

Wilson病のマス・スクリーニングに関する研究  
－新生児スクリーニング成績と尿に関するスクリーニング法の検討－  
(分担研究：スクリーニングの新しい対象疾患に関する研究)

北川照男<sup>1)</sup>、大和田 操<sup>2)</sup>、鈴木 健<sup>3)</sup>

【要約】 1) 新生児濾紙血中セルロプラスミン(C.P)測定

1993年3月から1994年12月までに予め同意を得て採取した日齢5の新生児の濾紙血10,984件のCPを測定した。そのうち139例に再採血を依頼し、130例に再検査を行って、118例を正常と判定した。残る12例に再々採血を依頼し、10例がこれに応じてくれたが、全例正常と判定され、これまでWilson病患者は発見されていない。

2) 尿を用いたWilson病スクリーニングの検討

本症の症状発現は最も早くても幼児期後半であるため、乳幼児期の濾紙尿の銅測定によるスクリーニングが可能か否かを検討した。しかし、原子吸光法を用いた場合、原尿では前処理なしに患者を容易に識別できたが、濾紙尿では不可能であった。また、対照尿中にはELISA法でCPモノクローナル抗体と反応する物質が存在するのに対し、2例の患者では検出されず、本法によるWilson病スクリーニングの可能性が示唆された。

【見出し語】 Wilson病、セルロプラスミン

1) 濾紙血中CP測定による新生児スクリーニング：

【研究方法】 早期治療が有効な先天性代謝異常症Wilson病について、我々はこれまでに如何なるスクリーニングが有用かを検討しているが、本年度は、これまで行ってきた濾紙血中セルロプラスミン(CP)測定による新生児スクリーニングのpilot studyに加えて、尿による本症のスクリーニングの可能性について検討した。

東京都内で協力を得られた8施設の産科で出生し、母親から了解を得られた生後5～7日の新生児の濾紙血約1万件のCPについて、ELISA法により測定した。測定には出光興産から供与された固層化プレートと第二抗体を使用した。これまでに測定に用いたCP標品は3種類で、1994年12月からはNorpartigenのものを使用している。また、positive controlとしては、駿河台日大病院で治療している

1) 国際学院埼玉短期大学 2) 日本大学小児科 3) 財)東京都予防医学協会

5人のWilson病患者の血液を使用した。

2) 尿によるWilson病マス・スクリーニング法の検討—原尿と濾紙尿を用いて—

A. 尿中銅測定

尿中銅はSPECTR-AA800(Varian社)を使用したフレイムレス原子吸光法を用いて測定した。試料としては、無処理の原尿10μlあるいは5mM HNO<sub>3</sub>で抽出した濾紙尿10μlを用い、測定に使用した波長は324.8nmで、分析時間は4分、wash outに30分を必要とした。

B. 尿中に存在するCPモノクローナル抗体と反応する物質の検討

原尿あるいは濾紙尿を試料として、出光興産社製のCP測定キットによる分析を試みた。

【研究結果】 1) 濾紙血中CP測定によるWilson病の新生児スクリーニング結果

1993年3月から本法によるWilson病のスクリーニングを開始し、1994年12月までに10,984件の新生児濾紙血について検討した。その結果は表1および図1のようであり、測定のスランダーに使用したCP標品の種類によって、測定値に多少の差が認められたが、最終的には本症患者と診断された例はな

表1 スランダー標品別新生児濾紙血液中のCP測定値

検査時期およびスランダー	検査数	測定値 (mg/dl)	初回陽性数 (%)	同一検体再検査陽性数 (%)	再採血での陽性率 (%)	再々採血での陽性数
1993.3~1993.9 (Carbiochem)	2,080	17.83 ± 5.60	164 (7.9)	19 (0.91)	1 (0.05)	0
1993.10~1994.11 (Beckman)	5,532	11.34 ± 3.71	329 (7.9)	85 (1.59)	7 (0.13)	0
1994.12~ (Nor-partigen)	3,552	11.82 ± 3.93	245 (7.9)	35 (0.99)	4 (0.11)	0
総計	10,984		738 (7.9)	139 (1.27)	12 (0.11)	0

( )内は初回検査数に対する%を示す

かった。12例に再々採血を依頼したが、初回から再々採血までに要した時間は約70日であり、その対象となった12例は在胎周数が短く、低体重の例が多かった。

2) 尿によるWilson病スクリーニング

A. 尿中銅の分析

Wilson病5例および健常成人26例から採取した尿および尿濾紙の銅イオン分析結果は図2のようであり、原尿では本症患者と健常成人の値は明らかに異なっていた。しかし、濾紙尿を硝酸で抽出し、分析した場合には対照と患者を区別することはできな

