

重松らは、タンデム質量分析計を用いて新生児濾紙血を分析する大量検体測定システムの開発を行った。約85,000新生児濾紙血から、プロピオン酸血症4例、メチルマロン酸血症1例、II型シトルリン血症1例を発見した。さらに軽症型プロピオン酸血症とメチルマロン酸尿症および脂肪酸酸化異常症のスクリーニングも可能とした。

久原ら、山口ら、吉田らの各グループは、GC/MSによる有機酸代謝異常のスクリーニングの検討を継続した。新生児尿、新生児濾紙血などにより基礎的検討を行い、予想をはるかに上回るプロピオン酸血症、メチルマロン酸血症、オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症、シトルリン血症、各種アミノ酸代謝異常症などの発見を可能とした。また、山口らは、GC/MS/SIM法にて血中遊離脂肪酸分析を行い、 β 酸化異常症診断への応用も可能とした。

(3) ムコ多糖症マススクリーニング

2施設（岐阜、大阪）においてムコ多糖症マススクリーニングに関する基礎的検討およびパイロット・スタディが実施された。

祐川ら（岐阜）は6カ月児尿を中心とする岐阜県の乳幼児を対象にDMB（ジメチルメチレンブルーの呈色反応）法にてパイロット・スタディを継続した。総検体数126,732名、一次スクリーニング陽性1.9%、再検した者は一次陽性者の77%であり、二次スクリーニング陽性例（DMB法157名、CPC/カルバゾール法1名）であった。1名が発見され、Hunter症候群と診断された。岐阜県におけるムコ多糖症発生頻度は、5万～6万人に1人と推定している。田中（大阪）は、一次陽性率3.0%、二次陽性率0.31%としたが7,829名の乳児尿から患者の発見に至っていない。

(4) 胆道閉鎖症マススクリーニング

松井らにより開発された便色調カラーカード法を用いる胆道閉鎖症マススクリーニングである。今年度は、栃木県と茨城県において実施した。栃木県では今までに99,179名が受検（85.6%）し、感度81.8%、特異度100%、陽性適中率15.5%、陰性適中率100%であり、患児9例中8例が生後60日以内に手術を受け7例で黄疸消失した。茨城県では、1カ月児26,235名（38.1%）、2カ月児19,704名（28.5%）が受検し6名の患児が見出されたとのことである。カードの母子手帳添付、1カ月健診担当医によるカード回収、迅速な陽性児への対応などのシステムを作り全国的に実施できる方法と結論した。

考察および結論

本研究班は、平成10年（1998）年度から3年間の

研究期間をいただき開始されたが、今年度が3年目となり早くも最終年度となった。この3年間に、本研究班の研究が期待通りに大きく進展した。本研究班の成果の一部がすでに行政に取り上げられ、実施されたものもあったが、今後、なお研究継続の必要性のある研究が多く課題も残った。

本研究班の主研究課題は、『マススクリーニングの見逃し等を予防するシステムの確立に関する研究（主任研究者・黒田泰弘教授）』であり、分担研究課題として、「効果的なマススクリーニング事業の実施に関する研究」を採用していただいたものである。以下、サブテーマ毎に平成12年度の研究を中心に考察し結論を記載する。

1. 現行マススクリーニング対象疾患の関するスクリーニングから治療開始までの間の問題点と対策および長期管理上の問題点とその対策

(1) 高Phe血症の鑑別診断とBH4 負荷テスト

本研究班において昨年（平成11年度）成澤らにより発表されたPKU・高Phe血症のなかにBH4反応性Phe水酸化酵素欠損症という新しい疾患概念が発見された。大変に画期的な発見であり、世界の注目を浴びた。この疾患は低Phe食のみでは血中Phe濃度が正常化しないためBH4投与が有効とされる。古典的PKUや遺伝性高Phe血症（低Phe食が著効）との鑑別が重要であり、PKUマススクリーニング陽性例の確定診断のためBH4負荷試験を行う必要を示唆した。今回、大和田らは、60例以上のPKU・遺伝性高Phe血症に対するBH4負荷試験を実施し、血中Phe値の変動とBH4の分析測定することが重要であると結論した。PKU一次スクリーニング陽性例については、確定診断されるまではまず低Phe食を開始して速やかにBH4負荷試験を実施することが推奨されることになった。

(2) 新生児マススクリーニング実施後のフォローアップ（追跡）に関する研究

マススクリーニングの実施と陽性者・患者の追跡調査は車の両輪のごとき関係にあり、現在までの20数年間は、母子愛育会を事務局として厚生省心身障害研究班・厚生科学研究の本研究班において地道に実施されてきた。最近の多くの自治体における患児の個人情報保護の立場から情報提供が不可能であるとの事由から追跡管理が困難となってきた。長年、追跡管理を行って来られた立場から、青木（菊）は、倫理委員会の設置、国レベルの実施体制や都道府県における連携の重要性、医療機関の医師の協力、患者および保護者などの理解、倫理面・個人のプライバシーの守秘義務に配慮した調査資料のデータ管理とフィードバックなどについて提言した。効果的

