

EIA法による尿中VMA, HVA異常高値検体についての検討

(分担研究：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)

二宮 恒夫<sup>1</sup>, 増田 恵<sup>2</sup>, 山本千鶴子<sup>2</sup>

〔要約〕EIA法による測定によって尿中HVAが異常高値を示した検体について、その原因と取り扱いについて検討した。これらの検体の溶出操作からの再検ではやはり高値を示し、技術的な原因ではないと思われた。また、これらの検体は、酢酸エチルによる描出ですべてカットオフ値以下を示した。異常高値の原因物質の描出をエキストレルートカラムを用いて試みたが、クロロフォルムやジエチルエーテルでは描出されなかった。新しく送付された検体すべてについて、酢酸エチルによる描出を行い、描出前後の値、およびHPLCの結果と比較検討した。VMA値についてはよい相関を示し、EIA法による尿中VMAの測定結果は、HPLCによる結果と同様の判定が可能と思われた。HVAについては、描出後の値がHPLCの測定値と相関がよくなる傾向がみられた。HVAの高値検体は、酢酸エチルで描出し、再検する必要があると考えられた。

〔見出し語〕神経芽細胞腫, EIA法

〔目的〕EIA法による尿中VMA, HVAの測定結果は、HPLCによる測定値とよく相関し、神経芽細胞腫のマススクリーニングにEIA法を利用できることが判明した。しかし、HVAについては、HPLCで正常にもかかわらず、数%に異常高値が認められ、この原因、ならびに、このような検体についてはどのように取り扱うかは未解決である。

〔方法〕送付された乾燥ろ紙尿（東洋ろ紙, No. 327）をPBS（0.01M, pH 7.4）で溶出後、EIA法により以下の点を検討した。EIA法<sup>1),2)</sup>による測定は既報のとおり行ったが、とくに、反応温度、プレートの洗滌、洗滌液の除去の段階を注意して行った。

1) HVAの異常高値検体について、同一ろ紙尿から再度溶出し、測定した。

2) HVAの異常高値検体について、酢酸エチルによる描出を行い測定した。また、異常高値をきたす物質の描出をエキストレルート

1：徳島大学医療技術短期大学部

2：徳島大学医学部小児科

カラムを用いて試みた。

3) 夏季に湿った状態で送付されたる紙尿をそのまま4℃に保存し、10検体集まった後、測定直前に室温で乾燥させ測定した。

4) 送付された検体(未測定分)のすべてについて、酢酸エチルによる描出を行い、描出前の値やHPLCの結果と比較した(異常高値例を除く)。

5) 最近経験した症例について、HPLCの測定値と比較検討した。

#### 〔結果〕

1) 図1に示すように、1回目のHVA測定値と2回目の測定値はよく相関し、HVAの異常高値は測定技術によるものではないと考えられた。

2) HVAがカットオフ値(mean+2SD:34.2  $\mu\text{g}/\text{mg}\cdot\text{creat}$ )以上(36.7~スケールオーバー)を示した30例(HPLCの測定値はカットオフ値以下)について、酢酸エチルで描出後、EIA法で測定したところ、すべてカットオフ値以下を示した(図2)。エキストレルートカラムにて、検体のpHを変え、溶媒としてクロロフォルムやジエチルエーテルを用いたが、異常高値物質は描出されなかった。

図1: HVAの1回目と2回目測定値の相関  
(単位は  $\mu\text{g}/\text{mg}\cdot\text{creat}$ )

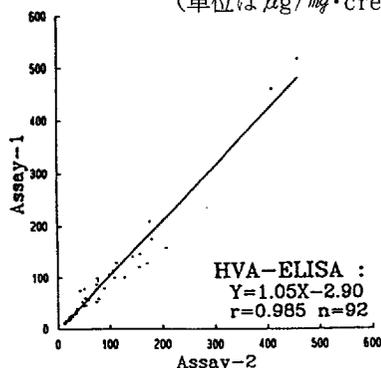
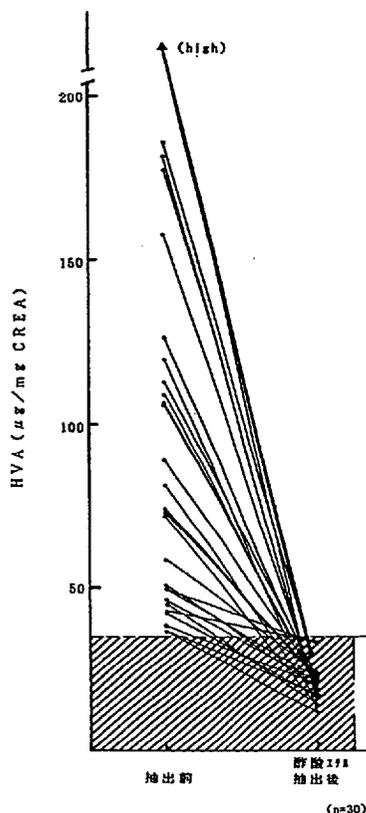


図2: HVA異常高値検体の酢酸エチルによる描出後の値



3) 湿ったろ紙尿、10例の測定では、クレアチニンは、14.8~59.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ に分布し、HVAは1例のみ43.8  $\mu\text{g}/\text{mg}\cdot\text{creat}$ (クレアチニンは18.0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )で、他はカットオフ値以下であった。

