

ウィルソン病の新生児マス・スクリーニングの検討

・ 濾紙血セルロプラズミン測定法の比較検討 ・
(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)

荒島真一郎¹, 山口昭弘², 福士 勝², 菊地由生子²

要 約： 札幌市では、平成7年4月より、新生児マス・スクリーニングの新たな対象疾患として、ウィルソン病をシステムに追加し実施している。一次スクリーニング法として、新生児濾紙血セルロプラズミン(CP)のモノクローナル抗体あるいはポリクローナル抗体を用いたELISAキットを比較検討した結果、操作性・信頼性ともに優れたポリクローナル抗体を用いた方法を採用している。この方法でカットオフ値:CP: 4mg/dl-serum未満の検体については、Latex凝集自動分析法による確認検査を行い、引き続きCP<4mg/dl-serumの場合に、一ヵ月健診時に再採血を依頼した。1995年4月から12月までに13,180名を検査し、同一検体による再測定(確認検査)を、114名(0.86%)に行った。この結果も低値を示した5名(0.04%)に再採血を依頼したが、これら5例の再採血検査のCP値はいずれも4mg/dl-serum以上に上昇しており、要精査例はまだ発見されていない。

見出し語： ウィルソン病, 新生児マス・スクリーニング, セルロプラズミン

研究方法： 濾紙血CP測定試薬3種類：ホロセルロプラズミン(HoloCP)モノクローナル抗体を用いた2ステップサンドウィッチELISA法；HoloCP/ELISA(出光興産, ニッショ-), CPポリクローナル抗体を用いた1

