

分担研究：効果的なマスキリング事業の実施に関する研究

尿によるウィルソン病のスクリーニングに関する研究（第2報）

研究要旨

わが国では学校検尿が普及しており、その尿のセルロプラスミン(以下CP)を測定すれば、Wilson病を発症前にスクリーニングすることが可能と考えてこれを試験的に行なった。東京都の一部の小学校に対して、腎臓検診のための尿の一部を本症のスクリーニングに使用することの許可を求め、協力の得られた学校の児童22,639名の尿CPを、抗ヒト活性型モノクローナル抗体を用いたELISA法キットで測定した。その結果、15ng/ml以下を示したのは148例(0.7%)で、その138例の尿を再検査したところ、12例(0.1%)が15ng/mlまたは15ng/mg creat. 以下であった。その10例を精密検査したところ、1例の尿CPIは0.9ng/mg creat.、尿銅262ng/mg creat.、血清CP 9 µg/dlでWilson病と思われた。その肝機能やエコーの所見は正常で、Kayser Fleischer角膜輪は無かったが、遺伝子解析で本症と診断され、本法の有用性を証明した。

研究協力者

北川照男、鈴木 健 (東京都予防医学協会)
大和田 操 (日本大学小児科)

研究目的

小学生および成人の随時尿を用いて年齢別および男女別尿CP値について検討し、Wilson病患者29名のCP値と比較した。同時にスクリーニングにおけるcut-off値についても検討した。また、平成9年度に引き続き、東京都の一部の小学生の健康診断のために採尿された尿の一部を用いて、本症をスクリーニングすることに協力が得られた74校の学童22,639例の早朝尿を対象として、試験的スクリーニングを行なった。

研究方法および材料

- 1) 小学生(70名)、成人(96名)の随時尿における年齢別および男女別CP値について検討した。
- 2) 小学生2,000名の早朝尿を用いて、スクリーニングにおけるcut-off値について検討した。
- 3) Wilson病患者29例の尿CPおよび尿銅を測定して、健常人の値と比較した。
- 4) 健康診断のために採尿された学童22,639名の早朝尿を対象として、試験的スクリーニングを行なった。
- 5) 尿CPIはELISA法キット(株 ニッショー)を用いて測定し、尿クレアチンはYaffe法で、また、尿銅は原子吸光法により測定した。

研究結果

- 1) Wilson病患者における尿CP値

図1に示すように、26歳から64歳までのWilson病患者29名の随時尿のCPIは、その1例が320ng/ml、362.4ng/mg creat.の著しい高値を示していた。しかし、その他の28例の尿CPの平均値は、 8.6 ± 8.3 ng/ml、 7.1 ± 8.3 ng/mg creat.の低値を示した。尿CPが高値を示した1例を除くと、その全例が27.5ng/ml以下であり、29例中24例(82.8%)が27.5ng/ml以下であった。

2) 小学生および成人随時尿の年齢別および男女別CP値

ヒトの尿CPを年齢別にみると、表1に示すように、小学生、成人の尿CPの平均値は何れの場合も100ng/mg creat.以上の値を示し、Wilson病患者の値とは著しい差が認められた。また、加齢と共にCP値が上昇し、7~30歳未満と30歳以上の群とは何れも統計学的に有意差が認められたが、30歳以上の群間では有意差は認められなかった。

一方、小学生および成人の男女間には何れも統計学的な有意差は認められなかった。

3) スクリーニングに用いるcut-off値の検討

小学生2,000名の早朝尿のCP値を測定し、15ng/mlから5ng/ml毎に35ng/mlまで5群に分けて、各群における陽性数と2,000例の中に占める比率を算出した。表2に示すように、一次スクリーニングのCP値が15ng/ml以下のものを再採血した場合、再採血率は約1%になり、25ng/ml以下のものでは4.9%、30ng/ml以下のものでは9.6%となった。前述したWilson病患者のCP値からみると、15ng/ml以下のものを再採血し、それ以上を再採血しないとすると、約1/4のWilson病患者が見逃されることになり、25ng/ml以下では見逃しが約10%に

