

新生児における先天性代謝異常症等の マス・スクリーニング実施状況について (第11報)

好井 信子・久保由美子・白石名伊子

I 諸 言

国では、心身障害児発生予防対策事業の一環として昭和52年10月からフェニルケトン尿症を含む5種疾病の先天性代謝異常症のマス・スクリーニングを、次いで54年度10月から先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)のスクリーニングを加えて実施してきた。

さらに平成元年1月から、先天性副腎過形成症が実施されることになった。

当県では、昭和53年から5種の先天性代謝異常症のマス・スクリーニングを、昭和56年10月からクレチン症を、平成元年1月から先天性副腎過形成症を、「香川県先天性代謝異常検査等実施要綱¹⁰⁾」に基づき実施し、7種の疾病予防に務めてきた。

各年度のマス・スクリーニングの実施状況については所報第7号から第16号^{1)~9)}において報告。早期発見、早期治療のためマス・スクリーニングの果たす効果は大なるものがあり十分発揮していると考えられる。ここでは昭和63年度、平成元年度のマス・スクリーニングの実施状況について報告をする。

II 方 法

1. 検査対象疾病

フェニルケトン尿症、楓糖尿症、ヒスチジン血症、ホモシチン尿症、ガラクトース血症(以下Gal)、クレチン症及び副腎過形成症(以下CAH)

2. 検査対象者

新生児のうち、保護者が検査を希望するもの。

3. 検査材料

医療機関が「香川県先天性代謝異常検査等実施要綱」に基づき、定められたろ紙に採血し、乾燥血液ろ液を用いた。

4. 検査方法

アミノ酸代謝異常症の4種疾病についてはガスリー法にて行った。このうち定められたCut-off値付近以上に菌発育の認められた検体、及び菌発育阻害を示した検体については、薄層クロマトグラフィー法(以下TLC)を併

用しヒスチジン血症については、ウロカニン酸の有無を検出し判定の参考とした。

ガラクトース血症については、Beutler法とPaigen法共に行ない、TLCも併用した。

以上、前年度同測定法による。

クレチン症検査は、前年同様3日法にて実施した。

CAHは、ELISA法にて実施した。

5. その他

検査結果及び検査検体等については「香川県先天性代謝異常検査等実施要綱」に基づき、所報第7号と同様に処理した。

検査は今年度も例年同様、日曜日、祭日を除いては、受付当日行なった。ただしクレチン症検査は週2回とし、月曜日及び水曜日を検査第1日目とした。TLCも週2回実施した。

III 結果及び考察

1. 検査実施状況について

1) 検査実施施設数

病院26施設、医院39施設、助産院1施設の計66施設が検査を実施しており、前年度より2施設増加しているが、新設病院による変動である。

2) 検査件数及び検査実施率

表1表2表3に昭和63年度、平成元年度の先天性代謝異常症、クレチン症並びに、先天性副腎過形成症検査の月別受付検体数等を示した。検査件数は前年度と比較すると減少しているが、これは出生児数の減少によるものである。

検査受診率は、図1のように届出出生児数に対して100%を大きく越えているのは、里帰り分娩等が考えられる。

2. 検査検体について

1) 採血から受付までの日数

表4に示すように採血してから3日以内に受付けた検体は91.1, 92.3%, 4~7日で受付けた検体は、8.5, 7.1%であり7日以内に99%が受け付けられている。CAH検査の追加で徹底が必要と考えられる。

表1 先天性代謝異常症検査月別受付検体数・再採血数・精度管理検体数・検査件数

(昭和63年度) No. 1

	昭和63年												計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
検査実施件数	864	972	919	953	1,028	966	978	964	851	869	866	879	11,109
検体不備による再採血数	5	1	1	3	0	2	1	1	0	2	4	1	21
疑陽性・陽性による再採血数	24	21	30	14	8	7	6	9	8	4	10	4	145
精度管理検体数	20	20	20	20	30	20	20	20	20	20	20	20	250
総検査実施件数	884	992	939	973	1,058	986	998	984	871	889	886	899	11,359
検査実人員数(受付月日による)	840	951	889	939	1,020	959	972	955	843	865	856	875	10,964

