

## 尿中セルロプラスミン測定によるWilson病のスクリーニングの有用性について

(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)

清水敦一\*，藤岡芳実\*，青木継稔\*，大橋恭子\*\*，冷牟田修一\*\*，門田明彦\*\*

要約：Wilson病のマス・スクリーニング法確立を目的として，尿中セルロプラスミン(Cp)蛋白の測定を行った。本症患者6例およびコントロール194例に対し，尿中総および活性型Cpを抗Cpモノクローナル抗体および抗活性型Cpモノクローナル抗体を用いたELISA法にて定量した。コントロール群における総Cpおよび活性型Cp濃度の平均値およびSDは，それぞれ $37.07 \pm 68.44 \text{ ng/mg creatinine(cr)}$ ， $39.01 \pm 68.44 \text{ ng/mg cr}$ であった。本症患者は， $6.55 \pm 12.61 \text{ ng/mg cr}$ ， $0.69 \pm 1.52 \text{ ng/mg cr}$ であった。コントロールと患者の平均値には差が認められるものの， $10 \text{ ng/mg cr}$ 以下の低値を示す例が多く見られた。患者の尿中セルロプラスミン値よりcut off値を考えると再検率が15～20%となり，スクリーニングに用いるのは困難であると考えられた。

見出し語：尿中セルロプラスミン，Wilson病マス・スクリーニング，抗活性型セルロプラスミン・モノクローナル抗体

### [研究目的]

Wilson病は，肝硬変・錐体外路症状およびKayser-Fleischer角膜輪を3主徴とする，先天性銅代謝異常症の代表的疾患である。本症は，また治療可能な数少ない遺伝病の一つである。銅キレート薬による治療法が確立されており，早期に診断，治療を開始すれば十分な社会復帰，あるいは発症の予防が可能である。さらに，本症は現在マス・スクリーニングの対象となっている疾患の一部よりも発生頻度が高く，小児期の慢性肝疾患としては最も頻度が高い<sup>1)</sup>。これらのことより，本症のマス・スクリーニングの

必要性が提唱されている。

昨年度の厚生省心身障害研究において，尿中に抗活性型セルロプラスミン(Cp)モノクローナル抗体と反応する物質が存在することが報告された<sup>2)</sup>。今回筆者らは，Wilson病マス・スクリーニング法としての尿中CP測定の有用性を検討する目的にて，本症患者およびコントロールにおける尿中総および活性型Cpを定量した。

### [対象および方法]

#### 1. コントロール群

\* 東邦大学第二小児科学教室，  
\*\* 出光興産株式会社中央研究所

Wilson病以外にて東邦大学第2小児科入院中あるいは外来通院中の患児，194例。

## 2. Wilson病症例

東邦大学第2小児科にて治療・管理中のWilson病患者6例。

## 3. 尿中セルロプラスミンの測定法

抗Cpモノクローナル抗体(ID-1)を96穴マイクロタイタープレートに添加し，30℃にて2時間インキュベートを行った。洗浄後，カゼイン溶液にて30℃，1.5時間インキュベートしブロッキングを行った。再度洗浄した後，尿検体をPBSにて10倍希釈し100 $\mu$ l添加した。30℃にて1.5時間インキュベートを行い洗浄した後，ペルオキシダーゼ標識した抗活性型Cpモノクローナル抗体(ID-2)を添加し再び同様の条件にてインキュベート，洗浄を行った。ABTS溶液にて発色させ，吸光度415nmを測定した。

## [結果]

### 1. 尿中Cp値（平均値およびSD）

表1にコントロールおよびWilson病患者における，尿中総および活性型CP濃度の平均値とSDを示す。平均値においては，総Cp，活性型CPともに患者とコントロールの間に大きな差が認められた。しかし，特にコントロール群においてはSDの値が大きく，かなり広範囲に測定値が分布していた。

### 2. 尿中総Cp濃度各測定値群ごとの症例数（コントロール群）

10ng/mg creatinine(cr)以下が最も多く，0～5ng/mg crが18.6%，6～10ng/mg crが17.5%であり，計約36%をしめていた（図1）。

### 3. 尿中活性型Cp濃度各測定値群ごとの症例数（コントロール群）

a. 活性型CPにおいては，5ng/mg cr以下が多く，全体の38%をしめていた（図2a）。

b. 0-10ng/mg crにおける例数を詳細に検討した。1ng/mg cr以下が最も多く約15%であった（図2b）。

### 4. Wilson病患者における尿中Cp値

本症患者における尿中活性型Cp濃度は，蛋白尿を合併した1例を除きすべて1ng/mg cr以下であった。

## [考察]

尿中へ排泄されている活性型Cp濃度を定量する事により，Wilson病のマス・スクリーニングが可能であるか否かを検討した。Wilson病患者における尿中活性型Cp濃度より，マススクリーニングにおけるcut off値は1ないし2ng/mg crと考えられた。この値を用いた場合，再検率は15.7%あるいは20.3%となり，false positiveが極めて多い結果であった。このことより，本法によるスクリーニングは困難であると結論した。また，本症患者およびコントロール群ともに総Cp値に対する活性型Cp値の比が一定でなくかなりのばらつきが認められた。血清中のCp蛋白がどのように変化して尿中へ排泄されるか，またその安定性など不明な点が多く存在する。今後は，前述した事項の解明を中心に基礎的な検討が必要であると考えられた。

