

ウィルソン病マス・スクリーニング法の改良に関する検討

冷牟田修一^{1,2}、清水敬子^{1,2}、大橋恭子¹、門田明彦¹、
藤岡芳美²、青木継稔²、

要約： ウィルソン病マス・スクリーニング用キットを希釈操作のない簡便な方法に改良すること及び再検時に健常新生児と患児をより明確に区別するため、総セルロプラスミン(CP)値に占める活性CPを測定診断する方法を確立することを目的に検討を行った。その結果、無希釈のものは検量線の直線性、C.V.値共に良好で、希釈する従来の方法とほぼ同等のものとなった。また、総CPと活性CPを比較する方法についても、検量線、C.V.値ともに良好であり、この方法を用いて健常新生児とウィルソン病患者血清につき比較検討した結果、健常では、活性CP/総CPの値の平均がほぼ1であったのに対し、ウィルソン病患者では、その値が1/3となり、再検時の有効な診断手段となる可能性が示唆された。

見出し語： マススクリーニング、ウィルソン病、活性型セルロプラスミン

目的： ウィルソン病は出生約3～3.5万人に1人といわれ、現在わが国において実施されているフェニルケトン尿症マススクリーニングによる発症頻度の2～2.5倍と多い。また、本症は、D-ペニシラミン等の銅キレート剤の経口投与により発症予防、或いは、治療可能な数少ない先天代謝異常症の1つである。ウィルソン病は血清CP値の低下及び肝への銅蓄積を特徴としているが¹⁾、近年、血清CP値の低下はCP蛋白の減少のみでなく不活性型CPの発現およびCP活性の低

下にも起因することがわかった²⁾。我々は活性型CPのみを測定する方法を用い、ウィルソン病患者及び健常新生児血中活性型CPの測定を行い、ウィルソン病患者血中で活性型CPの著しい減少を認め報告した³⁾。本年はこの測定法を①希釈操作のない簡便な方法に改良すること、及び②再検時に健常新生児と患児を明確に区別するため、総CP値に占める活性型CPを測定診断する方法の確立を検討した。

1. 出光興産中央研究所, 2. 東邦大学医学部

方法：①希釈操作のない簡便法の測定方法及び測定原理をそれぞれ図1、図2に示した。新生児血液濾紙からパンチアウトしたものをそのまま測定プレートの中に加え、抽出液を満たす。ここで、血液濾紙中のCPの抽出と固相化抗体との反応を起こさせる。4℃で一晩静置洗浄後、従来の方法と同様に酵素標識抗活性CP抗体を添加、30℃で1.5時間インキュベートした後、洗浄し、基質溶液の添加を行った。

②活性型CP、総CPの比較法の測定方法及び測定原理を図4、図5に示した。抗CPモノクローナル抗体、抗活性型CPモノクローナル抗体それぞれを固相化したプレートに新生児血液濾紙から、抽出した希釈液を加える。4℃で一晩静置し、洗浄後、酵素標識抗CPモノクローナル抗体を加える。30℃で1.5時間反応させた後洗浄し、基質溶液の添加を行った。

結果と考察：図3に簡便法の測定結果を図6に比較法の測定結果をそれぞれ示した。測定はいずれの場合も6重測定であり、簡便法は血中CP値、比較法は血清中CP値を示している。簡便法、比較法のどちらも、検量線の直線性、C.V.値ともに満足すべき結果が得られた。更に比較法を用いてウィルソン病の患者の検体を測定した結果を図7に示した。健常新生児を測定した場合、活性CP/総CPの値が0.95であったのに対し、ウィルソン病患者の場合その値が0.30であ

