

IV. マスクリーニングの新しい対象疾患とその実施年齢およびスクリーニングに関する研究

分担研究者 成澤 邦明
研究協力者 青木 継念, 荒島真一郎, 大泉 純
岡田伸太郎, 折居 忠夫, 北川 照男
小林 正紀, 鈴木 義之, 多田 啓也
松田 一郎, 藪内 百治 (アイウエオ順)

I 研究目的

現行のマス・スクリーニング対象疾患に加えるべき新しい疾患を選択し、その実施年齢や方法を検討するのが本研究の目的であるが、具体的には大きく3つの目的に分けることができる。マス・スクリーニングの対象条件としては、発見が遅れると死亡したり障害を残す疾患、効果的治療法がある疾患、発生頻度がある程度あること、マスを対象にした簡易検査法があること、などが上げられるが、これらの条件をほぼ満たす疾患として高コレステロール血症およびウイルソン病を取り上げ、その実施年齢、カットオフ値を含めた具体的な方法を検討するのが第1の目的とした。更に検査法や頻度の点で現在のところ未だ条件を満たしてはいないが、早期発見早期治療が必要で、条件を満たすための研究が必要な疾患として有機酸血症、ビオチン代謝異常症(ビオチン欠乏症)を取り上げ、対象条件を満たし得るか否かを検討するのが第2の目的とした。最後に従来のマス・スクリーニング対象条件とは異なるが、治療法のない遺伝病についてその発生予防の立場でのスクリーニング法を検討した。遺伝病発生を予防するには保因者のスクリーニングが重要であり、遺伝子診断は確実に保因者診断が出来る方法として注目される。スクリーニングに使用し得る簡易遺伝子診断法の開発を第3の目的とした。

II 研究班の本年度構成

- 1) 1才6カ月健診時における原発性高コレステロール血症のスクリーニングについて
松田一郎(熊本大学小児科)
- 2) 高コレステロール血症スクリーニング法の検討
藪内百治(大阪府立母子保健総合医療センター小児科)
- 3) Wilson病マスクリーニングの実施年齢に関する研究
青木継念(東邦大学小児科)
- 4) 発病初期より血尿を認めたウイルソン病
荒島真一郎(北海道教育大学, 北海道大学小児科)

- 5) Wilson 病のマス・スクリーニングに関する研究
北川照男 (日本大学医学部小児科)
- 6) ビオチナーゼ部分欠損症のスクリーニングの重要性についての研究
大泉 純 (国立小児病院小児医療研究センター)
- 7) 神経疾患における血清ビチオナーゼ測定
小林正紀 (名古屋市立大学小児科)
- 8) 有機酸代謝異常症の発症時期について
折居忠夫 (岐阜大学小児科)
- 9) メチルマロン酸血症の新しい簡易酵素診断法
多田啓也 (東北大学小児科)
- 10) 進行性筋ジストロフィー症の遺伝子診断 — PCR 法を用いて—
岡田伸太郎 (大阪大学小児科)
- 11) 遺伝子幅幅を利用した先天代謝異常症スクリーニング法の開発
鈴木義之 (東京都臨床医学総合研究所臨床医学研究部門)
- 12) 遺伝病の簡易スクリーニング法の開発 — フェニルケトン尿症 —
成澤邦明 (東北大学病態代謝学)

Ⅲ 研 究 成 果

1. マス・スクリーニング対象条件をほぼ満たしていると考えられる疾患

1) 高コレステロール血症

高コレステロール血症は動脈硬化の主要危険因子の一つで、最も頻度の高い家族性高コレステロールの頻度は500人に1人(保因者を含む)と考えられている。

松田らは1才6カ月検診時に採取した乾燥濾紙血液を用いて、高コレステロール血症(アポBを測定)、および低HDL血症(アポA-I測定)のスクリーニングを試み、これまで約600人のスクリーニングを行い、1名の高コレステロール血症、3名の低HDL血症児を発見している。スクリーニング実施時期については今回行った1才半か3才頃が適当と述べている。更に、スクリーニングの検体として乾燥濾紙血液が用いられることを明らかにし、測定法としては免疫拡散法が手技が簡単で、コストも安くスクリーニングに適していると述べている。藪内らは毛細管で採取した微量血清をマイクロプレート上で酵素液と反応させる方法での簡易総コレステロール測定法を開発した。更に、生後6カ月以後5才までは血清総コレステロール値は比較的安定であることを明らかにし、この時期に上記方法でマス・スクリーニングを行うのが良いとしている。

