

福井県におけるWilson病マス・スクリーニング成績

中井昭夫*、畑 郁江*、須藤正克*

要約：福井県健康増進課、県内の産科・小児科各施設、および県衛生研究所の協力を継続して得ることができたので、前年度に引き続き福井県においてWilson病の新生児マススクリーニングを行った。従来のマススクリーニング用乾燥濾紙血を用い、ELISA法によりホロセルロプラスミン(HCp)を測定した。乾燥濾紙血は、保護者の文書による同意を得られたもののみを用いた。

5348例の新生児HCpを測定したところ、平均は 7.07 ± 2.64 mg/dl (全血表示)であった。在胎週数とHCpとの間には弱い正の相関があったが、出生時体重、出生から採血までの日数、および採血から検体到着までの日数との間には相関はみられなかった。しかし、夏期は冬期に比べ有意に低値であった。カットオフポイントを $-2.0SD$ である 1.8 mg/dlとすると再検例は15例、再検率は 0.28% となった。同一検体で再測定するとほとんどがカットオフポイント以上となったが、再測定してもカットオフポイント以下のものが2例あった。再採血は未施行であるが今後経過を追う予定である。研究期間中にWilson病の1家系のHCpを測定する機会があり、11歳のWilson病患児の女兒のHCpは 2.0 mg/dl、無症状の1歳5カ月の弟のHCpは 4.2 mg/dl (各々血清表示)であった。弟は発症前タイプのWilson病患児と考えられた。

見出し語：Wilson病、マススクリーニング、ELISA、ホロセルロプラスミン

研究方法

1) 福井県におけるマススクリーニング

福井県健康増進課、福井県日母支部、日産婦部会を通じての県内の産科施設、また小児科施設、および県衛生研究所の協力を継続して得ることができた。そこで、前年度に引き続きWilson病の新生児マススクリーニングを行った。前年度同様、従来のマススクリーニング用乾燥濾紙血を用い、通常のスクリーニング検査終了後、ELISA法によりホロセルロプラスミンを測定した。乾燥濾紙血は、保護者

の文書による同意を得られ、同意書と同時に県衛生研究所に送られてきた検体のみについて研究をおこなった。

2) 新生児濾紙血ホロセルロプラスミン濃度

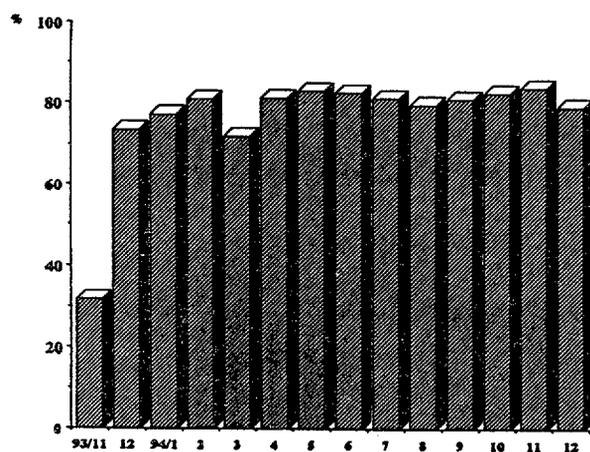
保護者の同意の得られた5348検体について濾紙血中のホロセルロプラスミンの濃度をELISA法にて測定した。採血、常温で乾燥後、県衛生研究所に郵送され、到着後測定まで $-80^{\circ}C$ で冷凍保存した。通常のスクリーニング法などの測定の終了した検体を用いホロセルロプラスミンを測定し

た。直径 3 mm に punch-out した濾紙血に PBS 5 ml を加え 4 °C、over night で抽出を行い、100 μ l を測定に用いた。一次抗体は抗ヒトセルロプラスミンモノクローナル抗体、二次抗体は抗ヒトセルロプラスミン PPD oxidase 活性部位モノクローナル抗体を用いた。

結果

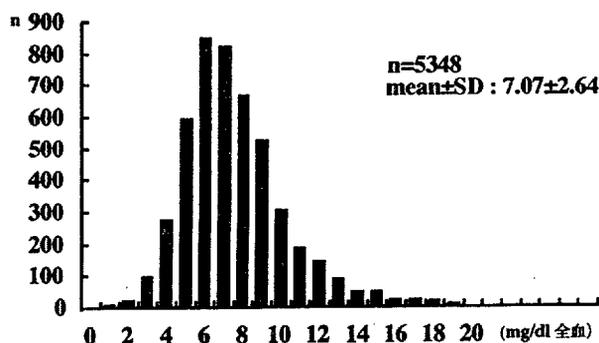
同意書とともに郵送された乾燥濾紙血の割合の推移を示す。開始当初の同意率が低く、それを含めての全平均は 76.2 % であるが、最近ではだいたい約 80 % 前後となっている。(図 1)

図 1



新生児濾紙血ホロセルロプラスミン濃度は、平均は 7.07 ± 2.64 mg/dl (全血表示) であった。(図 2)