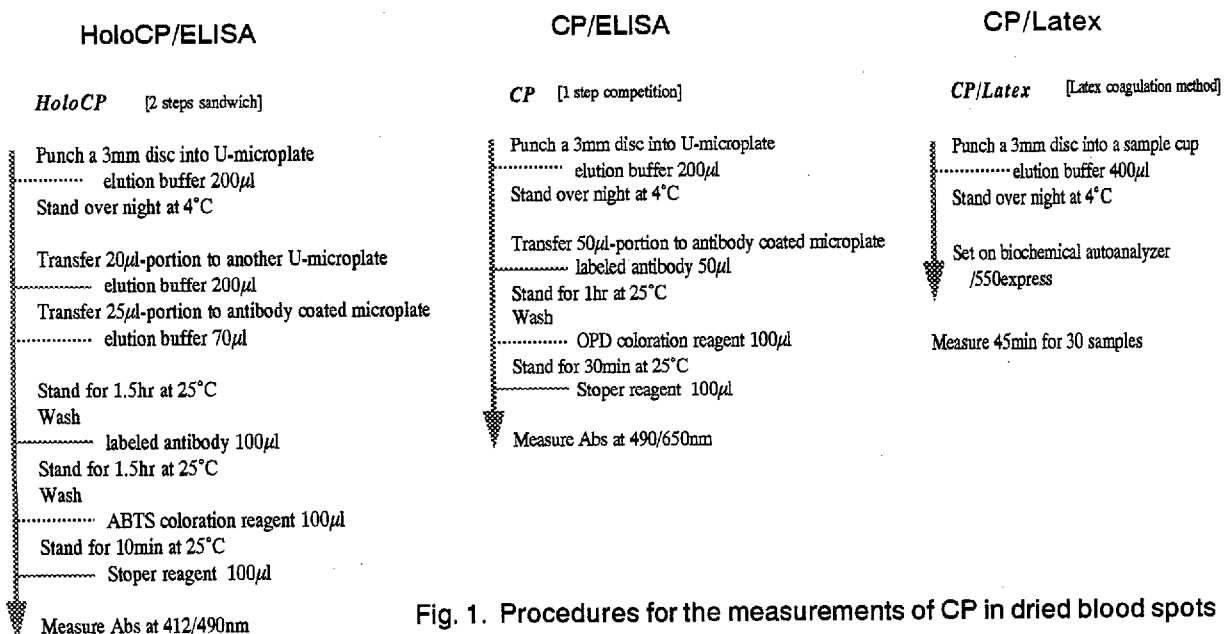


Fig. 1. Procedures for the measurements of CP in dried blood spots

¹北海道大学小児科, 北海道教育大学札幌校, ²札幌市衛生研究所,

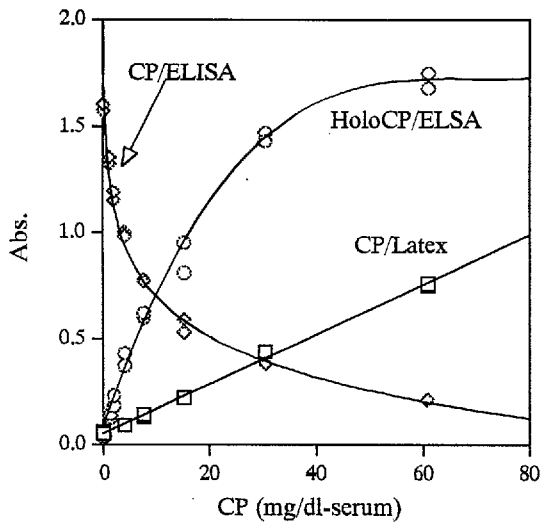


Fig. 2. Calibration curves

ステップ競合ELISA法；CP/ELISA（札幌IDL）およびCP/ELISAと同じポリクローナル抗体を用い/生化学自動分析装置用に開発されたLatex凝集法；CP/Latex（札幌IDL）につき、ウィルソン病スクリーニング法としての比較検討を行った(Fig.1)。

結 果： HoloCP/ELISAおよびCP/ELISAともに検量線の感度は良好であり、定量範囲も1-40mg/dlと新生児検体の測定には十分であった(Fig.2)。CP/Latexの検量線は直線回帰を示し、二重測定の再現性もELISA法に比べ良好であった(Fig.2)。ルーチンアッセイにおける一般新生児検体の測定結果は、平均値でHoloCP/ELISAが10.6mg/dlに対してCP/ELISAは12.9mg/dlと2割程度低値であり、ヒストグラムも低濃度側に分布の偏りを示した(Fig.3)。各アッセイごとの平均値とSDの動きから、HoloCP/ELISAはCP/ELISAに比べ測定内

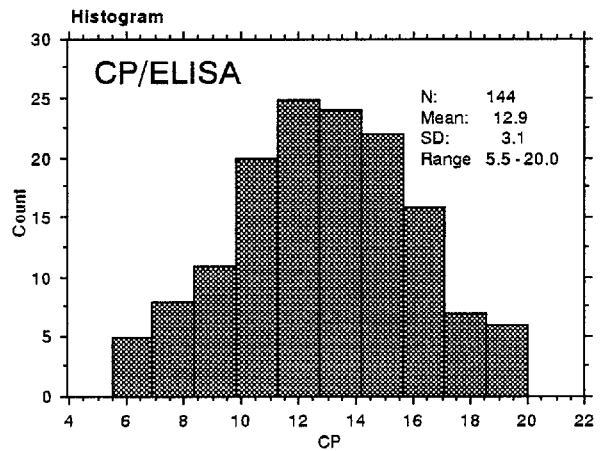
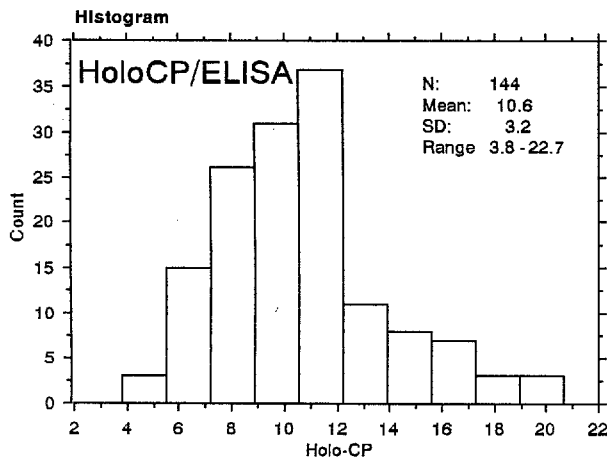


