

福井県におけるWilson病マススクリーニングデータの蓄積  
(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)

畑 郁江\*、中井昭夫\*、重松陽介\*

要約：福井県における3年目のWilson病マススクリーニングを行った。平成7年度は4239検体について検査し、ホロセルロプラスミン値は $7.8 \pm 3.5$ mg/dlであったが、年の前半と後半で平均値・分布に差が生じた。低値を示した検体については再検し、前半は1.8 mg/dl、後半は1.5mg/dlを下回るものを再採血の対象とした。2例がこれに該当したため近々再採血の予定である。1993年度からの総計では、9805検体を検査し、今までのところWilson病患者はpick-upできていない。測定値はどの年度もほぼ同様の分布を示し、他施設に比較して低い傾向があった。同一の検体においても、測定時による値のばらつきが目立ったため、当科におけるCV値を検討してみたところ、intra-assay CVは11.6~27.2%、inter-assay CVは19.4%であった。低濃度のサンプルにおいては更にCV値が大きく、ホロセルロプラスミン値が生理的に低値である新生児で実際に検査を行っていくにあたっては、それぞれの測定値の評価には慎重を要すると考えられた。

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

研究方法：

1) 福井県におけるWilson病マススクリーニング

福井県において平成5年に開始したWilson病マススクリーニングを、前年度までと同様に福井県健康増進課、福井県日母支部、日産婦部会を通じて県内の産科施設、小児科施設および県衛生研究所の協力を得て実施した。各産科・小児科において保護者の文書による同意が得られた検体について検査を行った。郵送されたマススクリーニング用乾燥濾紙血は、県衛生研究所にて-80℃で保存し、当科へ順次借り出してホロセルロプラスミン値を測定した。

2) 新生児濾紙血ホロセルロプラスミン濃度測定

ホロセルロプラスミン濃度の測定は、出光・ニッショーより供与された「活性型セルロプラスミン測定キット」を用いてELISA法にて行った。抽出は、PBS 5mlにて4℃、overnightで行った。

3) CV値の検討

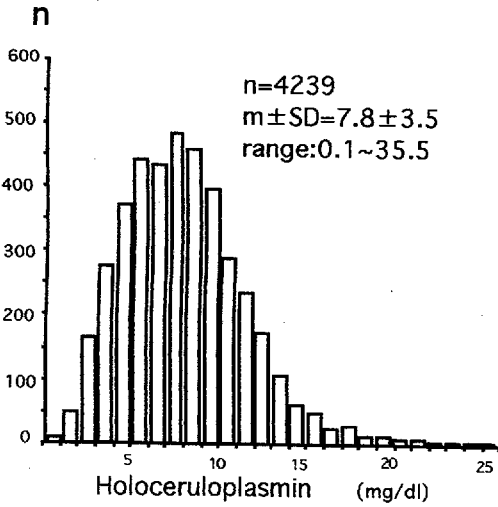
当科におけるホロセルロプラスミン値測定系のCV値を検討した。1人の成人から1回の採血により得られた全血各1滴ずつで乾燥濾紙血を作成し、-80℃で保存した。それぞれの中央部分を通常の新生児濾紙血の場合と同様にパンチアウトして、ELISA法でホロセルロプラスミン値を測定し、intra-assay、inter-assay CVを検討した。通常の濃度の1/2、1/4濃度に抽出したサンプルについても同様に測定し、intra-assay CVを検討した。

**結果：**

1) 新生児ホロセルプラスミン値

平成7年度は、4239検体について検査し、ホロセルプラスミン値は、 $7.8 \pm 3.5$ mg/dl (全血表示) で、前年度までとほぼ同様であった。(図1)

