

乾燥血液濾紙を用いた Wilson 病マススクリーニングの検討  
(分担研究：マス・スクリーニングの新しい対象疾患とその  
実施年齢に関する研究)

多田啓也<sup>1)</sup> 大浦敏博<sup>1)</sup> 成澤邦明<sup>2)</sup> 白石広行<sup>3)</sup>

要 約

ウイルソン病は、放置されれば肝硬変、錐体外路症状、知能低下を呈する予後不良な疾患である。しかし、早期にD-ペニシラミンなどキレート剤を投与することにより発症予防が可能であり、治療可能な代謝異常症として注目されている。また血液中のセルロプラスミン値を指標としたスクリーニング法が開発されマススクリーニング実施への期待が高まっている。今回我々は、北川らの開発したELISA法を用いて濾紙血液中のセルロプラスミン値を測定し、検体の保存条件に関して次のような結果を得た。①濾紙血液は十分乾燥した後に保存する必要がある。②長期間（48時間以上）室温に保存すると濾紙血液中のセルロプラスミン値は漸減する。③高温条件（37℃）に放置するとセルロプラスミン値は急速に低下する。④凍結融解が繰り返されるとセルロプラスミン値は低下する。

以上の結果より、濾紙血液中のセルロプラスミン値は保存条件に影響を受けやすく、濾紙血液の保存、輸送に関しては一定の条件設定が必要であると考えられた。

見出し語

ウイルソン病、セルロプラスミン、マススクリーニング、ELISA法

研究方法

対象：大学病院及び関連病院に通院している患児で六か月以上学童までの年齢のもの  
500人を対象とした。

方法：昨年度本班会議で北川らの報告した方法に準じて行った。すなわち、抗ウサギIgG やぎ抗血清を固相化したマイクロプレートに、抗ヒトセルロプラスミンウサギIgG血清100 $\mu$ l、ペルオキシダーゼ標識セルロプラスミン抗原50 $\mu$ l、直径3mmの濾紙血液一枚を

加え、25℃で一晩反応させた後濾紙及び反応液を除き、プレートを25mM PBS pH7.4で3回洗浄する。次いで発色試薬ABTS 200 $\mu$ lを加えて室温で30分反応させ、0.1% NaN<sub>3</sub>を加えて反応を停止させた後に、マイクロプレートリーダーを用い414nmの吸光度を測定した。

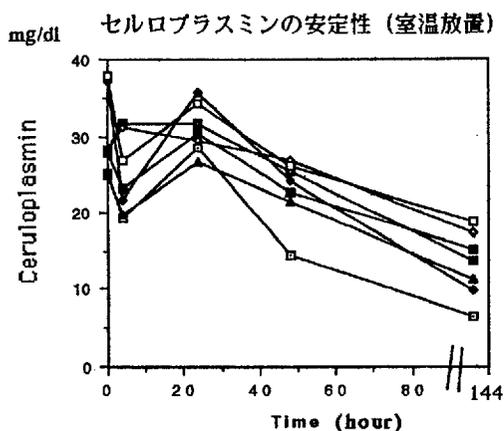
結 果

(I) 標準セルロプラスミン濾紙を用いた場合、本法では径3mmのディスク1枚を使用し

て5~100mg/dlの範囲のセルロプラスミンを定量的に測定することが可能であった。2例のウイルソン病患者の濾紙血液中セルロプラスミンはいずれも10mg/dl以下であり、患者と正常群の鑑別は容易であった。

(II) 濾紙血液の保存条件についての検討。

①室温乾燥：濾紙血液は採血後それぞれ4, 24, 48, 144時間室温で乾燥させた後4℃に保存した。また採血直後にドライヤー(冷風)で乾燥したものを0時間とした。図1に結果を示すが、0と24時間室温乾燥させたものはほぼ同じ値であるが、4時間しか乾燥させなかった検体ではセルロプラスミン値が有為に低下していた。



すなわち、十分に乾燥していない検体では保存中にセルロプラスミン値が低下することが明らかとなった。しかし、長時間(48時間以上)室温に放置した検体では、セルロプラスミン値が漸減していた。この結果より、検体は保存前に完全に乾燥させる必要があるが、室温で24時間以上は放置するべきではないと思われる。