(平成元年度) No. 2

	平成元年						平成2年						計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
検査実施件数	809	935	851	850	945	850	936	875	873	888	779	836	10,417
検体不備による再採血数	1	2	1	4	0	2	3	0	0	1	1	0	15
疑陽性・陽性による再採血数	5	2	4	6	5	5	2	5	3	4	1	0	42
精度管理検体数	20	20	20	30	20	20	20	20	20	20	20	20	250
総検査実施件数	829	955	871	880	965	870	956	895	893	943	799	856	10,712
検査実人員数(受付月日による)	804	933	847	844	940	845	934	870	870	884	778	836	10,385

表2 クレナン症月別受付検体数・再採血数・精度管理検体数・検査件数

(昭和63年度) No. 1

	昭和63年												計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
検査実施件数	850	960	902	950	1,026	965	982	964	848	873	860	886	11,056
疑陽性・陽性による再採血数	10	9	13	1	6	6	10	9	5	8	4	11	92
精度管理検体数	20	20	20	20	30	20	20	20	20	20	20	20	250
総検査実施件数	870	980	922	960	1,056	985	1,002	984	868	893	880	906	11,306

(平成元年度) No. 2

	平成元年						平成2年						計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
検査実施件数	815	945	859	851	945	851	937	875	882	895	788	847	10,497
疑陽性・陽性による再採血数	11	12	12	7	5	6	3	5	12	6	10	11	100
精度管理検体数	20	20	20	30	20	20	20	20	20	20	20	20	250
総検査実施件数	835	965	879	881	965	871	957	895	902	915	808	867	10,740

表3 副腎過形成症検査月別実施件数・再採血数

(昭和63年度) No. 1

	昭和63年												計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
検査実施件数	—	—	—	—	—	—	—	—	—	865	860	877	2,602
疑陽性・陽性による再採血数	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	4	2	6

(平成元年度) No. 2

	平成元年						平成2年						計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
検査実施件数	809	939	848	847	945	846	935	873	877	890	785	836	10,430
疑陽性・陽性による再採血数	5	6	1	3	5	1	1	3	7	11	7	0	50

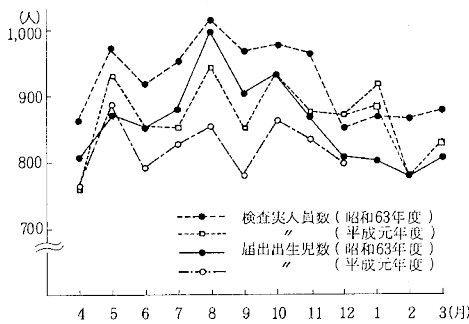


図1 月別検査実施状況

表4 採血から受付までの日数

(昭和63年度)

	昭和63年												計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
3日以内	823	806	864	896	946	903	901	899	823	741	814	794	10,210
4~7日	47	161	66	52	87	67	80	72	33	139	129	95	949
8~10日	4	13	2	5	0	2	7	2	0	7	0	2	44
11~14日	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
15日以上	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2

(平成元年度)

	平成元年						平成2年						計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
3日以内	780	789	827	804	917	785	889	829	838	775	734	795	9,762
4~7日	45	156	37	55	37	72	50	53	51	114	34	52	756
8~10日	0	8	0	1	1	0	0	1	0	10	26	0	47
11~14日	0	0	0	0	0	0	1	0	1	5	1	0	8
15日以上	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	4

表5 月別BIA法, Beutler法, Paigen-phage法副腎過形成症 (ELISA法) 及びクレチン症RIA法による再チェック数

(昭和63年度) No. 1

		昭和63年										平成元年			計 (%)
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
BIA法	フェニルアラニン	9	5	11	1	5	7	5	8	11	4	9	4	1,792 (16.1)	
	ロイシン	9	5	12	2	7	8	5	0	7	4	3	6		
	メチオニン	8	8	15	3	11	12	6	2	8	2	4	5		
	ヒスチジン	116	203	177	141	178	141	164	172	137	117	133	113		
Beutler法		3	16	14	4	3	2	2	0	0	0	3	1	48 (0.4)	
Paigen-phage法		91	106	94	68	52	41	43	66	60	47	54	48	770 (6.9)	
副腎過形成症ELISA法											44	50	47	141 (5.4)	
クレチン症PIA法		45	67	84	45	47	103	68	69	55	36	32	53	704 (6.3)	