簡便法

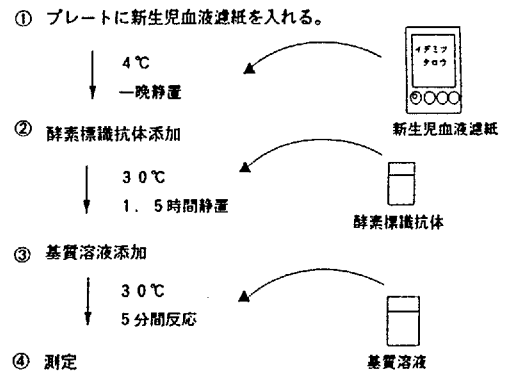


図1. 測定方法

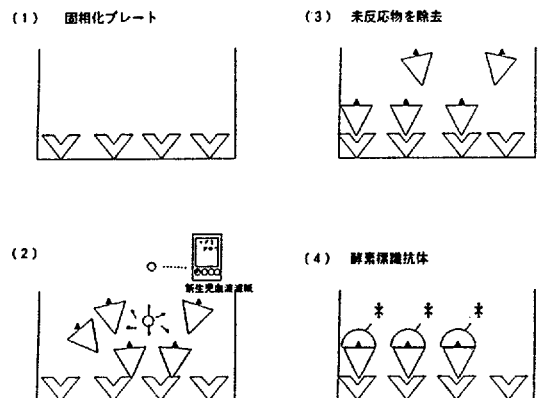
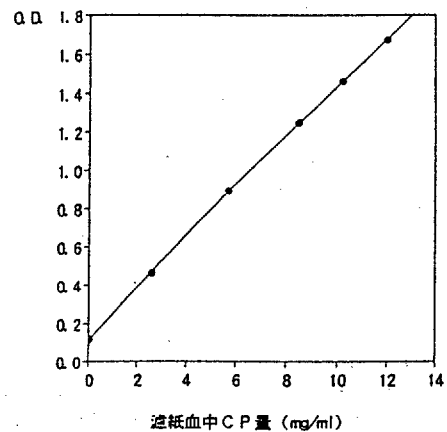


図2. 測定原理



濃度	O. D.	C. V. (%)
0.0	0.117	5.09
3.0	0.463	5.90
5.5	0.890	6.28
8.0	1.248	4.99
10.4	1.460	3.64
12.0	1.675	5.12