図1 平成7年度 ホロセルプラスミン



在胎週数、出生時体重、出生から採血までの日数、採血から衛生研究所への検体到着までの日数などとホロセルプラスミン値との相関は認められなかった。

また、本年度の途中より、同一のcut-off値を用いているにもかかわらず、再検率が急に増加したため、その前後に分けてホロセルプラスミン値を比較した

(図2)。その結果、前半が $9.5 \pm 3.5$ mg/dl、後半が $6.0 \pm 2.4$ mg/dlと明らかな差がみられた。そこで、再採血のためのcut-off値はmean-2SDを採用して、前半1.8mg/dl、後半1.5mg/dlとした。低値のものは再検を行い、このcut-off値を下回るものについて再採血を依頼することとした。今年度は、2例がこれに該当し、現在、再採血を依頼中である。

平成5年度からの総計では、9805検体の検査を実施し、図3に示すような結果を得た。全体の平均は7.3 (SD;3.1)mg/dlで、各年度の測定値はほぼ同様の分布を

図2 前半と後半でのセルロプラスミンの差

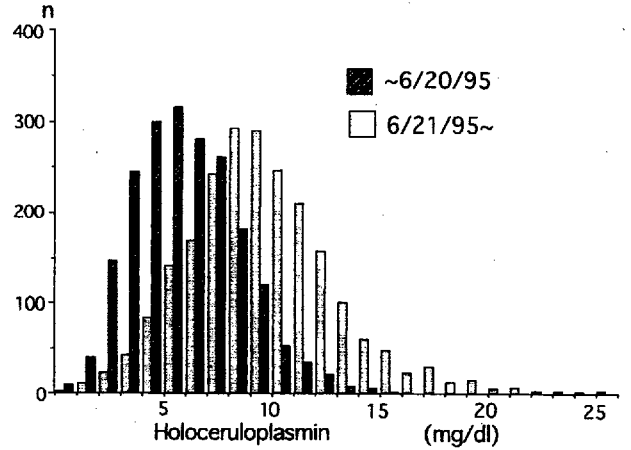
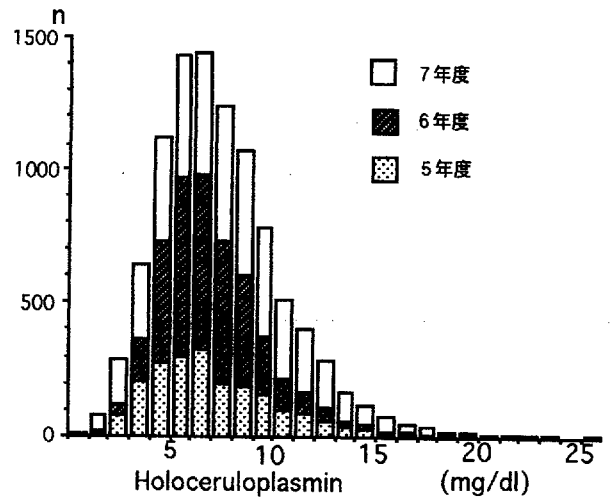


図3 平成5年度から7年度の総計



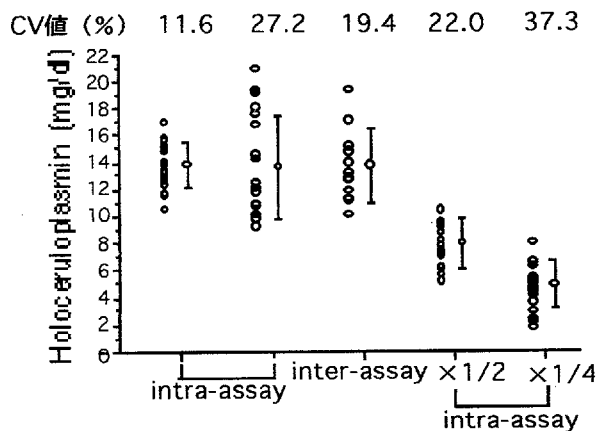
示し、他の施設に比較するとやや低値をとる傾向がみられた。

現在までにWilson病患者と思われる児はpick-upできていない。

2) CV値

intra-assay CVは、小さい時で11.6%、大きい時で27.2%、inter-assay CVは、19.4%であった。1/2、1/4濃度に抽出したのものでは、図4に示すように更にばらつきは大きくなり、1/4濃度の検体の測定値は、1.7から8.0mg/dlまでに分布していた。