以上の結果から、実施時期は幼児期が適切と思われるが、方法については尚、流動的で検討の余地を残している。

2) Wilson 病

本症の頻度は 20000 人に 1 人と多く、しかも治療可能であることからマススクリーニング対象疾患として検討すべき疾患である。

青木らはこれまでの Wilson 病患者 42 例のセルロプラスミン値を測定し、41 例までが 10 mg/dl 以下であり、1 例が 10～14.9 mg/dl であることを明らかにした。一方、銅代謝異常のない新生児から成人までの 2980 例についてのセルロプラスミン値の測定結果から、本症のマススクリーニングの実施年齢はセルロプラスミン 10 mg/dl 以下を示す例がほとんどない生後 3 カ月後が適当としている。荒島らは早期より血尿を認めた Wilson 病の 3 例を報告し、学校検診で血尿を発見したならば本症を積極的に鑑別する事が必要であると述べ、一方、マススクリーニングを行う時期としては就学時健康診断または 3～4 才時健康診断時が適当としている。尚、測定法としては尿中銅の測定が良いとしている。北川らは濾紙血液中のセルロプラスミンの分析法について p-フェニレンジアミン (PPD) 法、免疫プレート法、Ouchterlony 法および ELISA 法を比較検討した。ELISA 法は測定手技が容易で反応時間も短く、しかもセルロプラスミン蛋白を定量的に測定できるのでマススクリーニングには極めて有用であった。一方、PPD 法は濾紙血液のセルロプラスミンを測定するには適さず、immunoplate 法はプレートの洗浄にかなりの時間がかかる欠点があり、Ouchterlony 法は色素の溶質のために判定には馴れが必要であった。

以上の成果を踏まえれば、実施時期は生後 3 カ月以降 3～4 才までが適当と思われる。方法は ELISA 法による濾紙血液のセルロプラスミン測定が良いように思われるが、本症のスクリーニングがセルロプラスミンの測定のみで十分かどうかの疑問を残している。

2. マス・スクリーニングが必要な疾患で対象条件を満たすための研究が必要な疾患

1) ビオチン代謝異常症 (ビオチニダーゼ欠損症)

ビオチニダーゼ欠損症は痙攣、低緊張、失調などの神経症状、および難治性皮膚炎を初発として放置すれば重篤な障害を残すか死亡するが、ビオチン投与により治療が可能である。乾燥濾紙血液で測定可能なスクリーニング法がすでに開発されており、特に大泉の HPLC を用いた方法は超高感度で特異性の高い方法である。ビオチニダーゼ欠損症のスクリーニングは各国で試験的に行なわれており、ニュージーランド (12,000 人に 1 人) やカナダ (24,000 人に 1 人) と高頻度に見られたとの報告が見られているが、本邦での頻度は不明であった。大泉は難治性皮膚炎の患者についてスクリーニングし、100 人に 1 人の割合でビオチニダーゼ部分欠損症 (正常の 10% の程度) が存在することを明らかにした。マス・スクリーニングによって早期診断を試行し、治療、予防をすることが急務であると述べている。一方、小林らは神経疾患患児 35 例について血清ビオチニダーゼを測定したが欠損例は見いだせなかった。

以上の成果は本邦では難治性皮膚炎を主徴とするビオチニダーゼ部分欠損症の頻度が極めて高いことを示した。しかし、重篤な神経症状を残す完全欠損例の頻度については未だ明ら

