

分担研究：効果的なマススクリーニング事業の実施に関する研究

札幌市におけるウィルソン病のマススクリーニング

研究要旨

札幌市では新生児濾紙血液セルロプラスミン測定によるウィルソン病のマススクリーニングを1995年4月から実施している。また、マススクリーニング陽性者の確認検査法としてウィルソン病責任遺伝子ATP7Bの直接塩基配列解析も併せて行っている。マススクリーニングの検査法は1998年8月までは酵素免疫測定法により、1998年9月以降はネフロメトリーにより行った。1998年12月までに66,078名の検査を行い、92名(0.13%)が再採血、1名が要精密検査となったが患児は発見されなかった。また、1997年4月以降は要再採例の一部についてウィルソン病責任遺伝子;ATP7Bの直接塩基配列解析を行い、確認検査法としての有用性を認めた。

研究協力者

荒島真一郎 (北海道教育大学札幌校)  
福士 勝、田上泰子、山口昭弘、  
小田浩道、藤田晃三 (札幌市衛生研究所)

研究目的

現行の先天性代謝異常症等の新生児スクリーニングシステムでウィルソン病のスクリーニングが可能かどうかを検討する。

研究対象および方法

対象は札幌市内の産科医療機関で出生し、保護者が先天性代謝異常症等のマススクリーニング検査を希望した生後4日から7日の新生児で、その乾燥濾紙血液検体を検査試料とした。

検査方法は1995年4月から1998年8月までは(以下前期と省略)抗セルロプラスミンポリクローナル抗体を用いるワンステップ競合法酵素免疫測定法(札幌IDL社製)を、1998年9月以降は(後期と省略)ネフロメトリー(ベーリング社製)を用いた。また前期では再検査法としてラテックス凝集自動分析法(札幌IDL社製)を用いた。

新生児濾紙血液セルロプラスミンのカットオフ値は、前期では4mg/dl血清、後期では5mg/dl血清とした。カットオフ値よりも低値を示す例には、生後1ヶ月での再採血を行い再検査を行った。

ウィルソン病責任遺伝子ATP7Bの直接塩基配列解析は乾燥濾紙血液からDNAを調製し、PCR直接塩基配列解析法によりATP7Bの遺伝子変異の検出を蛍光オートシーケンサー(日立SQ5500型)を用いて行った。

研究結果

1995年4月から1998年8月までの前期では、

60,169名の新生児を検査した。その結果、58名(0.096%)が再採血となり、1名(在胎週数36,出生時体重2,250g)が生後1ヶ月時で引き続きセルロプラスミン値が2.5mg/dlと低値を示したため、精密検査となった。しかし、生後2ヶ月ではセルロプラスミン値は17.1mg/dlと正常化した。1998年9月から12月の後期では5,899名の検査を行った。その結果、34名(0.576%)が再採血の対象となったが、生後1ヶ月の時点では全例5mg/dl以上となり精査対象者はいなかった。前期、後期とおして66,078名の新生児スクリーニングの結果は、再採血が92名(0.13%)、要精密検査が1名であり、患児は発見されなかった。再採血対象者92名中62名は出生体重2500g以下の低出生体重児であった。

要精密検査となり、生後2ヶ月でセルロプラスミン値が正常となった例について、ATP7Bの全21エクソンについて直接塩基配列解析法により遺伝子変異の検索を行ったが変異は認められなかった。また、日本人ウィルソン病患者36家系についてその遺伝子変異解析を行い、欧米人と共通な3つの変異と日本人に特異的な10個の変異がエクソン8, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 18にあり、第一ステップとしてこれら変異の集中する8つのエクソンを直接塩基配列解析することにより70%以上の変異を検出できることが明らかとなった。

考察

新生児期での血中セルロプラスミン測定によるウィルソン病スクリーニングの可能性に関して、われわれはレトロスペクティブな研究ではあるが、幼児期発症例について保存された新生児濾紙血液のセルロプラスミンを測定しその低値を証明している。しかし、1994年から1997年に行われた厚生省心身障害研究での青木らの報告によると、全国8施設で15万

人規模の新生児スクリーニングでは患児が発見されないこと、治療開始も3歳から5歳の幼児期で十分であること、3歳以降ではセルロプラスミンがほぼ一定レベルとなること等から、幼児期でのスクリーニングが有用であるとされている。しかしながら、幼児期のスクリーニング検体をいつ採取するか、どのようなシステムで採血するか等、依然解決されていない問題も多い。また、現行の新生児先天性代謝異常症等スクリーニングではほぼ100%の受検率を達成しているが、幼児期でこのような受検率を確保できる採血システムを確立するのは現状ではかなり難しいと思われる。実際に、札幌市の現状では幼児期、特に3歳児健診時や開業医での採血システムを構築することが難しいことから、新生児期でもセルロプラスミン低値を示す可能性が高い早期発症型のウィルソン病の検出を目的として、新生児先天性代謝異常症等のスクリーニングの対象疾患の一つとして実施している。新生児6万名余りのスクリーニングでは患児は発見されていないが、発生頻度から考慮しても10万人以上のスクリーニングを行わなければ、どのようなタイプの患児が、どのような頻度

で検出するかは明らかにできないものと思われる。一方、新生児期スクリーニングで発見されるウィルソン病患児は未発症であり、その確定診断には血中銅、尿中銅排泄量、肝銅含有量に加えて、その責任遺伝子であるATP7Bの遺伝子変異解析が有効とされている。そこで、スクリーニング陽性例については、第一ステップとして、変異の集中するエクソン8, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 18の8つのエクソンの直接塩基配列解析を行い、この段階で変異が検出されない場合は残りの全エクソンの解析を行うことにより、確定診断を効率的に行うことができるものと思われる。

#### 結論

ウィルソン病の新生児期マススクリーニングの有用性を確認するには同一地域で10万人以上の検査数が必要であり、さらにスクリーニング数を増やして検討が必要である。未発症例の確定診断にはその責任遺伝子であるATP7Bの遺伝子変異の検出が有効である。