低下し、30ng/ml以下では3.5%となり、ほぼ全例を把握することができると思われた。

以上の成績から、今回の試験的スクリーニングでは、見逃し率はやや高いものの、再採血率が低くて学校の協力が得られやすい15ng/mgをcut-off値に設定した。

4) 小学生児童の尿CPによるWilson病の試験的スクリーニング

小学生児童22,639名の尿CPによるWilson病の試験的スクリーニングのその平均値は、 103.3 ± 72.2 ng/mlであって、表3に示すように、15ng/ml以下を示したのは148例(0.7%)であり、平均値は 8.2 ± 4.4 ng/mlであった。二次スクリーニングでは148例中138例の尿が提出され、そのうち再度15ng/mlまたは15ng/mg creat. 以下を示したものは12例で、その尿の平均値は 9.2 ± 5.5 ng/mlおよび 10.3 ± 6.5 ng/mg creat. であった。この12例中の10例について精密検査を実施したところ、1例の尿CPが、1.6ng/mlおよび0.9ng/mg creat. と著しい低値を示し、Wilson病と思われたが、他の9例の平均値は 73.4 ± 44.5 ng/mlおよび 41.63 ± 5.5 ng/mg creat. であった。

5) 試験的スクリーニングで発見された患児の経過

尿CPが異常に低かった11歳の男児の血清CPは、2.7mg/dl、血清銅は $9 \mu\text{g/dl}$ 、尿銅は262ng/mg creat. で、Wilson病が強く疑われた。しかし、血清生化学検査ではヘパプラスチンテストが52%と低値を示した以外は何れも正常であった。また、理学的には体格および栄養は正常範囲で、肝脾腫はなく、眼科的にKayser-Fleischer角膜輪は認められず、腹部エコー検査でも肝硬変は認められなかった。以上の所見から、本症がWilson病であることを確認するために、遺伝子の解析を札幌市衛生研究所に依頼した。

その結果、これまでに日本人のWilson病において多く報告されている遺伝子変異、即ちExon8のR778LおよびExon9のA803T変異の複合ヘテロ接

合体であることが確認された。

考察

Wilson病を早期発見する事が可能か否かを検討するために、活性CPを測定するELISA法で10万例を超える新生児濾紙血液でのパイロットスタディが行なわれたが、現在までに1例の患児も発見されていない。新生児期では、正常でもCP値が低値を示すことに問題があり、スクリーニングを行なうには適切な時期でないと指摘されている。最近では、幼児の血液CPをスクリーニングして、発症前のWilson病患者が相次いで発見されている。しかし、幼児は一般に採血を嫌うので、血液による本症のスクリーニングを普及するのは困難と思われた。我々は、健康人の尿にCPが排泄され、Wilson病患者の尿ではそれが低いことを知り、これまでに尿CP測定によるスクリーニング法を検討してきた。他方、わが国では健康診断を目的とした学童の尿検査が毎年施行されているので、その尿を使用すれば全国的規模でのスクリーニングが可能と考え、我々は、協力が得られた74校、22,639名の学童の尿CPについて試験的スクリーニングを行い、1例の患児を発見して、本法の有用性を証明した。

しかし、学童では既に発症している患者も多いので、幼児の尿を用いてスクリーニングする必要があると考えており、今後はこの点について検討する予定である。

文献

- 1) 大和田 操、鈴木 健、似鳥 嘉一 他：Wilson病のマス・スクリーニングに関する研究(第2報) - 尿中セルロプラスミンを中心として - 日本先天代謝異常学会誌 1995; 11: 122
- 2) 鈴木 健、笹嶋 薫、穴澤 昭 他：尿によるWilson病のスクリーニングの研究 日本マス・スクリーニング学会誌 1997; 7: 108

