

現行のマススクリーニングの問題点に関する研究

分担研究者：成瀬 浩

研究協力者：入江 実、澤田 淳、高杉信男、辻 章夫、
永原 暹、二宮恒夫、皆川 進、宮井 潔、
山本圭子、芳野 信

【要約】 わが国のマススクリーニングシステムの問題点についての検討を行っているが、昨年度に引続き、Ⅰ. 神経芽細胞腫スクリーニングの問題点の検討、Ⅱ. 新しい代謝異常症等のスクリーニング技術開発、Ⅲ. マススクリーニングシステムの問題点の3群に分けて問題設定している。神経芽細胞腫スクリーニングについては、尿採取のための適当な濾紙を決定した。そして、第一次スクリーニングの方法としては、ELISA法によるVMA、HVA測定が、充分使用に耐えうることを証明した。神経芽細胞腫スクリーニングについては、欧米の専門家による委員会が、その有用性を否定する様な見解を発表した。この点については、彼らの見解の中の誤りを指摘すると共に、わが国の結果を分析し、有用であることを示すための研究を行った。新しい代謝異常症スクリーニング方法の開発研究については、昨年度に引続き、ガスリー法に替わりうる便利な方法の確立のための研究を続け、PKU、ガラクトース血症、メイプルシロップ尿症のマススクリーニングに使用可能であり、且つガスリー法の持つ欠点を克服する様な新しい方法を確立した。そして、全国の主なスクリーニング施設が、その方法の追試を行って、マススクリーニングにも使用可能であるという判定を得ている。スクリーニングシステムについては、やはり各自治体におけるスクリーニング実施機関、発見患者の治療機関と自治体の連携システムの貧弱さが指摘されている。クレチン症、副腎過形成症については、まだ検査の外部依頼を続けている所が一部に存在するが、これは改善されるべきである。精度管理についてもいくつかの問題点の検討が行われた。

見出し語：新生児スクリーニングシステムの問題点、神経芽細胞腫スクリーニングの問題点、
新しい代謝異常症スクリーニング法

I. 神経芽細胞腫スクリーニングに関する問題

イ) スクリーニング技術の改善

この3年間の一つの成果は、マスキング技術面の改善であろう。この検査のためには、わが国では生後6カ月の乳児の尿を使用することが定められている。この尿の採取について、現時点で最も好ましいのは、尿を充分含み、しかも乾き易い濾紙を使用することである。尿は細菌増殖が起こり易く、ある種の細菌の増加は、偽陰性を引き起こしうる。過去に使用されていたNo. 2、No. 63の濾紙は、前者は尿量の保持量が少なく、後者は乾燥しにくいいため、細菌増殖を起こし易いことがわかった。一部に生尿を用いているが、郵便により生尿を送ることには多くの問題が含まれており、国家的スクリーニング法としては推奨できない。そこで、特別なグラスファイバーで出来ている濾紙 No. 327を用いることがよいという研究結果を既に報告している。

この濾紙を用いて、二宮ら、成瀬・澤田らは、ELISA法が使用可能か否かについての研究を行った。現在、神経芽細胞腫スクリーニングは、HVA、VMAの定量によることという指導であり、そのためにHPLC法が推奨されている。しかし、HPLC法で多数の検体を連日処理することは、決して容易でなく、HPLC法が出来ないため外部依頼という変則的な形態をとっている所、定性のままの所、あるいは実施していても、検査機関内部でそのための問題が大きな負担となっている所が多い。それを救うものとして、ELISA法による定量法の確立が期待される。

成瀬らは、化血研と札幌市衛研の協力を得て、HPLC法で検査を終了した検体4万余について、全くブラインドで、ELISA法による測定を行い、その両者の定量値の比較検討を行った。この検体中から、9名の患者が発見された。9名とも、HPLC法でもELISA法でも、VMA測定により発見されている。VMAについては、ELISA法を現実の第一次スクリーニング法としてに使用することはまず問題はないと思われる。

