

先天性ムコ多糖症のスクリーニング：  
大阪市におけるパイロットスタディの結果（中間報告）  
（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）

田中あけみ<sup>1)</sup>、藤本昭栄<sup>2)</sup>、長谷川佳代<sup>1)</sup>、梶田知子<sup>1)</sup>、  
松本進<sup>2)</sup>、山中仁子<sup>3)</sup>、一色玄<sup>1)</sup>

- 1) 大阪市立大学小児科、2) 大阪市環境保健協会、  
3) 大阪市環境保健局保健衛生検査所

要約

我々は、1993年に開発したマイクロプレート法により、大阪市で現行の神経芽細胞種のスクリーニングで用いられている尿ろ紙を使って、先天性ムコ多糖症のスクリーニングのパイロットスタディを行なった。測定は、被検者となることの同意書を得たものについてのみ行なった。

測定方法は、前回報告した方法に若干の改良を加えた。検体ろ紙は、3/16インチパンチ6枚をディープマイクロタイタープレート（Beckman）またはSMTラックセット（三光純薬）に入れ、0.3mlの0.18Mトリス・蟻酸バッファー、pH8.8中、65℃で30分間超音波処理を行なってムコ多糖を抽出した。測定は、96穴平底マイクロプレートに、尿ろ紙抽出液50 $\mu$ lを入れ、48 $\mu$ Mジメチルメチレンブルー（Aldrich）/0.18Mトリス・蟻酸バッファー溶液200 $\mu$ lを加え数秒間振盪後、直ちにマイクロプレートリーダー（コロナMTP-120）で525nmの吸光度を測定して行なった。

パイロットスタディは、まず、大学病院近隣の6カ所の保健所に依頼し、3カ月検診時、神経芽細胞種のスクリーニングの説明と同時に先天性ムコ多糖症のスクリーニングの説明と同意書の配布を行なった。

平成8年1月末現在での結果では、神経芽細胞種スクリーニングの提出者2192名中、同意書提出者が2094名で、同意率は95.5%であった。測定値は、 $2.03 \pm 2.13$  mg/dl、 $51.5 \pm 96.5$  mg/g creatinine (n=879)で、分散は、クレアチニン当りで表した後者のほうが小さかった。クレアチニン当りで表したムコ多糖の値が+1.5SD以上で、且つ、クレアチニンの値が -1SD以上のものを再検査とした。再検査率は1.6%で、平成8年1月末現在で21名を再検査したが、患者は見つかっていない。

見出し語： 先天性ムコ多糖症、尿ろ紙、マス・スクリーニング、マイクロプレート法

## 研究方法

【研究対象】パイロットスタディは、大学病院近隣の6ヶ所の保健所に依頼した。すなわち、3カ月健診時に神経芽細胞腫のスクリーニングの説明を行なうとき、それと同時に先天性ムコ多糖症のスクリーニングのパイロットスタディの主旨を説明し、同意書(図1)を配布した。

神経芽細胞腫の検査終了後、同意書の付いている検体のみを、検査所より当科まで送付してもらい、ムコ多糖症のスクリーニング検査を行なった。検査結果は、正常値の者はハガキにて通知し、異常高値の者は、「乳幼児精密健康審査受診票」と採尿パックを送付して再検尿の提出を依頼した。再検結果は、すべて、大学病院小児科外来に来院させて通知した。事業の流れを図2に示す。

【スクリーニングの方法】抽出：尿ろ紙の3/16インチパンチ6枚を96穴ディープマイクロタイタープレート(Beckman)またはSMTラックセット(三光純薬)に入れ、0.3mlの0.18Mトリス・蟻酸バッファーpH8.8中、65℃で30分間超音波処理を行なってムコ多糖を抽出した。

測定：ムコ多糖は、96穴平底マイクロタイタープレートに、抽出液50 $\mu$ lと48 $\mu$ Mジメチルメチレンブルー(DMB)/0.18Mトリス・蟻酸バッファーpH8.8溶液200 $\mu$ lを入れ、数秒間振盪後、直ちにマイクロプレートリーダー(コロナMTP-120)で525nmの吸光度を測定して定量した。クレアチニンは、抽出液50 $\mu$ lでクレアチニン測定キット(和光純薬)を用いて測定した。なお、DMBは、常に測定の当日に新しく調整した。

【再検の方法】尿50mlよりムコ多糖を抽出し、カルバゾール・硫酸法にてムコ多糖の総量を定量し、セルロースアセテート膜電気泳動にてムコ多糖の種類を同定した。

## 結果

ムコ多糖測定の検量線は図3に示す。

平成8年1月末現在での結果では、神経芽細胞腫スクリーニングの提出者2192名中、同意書提出者が2094名で、同意率は95.5%であった。測定値は、 $2.03 \pm 2.13$  mg/dl、 $51.5 \pm 96.5$  mg/g creatinine (n=879)で、分散は、クレアチニン当りで表した後者のほうが小さかった(図4)。また、クレアチニンは、 $21.7 \pm 14.4$  mg/dlであった。クレアチニン当りで表したムコ多糖の値が +1.5SD以上で、且つ、クレアチニンの値が -1SD以上のものを再検査とした。再検査率は1.6%で、平成8年1月末現在で21名を再検査したが、患者は見つかっていない。