Fig. 3. Histograms of HoloCP/ELISA and CP/ELISA in newborn babies

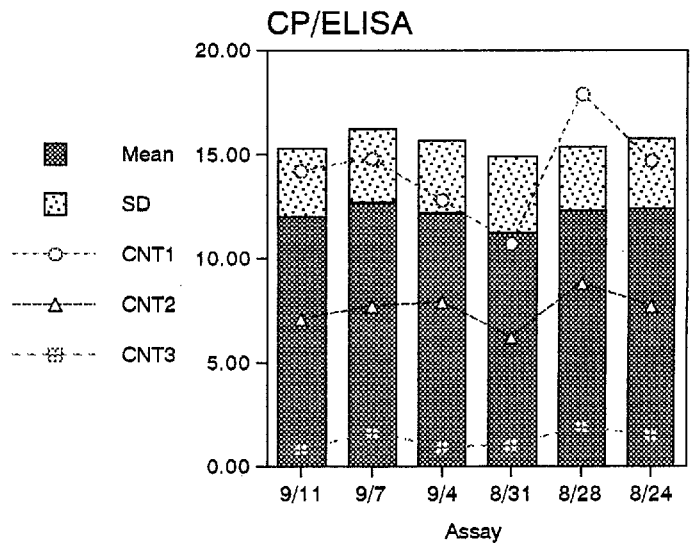
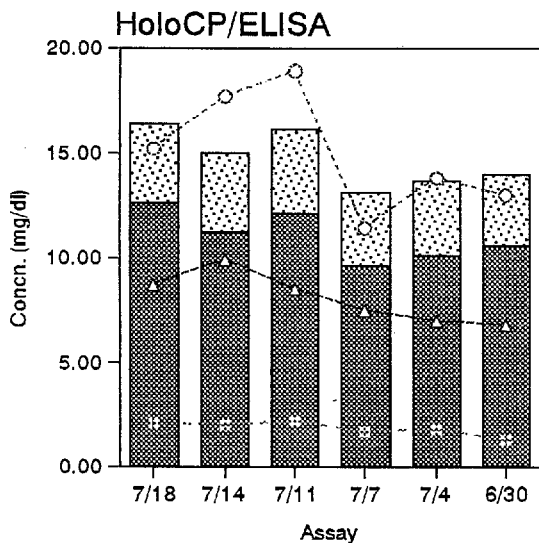


Fig. 4. Comparison of Inter-assay variations between HoloCP/ELISA and CP/ELISA

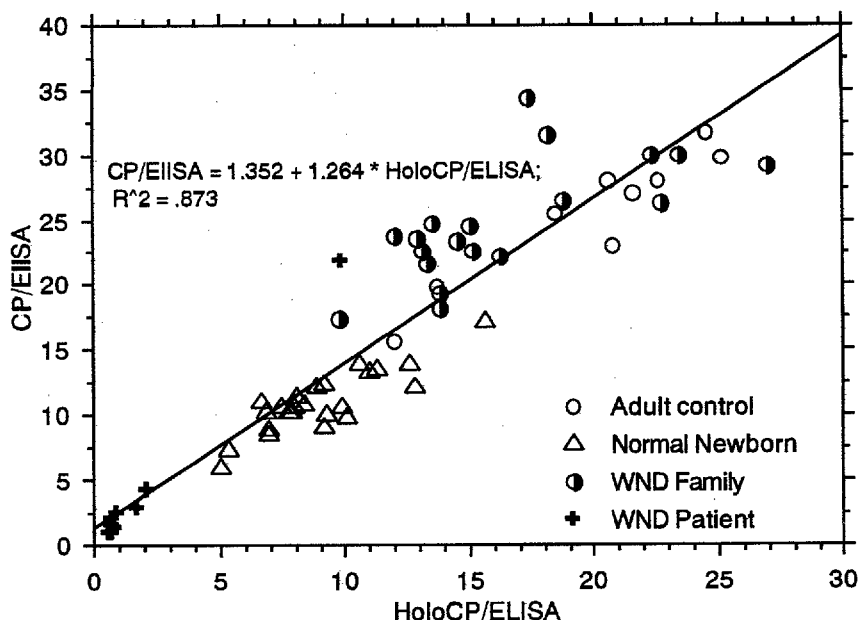


Fig. 5. Correlation between HoloCP/ELISA and CP/ELISA

および測定間ともに大きな変動を示すことがわかった (Fig.4)。また、HoloCP/ELISAでは、製造ロットによりプレート内のウェル間でも極端な系統誤差が認められ、結果の判定が不能な場合もあったが、ここでのデータはこれらを除いた良好な状態での結果である。

