

スクリーニングの新しい対象疾患に関する研究

分担研究者 青木 継稔
研究協力者 荒島真一郎、高田 五郎、大浦 敏博、多田 啓也、北川 照男、
小林 正紀、須藤 正克、小山 正彦、伊藤 道德、遠藤 文夫、
松井 陽、成澤 邦明、鈴木 義之、折居 忠夫、田中あけみ、
岡田伸太郎、寺本 勝寛

研究目的

本研究は、行政的に現在広く普及し効果を挙げているマススクリーニング（フェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症、クレチン症、先天性副腎過形成および神経芽細胞腫など）に新しく加えるべき疾患を選び出し、そのスクリーニング法、実施時期などについて倫理的問題を考慮し研究することが主たる目的である。マススクリーニングされるべき対象疾患の必要かつ十分な条件は、①治療せず放置すれば不幸な転帰をとるかあるいは重篤な後障害を残し社会復帰が困難となる疾患であること、②効果的な発症予防法や有効な治療法が確立されていること、③確実なマススクリーニング法が確立されていること、④発症頻度は稀であっても、患者数がある程度存在すること（恐らく、出生人口10万人に1人程度）、⑤費用効率や費用便益がある程度考慮される必要のあること、などが含まれる。

前年度（平成5年度）は、ウイルソン病、胆道閉鎖症、ムコ多糖症および妊婦不規則抗体の3疾患・1項目について研究を行った。今年度（平成6年度）も前年度と同様の3疾患・1項目の4つについてのスクリーニングに関する研究を進め、マススクリーニングを効果的に実施できるかどうかを検討した。ウイルソン病は、全国10施設において新生児濾紙血（現行の新生児スクリーニング用濾紙血）を中心に約6万人のパイロット・スタディを実施し、測定法の改良等の基礎的検討も行った。胆道閉鎖症は、カラーカード法にて栃木県・埼玉県の1カ月児を対象に約1万6千人のパイロット・スタディを実施し、全国実施に向けての方略を検討した。ムコ多糖症は、6カ月児の尿濾紙の抽出法を検討し、岐阜県において約2万検体のパイロット・スタディを実施した。妊婦不規則抗体スクリーニングは、山梨県および弘前市において実施した。

研究方法

1. ウイルソン病：札幌市、秋田県、宮城県、東京都、神奈川県、千葉県、名古屋市、福井県、滋賀県、徳島県、香川県、熊本県などにおいて、新生児濾紙血を用いて約5万人以上のパイロット・スタディを実施し、陽性例について追跡調査を行う。スクリーニング実施に当たっては、インフォームド・コンセントを大切にして実施する（荒島、高田、大浦、北川、青木、小山、須藤、小林、伊藤、遠藤ら）。
2. 胆道閉鎖症：栃木県、埼玉県を中心に生後1カ月児を対象に糞便カラーカード法にて、約2～3万人のパイロット・スタディを実施し、陽性者の取扱い方についても決定したい（松井ら）。
3. ムコ多糖症：岐阜県、宮城県、大阪府などを中心に、6カ月児の尿を用いてスクリーニングできるか、基礎的検討および約2万人以上を対象としたパイロット・スタディを実施する（折居、成澤、鈴木、岡田、田中ら）。
4. 妊婦不規則抗体：山梨県、弘前市において、約5千人以上を対象としたパイロット・スタディを実施し、陽性率や陽性者の取扱い方について検討する（寺本ら）。

研究結果(成果)

1. ウイルソン病マススクリーニングについて

(1) 基礎的検討：抗ヒトホロ型Cpモノクローナル抗体によるELISA法について、従来法は濾紙血を抽出希釈しなければならない手間があり、希釈操作のない簡便なELISA法が開発された(冷牟田、青木ら、武田、遠藤らの2グループ)。また、抗ヒト総蛋白Cpモノクローナル抗体(ホロ型Cpとアポ型Cpの両者を認識する)による総Cp値と活性を有するホロ型Cpを同時に測定し、ホロ型Cp/総Cp値を求めることにより健常新生児や健常人において、その比がほぼ1.0であったのに対し、ウイルソン病患者では約1/3程度であり、再検時の有用な手段となる可能性を示唆した(冷牟田、青木ら)。