HVAの場合、尿の変性その他の理由で、ELISA法で偽陽性が3%で発生する。これは、酢酸エチールなどで、HVAを抽出し測定することにより、偽陽性をなくすことが可能である。あるいは、ELISA法で高値を示したもののみを、HPLC法にて再検査することで、問題を完全に克服しうるとと思われる。

二宮らも、No. 327の濾紙を用い、上記のVMA、HVA測定用のELISA法と、HPLC法の測定を比較した。VMAについては、やはり測定に使用可能と判断している。ただ、HVAでは偽陽性があるので、この点について検討を行っている。やはり、酢酸エチール抽出により、偽陽性を減らしうるという結論になっている。彼らも患者検体については、HPLC法同様ELISA法でも見い出せたという経験を述べている。

ELISA法は、定量的マスキングの、一次スクリーニングの武器として、充分使用可能であり、この利用により、一次スクリーニングにHPLC法を用いることにより発生している、あるいは、今後発生しうる問題を回避するには、極めて有用であると考えられる。現在

の「HPLC法による」という、マススクリーニング法の指示については、早急に変更し、ELISA法による定量も認められてよいと考えられる。

ロ) 神経芽細胞腫スクリーニングの有用性についての検討

近年、わが国の神経芽細胞腫スクリーニングへの疑問が相次いで公表され、殊に The Lancet に著名な人々からなる委員会の名において、その有用性についての否定的な見解が示された (Vol.337, Feb.9, 1991, p.344)。その主な点は、次の如くである。1) 神経芽細胞腫には、N-Mycあるいは染色体より見て、良性と悪性のものがあるが、わが国のスクリーニングで発見されるものは、この良性のもののみであること。この良性のものについてのマススクリーニングの必要性については、否定的な見解を示した。2) 日本の神経芽細胞腫による死亡数は減少しているが、スクリーニングをやっていない英国の死亡数の減少と平行している。3) スクリーニングにより、年長になっての神経芽細胞腫の発生頻度は減少していない。

当研究班としても、今年度初めに会合を行い、この見解に対し検討を行うとともに、外国の状況の調査をも行った。1) の良性のものに対する見解については、これを主張する専門家自身も、良性のものと言っても、発見次第すぐ手術をしており、外科的治療の必要性を否定していない。また、良性と言われるタイプの神経芽細胞腫の患者でも、外国で死亡する例が多いことがわかった。「良性」という表現に問題があり、これらも悪性腫瘍の一部であり、早期発見は有効であると考えている。

次に、2) の死亡者数の減少については、黒田班の研究協力者の埼玉のデータが、年々集積されつつあり、年数を重ねることにより、イギリスの資料との差が明らかになることと思われる。ただ、現時点では、統計的に有意とはなっておらず、もう少し月日を必要とする。

また、3) の年長発生者数の減少については、澤田らにより、スクリーニング実施前後での、全国の神経芽細胞腫発生例の分析により、1~4才での患者発生頻度の低下が報告された。彼らは、日本小児外科学会悪性腫瘍委員会の全国集計を資料として、神経芽細胞腫登録例の年齢別分布を調査した。そこで、1988年の1~4才の発生数が、危険率5%で、スクリーニング前の発生数に比し、有意に減少していると判断している。これは、極めて重要なデータであり、The Lancetの論文の批判の第3項について、有力な反証となる。このスクリーニングの有用性を示す重要なデータである。

さきに札幌市においても、同様な1~4才児での神経芽細胞腫患者の発生が減少しているとの報告があるが、他の地域での状況を山本ら、永原らが調査している。山本らは、栃木、新潟、長野、滋賀、埼玉の5県で、主として小児慢性特定疾患申請の診断書により、1982~84年、1985~87年、1988~90年の3時期に分け、各年齢での患者発生数を調査した。その結果、現在の1~3才の年代での神経芽細胞腫患者は、スクリーニング実施前と比べ、特に減少していない。ただ、この地域全体では、スクリーニングを受診した者はまだ54%であり、しかも、HPLC法での定量方法を導入したのも、1988~89年と比較的遅い地域であるので、今後この様な調査