## 考察

マイクロプレート法は、スクリーニング検査の方法として能率的である。さらに、抽出時にディープマイクロタイタープレートを用いたことでさらに能率的に測定が行なえるようになった。しかしながら、スクリーニングを実行するに当たっては、さらにまだ検討すべき点がいくつか考えられる。

検体としては、原尿よりもろ紙尿の方が、物質の安定性と輸送、保存などの取り扱いの面で優れていると思われる。ろ紙の種類は、現在行なわれ

ている神経芽細胞腫のスクリーニングに東洋ろ紙327番が使われている都合から、これを用いて行なったが、東洋ろ紙327番は、その材質の性質上、ムコ多糖を溶出させにくく、抽出に手間がかかる。神経芽細胞腫のスクリーニングということも、併せ考え、ろ紙の種類を再検討する必要があるかも知れない。

検査の対象年齢についても、神経芽細胞腫のスクリーニングと一緒にこなうことを前提として6カ月児について行なったが、疾患の性質を考えると、もっと早期に診断するほうがよいかも知れない。

最も問題となることは、正常者の値と患者との値のオーバーラップが比較的大きいことである。患者が低値を示す場合のことを考慮すると、1~2%以上の再検はやむをえないと考えられる。そして、再検検体については、ムコ多糖の総量のみならず、その種類についても電気泳動などで調べる必要があると考えられることから、比較的手間がかかる。今回は、クレアチニンが低いために、計算上異常高値を示したと考えられる検体を除き、ある程度以上のクレアチニン量であっても、なおかつ異常高値を示すもののみを再検としたが、それでも1%以上の再検率であった。

今回のパイロットスタディは、大阪市中心部に住む若い核家族世帯が主な対象となったためか、非常に高い同意率を得ることができた。

図2

ムコ多糖症スクリーニング研究開発事業の流れ

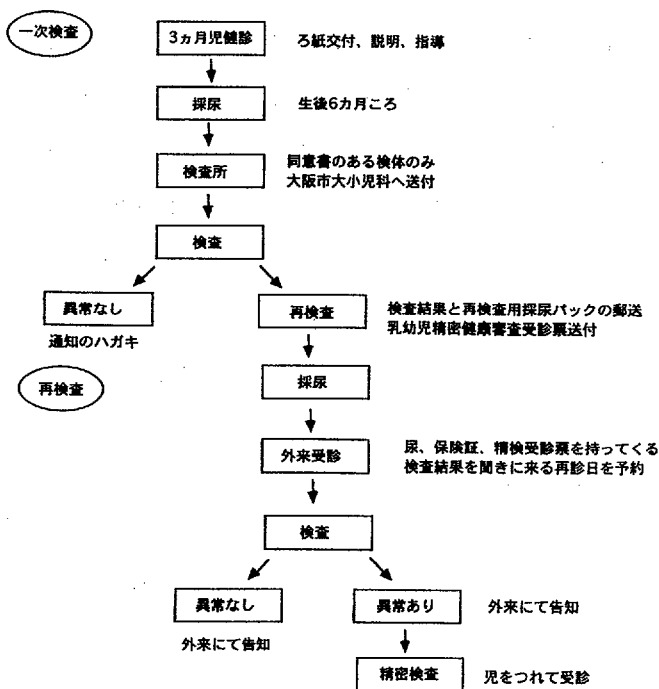
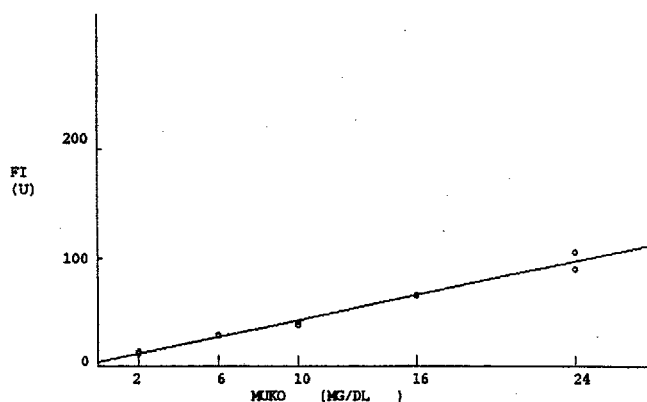


図3 コンドロイチン硫酸Cの濃度と吸光度



神経芽細胞腫の検査を受けられる乳児をお持ちの保護者の方へ

大阪府環境保健局保健部保健指導課

図1、配布した同意書

ムコ多糖症の早期発見のための研究事業協力のお願い

現在、乳児を対象として先天性代謝異常症や神経芽細胞腫などの早期発見のための検査が全国的に実施されていますが、国においては、一昨年から新たにムコ多糖症のスクリーニングが可能かどうかの研究が行われております。このたび大阪府では、大阪市立大学医学部小児科学教室が実施するこの研究に、協力することいたしました。

