

神経芽細胞腫マススクリーニングにおけるHPLC法とEIA法の比較。

(分担：現行マススクリーニングシステムの問題点に関する研究)

沢田 淳¹， 沼田 公介²

要約：神経芽細胞腫スクリーニングにEIA法が使用できるか否かを検討するために、3,650人に6か月乳児の尿をHPLC法とEIA法で同時に測定し、VMA、HVA値を比較した。両者の測定値の相関は良好であった。しかし、問題点として、カットオフ値以上のための再検査の割合がHPLCの1.0%に比較してEIAで3.1%とやや高く、その理由にはVMA、HVA、特にHVA高値の例が多かった。

その原因を検討するために乳幼児(9か月～2歳)の尿の保存条件を検討したところ、4℃以下の保存では異常値はみられないのに、ろ紙尿でドライ、ウェットとも7日間の保存でVMA、HVAとも高値例が出現した。その原因をクロマトグラムから検討を加えた。

見出し語：マススクリーニング，神経芽細胞腫，EIA，HPLC。

研究方法：京都府での3,650人の6か月乳児の尿中VMA、HVAをHPLCおよびEIA法で同時測定し、比較した。乾燥濾紙尿(東洋濾紙No.63)を試料とし、HPLCは日立705型自動分析装置、検出器は875型アンペロメータ(医理化工業)を、EIAにはVMA、HVA測定用キット(ヤマサ醤油)を用いた。

さらに保存条件による影響を見るために20名の乳幼児(生後9か月～2歳)の尿を採取し、濾紙尿、生尿について検討した。

結果：1.HPLCとEIAの比較(図1,2,表1)。

3,650検体のVMA、HVAのヒストグラムは両法とも良好な正規分布を示し、良好な相関がみられた。しかし、VMAでHPLC正常でEIA高値が24例(0.8%)、HPLCで高値でEIA正常が17例(0.6%)、HVAではHPLC正常値でEIA高値が25例(0.8%)、逆が17例(0.5%)で、EIAの方に高値にすることが多かった。それらの尿のクロマトグラムの観察では、VMA後の異常なピークの出現、5-

HIAAのピークでの著明な低下、HVAピークの低下などに気づかれた。表1に3,650尿のHPLC, EIA測定での正常値や不良検体などの結果を示した。

2. 乳幼児の尿を対象に保存条件によって上記の異常が出現するか、否かの検討をした。
：結果は表2に示した。保存期間を7日、ろ紙尿はウェットで、30℃、ドライで室温と-40℃、生尿で4℃と30℃、これまでにHPLCではVMA, HVAがクレアチニンの低下が尿の汚染、感染などによって起こると述べてきたが、それを支持する結果が得られたが、EIAではVMAはドライのろ紙尿、室温7日間の保存でVMAは10%に、HVAは25%に増加が見られた。ウェット、30℃ではHVAで20%に増加がみられた。生尿でも30℃保存でやや高値の例があった(表2)。

考察：EIAがHPLCと同様にスクリーニングに使用できるか否かの検討では両者の相関が

良好であったので、使用可能と判断された。しかし、EIAではVMA, HVAともにHPLCより高値を示す例が0.8%に見られた点は注意が必要であった。ろ紙尿でドライであっても尿が古くなると出現するため、高値の理由の一つは尿の保存期間に関わっていると思われた。

現在、新鮮尿を試料とすれば、EIAもHPLCと同様にスクリーニングに利用できると思われた。

文献

- 1) Yoshioka M et al : Biogenic Amines. 4 : 229~235, 1987.
- 2) 横森欣司ほか : 小児科臨床 42 : 2497~2506, 1989.
- 3) Kuroda M et al : Proceedings of the 7th National Neonatal Screening symposium. ed by HB Bradford et al. 176~178, 1990.

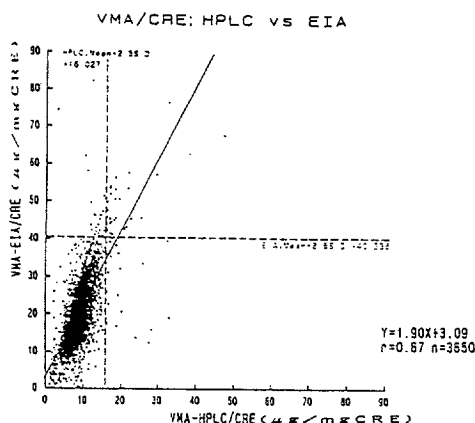


図 1.

