

フを10mg/dl未満とするのが妥当と思われた。乳幼児期にマススクリーニング目的で濾紙採血をする場合、特定の施設と期日で採血しない限り、施設間での検体の室温放置など輸送までの取り扱いによって測定値にばらつきが生じる。そこで室温放置期間によるばらつきを補正することも、再検率を下げる一つの方法と思われた。補正式より計算すると実際に再検率が36%から9.6%へ低下した。最後に、測定感度を上げしかも再検率を下げるためには、採血後、室温放置期間を少なくしできるだけ速やかにセ

ルロプラスミンが測定できる体制作りが必要と考えられた。

#### 文献

- 1) 小林正紀, 坂 京子, 杉山成司, 一木 貴: 乳幼児期以降を対象としたウイルソン病マススクリーニング. 平成9年度厚生省心身障害研究「効果的なマススクリーニングの施策に関する研究」1998: p26

表1: 室温放置日数と濾紙血セルロプラスミン値

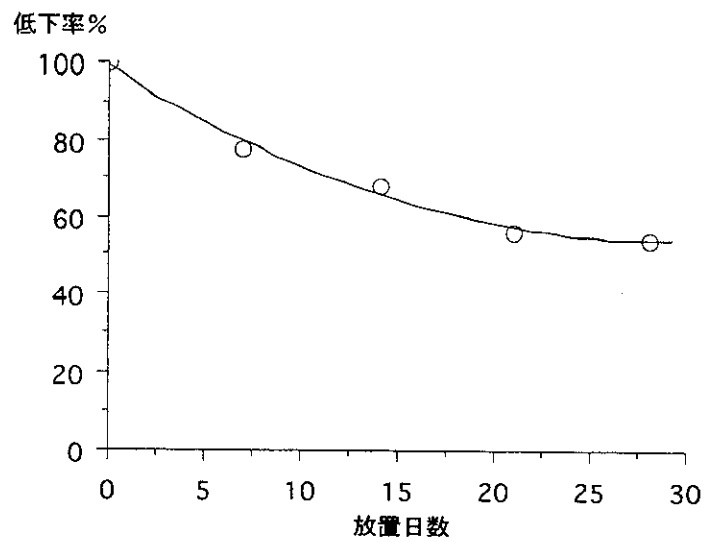
	0d	3d	7d	10d	14d	18d	21d	28d
8/9月	19.0 (n=19)		12.8 (19)		10.2 (19)		8.4 (19)	8.9 (11)
10月	18.3 (n=16)		13.9 (16)		13.0 (16)		12.3 (16)	11.2 (16)
11月	17.6 (n=11)	16.0 (8)	15.2 (11)	15.5 (8)	14.8 (10)	15.5 (6)	14.9 (5)	12.4 (3)
12月	24.8 (n=7)	24.4 (7)	24.4 (7)	23.8 (7)	22.9 (7)	22.5 (6)		
計	19.3±5.4 (53)		15.2±5.7 (53)		13.6±5.7 (52)		10.8±4.1 (40)	10.5±3.5 (30)

表2: 室温放置日数と濾紙血セルロプラスミン低下率

	0d	3d	7d	10d	14d	18d	21d	28d
8~12月	0% (n=53)		77.6±15.8% (n=53)		68.1±20.5% (n=52)		56.3±17.0% (n=40)	54.1±14.9% (n=30)
8~10月	0% (n=35)		71±12.9% (n=35)		61.4±14.7% (n=35)		54.7±16.0% (n=35)	52.7±14.3% (n=27)
11~12月	0% (n=18)	92.8 ±14.6% (n=15)	91.1 ±12.9% (n=18)	89.8 ±11.6% (n=15)	81.7 ±24.3% (n=17)	78.9 ±29.1% (n=12)		

表3: 室温放置日数と濾紙血セルロプラスミン値10mg/dl未満の割合

	0d	7d	14d	21d	28d
	0%	17.0%	30.8%	50.0%	
	0/53	9/53	16/52	20/40	12/30



$$y=99.283-3.171x+0.056x^2 \quad r^2=0.992$$

図：セルロプラスミン低下率の回帰グラフ

## 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

### 徳島県における乳幼児を対象とした任意ウィルソン病スクリーニング検査

#### 研究要旨

1998年1月より徳島県において徳島県小児科医会および徳島県保健環境センターの協力のもとに希望者を対象とした乳幼児任意ウィルソン病スクリーニング検査を実施した。2000年1月までに756名の希望者に対してスクリーニング検査を行ったが、このうちカットオフ値以下の要再検査者は25名で、24名に対して再採血検査が行われ、5名が精密検査となった。この5名のうち3名は正常、2名は1年～1年4ヶ月の経過観察を行い、常染色体優性遺伝の低セルロプラスミン血症もしくはウィルソン病の保因者と考えられた。この2名に関しては、遺伝子診断等により確定診断していく予定である。また、現在のシステムでは受検者が少ないため有効なスクリーニングの実施は難しく、ウィルソン病スクリーニング検査の有効性を高めるためには、本スクリーニングシステムの再検討を行うことが必要であると考えられた。

#### 研究協力者

伊藤道徳，山本千鶴子，横田一郎，内藤悦雄，  
黒田泰弘（徳島大学医学部小児科）  
松原育美，水野 裕（徳島県保健環境センター）

一検体で再測定を行い、再測定でもカットオフ値以下の場合に再採血検査を依頼した。再採血検査でもカットオフ値以下の場合には精密検査として医療機関における精密検査を実施した。

#### 研究目的

ウィルソン病は放置されれば肝硬変や錐体外路症状などを呈する予後不良な疾患であるが、早期発見・早期治療により発症を予防することが可能である。1993年8月から現行新生児マス・スクリーニングシステムにおける新生児ウィルソン病スクリーニング検査の可能性を検討するために、現行の新生児マス・スクリーニングシステムにおいて徳島県・香川県で約70,000人を対象としてウィルソン病マス・スクリーニングのパイロットスタディを行ってきたが、患者を見いだすことはできなかった。そこで、生後6カ月から6歳の乳幼児を対象とした任意ウィルソン病スクリーニング検査システム（図1）を徳島県において構築し、本システムの有効性を検討することを目的として、1998年1月から乳幼児ウィルソン病スクリーニング検査を実施したのでその結果と本システムでの問題点を報告する。

#### 研究対象および方法

医療機関を受診した際に、ウィルソン病スクリーニング検査を希望し保護者からの同意が得られた乳幼児を対象とした。この対象者から濾紙血を採血し、検査機関である徳島県保健環境センターへ郵送した。ニッショーから提供を受けたホロセルロプラスミン測定用ELISAキットを用いて、郵送された濾紙血中ホロセルロプラスミン濃度を測定した。カットオフ値（10mg/dl）以下の検体については、同

#### 研究結果

表1に徳島県での任意ウィルソン病スクリーニング検査の結果を示す。1998年1月から2000年1月までに756名がウィルソン病スクリーニング検査を受検した。受検者の年齢は6カ月から14歳8カ月であった。また、756名の血中ホロセルロプラスミン濃度の平均±標準偏差は14.56±3.39 mg/dlであった。本スクリーニング検査を実施する前の予備的検討で設定したカットオフ値10mg/dl以下の初回検査陽性者は25名（3.31%）であった。この25名に再採血検査を依頼し、このうち24名が再採血検査を受検した。再採血検査でもカットオフ値以下であったのは5名で、この5名に対して精密検査が行われた。精密検査受診者5名のうち3名は、総セルロプラスミン濃度、ホロセルロプラスミン濃度、血中銅濃度とも正常範囲にあり、正常と診断した。1名は、1歳2ヶ月の精密検査受診時では、ホロセルロプラスミンはカットオフ値以下であったが、総セルロプラスミン、血中銅濃度は正常範囲にあった（表2）。しかし、低年齢であることから、経過観察を継続したところ、ホロセルロプラスミン、総セルロプラスミン濃度は正常値以下が持続した。血清銅は正常下限、肝機能の異常は認められなかった（表2）。この結果から本症例は常染色体優性遺伝の低セルロプラスミン血症またはウィルソン病の保因者と考えられた。残りの1名は、5歳6ヶ月の精密検査受診時では総セルロプラスミン濃度、ホロセルロプラスミン濃度は正常値

以下であり、血中銅濃度は正常下限、肝機能異常は認められなかった（表3）。また、母親の総セルロプラスミン濃度、銅濃度とも正常であったが、父親の総セルロプラスミン濃度、銅濃度とも正常値以下であった（表4）。5歳9ヶ月時の検査ではホロセルロプラスミン、総セルロプラスミン、血清銅とも正常範囲であったが、6歳2ヶ月および6歳6ヶ月時の検査ではホロセルロプラスミン、総セルロプラスミンともに正常値以下、血清銅は正常下限であった（表3）。本症例も常染色体優性遺伝の低セルロプラスミン血症またはウィルソン病の保因者と考えられ、この2例に関しては今後遺伝子診断等により確定診断を行う予定である。