図1：Wilson病患者の尿CP値

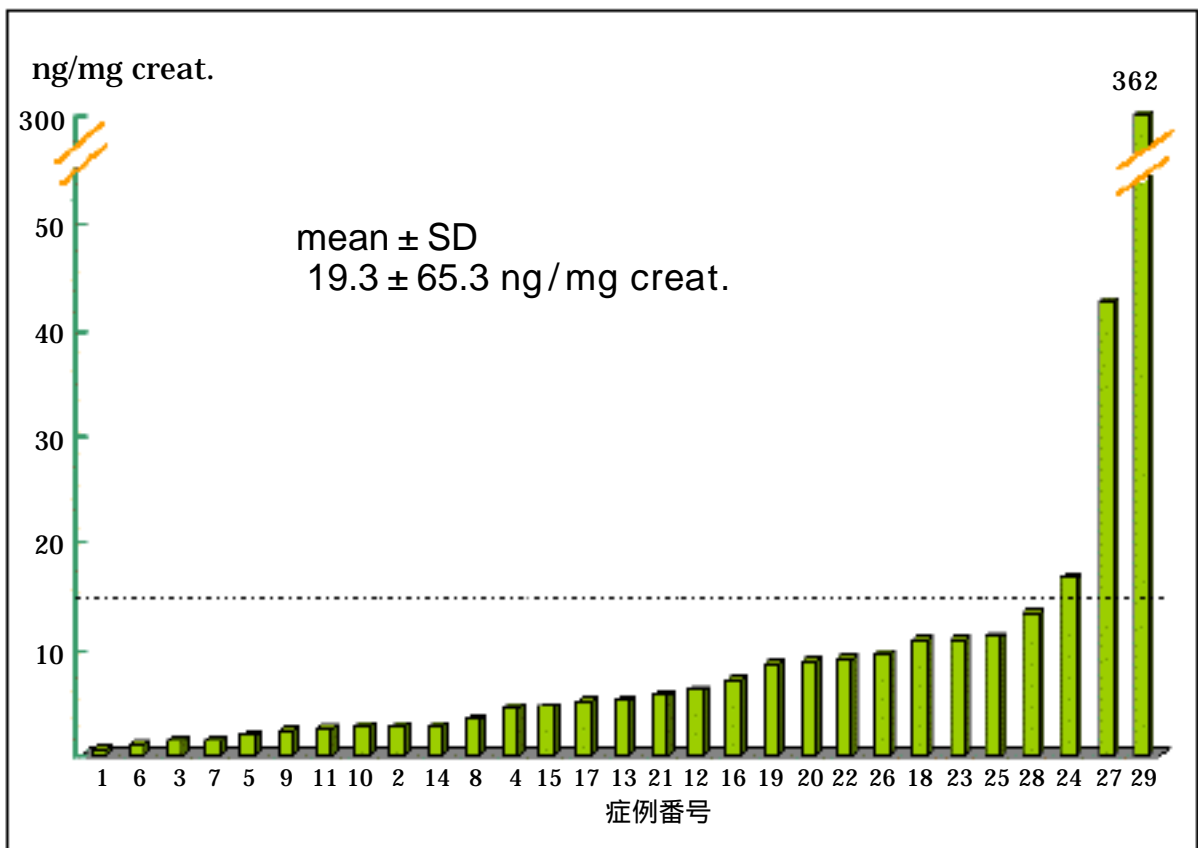
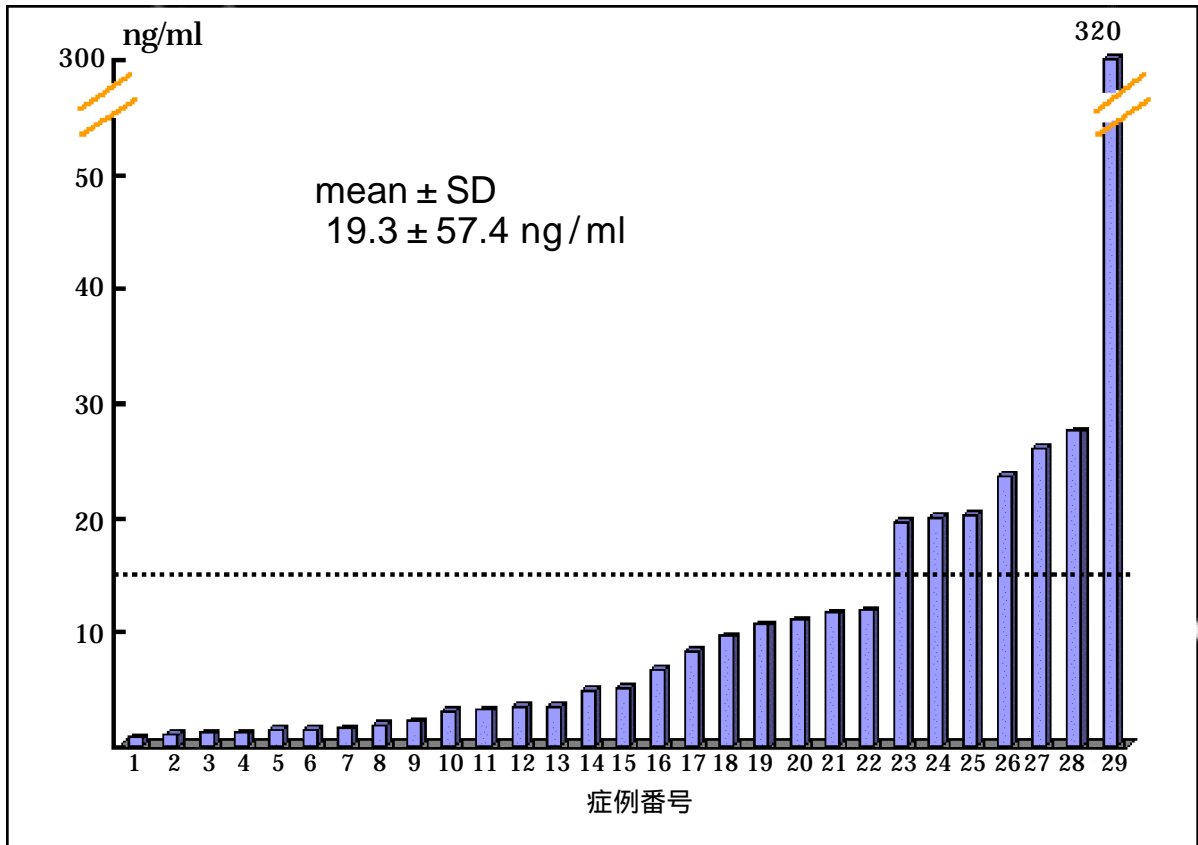