(平成元年度) No. 2

		平成元年										平成2年			計 (%)
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
BIA法	フェニルアラニン	9	3	3	5	2	5	2	6	4	5	3	7	1,250(12.0)	
	ロイシン	8	3	6	6	3	7	5	6	7	9	7	11		
	メチオニン	9	4	4	4	2	5	2	6	4	5	3	7		
	ヒスチジン	103	114	75	106	109	108	116	96	116	99	91	117		
Beutler法		4	9	7	8	5	1	1	1	1	0	0	0	37	
Paigen-phage法		32	25	102	25	48	41	37	25	27	28	17	24	431(0.4)	
副腎過形成症ELISA法		60	71	71	75	56	55	53	54	68	53	55	50	721(4.1)	
クレチン症PIA法		47	61	61	42	52	50	47	46	50	61	40	66	623(6.1)	

表6 月別検査成績

(昭和63年度) No. 1

		昭和63年										平成元年			計 (%)
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
疑陽性件数	代謝異常性副腎過形成症	24	21	30	14	8	7	6	9	8	4	10	4	145	
	クレチン症	10	9	13	1	6	6	10	9	5	8	4	11		
	計	34	30	43	15	14	13	16	18	13	12	18	17		
陽性件数	フェニルケトン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	
	楓糖尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	ホモシスチン血症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	ヒスチジン血症	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1		
	ガラクトース血症	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0		
	副腎過形成症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	クレチン症	1	2	0	0	0	0	4	0	0	1	0	0		
計		1	2	0	0	1	0	5	1	1	2	1	2		

(平成元年度) No. 2

		平成元年										平成2年			計 (%)
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
疑陽性件数	代謝異常性副腎過形成症	5	2	4	6	5	5	2	5	3	4	1	0	100	
	クレチン症	11	12	12	7	5	6	3	5	12	6	10	11		
	計	21	20	17	16	15	12	6	13	22	21	18	11		
陽性件数	フェニルケトン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	
	楓糖尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	ホモシスチン血症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	ヒスチジン血症	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0		
	ガラクトース血症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	副腎過形成症	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0		
	クレチン症	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1		
計		0	0	1	0	1	2	2	1	1	0	0	1		

2) 検体不備とその内容

表1の通り、検体不備件数21, 15件であり、回収率は100%である。そのほとんどが、血液量の不足(滴下量が少ない, 十分裏まで浸み込んでいない)で、検査項目の増加, CAH検査の迅速等の問題点を考慮し、一層医療機関の協力が必要である。

3) 検査結果について

先天性代謝異常症とクレチン症の月別再検率, 月別検査成績を表5:表6に示した。

クレチン症, CAHの再チェックは, キットの季節変動, アッセイ, ロット間変動等を考慮し見逃しをさけるため3~5%以上及び $10\mu\text{U}/\text{mL Blood}$ 以上を行なっているので厚生省が定めている3%tile以上を上廻っている。

昭和63年度の先天性代謝異常症の陽性者は, ヒスチジン5名ガラクトース血症2名, 副腎過形成症1名, クレチン症8名, また平成元年度は, ヒスチジン血症6名, 副腎過形成症1名, クレチン症2名であった。

IV その他

[1] 厚生省では, 新たにELISA法によるCAHの検査を加え実施することとした。当所でも平成元年1月から「香川県先天性代謝異常検査等実施要綱」に基づきマス・スクリーニングを開始した。

CAHは, 副腎皮質ホルモン合成酵素が先天性に欠損することによりcortisolの分泌が低下し, その結果下垂体からACTH分泌が過剰に起こることにより副腎皮質が過形成となる疾患で欠損している酵素の種類により数種の病型に分けられているが国内外の報告でも90%が主として21-水酸化酵素欠損でこれがマス・スクリーニングの