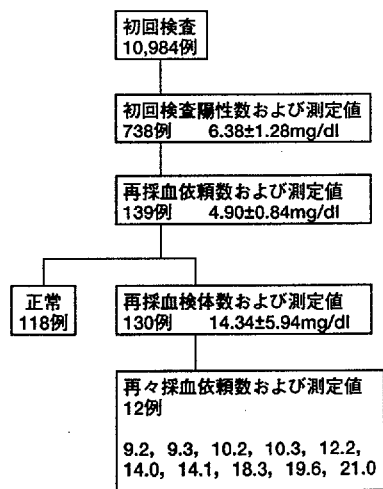


図1 新生児濾紙血中CP測定結果

● 健常成人 (n=32) ○ Wilson病患者 (n=5)

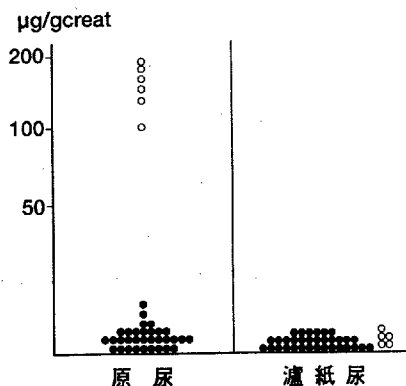


図2 原子吸光法による尿中銅測定結果

かった。

### B. 尿中に存在するCPモノクローナル抗体反応物質の存在

尿を使用してELISA法によるCP測定を試みたところ、図3のように、原尿を用いた場合、本症患者ではCP抗体と結合する物質が殆どなかったのに対し、対照ではCPモノクローナル抗体と結合する物質が存在することが明らかにされた。

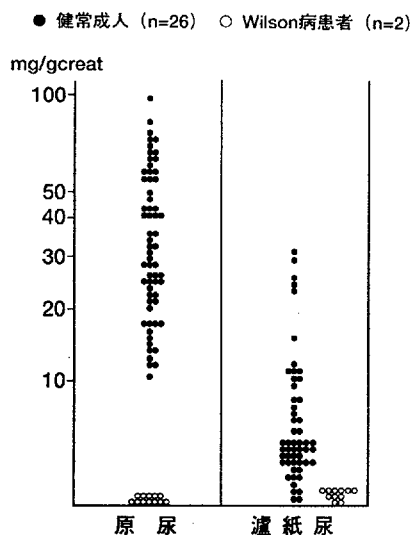


図3 セルプラスミンモノクローナル抗体と結合する尿中物質

【考察】 約1万件の検討を行ったが、新生児血中CP測定によるWilson病スクリーニングのpilot studyでは未だ患者を発見し得なかった。一方、今回の検討で、正常人の尿中にはCPモノクローナル抗体と結合する物質が存在するのに対し、Wilson病患者尿ではそれが存在しないことが明らかとなった。高分子のCPが健全な糸球体で濾過されるとは考え難いが、モノクローナル抗体に結合することから、やはりこの物質はヒトCPと関連する物質と考えられ、Wilson病患者においてこれを欠くことは、この物質がヒトCP由来の何らかの分解産物であることが示唆される。

由来は何であれ、Wilson病とそうでない者とが明らかに区別できれば、この方法をスクリーニングに使用することが可能であり、しかも採尿は採血に比べて非侵襲的であるため、幼児の保護者からの採取への協力は容易と思われる。しかも、本症の発症は幼児期を過ぎてからであるので、幼児期の採尿で本症が発見できれば、治療は充分可能であり、現在、症例を重ねるとともに、その由来について検討中である。



## 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】1) 新生児濾紙血中セルロプラスミン(CP)測定

1993年3月から1994年12月までに予め同意を得て採取した日齢5の新生児の濾紙血10,984件のCPを測定した。そのうち139例に再採血を依頼し、130例に再検査を行って、118例を正常と判定した。残る12例に再々採血を依頼し、10例がこれに応じてくれたが、全例正常と判定され、これまでWilson病患者は発見されていない。

### 2) 尿を用いたWilson病スクリーニングの検討

本症の症状発現は最も早くても幼児期後半であるため、乳幼児期の濾紙尿の銅測定によるスクリーニングが、可能か否かを検討した。しかし、原子吸光法を用いた場合、原尿では前処理なしに患者を容易に識別できたが、濾紙尿では不可能であった。また、対照尿中にはELISA法でCPモノクローナル抗体と反応する物質が存在するのに対し、2例の患者では検出されず、本法によるWilson病スクリーニングの可能性が示唆された。