表1. 年齢別・男女別尿CP値

年齢	n	尿CP値
7～30歳未満	92	106.4 ± 65.4 ng / mg creat.
30～40歳未満	36	134.5 ± 69.2 ng / mg creat.
40～50歳未満	23	173.1 ± 65.7 ng / mg creat.
50～60歳未満	17	183.9 ± 87.2 ng / mg creat.
小学生男女別尿CP値		
男児	21	121.7 ± 58.0 ng / mg creat.
女児	49	102.9 ± 74.8 ng / mg creat.
成人男女別尿CP値		
男性	76	143.9 ± 71.7 ng / mg creat.
女性	22	151.8 ± 122.3 ng / mg creat.

表2. 一次スクリーニングにおけるcut-offの検討

小学生2,000例の中で尿CPが15-35ng/ml以下のものの症例数とその比較

尿CP値の区分 ng/ml	症例数	%
15以下	19	0.9
20以下	29	2.4
25以下	59	4.9
30以下	94	9.6
35以下	140	16.2

表3. 試験的マス・スクリーニング成績
(小学生22,639例を対象として)

	陽性	陰性	未受検
一次	148 (0.7%)	22,491 (99.3%)	0
二次	12 (0.1%)	126 (0.6%)	10 (0.04%)
三次	1 (0.004%)	9 (0.04%)	2 (0.001%)