対象となる。現在ELISA法による検査試薬は数社より開発されているが今回2社キットにより基礎的検討を行なったのでその結果を報告する。

① 測定原理

1 第2抗体を固相化したウェル内で抗17-OHP抗体(第1抗体)と検体(乾燥ろ紙血液 $\phi 3\text{mm}$ ディスク以下 3mm ディスク)中の17-OHPと酵素標識17-OHPおよび酵素標識17-OHPを洗浄, 除去。

2 反応終了後, 未反応の17-OHPおよび酵素標識17-OHPを洗浄, 除去。

3 発色剤を加え固相上の酵素活性を測定。

② 対象

香川県下で出生した新生児3476件。

③ 結果

1 抗原抗体反応時間の検討

反応時間を4, 16, 24時間と変えて測定を行なったところ吸光度は時間と共に増加した。16時間以上で感度的に良好を考えられ, また安定していると思われる。

2 抗原抗体反応温度の検討

反応温度 4°C , 25°C , 37°C と変えて測定, 4°C は 25°C , 37°C に比べ濃度間差が少なく 25°C 以上で良いと考えられる。

3 酵素反応温度の検討

反応温度を 4°C , 25°C , 37°C と変えて測定, 4°C は 25°C , 37°C に比べ吸光度値が低く反応が十分でないと考えられる。

4 呈発色の安定性

反応停止液を分注した後, B社は徐々に吸光度の上昇がみられた。測定温度によっても差がみられた。しかし直後に測定すればいずれも安定した値が得られた。

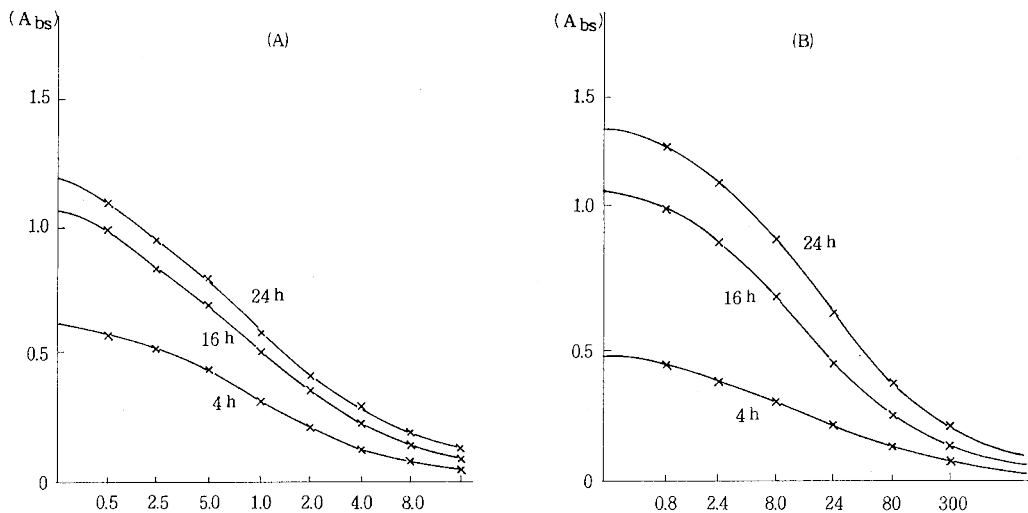


