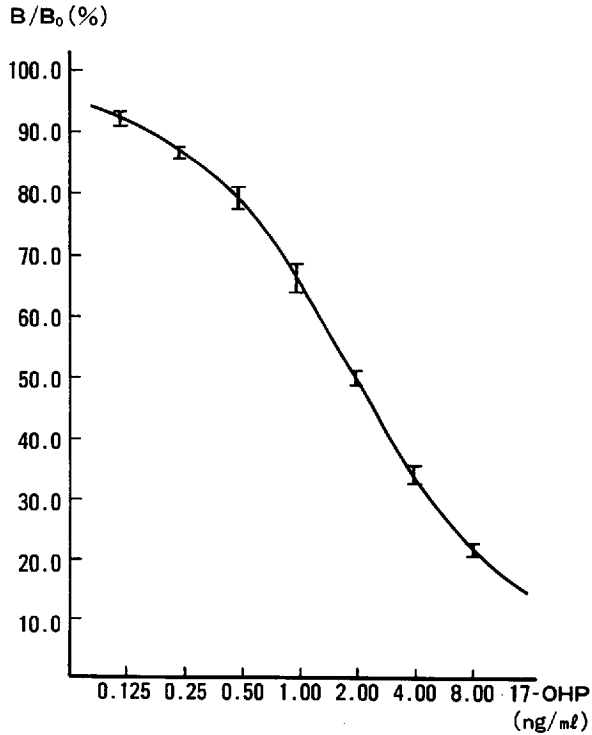


Fig 2

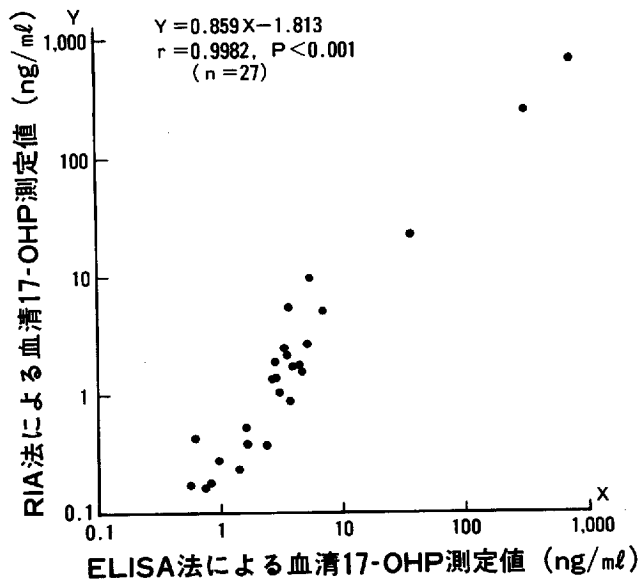


Fig 3

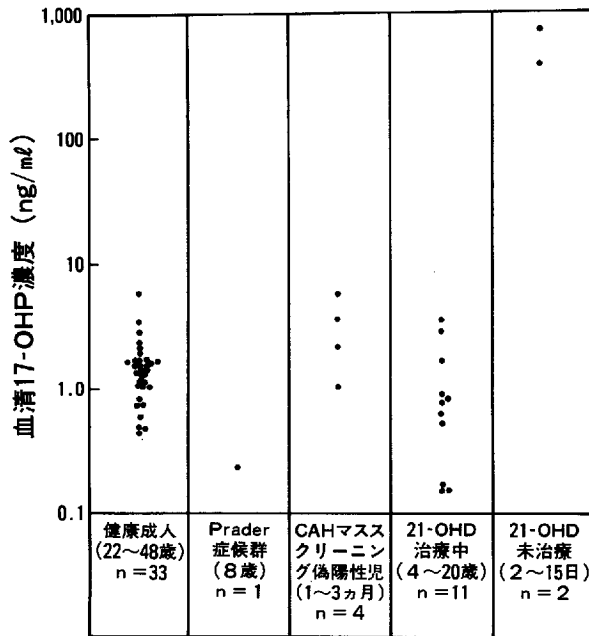


Fig 4

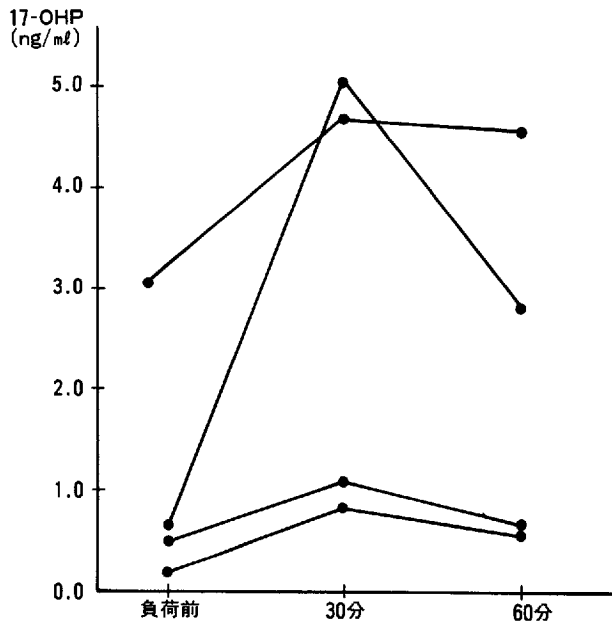


Fig 5



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症(以下 CAH)の新生児マス・スクリーニングの二次精検における血清 17 β -hydroxyprogesterone(以下 17-OHP)の ELISA 法による測定の妥当性について検討した。ELISA 法は高感度で再現性にすぐれ測定法が簡便で一般検査室での取り扱いが可能であった。CAH 未治療患児 2 名はそれぞれ 720.0ng/ml, 366.4ng/ml, マス・スクリーニング偽陽性児 4 名の平均は 3.88 \pm 2.43ng/ml と明らかに鑑別可能であった。本法は HPLC 法に比し迅速性にやや欠ける点を除けば二次精検としてすぐれた方法であり今後広く用いられる条件を備えている。