図3. 検量線及びC.V.値

比較法

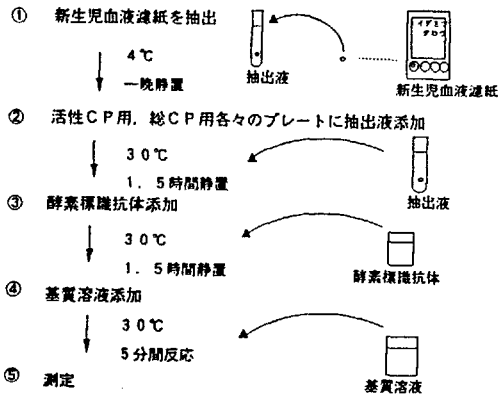


図4. 測定方法

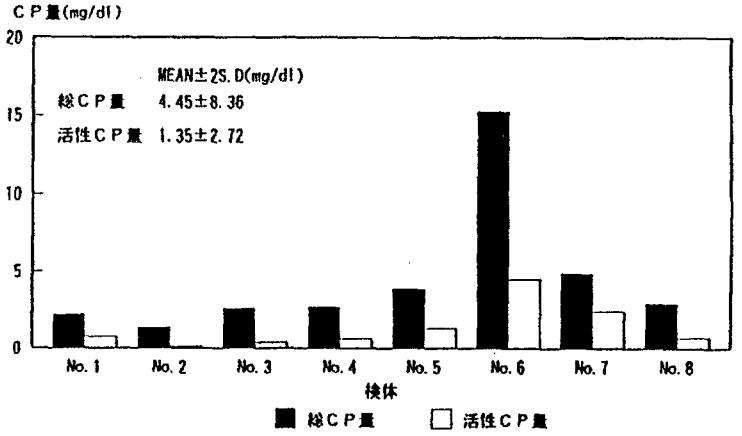


図7. W.D.患者血清中CP量

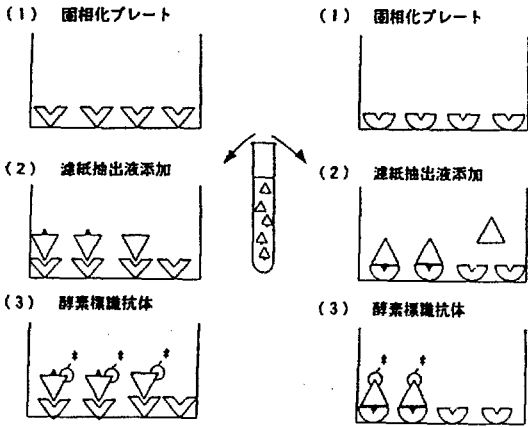


図5. 測定原理

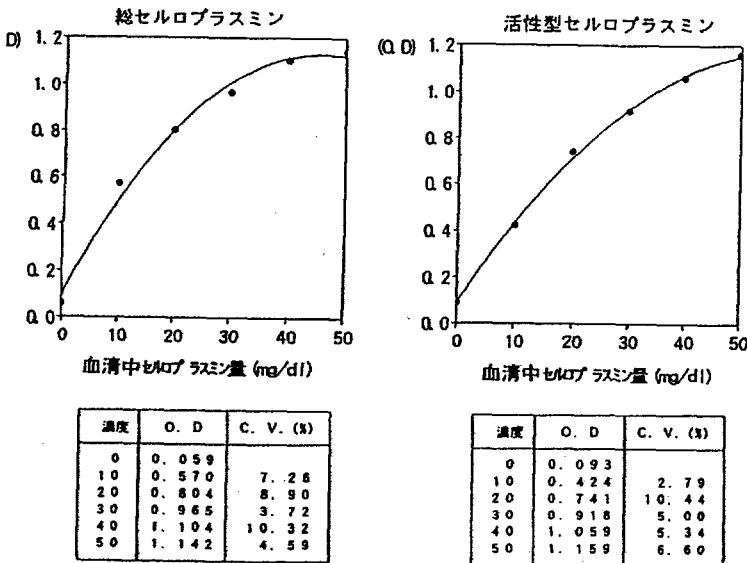


図6. 検量線及びC.V.値

り、再検時の指標となる可能性が示唆された。

結論；①希釈操作のない測定法は、検量線の直線性、C.V.値ともに良好であり、実際のマススクリーニングの場でも使用しうる信頼性の高いものであることが示唆された。

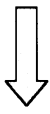
②活性型CPと、総CPを測定比較することにより、新生児期に判別困難であったものが、再検時により明瞭に区別できる可能性が示唆された。

文献；

1)Scheinberg I.and Sternlieb I. :Wilson's disease,WB Saunders, 1984

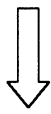
2)Hiyamuta S.,Shimizu K. and Aoki T. Lancet,1993 319, 342.56-57

3)冷牟田修一 他：厚生省心身障害研究平成4年度研究報告書, p147-149,1993



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：ウィルソン病マス・スクリーニング用キットを希釈操作のない簡便な方法に改良すること及び再検時に健常新生児と患児をより明確に区別するため、総セルロプラスミン(CP)値に占める活性 CP を測定診断する方法を確立することを目的に検討を行った。その結果、無希釈のものは検量線の直線性、C.V. 値共に良好で、希釈する従来の方法とほぼ同等のものとなった。また、総 CP と活性 CP を比較する方法についても、検量線、C.V. 値ともに良好であり、この方法を用いて健常新生児とウィルソン病患者血清につき比較検討した結果、健常では、活性 CP/総 CP の値の平均がほぼ 1 であったのに対し、ウィルソン病患者では、その値が 1/3 となり、再検時の有効な診断手段となる可能性が示唆された。