

神経芽細胞腫スクリーニングのための
新しい採尿濾紙と定量法の研究

成瀬 浩¹⁾ 松田博雄¹⁾ 柳沼章弘¹⁾ 五十嵐優子¹⁾
園田純恵¹⁾ 渡辺倫子²⁾ 鈴木恵美子²⁾ 澤田 淳³⁾
黒田真実⁴⁾ 杉 正人⁴⁾ 柴田 実⁵⁾

要約：現在、神経芽細胞腫マススクリーニングに用いられている採尿用濾紙には種々の問題があるために、新しい採尿用濾紙を検討した。また、ELISA法による定量的マススクリーニングが可能などを検証した。

見出し語：神経芽細胞腫スクリーニング、採尿用濾紙、ELISA法、HVA-VMA

神経芽細胞腫（NB）マススクリーニングは、液体尿を送付させる方法と濾紙尿を送付させる方法がとられている。液体尿を使用する場合、細菌尿その他の変性が起こりやすく問題が多いということは、かつての代謝異常の尿によるスクリーニングの時に各国で経験されている。現在多く使用されている濾紙についてであるが、東洋濾紙No.2は、定性反応用として採用された濾紙のため、強度、尿の保持量に問題がある。HPLC用に尿保持量を増やすために採用されたNo.63については、強度、繊維屑が出やすい等の問題があり、ま

た尿を浸みこませた後に乾燥不十分ために細菌尿やその他の変性が発生することもあり、適当な濾紙とはいがたい。そこでNBマススクリーニングに使用する濾紙として、1)乾燥しやすく、2)強度特に湿潤強度があり、3)適当な厚さがあり尿の保持する能力がある、4)繊維屑がでにくい、5)あまり高価でないもの、が必要である。今回我々は東洋濾紙工業株式会社とも協力し種々検討した結果、No.327が最も適当と考えた。

この濾紙は、比較的厚さがあり、密度も高く、木材パルプが80%含まれており、湿潤強度が強く、繊維の離脱が少ない。そこで我々はNo.327、No.2、No.63、新生児スクリーニング用採血濾紙の4種について重量、厚さ、破裂強度、乾燥時間、濾水時間、吸水時間について検討した。その結果No.327は、厚さ、強

1) 杏林大学小児科

2) 日本公衆衛生協会

3) 京都府立医科大学小児科

4) ヤマサ醤油㈱診断薬部免疫研究室

5) 東京都立衛生研究所

表1 採尿用ろ紙の性質の比較

| ろ紙名 | 重量 | 厚さ | 破裂強度 | 乾燥時間 | ろ水時間 | 吸水時間 |
|--------|-----|------|------|------|------|------|
| No 2 | 120 | 0.26 | 1.2 | 70 | 80 | 230 |
| No 63 | 350 | 1.00 | 2.5 | 200 | 25 | 52 |
| No.327 | 280 | 0.61 | 4.0 | 100 | 210 | 170 |
| 採血用 | 185 | 0.44 | 1.0 | 100 | 30 | 74 |

重量: g/m², 厚さ: mm, 破裂強度: kg/cm², 乾燥時間: 9 cmのろ紙に採取した尿の, 室温 (25°C, 65%H) での, 空乾時間 (min), ろ水時間: sec, 吸水時間: sec/5 cm

度, 乾燥のしやすさ, 尿の保持力といった点で最も適当であることが示された。(第1表)採血用濾紙も良いが繊維屑でのやすいくから, No.327が最適である。この濾紙について以下の検討を行なった。

まず, 濾紙からの尿の回収率について検討を行なった。検討に用いた尿は正常尿, 腎炎その他の異常尿を含む229検体で, 原尿とNo.327採取尿のクレアチニン値を比較した。クレアチニンの測定は, クレアチニン-テストワコー(和光純薬工業)でマイクロプレートを使用し行なった。その結果, 回収率106.5±21.9%, 相関係数0.93と非常に良好であった。

次にVMAとHVAについて測定を行なった。一次マスククリーニングの方法としては, HPLC法は経済性, 使用時の簡易性等で問題がある。我々が現在適当と考えているのは, ELISA法でVMA, HVAを測定する方法である。そこでこのNo.327の濾紙を用いて, HPLCおよびELISA法で定量を行なった。ELISA法として現在実用可能なのは, 先に横森, 黒田, 吉岡らが報告しているVMA/HVA測定キット(ヤマサ醤油株式会社)である。HPLC法は吉岡らの方法に従った。