を継続する必要があると考える。

永原らは、大阪市におけるスクリーニング前後の神経芽細胞腫患者の発生頻度、病期についての分析を行った。HPLC法のスクリーニングの開始により、それ以前の発生頻度が、10万名あたり、12.16名なのが、23.59名と増加した。この中の70.6%はスクリーニングにより発見され、スクリーニング時正常と判定され、後に発病したものが5.9%、スクリーニングを受けないグループの発病が23.5%としている。そして、スクリーニングの導入以前は、Ⅲ+Ⅳ期が64%だったのが、47%と減少し、早期のⅡ期の例が、22.8→47%と増えており、早期発見・早期治療の効果は上がっている。ただ、自然消滅する例も含む可能性は否定しえないとしている。1~2才の発症数が減少するか否かについては、もう少し例数を増やし、分析することが必要とのことである。

また澤田らは、6ヶ月時点のスクリーニングでは発見できない様な症例を、1才6ヶ月時点のスクリーニングで発見するための試みを開始した。そのための基礎的検討として、1才6ヶ月児の尿について、HPLC法でHVA、VMAを測定し、それらの物質値の分布、カットオフ値、あるいは、いかなる物質が検査に影響するかなどを検討した。また、ELISA法とHPLC法との比較も行った。この際使用したのは、以前から使用されているNo.63の濾紙で、多少問題があるが、ELISA法も使用可能であるとの結果であった。また尿の変性のある種ものは、グルコン酸クロルヘキシジンの添加で防止できることも見出した。

1才半で見い出される症例は、6ヶ月時点で発見される症例とは、N-Myc陽性率、染色体の形態などで、異なるサブグループに属するものが含まれる可能性が大である。これらの症例も、早期発見により、治療効果が改善されるのか否か興味あることであり、今後の継続検討が必要であろう。

II. 新しい代謝異常症等のスクリーニング法の開発

現在、PKUなどの代謝異常症スクリーニングに関しては、ガスリー法が世界中で使用されている。ただ、これは特別に訓練された技術者を必要とし、検査結果が半定性的であり、しかもそれを客観的に記録することが不可能であった。これらを克服することを目標とする研究が行われた。

高杉らは、3mmディスクを切り抜き、マイクロプレートに移し、PKUをマッカーマン法、メイプルシロップ尿症を分枝アミノ酸脱水素酵素、ガラクトース血症をガラクトース脱水素酵素、ホモシスチン尿症を総ホモシスチンのフルオロベンゾオキサデアゾール誘導体を作る方法、ヒスチジンはオルトフタルアルデヒド法で、全て蛍光定量を行う方法を開発し、約5,000検体について、既存の方法と比較した。

偽陽性率もガラクトース血症のみ1.52%で少し高いが、他のものは0.33~0.6%程度であった。コスト的にも、BIA法で125円なのに比し、必要試薬のみなら65円程度で、経済的にも勝っていると考えている。これは、客観的記録も残せるし、手技的にも通常の訓練をうけ

た技師ならば、それほど困難ではないと考えられ、ガスリー法の欠点を克服する一つの方法である。

ただ、マッカーマン法は、1960～70年代アメリカを中心に広く使用され、種々の欠点を指摘されたことがある。また、マイクロプレート法で、蛍光測定法を用いるとなると、現在、スクリーニングセンターには、あまり普及していない、蛍光用マイクロプレートリーダーが必要となる。

成瀬、辻らはこれらの短所を克服するために、PKUスクリーニングに、フェニールアラニン脱水素酵素を使用し、且つ通常の比色用のマイクロプレートリーダーで測定しうる様な方法の開発を目指して研究を行った。3mmディスク1枚で、フェニールアラニンを測定しうる方法を確立し、これがマススクリーニングに使用可能であることを確認した。