## [文献]

1. Danks DM. In Metabolic Basis of

inherited Disease. pp1411-1431,

McGraw-Hill, 1989

2. 北川照男ほか. 厚生省心身障害研究平成6年

度報告書. 31-33, 1995

表1. 尿中セルロプラスミン(Cp)濃度 (ng/mg cr)

	総Cp	活性型Cp
コントロール	37.07±68.44	39.01±146.47
Wilson病患者	6.55±12.61	0.69±1.52

平均値±SD

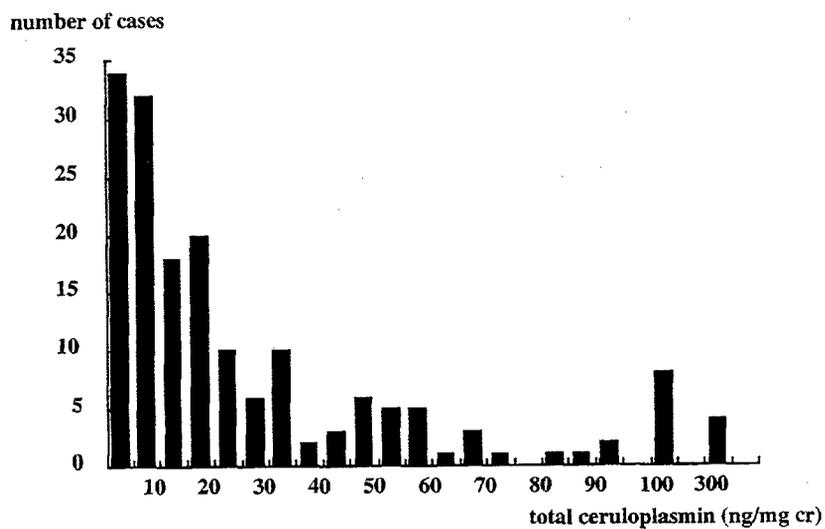


図1. 尿中総セルロプラスミン濃度

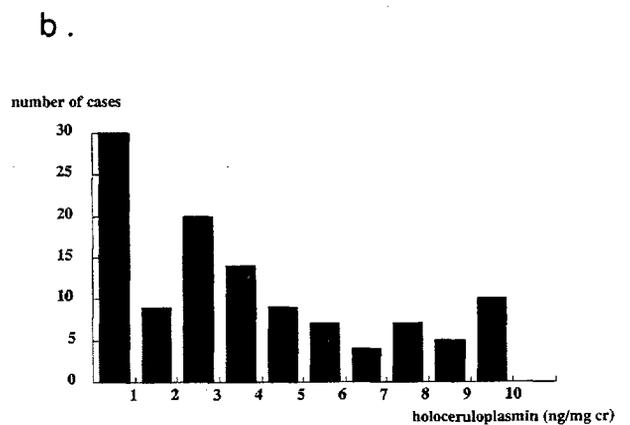
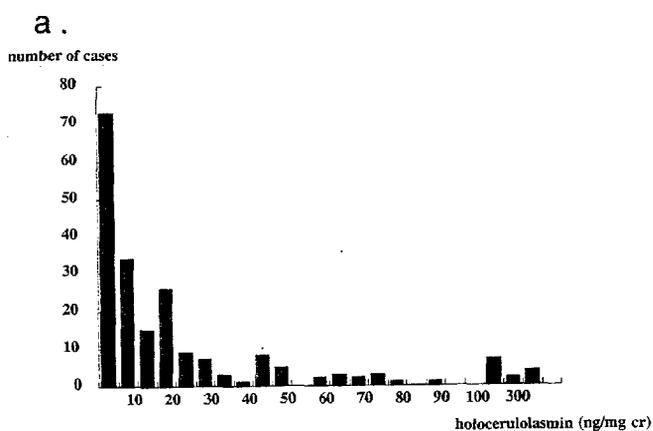


図2. 尿中活性型 (holo型) セルロプラスミン濃度



## 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: Wilson 病のマス・スクリーニング法確立を目的として,尿中セルロプラスミン(Cp) 蛋白の測定を行った・本症患者 6 例およびコントロール 194 例に対し,尿中総および活性型 Cp を抗 Cp モノクローナル抗体および抗活性型 Cp モノクローナル抗体を用いた ELISA 法にて定量した. コントロール群における総 Cp および活性型 Cp 濃度の平均値および SD は,それぞれ  $37.07 \pm 68.44 \text{ng/mg creatinine(cr)}$ ,  $39.01 \pm 68.44 \text{ng/mg cr}$  であった. 本症患者は,  $6.55 \pm 12.61 \text{ng/mg cr}$ ,  $0.69 \pm 1.52 \text{ng/mg cr}$  であった. コントロールと患者の平均値には差が認められるものの,  $10 \text{ng/mg cr}$  以下の低値を示す例が多く見られた. 患者の尿中セルロプラスミン値より cut off 値を考えると再検率が 15~20%となり,スクリーニングに用いるのは困難であると考えられた.