この結果, 原尿とNo.327採取尿でVMA/クレアチニン比, HVA/クレアチニン比ともに相関係数0.98と非常に良い結果を得た。

また, No.327採取尿についてHPLC法とELISA法でVMA, HVAを測定したが, この両者の値の相関は, VMA/クレアチニン比0.96, HVA/クレアチニン比0.98と良好な結果であった。以上の結果より, No.327が尿の回収率のよいこと, VMA, HVAのクレアチニン比で原尿との高い相関性を示すこと, HPLC法のみではなくELISA法でも使用可能であることがわかった。(第1図)

現在, No.63で採取された尿について郵送中の細菌や変性が問題になっているが, No.327についてはどうかを検討した。尿にNo.63とNo.327の濾紙を浸し, 完全に乾燥したものと, 90分間, 45分間乾燥させて室温で保存した。1, 4, 8日後にそれぞれクレアチニン, VMA, HVAを測定した。その結果No.63の方で, 既に4日目で, クレアチニン, VMA, HVAの値の変動するものが多かった。ただ, No.327の場合も, 不完全乾燥で室温に放置した場合, 8日目にはこれらの値の変動があることがわかった。やはり採尿後完全に乾燥さ

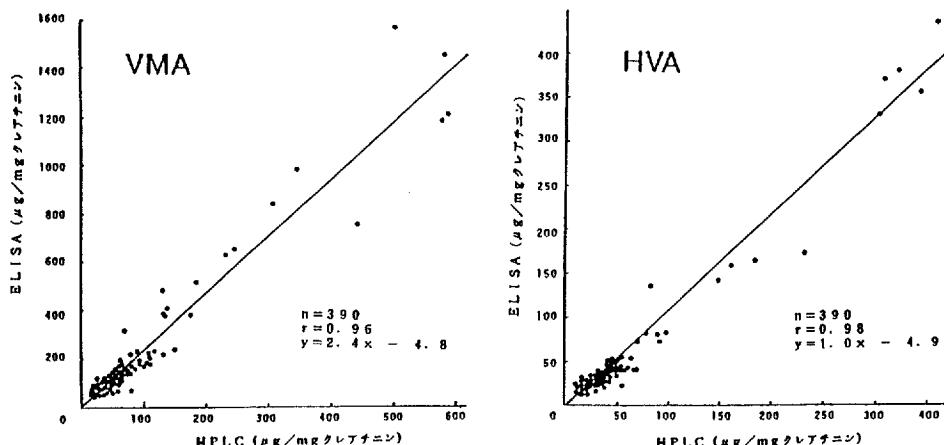
せる必要がある。

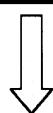
ところで、No.327を使用して採尿する場合には直接おむつに置くことが可能である。そこで実際におむつにあてて採尿し、その使用感をアンケートにより調査した。その時に、No.327は濾紙の性質上硬いために、母親の意見として、かたい、痛そうであるという感想があったためにこの濾紙を手でもみほぐしておむつにあてて採尿し、その意見をとったところ、かたいという意見はなかった。採尿方法を工夫することにより、従来の脱脂綿で採尿しそれをしづぼって濾紙に滴下する方法に加え、

直接おむつに置いての採尿も可能であると思われる。

上述の如く、No.327を用いることの有用性は明瞭であり、現在の採尿法を出来るだけ早く、No.327使用に切り替えるべきと考える。さらに、HPLC法の使用に関しても不賛成の見解も少なくないので、ELISA法による定量も可能であることを証明した。今後実際のスクリーニングの場合において、ELISA法をより多数の検体に応用し、妥当性を証明したい。

図1 濾紙 (No. 327) 採取尿における
HPLCとELISA測定値の比較





検索用テキスト OCR(光学的テキスト認識)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:現在,神経芽細胞腫マススクリーニングに用いられている採尿用濾紙には種々の問題があるために,新しい採尿用濾紙を検討した。また,ELISA 法による定量的マススクリーニングが可能なことを検証した。