### 考察

徳島県小児科医会および徳島県保健環境センターの協力を得て、希望者を対象とした乳幼児任意ウィルソン病任意スクリーニング検査を1998年1月から実施した。2000年1月までに756名の受検者があったが、ウィルソン病患者は見いだされなかった。しかしながら、常染色体優性遺伝の低セルロプラスミン血症もしくはウィルソン病保因者と考えられる2例が見いだされ、今後遺伝子解析等により確定診断を行う予定である。

この2年間の任意スクリーニング検査の実施により、問題となったのは受検者数が非常に少ないことである。受検者数が少ないことに対しては、希望者を対象とした任意スクリーニングである以上仕方ないことであるが、本検査では採血が必要であり、何らかの異常があり医療機関を受診した乳幼児に対して、この検査のためにだけ採血を行うことの同意が得られにくいことが、受検者が少ない一番の原因となっているものと思われる。実際、本スクリーニ

ング検査を受検した乳幼児は、医療機関で他の採血検査が行われる際に本検査を受けている者がほとんどである。また、健診等を利用する方法もあるが、この場合には採血実施者の確保等の人的問題があり、継続して広い地域で実施していくには、かなりの困難が伴うと考えられる。したがって、血中ホロセルロプラスミン濃度を指標とした乳幼児を対象とするスクリーニングで、有効な受検者数を得るために採血システムを再検討する必要がある。

また、現在尿中ホロセルロプラスミン測定によるパイロットスタディも実施されているが、受検率の点から見ると、採取が容易な尿を用いたスクリーニングがより有効であると考えられる。しかし、尿中ホロセルロプラスミン測定によるスクリーニング検査を実施していく上では、尿中ホロセルロプラスミンが非常に劣化し易く、その保存・輸送方法が一番の問題である。最近、鈴木らによりヒビテンの添加による劣化防止方法が有効であることが報告され、この問題も克服される可能性がある。今後、尿ホロセルロプラスミン測定によるスクリーニングシステムを含めて、スクリーニングシステムの再検討を行うことが必要である。

### 結論

乳幼児を対象とした任意ウィルソン病スクリーニング検査を1998年1月から2000年1月まで756名に対して実施した。常染色体優性遺伝の低セルロプラスミン血症もしくはウィルソン病保因者と考えられる2例が見いだされたが、患者は発見されていない。本スクリーニングシステムでは受検者が少なく、その有効性に関しては問題がある。今後尿を用いたスクリーニングシステムの構築を含めたスクリーニングシステムの再検討が必要と考えられる。

図1：徳島県での任意ウィルソン病スクリーニング検査システム

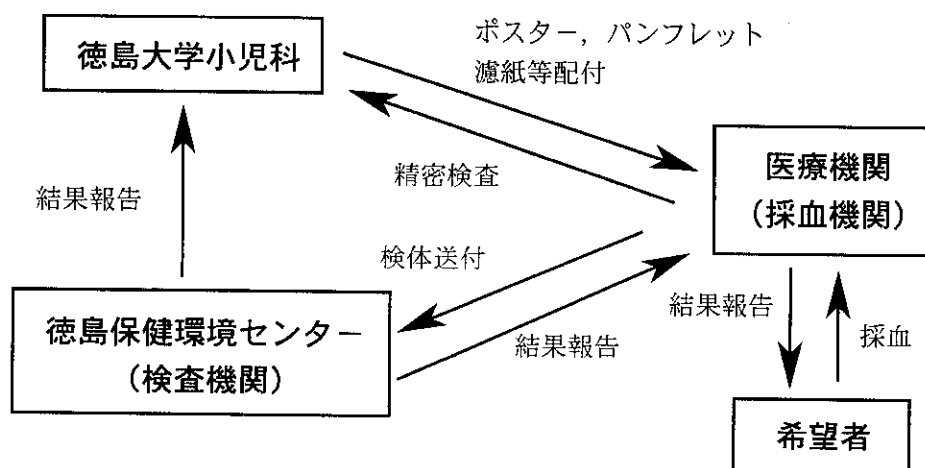


表1：徳島県での乳幼児を対象とした任意ウィルソン病  
スクリーニング検査結果  
(1998年1月～2000年1月)

受検者数	756名
受検者年齢	6ヶ月～14歳8ヶ月
ホロセルロプラスミン値	14.56±3.39 mg/dl (範囲 5.67～31.62 mg/dl)
カットオフ値	10 mg/dl
初回検査陽性者数	25名 (3.31%)
再採血検査数	24名
再採血検査陽性者数	5名
精密検査数	5名

表2：症例1の精密検査結果

年齢	1歳2カ月	1歳5カ月	2歳1カ月	2歳6カ月
Holo-CP (mg/dl)				
初回	8.24			
再採血	8.71			
精検時	9.46	8.77	9.80	6.69
Total CP (mg/dl)	21.8	17.4	16.7	17.1 (21～33)
Cu (mg/dl)	92	77	69	71 (64～142)
GOT (IU/L)	32	36	36	33
GPT (IU/L)	16	16	14	14
LDH (IU/L)	615	603	552	576

表3：症例2の精密検査結果

年齢	5歳6カ月	5歳9カ月	6歳2カ月	6歳6カ月
Holo-CP (mg/dl)				
初回	5.78			
再採血	5.65			
精検時	7.04	13.7		5.75
Total CP (mg/dl)	18.4	29.6	19.8	16.3 (21～33)
血清Cu (μg/dl)	68	114	68	63 (64～142)
GOT (IU/L)	26	28	27	29
GPT (IU/L)	13	12	13	12
LDH (IU/L)	491	468	422	480

表4：症例2の両親の検査結果

	父	母
Total CP (mg/dl)	8.7	45.1 (17～37)
血清Cu (μg/dl)	55	174 (78～131)

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

小児科専門開業医におけるウイルソン病スクリーニングに関する研究

研究要旨

我々は平成8年度の研究で、開業小児科医に感冒などの病気で受診する患児・保護者を対象とした、開業現場における任意のウイルソン病スクリーニングシステムの有用性を報告し、平成9年度から開業医を平成8年の8医院から20医院に拡大してスクリーニングを行ってきた。本年度は984名が受診したスクリーニング結果を報告する。

研究協力者

遠藤文夫 (熊本大学医学部小児科学教室)  
内野高子 (熊本市立熊本市市民病院新生児医療センター)  
小池恵美子 (熊本市医師会検査センター)

研究目的

平成7年10月から平成8年3月と平成8年8月から平成11年12月にわたる小児科専門開業医でのウイルソン病スクリーニングの成績を報告する。

研究対象および方法

熊本ウイルソン病診療連絡会を設立し、熊本大学小児科を含め、熊本市で開業している小児科専門医院20施設で行った。熊本市医師会検査センターを検査機関とした。検査料として保護者から800円（検査実費500円+小児科医手数料300円）を徴収した。医院を感冒などで受診する患児とその保護者を対象とした。検査の説明や対象患者の選択は各医院の小児科医に一任した。検査を希望し同意と承諾が得られた保護者からは同意書に署名してもらった。通常の生化学検査の項目である血中セルロプラスミンを検査施設にオーダーする方法でスクリーニングを行った。熊本大学小児科はコーディネーターの立場から、PR用のポスターやチラシの作成や同意書と簡単な説明文書の作成などの事務的な準備と、検査センターと開業医との連絡業務、ならびにスクリーニング陽性者がでた場合の2次検査の機関としての働きをした。スクリーニングのカットオフ値は15mg/dLとした。

研究結果

計984名がスクリーニングを受けた。しかし、月を追うごとに減少する傾向がみられた。

年齢別では0から6才までが全スクリーニング受診者の87%で、そのうち1~3才が51%を占めた。また、スクリーニング受診者のセルロプラスミン濃度の平均値は35.4mg/dLだった。発熱等の検査の

ついでにスクリーニングを受ける場合が多いため、セルロプラスミンはやや高めに出る傾向がみられた。年齢別にみると0~1才代でセルロプラスミン濃度が低くなる傾向が認められた。

カットオフ値15mg/dLは全体の0.8%未満に相当したが、一次スクリーニング陽性者はでていない。しかし、スクリーニングを行っている開業医の患者で5歳の男児が、軽度肝機能障害のためセルロプラスミン濃度を測定したところ、1.6mg/dLと低く、精査を行い、ウイルソン病と診断された。

考察

月を追うごとに受診者数が減少する理由として、1) ひとつの開業医を受診する層は固定されるくらいがあり、すでにスクリーニングを済ませてしまった層がかなりいたと推測される、2) 忙しい開業の合間に積極的にスクリーニングを勧める時間はないので、どうしても保護者からの希望がある場合に限られる傾向にあるが、その際、ウイルソン病の保護者への知名度の低さがネックになる、3) 800円の検査料金、などが考えられる。スクリーニング対象者が順調に拡大されれば、必ず患者は同定できると考えられるが、そのためには新規の開業医の参加が必要である。しかし、規模拡大のためには人件費や試薬代など経済的な制約が大きいのが現状である。