4) 図3, 4に、酢酸エチルによる描出前後のVMA, HVAの相関、および酢酸エチルによる描出後のEIA法とHPLCによる測定値の相関を示した。VMAはよく相関した。HVAについては、少しばらつく傾向があり、描出後の値はHPLCと相関がよくなる傾向がみられた。

5) 表1の症例1は、マススクリーニングで発見されたstage 1の、症例2は治療中止3年後に再発した症例で、それぞれのVMA, HVAの値を示したが、EIA法でも発見が可能である。

図3：VMA値の酢酸エチルによる抽出前後の相関（左図）とHPLCの結果との相関

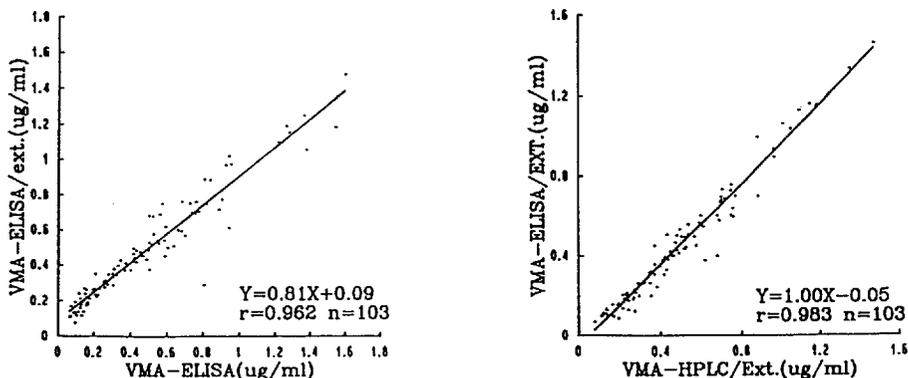


図4：HVA値の酢酸エチルによる抽出前後の相関（左図）とHPLCの結果との相関

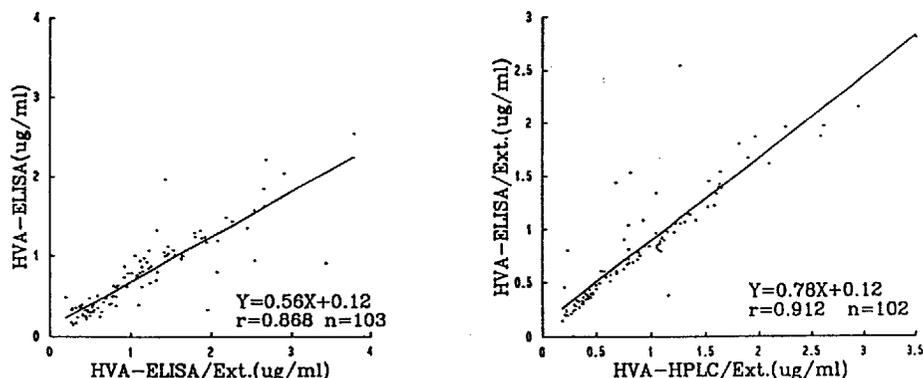


表1：症例のVMA，HVA値

	VMA ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ CREA)		HVA ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ CREA)	
	EIA	HPLC	EIA	HPLC
症例1：7/23	26.79	19.13	27.39	28.93
	8/9	10.54	16.94	23.39
	10/17	38.20	32.62	53.02
	10/25	35.34	29.27	54.25
症例2：12/26	23.57	21.34	16.02	19.45
	1/9	25.13	23.26	17.54

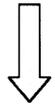
〔結語〕

EIA法による尿中VMAの測定結果については、HPLCによる結果と同様の判定が可能である。HVAの高値検体は、酢酸エチルによる抽出後、再検する必要がある。酢酸エチ

ルによる抽出は、エキストレルートカラムを利用すれば操作も簡単であり、抽出時間の短縮がえられると思われた。

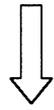
文献

- 1) Yokomori, K., Hori, T., Tsuchida, Y., et al.: A new urinary mass screening system for neuroblastoma in infancy by use of monoclonal antibodies against VMA and HVA. J. Ped. Surg., 24: 391-394, 1989.
- 2) 二宮恒夫, 楠本恭子: EIA法による尿中VMA, HVAの測定. 平成2年度厚生省心身障害研究報告書, p103~106, 1991.



## 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〕EIA 法による測定によって尿中 HVA が異常高値を示した検体について、その原因と取り扱いについて検討した。これらの検体の溶出操作からの再検ではやはり高値を示し、技術的な原因ではないと思われた。また、これらの検体は、酢酸エチルによる描出ですべてカットオフ値以下を示した。異常高値の原因物質の描出をエキストレレートカラムを用いて試みたが、クロロフォルムやジエチルエーテルでは描出されなかった。新しく送付された検体すべてについて、酢酸エチルによる描出を行い、描出前後の値、および HPLC の結果と比較検討した。VMA 値についてはよい相関を示し、EIA 法による尿中 VMA の測定結果は、HPLC による結果と同様の判定が可能と思われた。HVA については、描出後の値が HPLC の測定値と相関がよくなる傾向がみられた。HVA の高値検体は、酢酸エチルで描出し、再検する必要があると考えられた。