(2) ウイルソン病のわが国における発症頻度および臨床像に関する約3年間の全国調査成績：1992-1994年の約3年間に、新しく初めて本症と診断された症例数は135例であった。一次調査は全国200床以上の病院、小児科、神経内科、消化器内科および精神神経科の4つの標榜科を対象とした。5,288箇所の診療科に送付し、回収率は41.2%(大学病院の回収率は約70%)であった。初発患者の年齢分布は、1~52歳でありM±SDが14歳0カ月±9歳7カ月であった。本症の推定発症頻度は、出生約3万4千人に1人以上となった。肝型が50%を占め、激症肝炎型は7%と高かった。血清Cp(恐らく総Cp)値は、10mg/dl未満が79.6%であり、正常値を示したのが3.7%であった(青木ら)。

(3) 新生児濾紙血を用いたパイロット・スタディの成績を中心として

① 北大・札幌衛研グループ(福士・荒島ら)；総受付検体数13,861例中98%にあたる13,537例に保護者の同意が得られた。9例が再採血依頼となり、6例が再採血されたが結果はいずれも正常であった。また、マイクロサテライト多型解析を行い、日本人ウイルソン病遺伝子(WD遺伝子)に2種類の共通ハプロタイプ(いずれも4/12)の存在を見出し、共通ハプロタイプの変異を明らかにすることにより、新生児期における本症の確定診断への応用が可能になるものと推定した。

② 秋田大グループ(高田ら)；測定検体数は763検体であり、採血は生後5.7±2.0日、測定は12.5±5.9日であった。5例が低値を示し、4例について月齢7カ月にて再検しすべて正常であった。低値4例中2例は高ビリルビン血症を伴う肝機能異常例が含まれていた。

③ 東北大・宮城県グループ(大浦、白石、多田ら)；7,327名に実施し、カット・オフ値は6mg/dl前後を妥当とした。陽性検体はなかったが、Cp抽出時の効率の問題および測定用マイクロプレート作成時の品質管理上の問題などが指摘された。

④ 東京都予防医学協会(北川、大和田、鈴木ら)；新生児濾紙血10,984検体が同意が得られ、139例に再採血依頼し、130例の再検査にて118例が正常、12例再々採血依頼し、10例の再々検査はすべて正常であった。また、本症患者尿中にはELISA法にて抗ホロ型Cpモノクローナル抗体と反応する物質の存在を確認し、尿を用いる本法のスクリーニング応用の可能性を示唆した。

⑤ 福井医大グループ(中井、畑、須藤)；文書による保護者の同意が得られた5,348例中再検例15例、再検率0.28%であった。研究期間中に1歳5カ月の本症患者が発見され、血清ホロ型Cp値は4.2mg/dlであった。

⑥ 名古屋市大・愛知県グループ(小林ら)；保護者の同意の得られた944検体中5mg/dl未満を再検とし、4.1と4.8mg/dlの2検体があり再採血要請中である。

⑦ 滋賀医大・滋賀県グループ(小山、島田、谷、角野ら)；各機関との調整、実施時の説明と同意、カット・オフ値の設定などの準備を行い、さらに問題点を提起した。

⑧ 徳島大・徳島県・香川県グループ(伊藤、黒田、松原、好井ら)；保護者の同意の得られた新生児16,880名について実施した。初回検査にて116名(0.70%)に再採血を依頼し現在まで46名が再採血検査を実施した。8名が陽性であり、7名が再々採血を受けたが全例正常であった。再採血や再々採血の時期について月齢別の検討を行う必要があることを指摘した。

⑨ 熊大グループ：約4,000検体について実施し、110例(2.0%)に再検査を行ったがとくに異常低値例はなかった。

⑩ 東邦大・東京都衛生研グループ（青木、藤岡、久保田、柴田ら）；818検体について実施し、4例(0.5%)が再検となったが異常例はなかった。

⑪ 全国10施設パイロット・スタディの集計結果（久保田、藤岡、青木ら）；平成5・6年度における累計は、59,712例（平成6年12月31日現在）となった。陽性率は各施設間のバラツキがあり、0～6.72%（平均1.65%）であった。再検率は0.47%、再検時陽性率0.03%であった。再採血、再々採血要請中のものが数例含まれているが現在のところ、本症患者は発見されていない。