ウィルソン病患者10名、その家族19名、一般新生児24名および正常成人9名につき、HoloCP/ELISAとCP/ELISAの相関を求めたところ、HoloCP/ELISAはCP/ELISAに対し3割程低値を示したが、各群を通して単一の直線回帰が得られた (Fig.5)。また、生理的にCP低値を示さないタイプの患者1名は、HoloCP値もやはり低値を示さず、正常群からの分離は不可能であった。

1次スクリーニング法にCP/ELISA、確認検査法にCP/Latexを用い、カットオフ値は4mg/dlとして、1995年4月から12月までに札幌市内の産科医療機関にて出生した、13,180名の新生児をスクリーニングした結果、114名(0.86%)が要確認検査となり、この内5名(0.04%)が要再採血となったが、一ヵ月の時点では、全例、CP値は4mg/dl以上に上昇していたため要精査例はまだ発見されていない。

考 察：HoloCP/ELISAは、濾紙血抽出液の多段階の希釈を要する上、2ステップ法のため操作が繁雑であり、マス・スクリーニング法としては、かなり負荷のかかった方法である。さらにHoloCP/ELISAでは、これらの操作上の問題に加え、プレート内・間差のLotによるバラツキの問題も存在し、見逃し例が発生する可能性が高くなることから、実際のルーチンスク

リーニングへの応用は困難であった。一般的なスクリーニングのように異常高値を検出するのではなく、今回のような低値側を検出する必要がある場合は、検査法にはより一層の精度・安定性が要求されることに十分注意する必要がある。これに対して、CP/ELISAは、簡便な操作で安定した結果が得られ、マス・スクリーニング法として優れた方法である。CP/Latexは、自動分析装置の検体処理能力の限界から、一次スクリーニング法としては適さないが、凝集反応により、ELISAよりも直接、抗原抗体反応を反映することから、より精度の高い測定が可能であり、確認検査法として非常に優れた方法である。

ウィルソン病患者の測定結果から、CP低値を示さない患者はHoloCPも低値を示していないが、このことは、最近、遺伝子レベルでウィルソン病の原因が細胞膜に存在するCu輸送ATPaseの異常であり、アポCPへの銅イオンの取り込み段階の障害ではないことが解明されたことから納得できる。従って、HoloCPを測定する必然性はなく、より簡便な操作で信頼性の高い測定結果が得られるCP/ELISAを一次スクリーニングに採用し、さらにより精度の高いCP/Latex法による確認検査を行うシステムが、新生児濾紙血を用いてウィルソン病をスクリーニングする場合、現状ではもっとも適した方法と考えられる。



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: 札幌市では,平成7年4月より,新生児マス・スクリーニングの新たな対象疾患として,ウイルソン病をシステムに追加し実施している。一次スクリーニング法として,新生児濾紙血セルロプラズミン(CP)のモノクローナル抗体あるいはポリクローナル抗体を用いた ELISA キットを比較検討した結果,操作性・信頼性ともに優れたポリクローナル抗体を用いた方法を採用している。この方法でカットオフ値:CP: 4mg/dl-serum 未満の検体については,Latex 凝集自動分析法による確認検査を行い,引き続き CP<4mg/dl-serum の場合に,一ヵ月健診時に再採血を依頼した。1995年4月から12月までに13,180名を検査し,同一検体による再測定(確認検査)を,114名(0.86%)に行った。この結果も低値を示した5名(0.04%)に再採血を依頼したが,これら5例の再採血検査のCP値はいずれも4mg/dl-serum以上に上昇しており,要精査例はまだ発見されていない。