結論

計984名のスクリーニング結果を報告した。

協力医院（アイウエオ順）

池沢医院・浦本医院・江上小児科医院・えとう小児科クリニック・管医院・木藤小児科・北野小児科内科医院・くどう小児科・桑原内科小児科医院・島添小児科医院・末藤小児科医院・杉野クリニック・瀬口医院・寺本医院・二宮小児科医院・はらぐちこどもクリニック・藤川医院・松本医院・みやぎきこどもクリニック・渡辺医院

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

秋田市の3才児健診におけるウイルソン病マスキリング

研究要旨

秋田市の3才児健診で、尿中セルロプラスミンを測定しウイルソン病マスキリングを実施した。平成11年4月から平成12年1月現在まで1789名が受検した。受検率は3才児健診受検者の85.6%であった。1789名の測定値は平均109.2mg/Crで、標準偏差98.5mg/Crであった。尿中セルロプラスミン値が20mg/Cr以下の低値を示した受検者が3名あったが、再検査および精査は正常であった。今回のスクリーニングでは検体採取から測定までの保存は4℃で行い、その期間は0から5日であった。この期間であれば保存期間の測定値に対する影響は小さく、スクリーニングは実施可能と思われた。本法を秋田県全体で実施する場合の最大の問題点は、各69自治体が独自に実施している3才児健診の検体の回収と測定日の設定であると思われた。

研究協力者

高橋勉, 高橋郁子, 高田五郎(秋田大学小児科)  
斎藤恭子 (秋田市保健所保健予防課)

研究目的

秋田市において3才児健診を受検した小児を対象とし尿セルロプラスミン(CP)を測定し、ウイルソン病マスキリングを実施した。また秋田県全体でのウイルソン病マスキリングの実施に関して検討を行った。

研究方法

- 1) 平成11年4月より秋田市3才児健診受検者のうち書面で同意の得られた児を対象に、尿セルロプラスミンを測定しウイルソン病マスキリングを実施した。
- 2) 尿検体は尿一般検査のために当日採取した検体を回収し4℃で輸送し、測定まで4℃で保存した。
- 3) 保存尿を0～5日以内にクレアチニン(Cr)とELISA法キット(株ニッショー)を用いCPを測定した。
- 4) 測定値が20mg/Cr以下を示したものに対しては再検査および精査を実施した。
- 5) 秋田市で実施したウイルソン病マスキリングを秋田県全体で実施する場合の問題点を検討した。

研究結果

- 1) ウイルソン病マスキリングの受検率  
平成11年4月から平成12年1月まで秋田市の3才児健診対象者は2,344名中で、3才児健診受検者は2,138名(91.2%)であった。そのうち1,837名がウ

イルソン病マスキリングを受検し、3才児健診受検者中85.6%の受検率であった。

2) 尿CP測定値(図1)

尿CP値は平均109.2mg/cr±98.5mg/Cr(SD)であり他施設の報告と同様であった。

3) 尿CP測の低値(20mg/Cr以下)例の再検査および精査

3名が陽性となったが、再検では正常値を示していた。また血清CP、肝機能は3名とも正常であった。今回の検査ではウイルソン病患者の発見には至らなかった。偽陽性となった原因は不明であった。

4) 尿保存期間と尿CP値に関する検討

尿の回収から測定まで0～5日と保存期間のばらつきがみられたが、保存期間0～2日と保存期間3～5日での測定値に関して比較検討した。保存期間0～2日では尿CP値平均120.0mg/Cr、保存期間3～5日では尿CP値平均106.1mg/Crと保存期間の長い方が若干の低値を示したが統計的有意差は認められなかった。

5) 秋田県全体での実施に関する検討

秋田県では、69自治体がそれぞれ別個に3才児健診を実施している。秋田市のように人口30万の大きな自治体は他になく、ほとんどが人口数百人から数万人の自治体がほとんどである。したがって秋田県全体で本スクリーニングを実施する場合に各自治体から数の少ない検体が、ばらばらに回収されるということになる。しかし今回の検討で尿の保存期間が5日までは測定値に影響が少なくスクリーニング可能と思われたので、検査日の設定を工夫すれば実施可能と思われた。今回の研究では検体回収の費用の問題があり検討できなかった。

考察

血CP値測定によるウイルソン病マススクリーニングは新生児期に実施する場合を除けばその有用性は確立されている。しかし全小児を対象として行う場合の現実性には問題があるとされている。最近、尿CP値測定によるウイルソン病マススクリーニングの可能性が示されいくつかの施設で実際のスクリーニングが試みられている。しかし、自治体単位での試みは少ない。我々は、秋田市の3才児健診受検者を対象にウイルソン病マススクリーニングを尿CPを測定することにより試みた。現在、秋田県での3才児健診では全例に尿蛋白、潜血、糖の一般検査が実施されている。この検査に用いた残りの尿を回収しスクリーニングを行うことは、検査対象者や3才児健診実施機関に対する負担(経済的、人件的)が少なく、現実的な方法と思われた。尿CP値上の最大の問題点は、測定値の安定性といわれ、とくに保存

期間の長期化により測定値が低下する。今回の測定では、回収から測定までの保存期間が0~5日とばらつきがあり、測定値の安定性が心配されたが、検討の結果、測定値の有意の低下は見られなかった。したがって秋田市での本マススクリーニングの実施は可能と思われた。秋田県では、69自治体がそれぞれ別個に3才児健診を実施している。しかし、ほとんどが人口数百人から数万人の自治体である。したがって秋田県全体で本スクリーニングを実施する場合に各自治体から数の少ない検体が、ばらばらに回収されるということになる。しかし今回の検討で尿の保存期間が5日までは測定値に影響が少なくスクリーニング可能と思われたので、検査日の設定を工夫すれば実施可能と思われた。本スクリーニングを広く実施するうえで、尿CPの安定化をもたらす方法の開発が非常に重要と思われた。

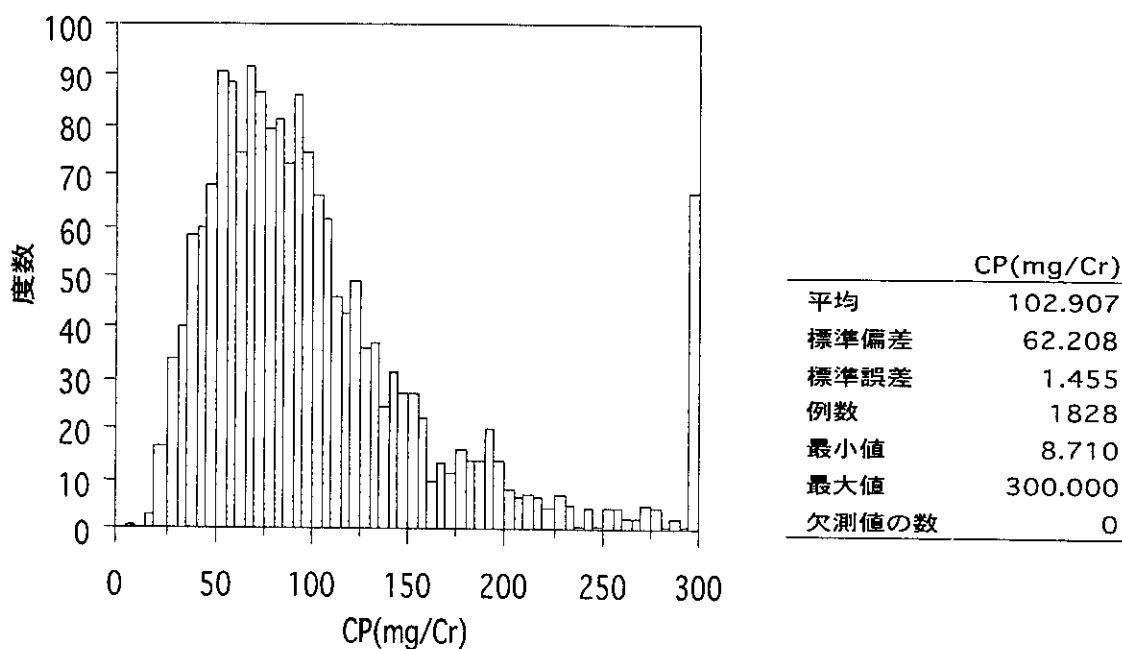


図1 尿CP値のヒストグラム (CP>300mg/Crを300mg/Crとした)