(4) 倫理面の問題の検討（青木ら）

ウイルソン病マススクリーニング実施に関する倫理面の問題は重要である。新生児代謝異常スクリーニング用血液濾紙を用いる場合において、行政側（都道府県・市町村）、検査実施機関、採血を行う病院の産婦人科や小児科医、受益者である保護者に対する文書による説明と同意、再採血依頼とそれに対する説明と同意、さらに、本症についての説明文および本症のマススクリーニングの意義および約5%の見逃し例のあることに対する説明文、再採血・再々採血の時期の設定、確定診断する時期と方法の説明、治療開始時期と予防効果に対する説明など倫理面の問題を検討した。

2. 胆道閉鎖症マススクリーニングの検討

胆道閉鎖症マススクリーニングの目的は、1カ月健診にて患児を発見し生後60日以内に葛西式手術を行うことにより本症の予後を改善することにある。栃木県と埼玉県において、便色調8段階カラーカードを産院退院時に母親に渡し、1カ月健診直前のこどもの便色調の最も近い番号を記入させ提出させた。受検総数は、16,367名、受検率85%であり、陽性率0.1%となった。3名の患児が発見された。本法を全国的に実施するためには、本症のマススクリーニングシステムを徹底強化すること、手術成績の良い小児外科へ紹介する体制を作りあげることが重要であると指摘した。

3. ムコ多糖症マススクリーニングについて

(1) 基礎的検討

①岐阜大グループ（岩田、祐川、折居ら）；自動分析法とマイクロプレート法(DMB法)を比較し、 $r=0.89$ と良い相関がありマイクロプレート法を本症マススクリーニングへ導入可能と考えた。尿濾紙からのムコ多糖抽出法を検討し高い回収率を得た。

②東北大グループ（呉、成澤ら）；現行の6カ月児神経芽細胞腫マススクリーニング用VMA 327（東洋）濾紙を用いてグルコサミノグリカン(GSG)の抽出法を検討した。尿アルカリ化と200-500mMトリス蟻酸緩衝液にて十分抽出可能と結論した。

③東京都臨床医学総研グループ（鈴木、桜庭、加瀬）；DMB発色法による尿濾紙の抽出効率が検討された。東洋327濾紙は、pH8.8のアルカリ化により、Whatmann540（無灰硬化濾紙）も良い結果を得た。尿濾紙による本症スクリーニングは、6カ月児においてバラツキが大きく、1歳以上のコントロール群にて安定し実際のムコ多糖症患者と識別可能であった。

④大阪大グループ（岡田、乾、塚本）；マイクロプレートリーダーによる尿中ムコ多糖の測定を行った。乳児期は尿中クレアチニン値が低値であったため、3歳以上では患者との明確な識別が可能であった。6カ月児尿の例数を増やしてさらに検討することになった。

⑤大阪市大グループ（長谷川、田中、一色ら）；マイクロプレートリーダー法を検討し、さらに尿濾紙アルカリ抽出・超音波処理にてコンドロイチン硫酸Cの添加回収率が70%前後に安定した結果を得た。

(2) パイロット・スタディ成績

岐阜県において、同意の得られた19,800検体の一次スクリーニングを実施したが現在までのところ患児は発見されていない。

4. 妊婦不規則抗体スクリーニングの成績

妊婦不規則抗体スクリーニングシステムの目的は、血液型不適合妊娠による新生児溶血性疾患(HDN)や不適合輸血の予測などに対応するためのものである。今年度は、山梨県と弘前市の1年間の成績を集計した。山梨県妊

婦不規則抗体陽性率0.94%(115/11,881)であり献血者0.12%より8倍高かった。HDNは8例(抗D+抗E抗体1、抗D+抗G抗体1、抗E抗体2、抗E+ \bar{c} 抗体1、ABO式3)、発生率0.045%(分娩総数17,748)、不規則抗体陽性例115例中の4%を占めた。HDNに対する治療は、光線療法8例全例、交換輸血6例、赤血球輸血8例全例に実施され、核黄疸はなかった。分娩時輸血率0.3%(26/8,524)であった。弘前市の妊婦抗体陽性率0.9%(19/2,122)であったが、HDNの発生はなく、分娩時輸血率0.4%(31/7,683)であった。

考 察 および 結 論 (今後の研究方針を含めて)