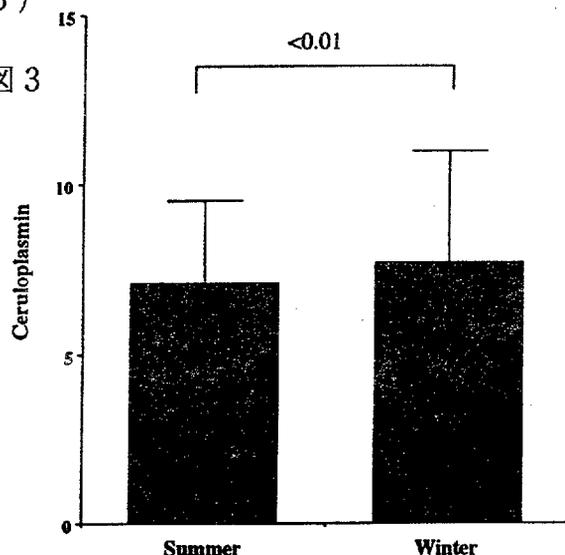
図 2 Holoceruloplasmin



在胎週数とホロセルロプラスミン濃度との間には、弱く正に相関関係が認められたが、出生時体重、出生から採血までの日数、および採血から検体受け付けまでの日数とホロセルロプラスミン濃度の間には特に相関はみられなかった。

福井県では乾燥濾紙血は郵送で衛生研究所に送られ、その後マイナス 80 度で保存されている。平成 6 年は記録的な猛暑であり、従来報告されているように、採血後の濾紙血の保存状態により濾紙血中のホロセルロプラスミンは急速に失活するので、6-9 月の 4 カ月を夏期とし、11-2 月の冬期と比較してみた。夏期は 7.11 ± 2.40 、冬期は 7.70 ± 3.27 mg/dl (全血表示) と統計学的には有意差をもって夏期は冬期に比べ低値となった。(図 3)

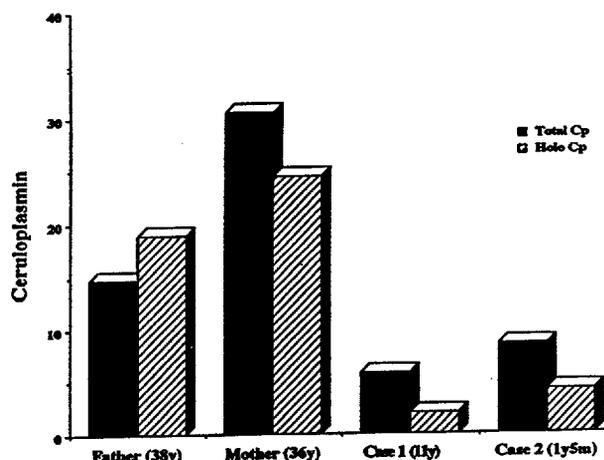
図 3



カットオフポイントを -2 SD である 1.8 mg/dl (全血表示) とすると再検例は 15 例、再検率は 0.28 % となった。2.0 mg/dl をカットオフポイントとすると再検例は 21 例、再検率は 0.39 % となった。これらは同一検体で再測定すると大部分はカットオフポイント以上となったが、再測定しても -2 SD 以下となるものが 2 例あった。この 2 例については再採血は未施行であるが、今後再採血を依頼する予定である。

研究期間中にWilson病の1家系のホロセルロプラスミンを測定する機会を得ることができた。(図4)この家系は、長姉がWilson病の肝不全で死亡しており、もう一人の11歳の姉がWilson病と確定診断され、現在服薬中である。さらに1歳5カ月の弟は現在無症状で、肝機能も正常だが、低銅血症を認めた。血清総セルロプラスミンはネフェロメトリー法で測定した。11歳の姉の総セルロプラスミンは5.8mg/dl、ホロセルロプラスミンは2.0mg/dlと低値であった。無症状の1歳5カ月の弟の総セルロプラスミンは8.5mg/dlであったが、ホロセルロプラスミンは4.2mg/dl(血清表示)であり、肝生検は未施行であるが、発症前タイプのWilson病患児と考えられた。

図4



考察

今回、ELISA法により測定した5348例の新生児濾紙血ホロセルロプラスミン濃度は 7.07 ± 2.64 mg/dl(全血表示)であった。今回検討した範囲では、出生時体重とホロセルロプラスミン濃度の間には特に相関はみられなかった。しかし、在胎週数とホロセルロプラスミン濃度との間には、弱く正の相関関係が認められた。