なマススクリーニングが正しく実施されていくために必要な追跡調査のあり方を模索し、今後の追跡調査の必要性を訴えた。追跡調査に関する考え方の差異が研究者間にある存在するが、マススクリーニングがさらに発展し国民に受け入れられるためには、さらなる追跡調査が重要となり国際間の比較・技術開発あるいは治療基準の見直しなどにも極めて大切であることは周知の事実である。本研究班の存続の必要があり、行政との連携のもとに、国、都道府県および医療機関との協力を行い追跡調査を実施すべきであると結論する。

2. マスクリーニングの新しい対象疾患に関する研究

(1) ウィルソン病マススクリーニング

3歳児を中心とする乳幼児期（一部学童を含む）に、(a) 濾紙血・血液、(b) 原尿、を用いてスクリーニングの基礎的検討およびパイロット・スタディを実施した。いずれも、セルロプラスミンを指標としたスクリーニング法であり、低セルロプラスミン血症ウィルソン病（本症の約2~3%が血中セルロプラスミン値正常を示すことがある）をスクリーニングするものであり、方法論は確立されている。3歳を中心とする幼児期は、採血が極めて困難であることが指摘され、現在、尿を用いる方法が最も有用であると結論した。費用便益、費用効率においてもスクリーニングの有用性が久繁らにより数年前に本研究班のなかで示されている。発症頻度はPKUの2.5~3.0倍と高く、有効な治療法・発症予防法があり是非スクリーニングの導入を推奨する。今後において、本研究班のさらなる継続が絶対に不可欠であり、3歳児健診における尿検査の一部に本症マススクリーニングを導入するためのシステムの構築、尿を用いる本症マススクリーニングの基礎的検討（保存条件、搬送方法、再検率の低下など）、パイロット・スタディの継続、スクリーニング効果の評価、費用便益と費用効率など具体的に諸問題への対応をきちんとしなければならないであろう。

(2) 有機酸代謝異常症マススクリーニング

新生児濾紙血を用いたタンデム質量分析計は、ブ

ロピオン酸血症、メチルマロン酸血症、高アンモニア血症、脂肪酸酸化異常症のほかにアミノ酸代謝異常症もスクリーニング可能であり、今後の新生児マススクリーニング方法が従来法からタンデム質量分析計に変わるかも知れないと推測する。高価な機器であるが多くの施設が利用することによりコストの削減が可能とされる。GC/MSによっても尿濾紙、血液濾紙においてもスクリーニング可能との報告がなされた（山口、久原ら）。今後において、タンデム質量分析計、GC/MS法のいずれで行うか、どこでどのようにスクリーニングを行うかのシステムの検討、費用便益、スクリーニングの評価などの基礎的研究等を実施するとともに、さらに数多くのパイロット・スタディを実施する必要があると結論した。

(3) ムコ多糖症マススクリーニング

岐阜県において、幼児尿を用いての本症マススクリーニングのパイロット・スタディを地道に行ってきた。本研究班最終年度、総検体数126,732名のパイロット・スタディにて、ようやくHunter病が1例発見された。大変に嬉しいニュースであった。大阪府においてはまだ、発見されていない。今後の課題として、(a) 治療時期を考慮したスクリーニング時期の検討、(b) 治療法開発や治療指針の検討、(c) パイロット・スタディを行い症例発見に努めること、(d) 費用便益などについて詳細に検討する必要がある。

(4) 胆道閉鎖症マススクリーニング

便色調カラーカードを用いる胆道閉鎖症のマススクリーニングは簡便かつ安価で有用であり、本研究班の研究成果のなかで直ちにマススクリーニングを導入してもよいと判断されるものである。現在、栃木県と茨城県において実施され、パイロット・スタディが蓄積されてきており、多くの本症患者が発見され生後60日以内に手術され良好な成績も得られている。手術時期を逃さずに、早期発見することが患者やその家族のQOLを向上させる有用な手段である。勿論、手術にて治癒しない例も存在するため、肝移植を考慮した費用便益やスクリーニングの評価が大切である。今後の重要な検討課題である。

分担研究：効果的なマスキング事業の実施に関する研究

新生児マス・スクリーニング実施後のフォローアップ（追跡）に関する研究(3)

研究要旨

新生児マス・スクリーニングが開始された当初から、発見されたフェニルケトン尿症などの先天性代謝異常症に対して今日まで追跡調査が継続されてきたが、最近になって個人情報保護の立場から追跡調査が次第に困難になりつつある。そこで、これまでの追跡調査システムの在り方を検討し、個人情報を保護しながら、いかにして追跡調査が可能であるかを検討した。

研究協力者

青木菊麿

(女子栄養大学小児保健学)