1. ウイルソン病マススクリーニングに関して

1992(平成4)年度に、ウイルソン病患者で著しく低値を呈するホロ型(あるいは活性型)Cpがクローニングされ、このホロ型Cpに対するモノクローナル抗体が調整されELISA法による本症のマススクリーニング法が開発された。前年度は、全国9施設において現行の先天代謝異常等スクリーニング用新生児濾紙血を用いて、基礎的検討および19,199名のパイロット・スタディが実施された。基礎的検討にて、①本法は新生児濾紙血と本症患者との間にて識別が可能である(ただし、本症患者の新生児・乳児例に発見された例がないため、患者の新生児期は低Cp血・低ホロCp血を示すかどうかという疑問が残る)こと、②Cpの不安定性が指摘され採血された濾紙は2週間以内の測定が望ましいこと、など結論された。新生児濾紙血19,199名の成績は、再検率0.8%、陽性率0.03%であった。

今年(平成6年)度は、基礎的検討として、①抗ヒトホロ型Cpモノクローナル抗体ELISA法がさらに簡便な方法に改良できたこと、②抗ヒトホロ型Cpモノクローナル抗体ELISA法によるホロ型Cp測定と抗ヒト総Cp蛋白認識モノクローナル抗体ELISA法による総Cp量測定によるホロ型Cp/総Cp比を求めることにより精度の高い再検査が可能であること、などの良い結果が得られた。パイロット・スタディは累計59,712名に実施され再検率0.47%、再検時陽性率0.03%であり、低ホロ型Cp血例が数例再々検査のための再採血要請中であるが、患者であると確定できたものはまだいない。一方、1992-1994年の約3年間に新しく本症と診断された本邦ウイルソン病全国調査を実施し、回収率41.2%(全国200床以上の病院・5,288箇所へ郵送アンケート)であったが135例の報告があり、本症の推定発症頻度は、出生約3万4千人に1人以上という結果を得た。また、本症のマススクリーニングに関する倫理面的問題が山積しており、検討課題となった。いずれにしろ、可能な限り早期にパイロット・スタディにて患者が発見されることである。

本症のマススクリーニングに関する次年度以降、今後の研究課題および研究方針について、以下に箇条書する。

①新生児濾紙血を用いた抗ヒトホロ型Cpモノクローナル抗体によるELISA法マススクリーニングを全国10施設以上に継続実施し、本症患者の発見を行う。②陽性例の再検・再採血要請等の追跡管理を確立し実行可能とする。③確定診断法および治療開始基準を具体的に作成する。④マススクリーニング実施に当たった倫理面的問題をあらゆる面から解決するための方略を検討し、具体化する。⑤現行のELISA法試薬キットの品質管理、ロット間のバラツキや簡略化への改良をさらに進める。⑥新しいスクリーニング法、確定診断法(遺伝子・ハプロタイプ解析、尿中銅測定など)について研究を進める。⑦3~5歳の幼児血(血清でも濾紙血でもよい)による本症のマススクリーニングのパイロット・スタディや採血等にかかわる倫理面的問題等についても検討を行ってゆく。

2. 胆道閉鎖症マススクリーニングに関して

1993年(平成5年度)に、松井らによって開発された1カ月児の糞便色調を基準に8段階のカラーカード(母子手帳に入る大きさ)法による胆道閉鎖症スクリーニングのパイロット・スタディが栃木県・埼玉県にて実施された。本症は早期発見し、生後60日以内に手術をしないと予後は極めて悪くなる疾患であり、発症頻度も9千~1万人に1人といわれ比較的高い。前年度は、カラーカード判定は、母親が行うものであり、false positiveやfalse negativeの頻度が高いかも知れないことが懸念された。今年度は16,367名の受検総数があり、受検率85%、陽性率0.1%であり、3名の患児が発見された。カラーカードは、より識別し易いものに作り変えられ、false positiveやfalse negativeの危険性は著しく低下したとのことである。本法は、簡便であり、採血などの侵襲も

なく、安価であり早期に全国実施可能と考えられる。今後の研究方針について、以下のごとく箇条書にする。

①栃木県を中心に実施されているが複数以上の他都道府県・他施設においてもパイロット・スタディを実施する。②便カラーカード法陽性例に対する迅速な対応および確定診断へのシステム、さらに治療機関への送致法などを検討しモデル案を作成し、一部実行する。③倫理面への配慮、とくに説明と同意、陽性者に対する精神的支援への対応を検討する。