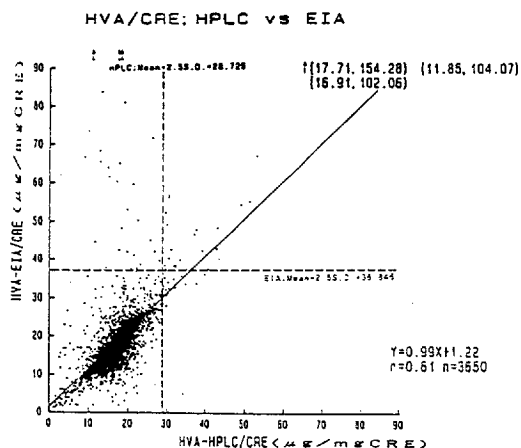


図 2.

	H P L C		E I A	
	V M A	H V A	V M A	H V A
検 査 件 数	3,650		3,650	
平均値 Mean	8.9	16.9	19.9	17.9
標準偏差 SD	2.86	4.73	8.05	7.37
Mean+2.5SD カットオフ値	16.1 16	28.7 29	40.0 40	36.3 36
不 備 検 体	79		79	
V M A ↑	17		39	
H V A ↑	14		54	
V M A, H V A ↑	7		19	
再検率%	3.2%		5.2%	
高値再検率%	1.0%		3.1%	

表 1.

再検率は、不備検体を含めて再採取される割合を示す。

			H P L C			E I A	
	p H	C R E	V M A	H V A	5-H I A A	V M A	H V A
保存条件 (7 日)							
濾紙 WET 30℃	7.7 ~ 9.2	5 ↓	4 ↓	4 ↓	7 ↓	3 ↓	4 ↑, 2 ↓
濾紙 DRY 室温	7.0 ~ 7.5	—	—	—	13 ↓	2 ↑	5 ↑
濾紙 DRY -40℃	7.0 ~ 7.5	—	—	—	—	—	—
生尿 4℃	7.0 ~ 7.4	—	—	—	—	—	—
生尿 30℃	7.6 ~ 9.3	4 ↘	5 ↘	1 ↘	5 ↘	3 ↘	1 ↗

表 2.

↑ 増加, ↗ や ↘ 増加, ↓ 低下, ↘ や ↘ 低下

abstract

A Comparative study of EIA and HPLC methods for the measurement of urinary VMA and HVA levels for mass screening for neuroblastoma.

Nationwide neuroblastoma (NB) mass screening in Japan is conducted by measuring VMA and HVA by HPLC.

For comparison of the EIA method and the HPLC method, urinary VMA and HVA levels of 3,650 6-month old infants were measured by these two methods, simultaneously.

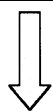
A good correlation of VMA and HVA levels was obtained between these two methods. The correlation coefficients between EIA and HPLC were 0.95 for VMA and 0.97 for HVA. However, one questionable point was that some urine samples measured by EIA showed higher VMA (0.6%) and HVA (0.8%) levels than by HPLC.

To resolve this problem, urine samples of 20 children (9-month~2-year old) were preserved until measurement of VMA and HVA was investigated. By the EIA method, urine samples preserved on dry filter paper (No 63) for 7 days had higher HVA levels in 20% and VMA in 10%.

Chromatographic patterns of these urine samples with abnormally high VMA and/or HVA levels are discussed.

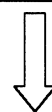
Fresh urine sample must be used for the EIA method.

Before EIA can be used for mass screening with consistent results, further evaluation is necessary.



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:神経芽細胞腫スクリーニングに EIA 法が使用できるか否かを検討するために,3,650 人に 6 か月乳児の尿を HPLC 法と EIA 法で同時に測定し,VMA,HVA 値を比較した。両者の測定値の相関は良好であった。しかし,問題点として,カットオフ値以上のための再検査の割合が HPLC の 1.0%に比較して EIA で 3.1%とやや高く,その理由には VMA,HVA,特に HVA 高値の例が多かった。

その原因を検討するために乳幼児(9 か月~2 歳)の尿の保存条件を検討したところ,4℃以下の保存では異常値はみられないのに,ろ紙尿でドライ,ウエットとも 7 日間の保存で VMA,HVA とも高値例が出現した。その原因をクロマトグラムから検討を加えた。