かではない。

2) 有機酸代謝異常症

有機酸代謝異常症は主なものだけでも20種類を超える疾患群からなっており、それらをすべてスクリーニングするためには尿の異常代謝物をGC, 時にはGC/MS で分析しなければならない。しかも、これらの疾患の多くは新生児期にすでに発症しているものが多いこともあって、本スクリーニングは現在ハイリスクスクリーニングが一般に行なわれている。折居らは本スクリーニングを効率的に行なうために105名の患者の診断時期、発症形態について検討した。異常発見頻度の高かったのは新生児であり、新生児期に尿ケトン体陽性、高アンモニア血症を見たとき本症である確率がきわめて高いことを明らかにした。一方、多田ら是有機酸血症で頻度の高いメチルマロン酸血症に焦点を絞り、HPLCを用いた簡易診断法を開発した。この方法はビタミンB₁₂依存性か否かを迅速に知ることが出来、予後の判定、治療法の決定に有用である。

3. 遺伝病発生予防のための新しいスクリーニング法の開発 — 遺伝子診断

従来、遺伝性疾患のマス・スクリーニングの対象疾患は治療法が存在することが前提となっていた。しかし、欧米でのスクリーニングのクライテリアは急速に変化しつつあり、遺伝病発生を予防することもその対象となってきた。遺伝病発生予防には保因者のスクリーニングが重要であるが、それには遺伝子診断の開発が必須となってきた。

本研究の目的は簡便な遺伝子診断法の開発と如何なる疾患が遺伝子診断の対象となるかを検討するにある。岡田らはジストロフィン遺伝子のホットスポットと思われる領域で9種のDNA断片を増幅し、欠失断片の有無を1.4%アガロース電気泳動上で見るという簡単な方法で進行性筋ジストロフィー症(DM)の診断を試みている。この方法は濾紙血液や毛根1本よりのDNA抽出液でも可能であり、DM患者7例中4例に欠失を認めた。鈴木らは試料として濾紙血液を用いるにあたって、プロテアーゼおよびフェノール処理しない簡便なDNA抽出法を検討した。更に、成澤らは乾燥濾紙血液とポリメラーゼ連鎖増幅反応(PCR)の変法を用いた変異遺伝子診断法を開発した。今回はフェニルアラニン水酸化酵素遺伝子のエクソン12における塩基置換(C→T)を対象とし検討したが、この方法は他の疾患の変異遺伝子の診断にも利用できる。

以上に見る如く、遺伝子診断に濾紙血液が使用しうることが明らかとなり、また、変異の検出に放射性同位元素を用いない簡便な方法が検討されたことは成果であった。



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



1 研究目的

現行のマス・スクリーニング対象疾患に加えるべき新しい疾患を選択し、その実施年齢や方法を検討するのが本研究の目的であるが、具体的には大きく 3 つの目的に分けることが出来る。マス・スクリーニングの対象条件としては、発見が遅れると死亡したり障害を残す疾患、効果的治療法がある疾患、発生頻度がある程度あること、マスを対象にした簡易検査法があること、などが上げられるが、これらの条件をほぼ満たす疾患として高コレステロール血症およびウィルソン病を取り上げ、その実施年齢、カットオフ値を含めた具体的な方法を検討するのを第 1 の目的とした。更に検査法や頻度の点で現在のところ未だ条件を満たしてはいないが、早期発見早期治療が必要で、条件を満たすための研究が必要な疾患として有機酸血症、ビオチン代謝異常症(ビオチン欠損症)を取り上げ、対象条件を満たし得るか否かを検討するのを第 2 の目的とした。最後に従来 of マス・スクリーニング対象条件とは異なるが、治療法のない遺伝病についてその発生予防の立場でのスクリーニング法を検討した。遺伝病発生を予防するには保因者のスクリーニングが重要であり、遺伝子診断は確実に保因者診断が出来る方法として注目される。スクリーニングに使用し得る簡易遺伝子診断法の開発を第 3 の目的とした。