よって、未熟児のホロセルロプラスミン値の判定には注意が必要であり、在胎週数別の正常値の設定や、週をおいて満期相当になってからの再検などが必要となるであろう。

また、今回検討した範囲では、出生から採血までの日数とホロセルロプラスミン濃度の間には特に相関はみられなかった。福井県では乾燥濾紙血は郵送で衛生研究所に送られ、その後マイナス80度で保存されている。採血から検体受け付けまでの日数とホロセルロプラスミン濃度の間には特に相関は認められなかったが、それでも夏期のホロセルロプラスミン平均値は冬期に比べ低値となった。濾紙血の保存状態により濾紙血中のホロセルロプラスミンは急速に失活するので、特に高温多湿となりやすい夏期の検体の保存、送付には注意・工夫が必要であると思われる。

同意書とともに郵送された乾燥濾紙血の割合は、最近ではだいたい約80%前後となっている。しかし、逆に20%はスクリーニング漏れとなっていることになる。どのような理由で同意書がないのかについては検討しておらず詳細は不明であるが、今後、同意率のアップをはかり、漏れを少なくする努力をしていきたい。

今回便宜的にカットオフポイントを-2.0SDである1.8mg/dlとすると再検例は15例、再検率は0.28%となった。これらは同一検体で再測定すると大部分はカットオフポイント以上となったが、再測定しても-2SD以下となるものが2例あった。この割合は0.037%となる。今後、同意が得られれば今後再採血を行い、真に低ホロセルロプラスミンがあるのか確認する予定である。

平成4年からはじまった全国各施設でのELISA法によるホロセルロプラスミン測

定での新生児マススクリーニングのパイロットスタディーにより、新生児期でのホロセルロプラスミンの値もほぼ判明したと思われる。現在は各施設で独自のカットオフポイントを設けて再測定・再採血を独自の時期に行っているのが現状である。しかし、実際に再測定しても低ホロセルロプラスミンのものが見つかり、再採血の時期、両親への物理的（時間的・経済的など）・精神的負担、その後のフォローアップ（確定診断の時期・治療開始時期とその妥当性）などさまざまな解決すべき問題点がでてくる。そこで、今後はカットオフポイントについても共通のものを設け、さらに、カットオフポイント以下の例のフォローアップの共通のダイアグラムが必要となってくるとと思われる。

研究期間中にWilson病の1家系のホロセルロプラスミンを測定する機会を得ることができた。無症状の1歳5カ月の弟のホロセルロプラスミンは4.2mg/dl（血清表示）であり、発症前タイプのWilson病患者と考えられた。Wilson病のマススクリーニングの実施時期などについてはなお様々な議論や問題点がある。しかし、Wilson病報告例の最小年齢が2歳であること、全国調査でのWilson病の劇症肝炎発症の最小年齢が5歳であることがわかっている。更に、今回の家族検索で見つかった発症前の1歳5カ月の男児のホロセルロプラスミンの値など、同じように無症状の幼児期の値やその新生児期での値、また、新生児期に低ホロセルロプラスミンであった子供たちのフォローアップの結果なども今後判明してくると考えられる。これらが、マススクリーニングの時期や確定診断の時期、治療開始の時期などを考慮する際のよい資料となると思われる。

・ 福井医科大学小児科 (Department of Pediatrics, Fukui Medical School)

最後にホロセルロプラスミン測定用ELISAキットをご提供していただいた出光興産中央研究所 冷牟田修一氏、清水敬子氏に深謝いたします。

文献

1. Early diagnosis of Wilson's disease. S. Hiyamuta et al. The Lancet (1993) 342: 56-57.
2. Wilson病のマススクリーニングの実施と問題点. 青木継稔他. 小児科(1994) 35: 1079-1091.
3. 新しいスクリーニング法の開発 ウィルソン病. 青木継稔. 小児内科(1994) 26: 2053-2059.



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:福井県健康増進課、県内の産科・小児科各施設、および県衛生研究所の協力を継続して得ることができたので、前年度に引き続き福井県において Wilson 病の新生児マススクリーニングを行った。従来のマススクリーニング用乾燥濾紙血を用い、ELISA 法によりホロセルロプラスミン(HCp)を測定した。乾燥濾紙血は、保護者の文書による同意を得られたもののみを用いた。

5348 例の新生児 HCp を測定したところ、平均は 7.07 ± 2.64 mg/dl(全血表示)であった。在胎週数と HCp との間には弱い正の相関があったが、出生時体重、出生から採血までの日数、および採血から検体到着までの日数との間には相関はみられなかった。しかし、夏期は冬期に比べ有意に低値であった。カットオフポイントを $-2.0SD$ である 1.8mg/dl とすると再検例は 15 例、再検率は 0.28%となった。同一検体で再測定するとほとんどがカットオフポイント以上となったが、再測定してもカットオフポイント以下のものが 2 例あった。再採血は未施行であるが今後経過を追う予定である。研究期間中に Wilson 病の 1 家系の HCp を測定する機会があり、11 歳の Wilson 病患者の娘の HCp は 2.0mg/dl、無症状の 1 歳 5 ヶ月の弟の HCp は 4.2mg/dl(各々血清表示)であった。弟は発症前タイプの Wilson 病患者と考えられた。