図4 CV値の検討



考察：本年度検査を実施した4239検体の測定値において、年度の途中より平均値に差が生じた。その原因について、当科での検査方法、検体の送付・保存方法・保存期間等には全く変更がなかったため、おそらく、この頃に交換した濾紙血スタンダードのロットによる差、あるいは2次抗体・抗体結合プレートのロットによる大きなばらつきが影響しているのではないかと考えている。

当科において、この約3年間にわたり、新生児のホロセルロプラスミンを測定してきたが、最初の測定で比較的低値を示した者でも、再検ではほとんどが正常と思われる値であった。本年度検討してみたCV値の検討の結果では、同一の検体でも測定値はかなり広い範囲に分布している。濾紙血による測定であるため、血液濾紙スポット作成時より誤差が生じてくることは予想され、更に、プレート間・ウェル間での差、測定手技による誤差などが加わり、このように大きなばらつきを生じていると考えられる。

新生児期のホロセルロプラスミン値は、成人に比較して低値であり、また、当科の測定値は特に本年度の後半では低値をとるものが多数で、3mg/dl以下が9.6%存在していた。前述のようなデータのばらつきを考慮すると、個々のデータ、特に

cut-off値周辺のデータの評価が問題であると考えられた。乳児期のホロセルロプラスミン値の変動について詳細は未だ明らかとなっておらず、確実な診断までに長期間の経過観察を要する症例もあり得ると予想される。その場合、家族の精神的・経済的負担はかなり大きいものと考えられ、当科では、再検にてもmean-2SDを下回る者に再採血も限定したが、false-negativeの割合が多くなる危険性は大きい。

他施設の報告によれば、新生児期に正常のホロセルロプラスミン値を示しても、次第に低値となる例も存在するようである。これまで低ホロセルロプラスミン血症時を発見できていないこと、測定誤差の大きさから見逃し例の存在する可能性の大きいことなどを考えた場合、新生児の濾紙血を用いたWilson病マスキングの意義は少ないことが明らかになりつつある。確実性の面から、1才以降の健診時などを利用した施行を検討すべきではないかと考えられた。

#### 文献：

1. Early diagnosis of Wilson's disease. S. Hiyamuta et al. The Lancet 1993; 342: 56-7
2. Wilson病のマスキングの実施と問題点. 青木継稔他. 小児科 1994; 35: 1079-91.
3. 新しいスクリーニング法の開発 ウイルソン病. 青木継稔. 小児内科 1994; 26: 2053-59

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



## 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:福井県における3年目のWilson病マススクリーニングを行った。平成7年度は4239検体について検査し、ホロセルロプラスミン値は $7.8 \pm 3.5$ mg/dlであったが、年の前半と後半で平均値・分布に差が生じた。低値を示した検体については再検し、前半は1.8mg/dl、後半は1.5mg/dlを下回るものを再採血の対象とした。2例がこれに該当したため近々再採血の予定である。1993年度からの総計では、9805検体を検査し、今までのところWilson病患者はpick-upできていない。測定値はどの年度もほぼ同様の分布を示し、他施設と比較して低い傾向があった。同一の検体においても、測定時による値のばらつきが目立ったため、当科におけるCV値を検討してみたところ、intra-assay CVは11.6~27.2%、inter-assay CVは19.4%であった。低濃度のサンプルにおいては更にCV値が大きく、ホロセルロプラスミン値が生理的に低値である新生児で実際に検査を行っていくにあたっては、それぞれの測定値の評価には慎重を要すると考えられた。