3. ムコ多糖症マススクリーニングに関して

ムコ多糖症は、I-VII（Vを除く）型がありIV型を除いては中枢神経障害、重篤な内臓障害を発現し、全型骨障害や成長障害を合併する。近年、本症に対する骨髄移植の有効性が実証されるようになり早期発見、とくに症状発現前の発見の重要性が指摘されてきた。前年度は、6カ月児を中心とする乳児の原尿および濾紙尿についてDMB法が検討された。乾燥尿濾紙からのムコ多糖体の抽出の困難性が指摘された。今年度は、5施設において基礎的検討と一部パイロット・スタディが実施された。昨年度懸念された乾燥尿濾紙からの抽出は、尿アルカリ化と抽出液の工夫によって良好な回収率を得ることが可能となった。しかし、新たな問題として、現行の神経芽細胞腫スクリーニング用尿濾紙による6カ月児において、患者と正常児との識別が困難かも知れないという成績が報告された。一方、岐阜県において、19,800検体のパイロット・スタディが実施されたが、現在までのところ患者は発見されていない。今後の研究課題・研究方針として以下の項目が重要であると考えられた。

①原尿・尿濾紙抽出法などDMBによるスクリーニング法を決定する。②実施適切な月齢・年齢を設定する。③パイロット・スタディの実施のための説明と同意、再採尿依頼、治療法の説明など倫理面の問題を検討し、実施可能にする。

4. 妊婦不規則抗体マススクリーニングに関して

本スクリーニングシステムは、血液型不適合妊娠による新生児溶血性疾患(HDN)、不適合輸血の予測と対応のために行われることは上述した。すでに、山梨県において完成されたシステムであり、今年度は、山梨県のほかに、弘前市においても実施した成績を集計した。山梨県にて、11,881妊婦に実施され不規則抗体陽性率0.94%、HDN発生8例（発生率0.045%）であり、弘前市もほぼ同様の結果であった。本スクリーニングシステムを全国実施するための今後の研究方針は以下の通りである。

①山梨県および弘前市の成績の蓄積を行い、全国実施への方略・モデルを作成する。他に実施している地区にて本システムを導入する。②実際に際し、本スクリーニングシステムの意義を明確にし、説明と同意など倫理面の検討を行う。③費用便益・効率について検討を行う。



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



研究目的

本研究は、行政的に現在広く普及し効果を挙げているマススクリーニング(フェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、ガラクトース血症、クレチン症、先天性副腎過形成および神経芽細胞腫など)に新しく加えるべき疾患を選び出し、そのスクリーニング法、実施時期などについて倫理的問題を考慮し研究することが主たる目的である。マススクリーニングされるべき対象疾患の必要かつ十分な条件は、治療せず放置すれば不幸な転帰をとるかあるいは重篤な後障害を残し社会復帰が困難となる疾患であること、効果的な発症予防法や有効な治療法が確立されていること、確実なマススクリーニング法が確立されていること、発症頻度は稀であっても、患者数がある程度存在すること(恐らく、出生人口 10 万人に 1 人程度)、費用効率や費用便益がある程度考慮される必要のあること、などが含まれる。

前年度(平成 5 年度)は、ウィルソン病、胆道閉鎖症、ムコ多糖症および妊婦不規則抗体の 3 疾患・1 項目について研究を行った。今年度(平成 6 年度)も前年度と同様の 3 疾患・1 項目の 4 つについてのスクリーニングに関する研究を進め、マススクリーニングを効果的に実施できるかどうかを検討した。ウィルソン病は、全国 10 施設において新生児濾紙血(現行の新生児スクリーニング用濾紙血)を中心に約 6 万人のパイロット・スタディを実施し、測定法の改良等の基礎的検討も行った。胆道閉鎖症は、カラーカード法にて栃木県・埼玉県 の 1 ヶ月児を対象に約 1 万 6 千人のパイロット・スタディを実施し、全国実施に向けての方略を検討した。ムコ多糖症は、6 ヶ月児の尿濾紙の抽出法を検討し、岐阜県において約 2 万検体のパイロット・スタディを実施した。妊婦不規則抗体スクリーニングは、山梨県および弘前市において実施した。