

ムコ多糖症マス・スクリーニングのパイロットスタディ
(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)

岡田伸太郎
乾 幸治
塚本 浩子

要旨

生後6カ月時に施行されている、大阪府の事業である神経芽細胞腫マススクリーニング用の直接採尿検体を共用して、ムコ多糖症のマススクリーニングが可能かどうかの検討を行うため、マイクロプレート法によるジメチルメチレンブルーを用いた尿中ムコ多糖の定量を行った。昨年の手動法の結果と同様、尿中ムコ多糖は年齢依存性があり、加齢とともに値もばらつきも減少した。操作法も簡便であり、短時間に多数の検体の処理も可能であることから、マイクロプレート法はムコ多糖症のマススクリーニングに有用であると考えられた。

見出し語

マス・スクリーニング、ムコ多糖症、尿中ムコ多糖、マイクロプレート法

研究方法

大阪大学に近接する大阪府北部の3保健所、1支所を選び、1994年12月より本研究についての同意書の配布を開始した。同意書には研究の主旨、ムコ多糖症の病態と早期発見によ

大阪大学医学部小児科

(Dep. of Pediatrics, Osaka Univ.)

る骨髄移植治療の可能性などを記載した。同意した場合には用紙の下半分に本人の氏名と生年月日、保護者の氏名と住所、採尿日と再検時の連絡用の電話番号を記入し切りとって、採尿チューブとともに神経芽細胞腫の検査センターに郵送してもらおうシステムをとった。配布開始が遅れたため、測定開始までに郵送されたのは2例のみであり、この2例を含め

たコントロール34例（生後1カ月-15歳）とムコ多糖症患児10例（3歳以上、MPS I H 1例、MPS II 5例、MPS III 2例、MPS IVA 2例）を対象とした。いずれも1回尿および蓄尿の一部を、いったん凍結後使用した。各自の尿を3000回転、10分間遠心後、上清10 μ lを96穴マイクロプレート（No. 3072、ファルコン製）に分注し、1XDMB溶液（岐阜大学小児科より供与されたジメチルメチレンブルー（DMB）を0.18M Tris-50mM Formate Bufferで希釈して作成）を240 μ lを加え、直ちにマイクロプレートリーダー（Model 450、BIORAD製）を用いて、525nmで測定した。コンドロイチン硫酸C溶液（0.1mg/ml）（生化学工業製、岐阜大学小児科より供与）により標準曲線を作成し、ムコ多糖値を換算した。別に同じくマイクロプレート法にて測定した、尿中クレアチニン値（クレアチニン・テストワコー使用）との比（ μ g/mg creatinine）を算出した。また方法の比較をするため、20例（コントロール、ムコ多糖症例各10例）について昨年と同様の手動法によるムコ多糖の測定（上清10 μ lに1XDMB溶液1mlを加え、直ちに525nmで吸光度測定）をした。

結果と考察

図1のとおり、コンドロイチン硫酸Cの標準曲線は非常に良い直線性を示した。約20秒間かかる同一プレート内のレーンによる測定誤差についても、測定開始のレーンと最終レーンとで大きな差はなかった。表1にクレア

チニン比による各年齢別の尿中ムコ多糖の測定結果を示したが、加齢とともにその平均値は減少し、生後6カ月まではSD値も高くばらつきがめだった。昨年の手動法の結果と同様に、少なくともマス・スクリーニングの時期は生後6カ月以降の採尿が望ましいものと考えられた。昨年の結果では、年齢を限れば、MPS I SやMPS IVAを除いて、コントロールとの鑑別は可能であった。今回のマイクロプレート法でも3歳以上に限れば、同じく全員3歳以上のムコ多糖症患児との鑑別は可能であった（図2）。しかし同じMPS II、IIIでも症例ごとのばらつきもかなりあった。とりあえず、年齢を6カ月に下げた場合のcut off値は多数のコントロールスタディが行われている、岐阜大学小児科の400mg/g creatinineをとり報告していく予定である。同一検体についての手動法とマイクロプレート法の比較では、一致するものも不一致のものもあり、特定の相関係数は得られなかった。均一なDMB溶液を作成すること、時間経過とともに吸光度は明らかに減少するため、直ちに測定することをこころがければ、マイクロプレート法は簡便で短時間に多数の検体を処理できることから、マス・スクリーニングの方法として有用であると考えられた。しかしながら、今回の検討では症例数も少なく、患児の年齢もすべて3歳以上で年齢別のムコ多糖症患児の値が検索できていない。神経芽細胞腫マス・スクリーニング用検体を共用するとすれば、その保存方法とともに早期マス・スクリーニングのためのcut off値の設定を