図2 抗原抗体反応時間の検討

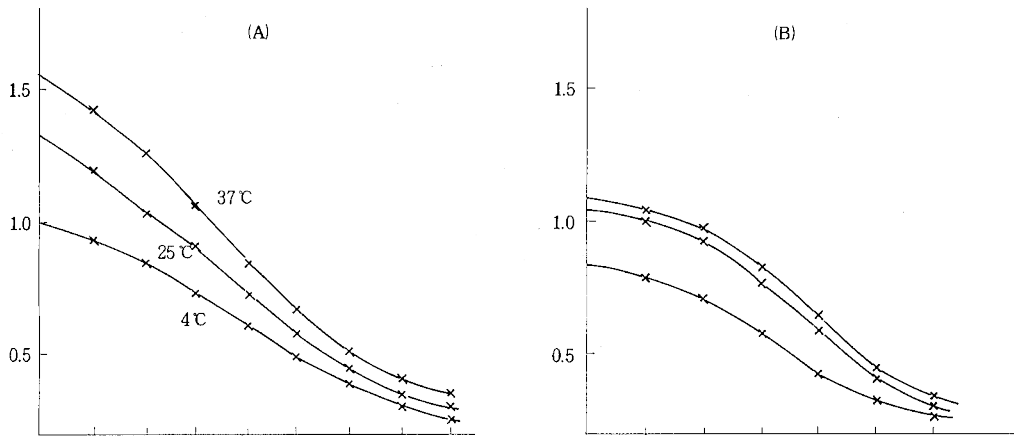


図3 抗原抗体反応温度の検討

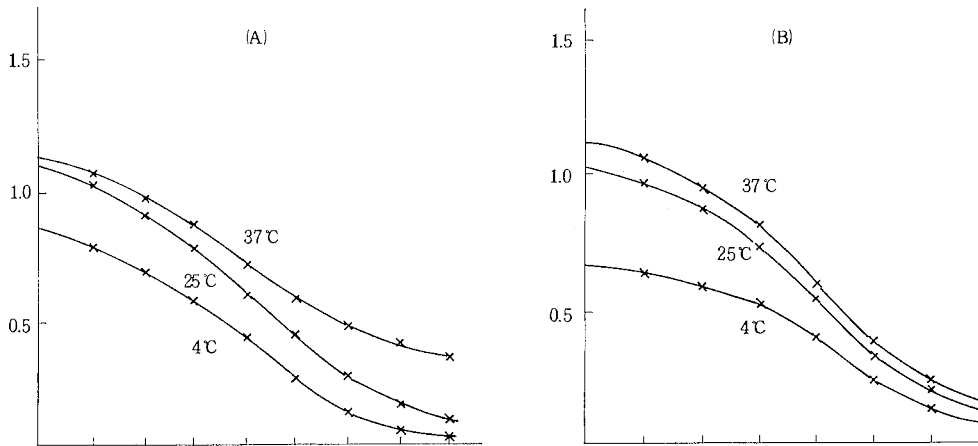


図4 酵素反応温度の検討

5 一般検体の測定値について

新生児3476件について直接法でスクリーニングを行ないその3~5%tile以上及びCut-off値以上について抽出法で再チェックを行なった。

17-OHPの測定分布は、対数正規分布を示した。A・B社間の再チェックの合致率は97.3%であった。2.7%について抽出法で再チェックの結果4件(0.1%)を除き合致した。これら4件について、再採血にて再検査の結果、正常となった。

Pku検査用採血ろ紙には4ヶ所スポットできるが、同じスポットでも外・内側では外側が高値を示す。異なる値を示した94件(2.7%)のスポット4ヶ所検討した結果、両外側が高い12件、内側2つが高い2件、どちらかへ順に高い37件、右あるいは左側2つが高い7件とスポット間にバラツキがみられた。

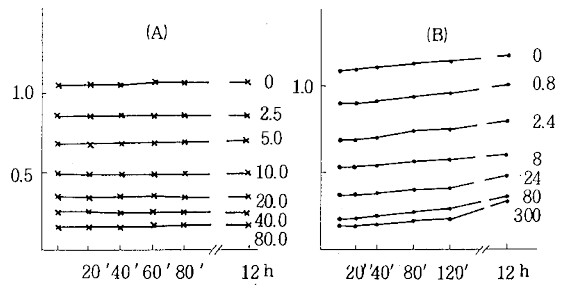


図5 呈色後の安定性

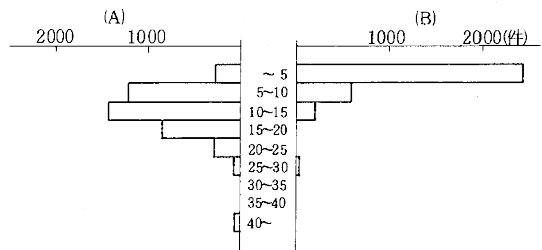


図6 測定分布

④ 考 察

今回用いた2社のキットにおいて抗原抗体反応は25℃で16時間以上あれば十分で酵素反応は25℃, 30分で良い結果が得られる。呈色後の安定性は、直後なら最良で1時間位は安定していると考えられる。