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

三歳児健診を利用した尿中セルロプラスミン測定によるウイルソン病マススクリーニング

研究要旨

我々は本年度、福井市保健センターにおける三歳児健診を利用して、尿中セルロプラスミン（以下CP）測定によるウイルソン病マススクリーニングを試みた。平成11年4月より12年1月までにスクリーニング検査を受けた総数は1700名で、受検率86.0%であった。尿中CP値が50ng/mgCr以下のもの15名（0.9%）、あるいは、クレアチニン未補正の測定値が20ng/ml以下のもの（2.4%）については、早朝尿による再検査を要請した。尿中CP値が、再度50ng/mgCr以下であった3名について血液検査を行ったが、全例で血清CP、血清銅、肝機能などは正常であった。尿を利用したスクリーニングは、システムとして取り入れやすいと考えられた。しかし、健診中に採尿できず尿検査を受けなかった児が、152名（7.7%）存在した。また、偽陽性が多い、長期の検体保存が不可能、尿の濃度差が大きいためクレアチニン補正が必要であるなどの問題点も挙げられ、早朝尿の利用や、カットオフ値の設定などを含めた検討が、今後必要と考えられる。

研究協力者

重松陽介（福井医科大学医学部看護学科教授）  
畑 郁江（福井医科大学小児科）

研究目的

ウイルソン病マススクリーニングの実施時期として、生理的な血中CP濃度の分布と最少発症年齢から、三歳頃が適当と考えられ、我々は一昨年度に、三歳児健診を利用して、血中CP測定によるスクリーニングを試みた。有用な方法とは考えられたが、採血が必要であることから、人員確保、保護者の理解などの面で問題点が挙げられた。最近、尿中CP測定を用いたスクリーニングの有用性が報告されており、また、福井市の三歳児健診では、健診の一項目として尿検査が行われているため、その尿検体を利用して、検討を行った。

研究方法

平成11年4月より12年1月までの期間に、福井市保健センターで行われた三歳児健診を受診した児のうち、文書による保護者の同意の得られた児のみを対象とした。

保健センターからの三歳児健診の通知とともに、スクリーニングの説明書、同意書、ネーム記入用シールを同封して郵送し、希望者は、必要事項を記入して健診会場に持参してもらった。同意書の提出のあった児のみ、尿検査の終わった検体（随時尿）をスピッツに移して、ネームシールを貼布し、福井医科大学小児科で回収した。

尿中CP測定は、採尿から三日以内に、ELISA法のCP測定キット（ニッシュヨー）を用いて、キット付属の緩衝液にて4倍希釈にて測定した。CP標準品としては、N Protein Standard SL (human) (Behring)を用いた。尿中クレアチニンは、Jaffe法にて測定した。

尿中CP値が50ng/mgCr以下のもの、あるいは、希釈尿であるためにクレアチニン未補正の測定値が20ng/ml以下となったものについては、再検査を要請し、スピッツを送付して、早朝尿を保健センターに持参してもらった。再検査の結果が、再度50ng/mgCr以下となったものについて、精査（血液検査）を勧めた。再検査、精査などの通知は、当科より直接に、対象者あてに郵送した。

研究結果

スクリーニング期間中に健診を受診した総数は、1977名で、そのうち、尿検査を受けた人数は、1825名であった。このうち、スクリーニングを受けた児は1700名で、受検率は86.0%（尿検査を受けた児のうちの93.2%）であった。

尿中CPの測定値の平均は、 $368.7 \pm 248.6$  ng/mgCrであった（図1）。

また、尿中クレアチニン濃度は、図2に示すように、0.03mg/mlから1.84mg/mlまでに非常に幅広く分布した。特に、夏場などでは、発汗や水分摂取などの条件により、個人差が大きくなる傾向がみられた。

尿中CP値が50ng/mgCr以下を示したものは、15名（0.9%）、未補正の測定値が20ng/ml以下を示

したものは、40名(2.4%)で、合計では55名(3.2%)であった。このうち、実際に再検査を受けたものは、38名で、うち、3名が、精査の基準に該当し、血液検査を受けた。

精査の結果を表1に示す。3名ともに、血清CP、血清銅、肝機能は正常であり、ウイルソン病患者ではないと診断した。

### 考察

今回、尿を用いたウイルソン病スクリーニングを試みたが、血液を用いた場合と比較して、最大の利点は、検体採取が非侵襲的なことである。保護者の抵抗感も少ないため、受検率は、我々の検討では、血液の場合の75.1%に対し、86.0%と増加がみられた。また、福井市においては、元より、検診の一項目として尿検査が行われているため、保健婦側の受け入れも比較的良好で、システムとして取り入れやすいものと思われた。

しかし、問題点もいくつか挙げられる。まず、尿中CP値は、スクリーニング時と再検時の値が大きく異なる場合があり、再現性が比較的低いように思われ、再検率も血液利用に比べて多くなった。今回、精査となった3名においては、血清CPとの相関もなかった。逆に、偽陰性が存在する可能性も否定できないと思われる。カットオフ値の再検討、ウイルソン病患者のデータの検討などが更に必要である。また、今年度は、尿中CP測定を4倍希釈で行ったが、低値を示す例についての判定をより正確に行うためには、原濃度にて測定することが適当ではないかと考えられる。

次の問題点としては、長期の検体保存が不可能であることが挙げられる。CP値の低下がおこるため、再測定が不可能であり、再検率の増加につながる可能性がある。血液濾紙と異なって郵送が不可能であり、採尿後直ちに冷蔵にて輸送する必要があるため、輸送手段に人手と費用を要する。

3番目に、今回、随時尿を利用していたため、尿の濃度差が非常に大きかった。クレアチニン補正は必ず必要と考えられ、検査にやや手間がかかった。また、著明な希釈尿がかなり存在し、尿中CP値も著明な低値を示すため、正確な測定が不可能で、再検査を要したものが多かった。これに対しては、早朝尿を利用できれば、著明な希釈尿の数を減らすことが可能ではないかと考えられる。

4番目に、三歳児であるため、スムーズに健診中に採尿ができない児がかなり存在した。そのような児では、後日の持参を支持していたが、忘れるなどで結局未検査のままとなってしまったものが、152名(7.7%)にのぼった。これについても、早朝尿を自宅にて採尿して、持参してもらうことで、改善できるものと思われ、来年度に向けて検討している。

### 結論

三歳児健診を利用した、尿中CP測定によるウイルソン病マススクリーニングは、比較的取り入れやすく、実施可能な方法であると考えられた。しかし、実際のシステム化に向けては、測定法、検体回収法、早朝尿の利用、カットオフ値などの更なる検討が必要と考えられる。

### 文献

1. 山口之利, 青木継稔, 他: Wilson病マススクリーニングの実施時期の再検討に関する研究△幼児期の推奨と方略について- 日本マススクリーニング学会誌 6: 90, 1996
2. 清水教一, 山口之利, 他: 3歳児を中心とした尿中活性型セルロプラスミン値の検討. 日本マススクリーニング学会誌 9: 59, 1999
3. 鈴木 健, 山崎 薫, 他: 尿によるウイルソン病スクリーニング法の基礎的検討. 日本マススクリーニング学会誌 9: 56, 1999

表1 精査該当者の検査結果

	尿中セルロプラスミン (ng/mg Cr)	血清セルロプラスミン (mg/dl)	血清銅 (μg/dl)	GOT (IU/l)	GPT (IU/l)
症例1	26.6	27.0	108	24	7
症例2	44.1	24.4	120	31	11
症例3	48.6	33.1	123	24	11