どの程度にすればよいのか、今後さらに6カ月児の症例数を増やして、検討を重ねたい。

表1

GAG content in reference urine samples

Age	n	Mean ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine)	SD
1M	11	217.4	63.4
6M-3Y	7	120.6	11.9
3Y-15Y	16	50.2	16.4

文献

1) M.Piraud, et al.: Diagnosis of mucopolysaccharidoses in a clinically selected population by urinary glycosaminoglycan analysis: a study of 2,000 urine samples. : Clinica Chimica Acta, 221, 171-181, 1993.

図1

△コ多糖 (コンドロイチン硫酸C) 標準曲線

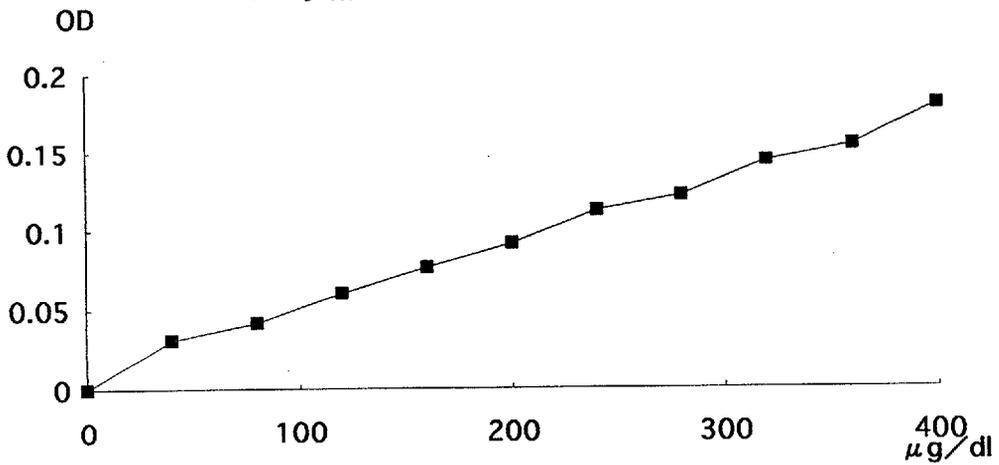
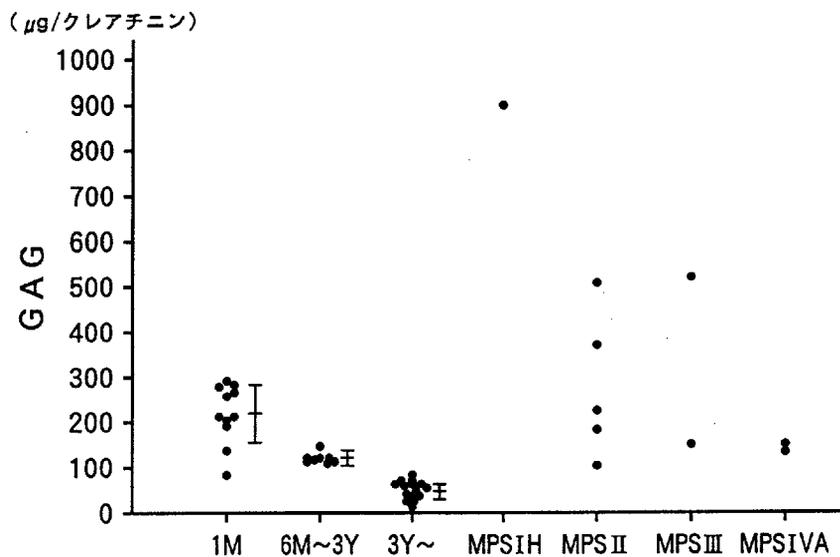


図2





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



要旨

生後6ヵ月時に施行されている、大阪府の事業である神経芽細胞腫マスキニング用の直接採尿検体を共用して、ムコ多糖症のマスキニングが可能かどうかの検討を行うため、マイクロプレート法によるジメチルメチレンブルーを用いた尿中ムコ多糖の定量を行った。昨年の手動法の結果と同様、尿中ムコ多糖は年齢依存性があり、加齢とともに値もばらつきも減少した。操作法も簡便であり、短時間に多数の検体の処理も可能であることから、マイクロプレート法はムコ多糖症のマスキニングに有用であると考えられた。