A・B社の測定値に差があるのは、抗体の3位, 7位の特異性の違い17 α -ヒドロキシプロゲネロン・3・サルフェイトの交差反応による干渉が関与していると思われる。しかし、直接法で1次マス・スクリーニングを行ない、3~5%tile以上、Cut-off値以上のものについて抽出法で再チェックをすれば、操作が簡便でかつ短時間で測定出来、再採血や要請検数を少なく、見落としのないマス・スクリーニングが2社とも可能であると考えられた。

[2] マス・スクリーニングで発見されたCAH患児の症例

症例 1

患児 平成元年 3月8日 生, 女児

主訴 なし

症状及びCAHマス・スクリーニング結果

県立中央病院にて 平成元年3月8日 出生

泌尿器科より 性器異常にて小児科へ紹介

大陰子陰囊状 軽度の色素沈着有り

3月14日 先天性代謝異常症等検査

(3月13日採血)

3月17日 CAH要精密検査 依頼

3月18日 精検結果及び診断

17-OHP 14.0, 21DOF 18.7

Na 133, K 4.0, cl 104

21-水酸化酵素欠損症 単純男性型と診断

治療開始。以後 経過良好。

V 諸 論

昭和63年度及び平成元年度先天性代謝異常症等検査7疾患のマス・スクリーニング実施状況をまとめた。

1 受付検体数は、先天性代謝異常症検査11,109件, 10,427件, クレチン症検査11,056件, 10,485件, 先天性副腎過形成症2,602件, 10,335件であった。

2 検体不備血液ろ紙は, 21件, 15件で, それらのほとんどが血液量の不足である。検査項目等の増加, 項目による迅速性の要求等で今後このような検体をなくするため, 医療機関の協力を必要とする。

3 発見患者数は, 昭和63年度ヒスチジン血症5名, ガラクトース血症2名, クレチン症8名, 副腎過形成症1名。平成元年度ヒスチジン血症6名, クレチン症2名, 副腎過形成症1名であった。

4 平成元年1月から副腎過形成症のマス・スクリーニングが加えられ単純男性型1名を発見した。

稿を終えるに当り香川県立中央病院山田先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 吉岡倭子, 藤田登美子: 新生児における先天性代謝異常症のマス・スクリーニングの実施状況について, 香川県衛生研究所報告, 7, 34~37, 1978。
- 2) 吉岡倭子, 十川みさ子: 新生児における先天性代謝異常症のマス・スクリーニングの実施状況について(第2報), 香川県衛生研究所報, 8, 51~54, 1979。
- 3) 吉岡倭子, 大森節子, 中内里美: 新生児における先天性代謝異常症のマス・スクリーニングの実施状況について(第3報), 香川県衛生研究所報, 9, 53~56, 1980。
- 4) 吉岡倭子, 大森節子, 中内里美: 新生児における先天性代謝異常症のマス・スクリーニングの実施状況について(第4~5報), 香川県衛生研究所報, 10, 76~80, 1981, 11, 94~99, 1981。
- 5) 吉岡倭子, 大森節子, 横井博信: 新生児における先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング実施状況について(第6報) 香川県衛生研究所報, 12, 88~92, 1983。
- 6) 好井信子, 今田和子, 山階裕子: 新生児における先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング実施状況について(第7報), 香川県衛生研究所報, 13, 73~79, 1984。
- 7) 渡辺路子, 好井信子, 関知美: 新生児における先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング実施状況について(第8報), 香川県衛生研究所報, 14, 61~64, 1985。
- 8) 渡辺路子, 好井信子, 白石名伊子: 新生児における先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング実施状況について(第9報), 香川県衛生研究所報, 15, 73~75, 1986。
- 9) 好井信子, 久保由美子, 白石名伊子: 新生児における先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング実施状況について(第10報), 香川県衛生研究所報, 16, 63~66, 1987。
- 10) 香川県環境保健部: 香川県先天性代謝異常検査等実施要綱