図1 尿中セルロプラスミン値の分布

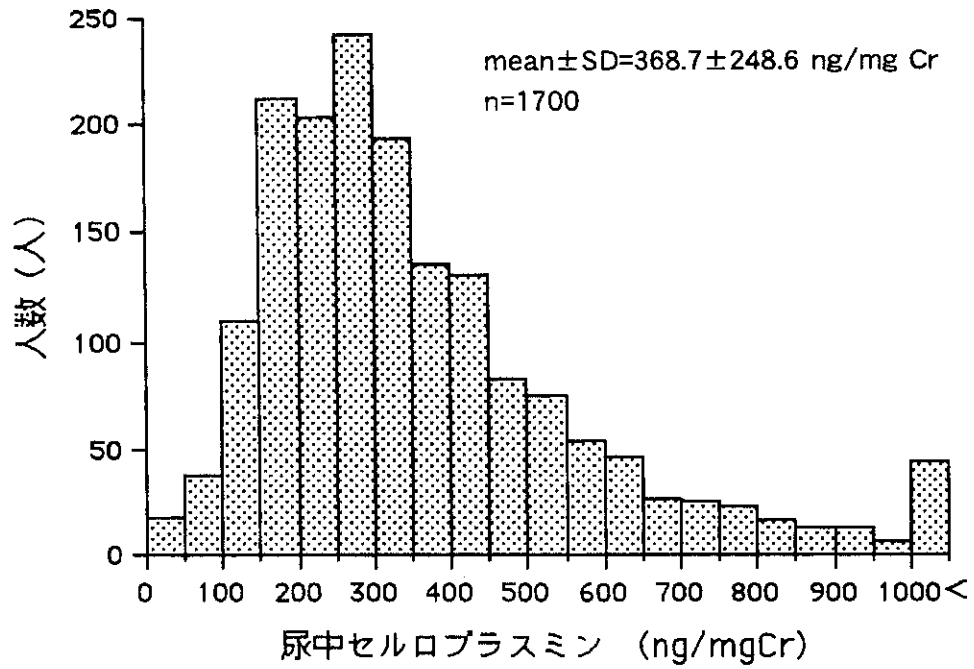
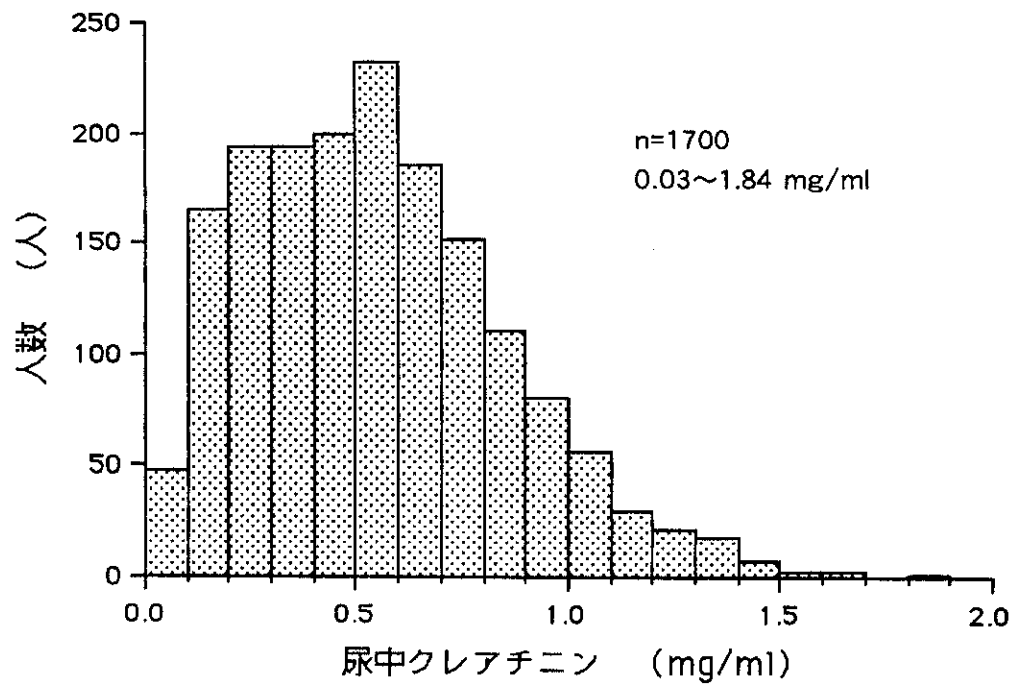


図2 尿中クレアチニンの分布



分担研究：効果的なマスキ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3報）

研究要旨

Wilson病には薬物療法が有効であるが、診断が遅れて肝障害や神経障害を残す症例も少なく、従って、発症前に診断をする必要がある。

抗ヒト活性型セルロプラスミン（CP）モノクローナル抗体によるELISA法で尿と血液のCPを測定したところ、両者の間には正の相関関係がみられ、本症では正常対照者に比べて尿と血液のCP値が有意に低く、尿CPを測定してその早期診断が可能であった。しかし、少数ではあるが、これらの値が正常である症例もみられ、約5%の症例の早期発見は困難と思われた。また、糸球体障害を伴うものの尿CP値は高いので、注意が必要である。尿CP値は、試料を4℃で保存すると3日間位殆ど変化せず、特にグルコン酸クロルヘキシジン（CHG）を添加した容器内では尿CPは比較的安定であり、この尿のCPを測定して本症をスクリーニングするのが良く、確定診断には、血液CP、銅および尿銅の測定と、遺伝子解析が良いと思われた。

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

腎糸球体疾患では、尿CPが増加するといわれているので、各腎疾患の尿CP値について検討し、同時にグルコン酸クロルヘキシジンを用いて、尿CPの安定化の検討を行った。平成10年度に引き続き、学校検尿のために採尿された尿の一部をWilson病の検査に使用することについて了解の得られた小学校の児童26,180名の早朝尿を対象として尿CPの測定を行った。

研究方法および材料

- 1) グルコン酸クロルヘキシジン（CHG）を添加した容器および無添加の容器にそれぞれ尿を入れて、室温並びに4℃で2週間保存して尿CPの経時的変化を測定し、尿CPの安定性を検討した。
- 2) 尿CP測定を遠隔地の検査施設に依頼する場合も考慮して、77例の健康対照者の尿を郵送し、その前後で尿CPを測定し、検討した。
- 3) 尿蛋白や血尿を認めない健康人40例とWilson病患者19例の血清と尿CP値を測定して、両者の相関関係を求めた。
- 4) 各種腎疾患患者15例の尿CPと11例の血清CPを測定して、尿CP値に及ぼす各種腎障害の影響を検討した。
- 5) 健康幼児10例、小中学生51名、15歳以上の成人66例および、Wilson病患者44名の尿銅を測定し、比較検討した。

- 6) 健康診断のために採尿された学童26,180名の早朝尿を対象として、試験的スクリーニングを行った。
- 7) 尿CPはELISA法キット（株 ニッショー）を用いて測定し、尿クレアチニンはJaffe法で、尿銅は原子吸光法により測定した。

研究結果

1) 保存条件による尿CPの安定性

図1に示したように、CHGを添加せずに尿を室温に放置した場合は、3日目には72%、7日目には32%まで減少したが、CHGを添加した容器に入れて放置した場合は、CPの安定性が比較的保たれていた。また、4℃に保存した場合はCHGを添加した場合としない場合に、尿CPの安定性に大きな差はみられなかった。

2) 郵送による尿CPの変化

図2に示すように、普通の容器に尿を入れて郵送し検査室に到着後4℃に保存した場合は、3日目で平均87%であったが、一部で22%まで低下したものがあり、5日目は平均80%であったが一部は16%に低下した。これに対して予めCHGを添加した場合は、3日目は86-116%（平均100%）で殆ど低下せず、5日目になっても73-116%（平均95%）、また7日目でもほぼ同様であった。

3) 健康人およびWilson病患者における血清CPと尿CPの相関

健康人成人40例と尿蛋白や血尿を認めないWilson病患者19例の血液と尿CPの相関は、図3に示すように、 $r=0.846$ と正の相関が認められた。また、健康人とWilson病患者の血液CPおよび尿CPを比較す

ると、何れもWilson病患者の値は健康対照者よりも統計学的に有意の差をもって低値を示していた。

#### 4) 各種腎障害疾患における尿CP値

表1に示すように、糸球体障害をきたす疾患では126.9~2714.9ng/mg Cr.で明らかな高値を示し、特に尿と血清のCP値比の平均は39.0で、正常対照の平均値 $4.8 \pm 1.5$ よりも著しく高かった。これに対して、糸球体疾患以外の各種腎疾患6例の尿CP平均値は464.0ng/mlで、糸球体疾患8例の平均値789.2ng/mlよりもかなり低かった。

#### 5) 健康人およびWilson病患者尿銅値の比較

表2に示すように、正常幼児10例と小中学生51例および15歳以上の成人66例の尿銅値は、それぞれ平均 $88.3 \pm 34.4$ ng/mg Cr. ( $44.3$ - $156.7$ ng/mg Cr.),  $73.9 \pm 39.4$ ng/mg Cr. ( $24.1$ - $211.0$ ng/mg Cr.)および $48.7 \pm 28.6$ ng/mg Cr. ( $17.9$ - $161.0$ ng/mg Cr.)であった。一方、全例にキレート剤を服用しているWilson病患者では $1222.3 \pm 1523.3$ ng/mg Cr. ( $117.5$ - $5726.0$ ng/mg Cr.)であり、対照と比較して有意に高値を示していた。

#### 6) 小学生児童の尿によるWilson病の試験的スクリーニング成績

1999年は26,180名の児童について、平成10年度と同様にスクリーニングを行い、図4に示すように一次スクリーニングにおいて275例(1.05%)が陽性となり、再採尿依頼を行った。再採尿に応じた261例の尿CPを測定したところろ29例が再度陽性を示し、そのうち26例が精密検査を受診した。精密検査の結果、そのうちの1例での血清CP値、銅値が低く、Wilson病が疑われた。

#### 7) 試験的スクリーニングで発見された2例目の患者の経過

スクリーニングにおいてWilson病が疑われた症例は11歳女児で、CPおよび銅の検査結果は血清CP7.0mg/dl、血清銅 $26.0 \mu\text{g/dl}$ 、尿銅117.2ng/mg Cr.で、血液一般検査ではヘパラスチンテストが61.0%と低値を示した以外何れも正常範囲であり、理学的には体格および栄養は正常で、肝脾腫、Kayser-Fleischer角膜輪は認められず、腹部エコーでも肝硬変は認められなかった。

これらの結果から、本症例がWilson病であることを確認するために、札幌市衛生研究所に遺伝子解析を依頼したところ、これまでに日本人のWilson病患者で報告されている遺伝子変異、即ちExon18 D1267N, Exon18 D1297N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病は、肝障害や神経症状から臨床的に疑