現在、非典型的PKUのバイオプテリン異常症のスクリーニングのためには、カットオフ値を2mg/dl前後の低い所に設定すべきだと言われているが、この新しい方法だと、充分このカットオフ値でスクリーニングを行うことが可能であった。

さらに、この方法の信頼性、再現性、感度などについて、全国10ヶ所のスクリーニングセンターでの検討も行われ、34,477名の新生児に対して、この方法を応用した。この結果、やはり2mg/dl異常の異常例を見出すことは可能であり、再現性・信頼性についても問題のないことがわかった。しかも、同じ様な方法で、酵素のみを変えることにより、メイプルシロップ尿症、ガラクトース血症のスクリーニングにも使用可能なことがわかった。

現在日本のスクリーニングセンターは、ごく一部の例外を除き、比色用マイクロプレートリーダーを保有している。上記の方法は、どこのスクリーニングセンターでも実行可能である。この方法の導入により、半定量的スクリーニングが、定量的で且つ客観的な記録の残しうる方法に発展するのであり、代謝異常症スクリーニングの大きな進歩と言えよう。

内分泌疾患のスクリーニング法の新しい技術的研究として、辻らは、今迄の蛍光法あるいは比色法ELISAと比べ、利点の多いと考えられる発光検出法によるマススクリーニング法の開発を行った。最近、機器の開発が進み、発光法による臨床検査が増えているが、これを、クレチン症及び先天性副腎過形成症のスクリーニングに応用した。そして、従来4～15時間必要なものと比べ、1～2時間の短時間で検査が終了すること、感度が格段に進歩したので、3mmディスク1枚で、TSH、17-OHPその他数種類のホルモンが測定可能であることを述べている。今後の新しいマススクリーニング法の有力な武器であろう。

宮井らは、TSH測定による現在のクレチン症スクリーニングに、遊離型サイクロキシン(フリーT4)を測定することの問題点について分析した。彼は、マススクリーニングに応用しうる様なフリーT4測定用試薬を開発し、何ヶ所かでこれが使用されている。ただ、現在の試薬については、感度がまだ不十分であり、測定値の変動が比較的大であり、低出生体重児やTBG減少例では、フリーT4が低くなり、偽陽性を増やしてしまうなどの問題点があることを報告している。現時点では、フリーT4測定を、ルーチンのスクリーニングに導入することは、

まだ時期尚早と考えられる。

Ⅲ. マスクリーニングシステムに関する研究

芳野らは、自治体がマスクリーニング事業の中で果している役割の実態について、アンケートによる分析を行っている。アンケートに応じ分析対象となった41都道府県、10政令指定都市の中、9自治体で、実質的な地域スクリーニングのための連絡が確立していない様である。つまりこれらの地方自治体では、スクリーニングセンター、産科医、あるいは治療機関のいずれとも、実質的な連絡協議が行われていない。スクリーニングで異常とされた例のその後の把握も不十分な所が29自治体である。地域における機密な連携が必要という本事業の趣旨が十分に理解されていない所が少なくない様である。

尚、今回の調査で、初めて、36の自治体で保健婦が、発見患者の訪問指導、支援その他の役割を果していることが明らかになった。わが国のスクリーニングは、発見・精密検査・治療の流れについては、極めて高く評価されている。しかし、治療をうけた症例の医療効果のフォローアップ、地域における治療患者のバックアップについては、先進国に比べ、不十分な点が多い様である。保健婦の本事業への参加は、上述の欠陥を補うためにも大切なことであろう。

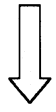
入江らは、先天性代謝異常症およびクレチン症スクリーニングの精度管理結果を分析している。先天性代謝異常症スクリーニングでは、まだ異常値検体を見逃したスクリーニングセンターが6ヶ所存在しているとのことである。クレチン症スクリーニングについては、今年度は、TSH高値のものを見逃した所は0であり、漸く検査水準が満足すべきレベルになったとしている。ただ、記入の誤りはかなり多い様である。精度管理の回答で記入の誤りがあることは、現実のスクリーニングの処理にも、事務的誤りが入りうることを示唆するのであり、この点についての検査機関への指導が大切である。

