

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。1999年12月までに83,169名の検査を行い、155名(0.19%)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、小児慢性疾患受給者台帳により札幌市内のウィルソン病患者を調査したところ1982年4月から1999年3月までの出生者で4名の患者が登録されていたが、1995年以降の出生者で登録患者いなかった。全国の施設から依頼された、スクリーニング陽性例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った結果、本解析の確認検査法としての有用性を認められた。

研究協力者

藤田晃三，福土勝，野町祥介，田上泰子
本間かおり，三上 篤，佐藤勇次
(札幌市衛生研究所)
船田さゆみ，服部幸子，加藤誠也
(札幌市保健衛生部)

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1999年12月までの後期では23,000名の検査を行った。その結果、97名(0.42%)が再採血の対象となったが、生後1ヶ月から2ヶ月で時点では全例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83,169名の新生児スクリーニングの結果は、再採血が155名(0.19%)、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155名中103名(66.5%)は出生体重2500g以下の低出生体重児があった。

研究方法

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。

スクリーニング見逃し例を調査するため札幌市の小児慢性疾患受給者台帳に基づきウィルソン病患者の調査を行った。

小児慢性疾患受給者台帳により札幌市内のウィルソン病患者を調査したところ1982年4月から1999年3月までの出生者で4名の患者が登録されていたが、1995年以降の出生者で登録された患者いなかった。

全国から依頼された日本人ウィルソン病患者41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1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80%以上の変異を検出できることが明らかとなった。

考案

1994年から1997年に行われた厚生省心身症害研究における報告では,全国8施設で15万人規模のウィルソン病新生児スクリーニングでも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と結論している。しかしながら,幼児期のスクリーニング検体をいつ,どのようなシステムで採取するのか一定の結論が得られていなく,幼児期でのマススクリーニングでは高い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。札幌市の現状では幼児期,特に1歳6ヶ月及び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かったことから,1995年4月に現行の新生児先天性代謝異常スクリーニングと同時にスクリーニングを行い,その有用性を検討することとした。新生児8万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,小児慢性疾患受給者台帳で

の調査結果から18歳までの登録患者は4名であり,札幌市の年間平均出生数16,000人として,これに基づくと発生頻度は6万人から8万に1人となる。従って10万人以上のスクリーニングを行わなければ結論は出せないと考えられる。

一方,マス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1ステップとして,日本人の変異が集中するエクソン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,確定診断をより効率的に行うことができるものと考えられる。

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いたっていない。スクリーニングと見逃し例の調査の継続が必要である。未発症例の確定診断にはその責任遺伝子ATP7Bの遺伝子変異の検出が有効である。