②高温(37℃)での安定性：採血後乾燥させた濾紙血液を37℃に放置したところセルロプラスミン値は急速に低下し、8時間後には10

から20%低下した。

③凍結融解の影響：採血後ただちに-20℃保存した検体と、ドライヤー(冷風)で充分乾燥させた後-20℃に保存した検体を6回凍結融解した後にセルロプラスミン値を測定した。未乾燥で保存したものは凍結融解後約30%の低下を見た。しかし、充分乾燥させた検体でも凍結融解により約15%低下した。

#### 考 察

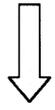
今回我々はELISA法により濾紙血液中のセルロプラスミンを測定した。本法は簡便かつ再現性がよく、患者と正常群を明確に鑑別することが可能であった。

濾紙血液を保存する場合は十分に乾燥させる必要があるが、室温で長期間(48時間以上)放置した場合、セルロプラスミン値が低下することが明らかとなった。その為検体を従来のように郵送して集める方法は不相当であると思われる。また、例え充分乾燥した後に保存しても、セルロプラスミン値は保存条件に影響を受けやすく、濾紙血液の保存、輸送に関して一定の基準を設定する必要があると思われる。

#### 文 献

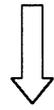
北川照男, 大和田操, 鈴木 健: Wilson病のマススクリーニングに関する研究(2), 厚生省心身障害研究, 「代謝疾患, 内分泌疾患等のマススクリーニング, 進行阻止及び長期管理に関する研究」平成2年度研究報告書, p187-189.

東北大学医学部小児科<sup>1)</sup>, 病態代謝学<sup>2)</sup>, 宮城県保健環境センター<sup>3)</sup>  
 Depts of Pediatrics<sup>1)</sup> and Biochemical Genetics<sup>2)</sup>, Tohoku Univ Sch Med.  
 Miyagi Prefectural Institute of Public Health and Environment<sup>3)</sup>



## 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

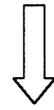
ウィルソン病は、放置されれば肝硬変、錐体外路症状、知能低下を呈する予後不良な疾患である。しかし、早期に D-ペニシラミンなどキレート剤を投与することにより発症予防が可能であり、治療可能な代謝異常症として注目されている。また血液中のセルロプラスミン値を指標としたスクリーニング法が開発されマススクリーニング実施への期待が高まっている。今回我々は、北川らの開発した ELISA 法を用いて濾紙血液中のセルロプラスミン値を測定し、検体の保存条件に関して次のような結果を得た。濾紙血液は十分乾燥した後に保存する必要がある。長期間(48 時間以上)室温に保存すると濾紙血液中のセルロプラスミン値は漸減する。高温条件(37 )に放置するとセルロプラスミン値は急速に低下する。凍結融解が繰り返されるとセルロプラスミン値は低下する。

以上の結果より、濾紙血液中のセルロプラスミン値は保存条件に影響を受けやすく、濾紙血液の保存、輸送に関しては一定の条件設定が必要であると考えられた。



## 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



### 要約

ウィルソン病は、放置されれば肝硬変、錐体外路症状、知能低下を呈する予後不良な疾患である。しかし、早期に D-ペニシラミンなどキレート剤を投与することにより発症予防が可能であり、治療可能な代謝異常症として注目されている。また血液中のセルロプラスミン値を指標としたスクリーニング法が開発されマススクリーニング実施への期待が高まっている。今回我々は、北川らの開発した ELISA 法を用いて濾紙血液中のセルロプラスミン値を測定し、検体の保存条件に関して次のような結果を得た。濾紙血液は十分乾燥した後に保存する必要がある。長期間(48 時間以上)室温に保存すると濾紙血液中のセルロプラスミン値は漸減する。高温条件(37 )に放置するとセルロプラスミン値は急速に低下する。凍結融解が繰り返されるとセルロプラスミン値は低下する。

以上の結果より、濾紙血液中のセルロプラスミン値は保存条件に影響を受けやすく、濾紙血液の保存、輸送に関しては一定の条件設定が必要であると考えられた。