ただ、今年度においても、クレチン症の検査を、自己の検査機関で行わないで、自治体内あるいは外の、他機関に委託している所が12あるとのことである。この外部委託は、クレチン症検査がRIAによっていた時に、どうしてもRI施設がない場合、過渡期の措置として外部委託を認めたのであり、各施設で出来る様な方法が開発されたら、出来るだけ早く、各検査施設内で実施することが望ましいという指導があったのである。この様な外部委託は、一日も早く検査すべきスクリーニング検査の実施が遅れるし、検体の一部を切り取って送る場合に誤りが入りやすいという大きな欠点を持っている。先進国では、今や外部委託を行う検査機関は存在しないと思われる。この様な異例の制度を長く認めることは、わが国のシステムの欠点とされても仕方がないであろう。行政当局の再検討が望まれる。

成瀬らは、マスクリーニングに使用される採血濾紙、TSH、17-OHP測定キットの品質管理を行い、それれの問題点を分析した。副腎過形成症スクリーニングには、かなり性格の異なる17-OHP測定キットが市販されており、同じ検体では、試薬が変わり、またロットが変わると、異なった測定値を示すことがあることを見出した。これは全国的に、軽度の

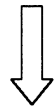
患者の発見もれをなくすための努力の妨げになりかねない。

クレチン症スクリーニングキットでも、一時、標準物質のロット変動で、スクリーニングのカットオフ値の正しい設定が、難しかったことがあったということも明らかになった。これらの試薬の品質管理は、今後引続き行う必要がある。尚、副腎過形成症スクリーニングについては、外部標準検体を用いたスクリーニングの精度管理（正確度テスト）が実施される必要がある。将来発見もれの問題が発生した時にも、どのような正確さでスクリーニングが行われているかについて、討議が集中するであろう。この点の現状を把握することは、極めて重要なことであり、外部標準検体を用いた精度管理が必要である。副腎過形成症のスクリーニングにおいても、スクリーニング検査の外部委託が行われている。塩類喪失型の場合、一日も早く検査を終了し、ショック死を未然に防ぐ必要がある。外部委託という変則的なシステムは一日でも早く中止すべきと考える。



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】わが国のマススクリーニングシステムの問題点についての検討を行っているが、昨年度に引続き、Ⅰ.神経芽細胞腫スクリーニングの問題点の検討、Ⅱ.新しい代謝異常症等のスクリーニング技術開発、Ⅲ.マススクリーニングシステムの問題点の3群に分けて問題設定している。神経芽細胞腫スクリーニングについては、尿採取のための適当な濾紙を決定した。そして、第一次スクリーニングの方法としては、ELISA法によるVMA、HVA測定が、充分使用に耐えうることを証明した。神経芽細胞腫スクリーニングについては、欧米の専門家による委員会が、その有用性を否定する様な見解を発表した。この点については、彼らの見解の中の誤りを指摘すると共に、わが国の結果を分析し、有用であることを示すための研究を行った。新しい代謝異常症スクリーニング方法の開発研究については、昨年度に引続き、ガスリー法に替わりうる便利な方法の確立のための研究を続け、PKU、ガラクトース血症、メイプルシロップ尿症のマススクリーニングに使用可能であり、且つガスリー法の持つ欠点を克服する様な新しい方法を確立した。そして、全国の主なスクリーニング施設が、その方法の追試を行って、マススクリーニングにも使用可能であるという判定を得ている。スクリーニングシステムについては、やはり各自治体におけるスクリーニング実施機関、発見患者の治療機関と自治体の連携システムの貧弱さが指摘されている。クレチン症、副腎過形成症については、まだ検査の外部依頼を続けている所が一部に存在するが、これは改善されるべきである。精度管理についてもいくつかの問題点の検討が行われた。