ムコ多糖症は、生まれつきの病気で、2～4歳ごろに、骨や関節の変形、肝臓の肥大、心臓の弁膜障害、ときに精神発達の遅れなどの症状が出てきます。症状はゆっくりと進行するため、乳児期にはほとんどわかりません。しかし、病気が進行してしまうと、治療は不可能となります。そこで、早期発見のためには、乳児期に尿検査を行った方がよいと言われはじめています。

この研究は、神経芽細胞腫の検査のために採取しましたお子様の尿をつけたる紙を一部使わせていただいて、ムコ多糖症の早期発見が可能かどうか調べるものです。

この研究の主旨をご理解いただき、ご協力いただける場合には、尿をつけたる紙を送るときに、下記の同意書に記入、捺印のうえ、同封して下さるようお願いいたします。ろ紙には便などがつかないようにお願いします。

なお、検査の結果、再検査が必要と認められた場合には、大阪市立大学医学部付属病院小児科において無料で精密検査を行います。また、この件に關しましては、本研究以外には使用せず、プライバシーは厳重に守らせていただきます。

\*この検査の結果は、送付後4週間以内に大阪市立大学医学部小児科学教室からお知らせします。

\*この検査は、平成8年5月31日までに採取された、ろ紙尿につき行います。

\*お問い合わせは、

〒545 大阪市阿倍野区旭町1-5-7

大阪市立大学医学部小児科学教室(担当医師 田中あけみ)

TEL 06-645-2126, 06-645-2426 FAX 06-646-5862

切り取り線

同意書

平成 年 月 日

大阪市長 殿

保護者住所 区 ( )

保護者氏名印

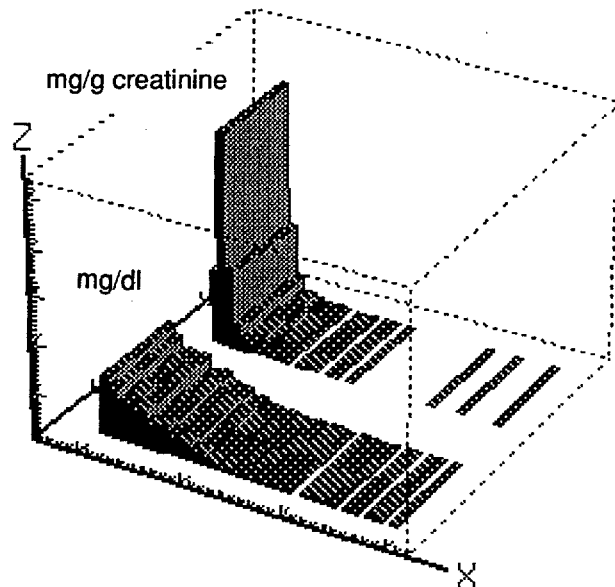
子供の名前

生年月日 年 月 日

尿採取日 年 月 日

私は、神経芽細胞腫検査のために採取した子供の尿をつけたる紙の一部を大阪市立大学医学部小児科学教室が「ムコ多糖症スクリーニング開発研究事業」のために使用することに同意します。

図4、ムコ多糖測定値のヒストグラム





## 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

我々は、1993年に開発したマイクロプレート法により、大阪市で現行の神経芽細胞種のスクリーニングで用いられている尿ろ紙を使って、先天性ムコ多糖症のスクリーニングのパイロットスタディを行なった。測定は、被検者となることの同意書を得たものについてのみ行なった。

測定方法は、前回報告した方法に若干の改良を加えた。検体ろ紙は、3/16インチパンチ6枚をデープマイクロタイタープレート(Beckman)またはSMTラックセット(三光純薬)に入れ、0.3mlの0.18M トリス・蟻酸バッファー、pH8.8中、65℃で30分間超音波処理を行なってムコ多糖を抽出した。測定は、96穴平底マイクロプレートに、尿ろ紙抽出液50 $\mu$ lを入れ、48 $\mu$ Mジメチルメチレンブルー(Aldrich)/0.18M トリス・蟻酸バッファー溶液200 $\mu$ lを加え数秒間振盪後、直ちにマイクロプレートリーダー(コロナ MTP-120)で525nmの吸光度を測定して行なった。

パイロットスタディは、まず、大学病院近隣の6カ所の保健所に依頼し、3カ月検診時、神経芽細胞種のスクリーニングの説明と同時に先天性ムコ多糖症のスクリーニングの説明と同意書の配布を行なった。

平成8年1月末現在での結果では、神経芽細胞種スクリーニングの提出者2192名中、同意書提出者が2094名で、同意率は95.5%であった。測定値は、 $2.03 \pm 2.13$ mg/dl、 $51.5 \pm 96.5$ mg/g creatinine(n=879)で、分散は、クレアチニン当りで表した後者のほうが小さかった。クレアチニン当りで表したムコ多糖の値が+1.5SD以上で、且つ、クレアチニンの値が-1SD以上のものを再検査とした。再検査率は1.6%で、平成8年1月末現在で21名を再検査したが、患者は見つかっていない。