われて、血清、尿のCPや銅測定などの臨床検査によって診断されることが多いが、発症後3ヵ月以内に診断されるのは約半数で、症状が現われてから1年以上も経ってから診断される例も症例も少なくないと云われている。また、劇症肝炎の症状で発病して早期に死の転機をとる症例も少なくないので、マス・スクリーニングによって発症前に診断し、早期に治療を開始して予後を改善することが必要であり、本症のマス・スクリーニング法の開発が望まれている。

しかし、新生児期および月例の低い乳児では生理的に血清CPが低いので、新生児期に採取された濾紙血液のCPを測定してWilson病をスクリーニングすることは不可能である。他方、多数の幼児の血清CPを測定してWilson病を無症状のうちに発見して、早期治療を行ったという報告があるが、一般に幼児は採血を嫌うのでこの方法を本症のマス・スクリーニング法として普及することは困難と思われる。

我々は、糸球体疾患ではCPの尿中排泄が増加する云われていたので、これを確認するために研究を進めていたところ、正常対照者の尿にかなりの量のCPが存在し、Wilson病患者の尿ではその値が著しく低いことを見出した。そして、本研究で腎糸球体疾患患者等の一部を除いて、血液CP値と尿CP値との間には正の相関があることを認め、血液と同様に尿のCPを測定しても本症を診断できることを確認した。

血液CPに比較して尿CPは不安定であるとされていたが、本研究において尿を4℃で保存すれば採尿後3日間位は比較的安定であり、特にCHGを添加しておいた容器に尿を入れて保存すれば信頼度の高い本症のスクリーニングが可能であると思われた。また、尿CPを測定してWilson病をスクリーニングする場合、採尿する家庭や医療施設から検査機関まで尿を運ばなければならず、数日間尿が室温で放置される可能性がある。このような条件下でも信頼度の高い尿CPの測定を行うには、予めCHGを添加しておいた容器を使用する必要があると思われる。

今回の検討で、Wilson病の大部分において低CP血症が認められたが、約4%の症例の血清CP値は正常対照に近い値を示していた。これまでの報告にあるように、血清CP値を測定して本症をスクリーニングする場合には数%の見逃しが生ずると云われており、尿CPを測定して本症をスクリーニングする場合も同じ程度の見逃しが生ずる筈であり、この点について、予め家族の了解を求めておく必要がある。我々の予備的研究においても糸球体疾患の尿では尿CP値が著しく高く、尿細管疾患を含む各種腎疾患においても尿蛋白が認められる症例においてその増

加がみられたので、尿CP値を測定して本症をスクリーニングする場合は、患児の腎障害の有無について注意が必要であろう。しかし、幼児では、尿蛋白が陽性になる頻度は極めて低く、また、Wilson病でも幼児期に腎臓に異常を合併する可能性は殆どないに等しいので、3歳児検尿の時にWilson病をスクリーニングする場合、殆ど問題はないと思われる。我々は、平成10年度と11年度の2年間に約44,800例の小学生児童の尿CPを測定して2例のWilson病を発症前に発見した。このことは、本法によるスクリーニングの信頼性を確認したものである。

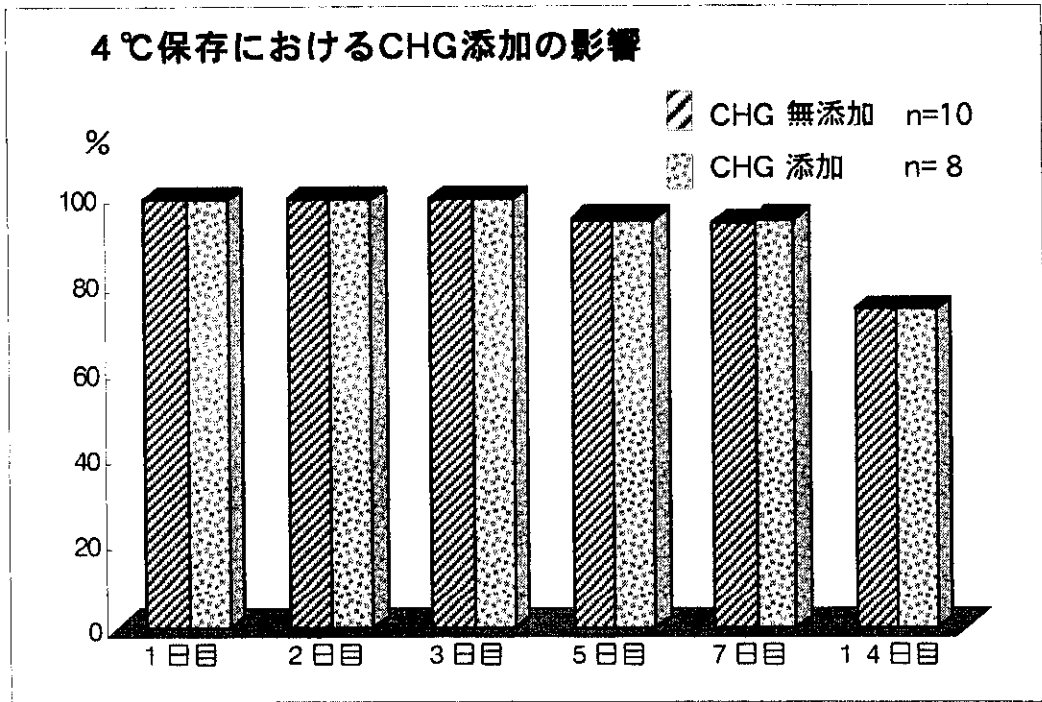
しかし、小学生低学年の時期に行うスクリーニングでは、Wilson病患者の一部では既に発症していることも考えられる。

わが国において健康診断を目的とした三歳児の尿検査が全国的に行われているのでそのシステムを利

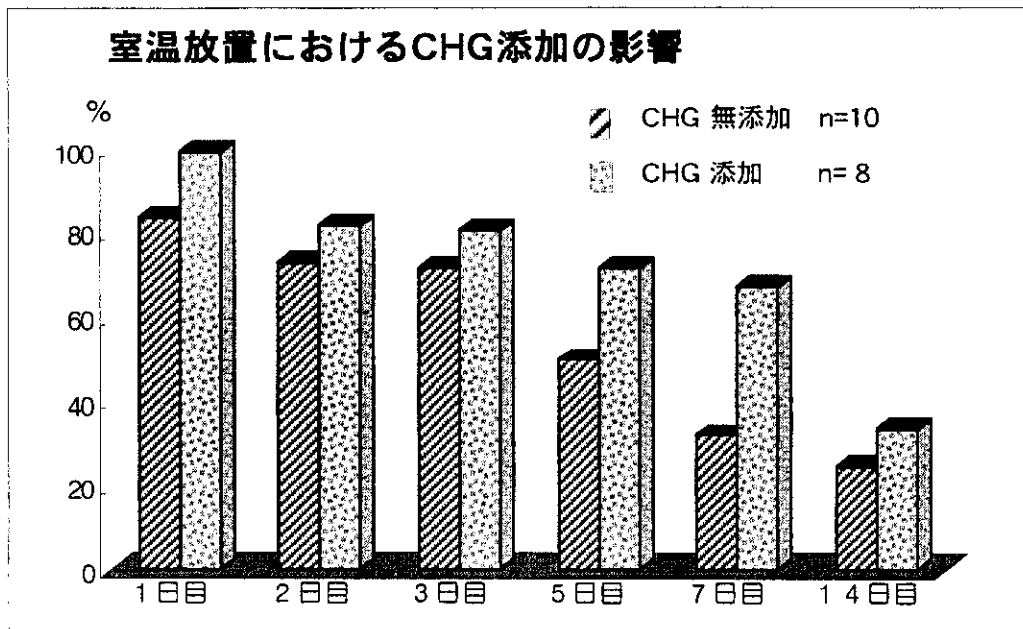
用して、我々は今後、三歳児尿を対象としたWilson病スクリーニング法およびそのシステム化を検討する予定である。

#### 文献

- 1) 鈴木健, 山崎薫, 穴澤昭, 北川照男, 大和田操 : 尿によるウィルソン病スクリーニング法の基礎的検討. 第27回日本マス・スクリーニング学会, 名古屋, 1999年10月
- 2) 北川照男, 鈴木健, 大和田操 : 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) . 平成10年度厚生科学研究費補助金 (子ども家庭総合研究事業) 分担研究報告書 p 68-71, 1999

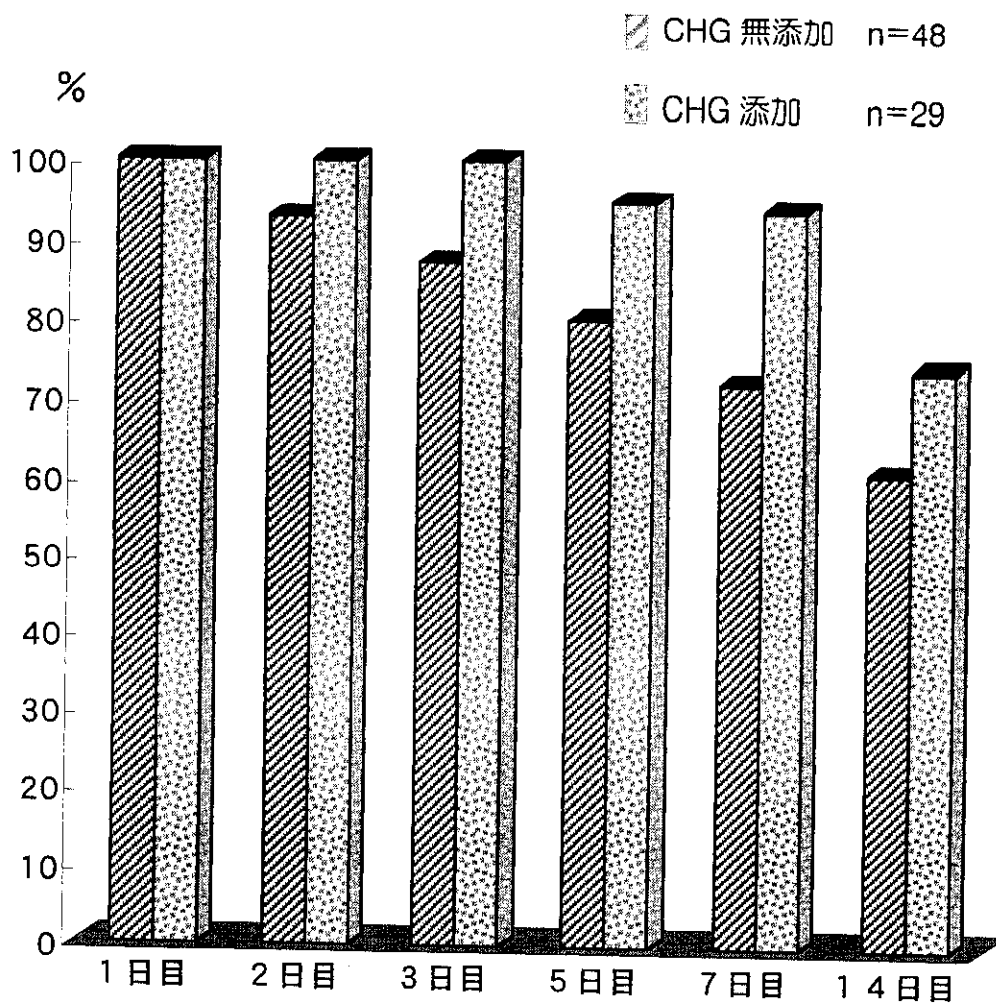


	1日目	2日目	3日目	5日目	7日目	14日目
CHG無添加	100	100	100	95	94	74
CHG 添加	100	100	100	95	95	74
	91-117	78-112	86-117	73-116	73-118	47-108



	1日目	2日目	3日目	5日目	7日目	14日目
CHG無添加	84	73	72	50	32	25
CHG 添加	100	82	81	72	67	34
(range)	107-112	69-91	72-88	62-86	51-86	12-50

図 1. 室温と4℃保存における尿セルロプラスミン値の経時的変化  
 -グルコン酸クロルヘキシジン (CHG) 添加の影響-



	1日目	2日目	3日目	5日目	7日目	14日目
CHG無添加	100	93	87	80	72	61
(RANGE)	61-116	42-109	22-109	16-117	11-103	7-101
CHG 添加	100	100	100	95	94	74
(RANGE)	91-117	78-112	86-117	73-116	73-118	41-108

図 2. 郵送された尿を 4℃で保存した場合の尿セルロプラスミン値の経時的変化  
 -CHG 添加の影響-



◆ Wilson病患者 (n=19)

尿 CP  $11.2 \pm 9.2$  ng/mg creat.  
 血液 CP  $4.4 \pm 3.4$  mg/dl  
 尿CP/血液CP  $2.6 \pm 1.8$

▲ 健康成人 (n=40)

尿 CP  $141.5 \pm 40.9$  ng/mg creat.  
 血液 CP  $30.0 \pm 3.6$  mg/dl  
 尿CP/血液CP  $4.8 \pm 1.5$

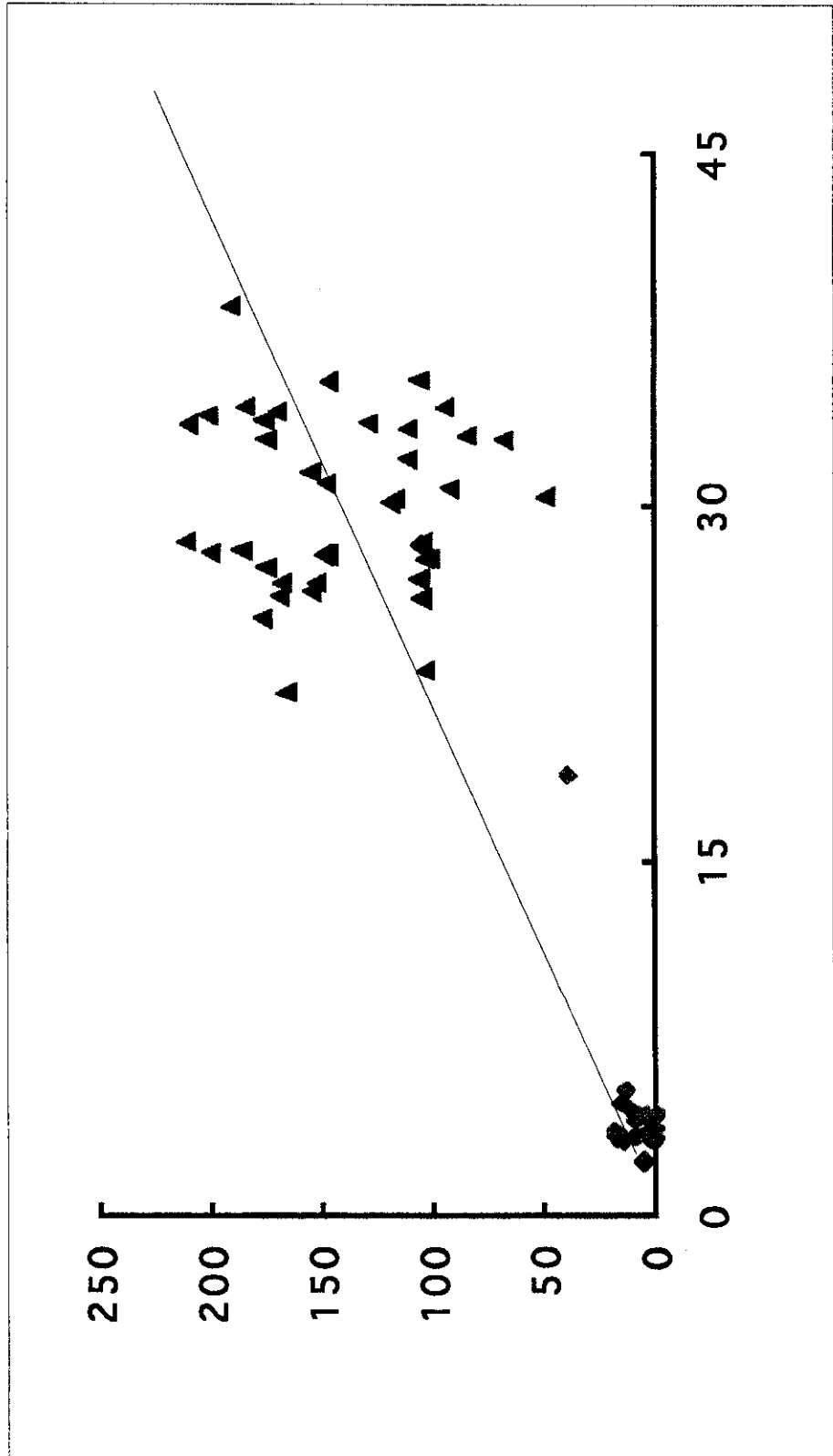


図3. 尿と血液セルロプラスミン値の相関関係

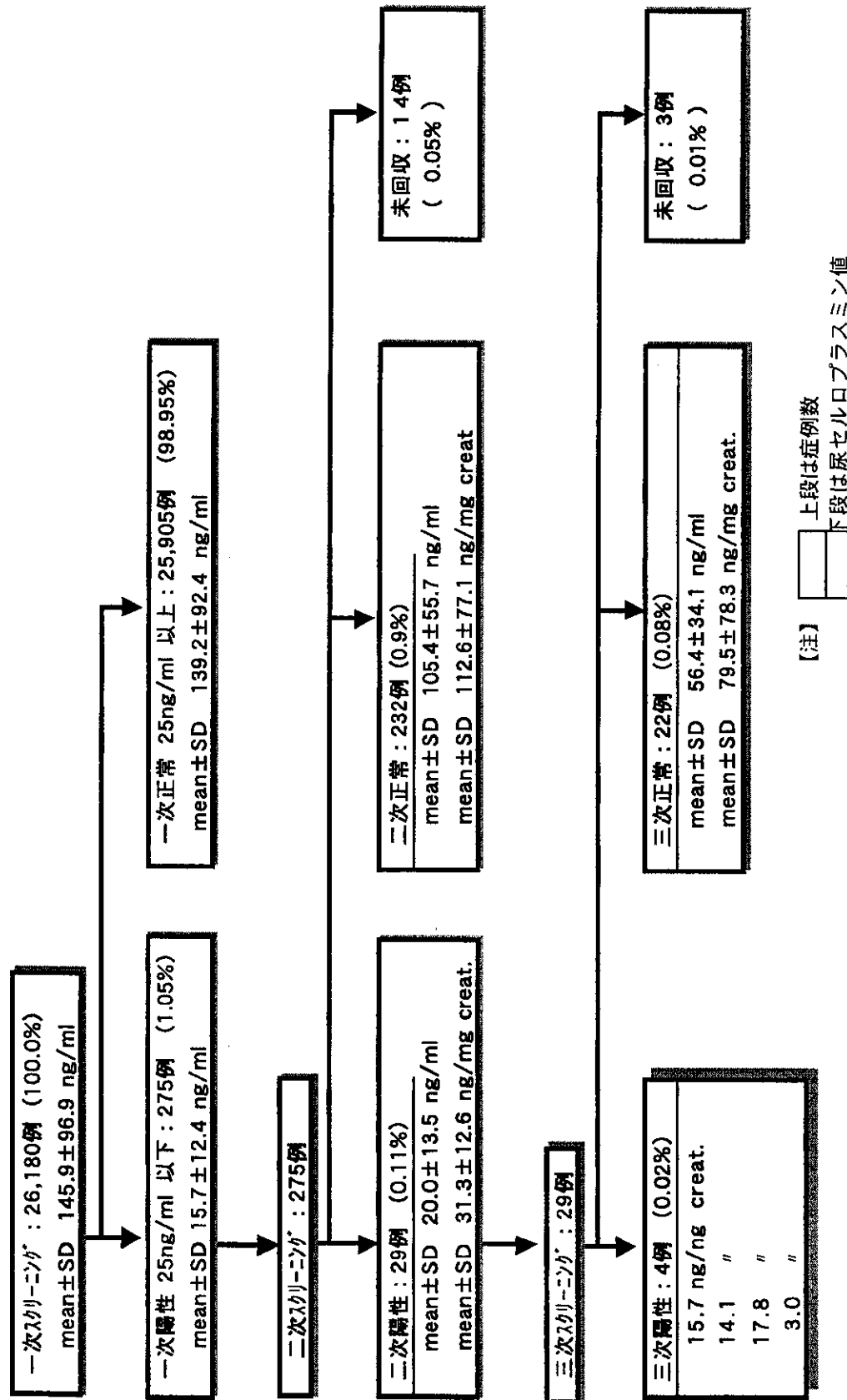


図 4. 平成 11 年度試験的マス・スクリーニング成績

1999.4.1 ~ 6.30

表 1. 腎疾患者の尿および血清 CP 値

1. 糸球体疾患

イニシアル	疾患名	尿一般検査		尿 C P		serum CP mg/dl	urine/serum 比率
		蛋白	潜血	ng/ml	ng/mg creat		
K S	膜性増殖性糸球体腎炎(type I)	++	+++	946.4	1091.6	14.6	74.77
S N	膜性増殖性糸球体腎炎(type III)	±	+++	682.9	817.8	28.4	28.77
Y U	紫斑病性腎炎	+	+++	1388.0	892.0	31.4	28.41
Y K	硬化性糸球体腎炎	+	-	844.7	883.6	24.7	35.77
A M	初老症候群	+++	-	679.7	634.6		
Y Y	ループス腎炎	++	+++	708.6	2714.9		
K H	IgA腎症	++	++	698.6	1383.4	19.7	70.22
M S	微小変化型ネフローゼ	+++	++	364.4	126.9		
MEAN				789.2	1068.1	23.8	47.6

2. その他

イニシアル	疾患名	尿一般検査		尿 C P		serum CP mg/dl	urine/serum 比率
		蛋白	潜血	ng/ml	ng/mg creat		
A Y	水腎症	±	-	243.8	320.8	44.7	7.18
K O	減少血尿	±	+	449.0	204.2	24.6	8.30
N N	原発性腎性酸血症	-	-	44.9	67.6	32.4	2.09
J M	777コニ-症候群	++	-	264.3	649.4	26.1	24.88
H T	腎形成不全症	+++	+	1110.2	8103.6	54.1	149.79
K O	腎形成不全症	++	-	671.8	581.6		
MEAN				464.0	1654.5	36.4	38.4

## 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

### 尿中セルロプラスミン値測定によるWilson病マススクリーニング法の 確立に関する検討

#### 研究要旨

Wilson病のマススクリーニング法の確立を目的に尿中セルロプラスミン値（対クレアチニン比）を幼児及び学童を中心に検討した。あらかじめ本人あるいは保護者に説明し同意を得た上で採尿し、速やかに4℃に保管し測定した。今回は新たに3～6歳62名、7～12歳28名を含む103名が検討された。前者の平均値は139.4ng/mg・cre、後者は79.9ng/mg・creであった。昨年の検討ではWilson病患者における尿中活性型セルロプラスミン値（対クレアチニン比）は7例とも検出感度以下であったが今回の新しい1例は10ng/mg・creを示した。そこでカットオフ値を15及び20ng/mg・creにすると再検率はそれぞれ0および3.8%であった。4名は現在再検査中である。Wilson病のマススクリーニング実施に向けてさらに例数を重ねまた、年齢群別の正常値作成にも取り組んでいきたい。

#### 研究協力者

山口之利、清水教一、青木継稔  
（東邦大学医学部第2小児科）

1週間以内に活性型セルロプラスミン値を測定し、対クレアチニン比にて検討した。また尿採取については可能なら本人、少なくとも保護者のインフォームドコンセントを得たうえで行った。

#### 研究目的

Wilson病は、肝臓、角膜および中枢神経などに銅の過剰な蓄積を認め、種々の臓器の障害を生じる先天性銅代謝異常症の代表的疾患である。その病態の中心は、肝臓における銅輸送膜蛋白ATP7B (P-type ATPase)の障害による銅の排泄障害であると考えられる。現在、血中あるいは尿中のセルロプラスミン値測定による本症のマススクリーニング・システムの確立が検討されており、パイロットスタディが全国の施設にて行われている。このWilson病マススクリーニング法の確立のために尿中活性型セルロプラスミン値の測定を幼児・学童を中心に検討した。

#### 研究方法

対象はコントロール群としてWilson病以外にて東邦大学第二小児科入院中あるいは外来通院中の患者および保育園児合計103名が今回新たに検討され昨年からの合計は278名とした。またWilson病群として当科にて経過観察中・治療中の7名と今回は1名追加されて合計8名となった。対象の年齢群別人数は2歳以下8名（今回8名）、3～6歳は113名（今回62名）、7～12歳は95名（今回28名）、13～15歳は29名（今回3名）、16歳以上は23名（今回1名）であった。Wilson病群のうちわけは3及び9歳が1名ずつ、16才以上が6名（今回1名）であった。方法は患者の1回尿をすみやかに4℃に保存し、

#### 研究結果および考察

今回新たに検討した103名について結果を示す。年齢群別の尿中セルロプラスミン値（対クレアチニン比）はそれぞれ2歳以下では平均値385.8ng/mg・cre、標準偏差165.6、3～6歳では平均値139.4ng/mg・cre、標準偏差85.2、7～12歳では平均値79.9ng/mg・cre、標準偏差72.4、13～15歳では平均値35.7ng/mg・cre、標準偏差12.3であった。今回新しいWilson病の患者の値は10ng/mg・creであった。前回の7名はすべて検出限界以下であったためカットオフ値をそれぞれ15ng/mg・creおよび20ng/mg・creとしたところ再検率はそれぞれ0および0.38%となった。実際に4例が現在再検査中である。尿中セルロプラスミン値測定は採血と違い苦痛を伴わずかつ採取も簡単でマススクリーニングには適していると考えられる。ただし、尿の保存に少し注意が必要で採取後速やかに4℃に保管し、1週間以内に測定しなければならない。この点については実施にあたって大量の検体を速やかに4℃におくことをシステム化し速やかに測定することが行われないとfalse positiveが増え再検率が上がる結果になるため注意が必要である。またWilson病の発症年齢をみても3歳児検診時の採尿が最適と考えられ、少なくとも学童期の集団検尿までに行えば発症前型を発見、早期治療が可能となり非常に有用と考えられる。今後も実施にむけて例数を増やし