研究目的

我が国における疾病予防対策としての新生児マス・スクリーニングが開始されてから、発見されてくる先天性代謝異常症の患児についての追跡調査はスクリーニング開始当初から継続されてきた。スクリーニング開始初期に発見された症例については、現在まで20年以上に及ぶ追跡調査が続けられてきたことになるが、最近になって追跡調査に伴う個人情報の問題が議論されるようになり、各自治体で条例などを制定することにより次第に追跡調査そのものが困難になりつつある。しかし、新生児マス・スクリーニングの実施は国の方針でもあり、発見された症例の健全育成が重要な課題である。新生児すべてを対象として、発見されてくる症例は費用－便益の立場からの評価を行うためにも長期追跡調査の必要性が求められている。スクリーニングの実施と追跡調査は車の両輪のごとき関係にあるともいわれているが、これまでも追跡調査の資料に基づいてヒスチジン血症のスクリーニングからの除外、フェニルケトン尿症の治療指針の改訂及びその効果の判定、マターナルPKUへの対応など、様々な課題の解決に追跡調査の資料が十分に活用されてきた。

これまで母子愛育会を事務局として、厚生省心身障害研究の課題の一つとして実施されてきた追跡調査の方法は、毎年全国自治体のスクリーニングセンターあるいは民間の検査センターに依頼して、当該年度のスクリーニング陽性例についての報告をお願いし、それに基づいてそれぞれの主治医に調査表が発送され、記入されたデータを母子愛育会総合母子保健センターにデータベースして入力され、厳重に保管・管理されてきた。

一方、一部の自治体によっては患児の個人情報保護の立場からスクリーニングに関する情報の提供は不可能であるとのことで、毎年スクリーニング陽性例の情報提供が望めなくなり、その割合は毎年増

加の傾向にある。このような状況から、今後の追跡調査をどのように考えたらよいか、追跡調査が円滑かつ効果的に実施されてその目的が達成されるよう、追跡調査システムのあり方について検討することとする。

研究方法

これまでの20年以上に及ぶ母子愛育会での追跡調査の現状を分析し、追跡調査そのものが次第に不可能になりつつある諸要因を検討し、個人情報を保護しながらいかにして追跡調査が可能であるかを考察した。

研究結果

I. 現状の追跡業務の流れ

1. 母子愛育会研究開発部に所属する特殊ミルク事務局から、毎年1回各地域のスクリーニング検査実施施設に依頼して、当該年度のスクリーニング陽性者と受診した医療機関名の報告を徴している。
2. その報告に基づき、特殊ミルク事務局から各医療機関の主治医宛に追跡調査表を発送して記入を依頼し、集まったデータは特殊ミルク事務局に保管し、厳重に管理されている。追跡調査結果は逐次「特殊ミルク情報」誌などに報告している。

II. 追跡調査システムの在り方の検討

これまでと同様の調査方法では、追跡調査の目的が次第に果たせられなくなる可能性が存在するために、追跡調査方法のあり方について検討する。

1. 倫理委員会の設置

追跡調査実施上の壁となっているプライバシー保護問題を解決するため、「追跡調査検討倫理委員会」（仮称）を設置し、追跡対象症例の人権保護を検討する。疫学調査に対しても現在は倫理委員会の必要性が求められており、たとえばプライバシー保護に関する倫理的課題を検討する必要がある。委員会規定等は別途検討する。現在追跡調査の実施母体である母子愛育会内に倫理委員会を設置し、追跡調査に関する諸問題を検討する。

2. 国との関係

平成11年度の本研究によると、追跡調査が民間団体によって行われることは是としないという意見が多くみられた。近年の社会情勢から勘案して今後ますます追跡調査が困難になることが予測されるので、近い将来公的な機関において実施できるよう、国の立場での調整が必要になると考えられる。

但し、国の機関において実施することが困難な場合は、国が現在追跡調査を実施している母子愛育会に追跡調査業務を委託していることを明確にすべきである。それを各都道府県に通知する必要がある。

3. 都道府県との関係

本事業が制度創設時から直接的には都道府県（保健所）と関連性がないため、事業内容の周知がなされていない可能性がある。追跡調査業務が国のマス・スクリーニングのフォローをしていることを理解させるには、上記のような国の通知が必要になる。それでも提出に協力が得られなければ、追跡調査は中断されることになる。平成13年度から代謝異常等検査が一般財源化されたことが、今後の追跡調査に影響を及ぼすものとも考えられる。

4. 医療機関の医師との関係

検査センターからの一次調査資料が入手できれば、これまでのように医療機関主治医との関係は円滑に行われており、調査依頼に対する協力は今後も得られるものと考えられるが、主治医がプライバシーの保護を主張する場合も一部にみられることから、医師に対する啓蒙も必要と考えられる。

現在のようなシステムで追跡調査を行う場合に、スクリーニングで発見された症例と追跡調査を実施する立場との直接の接点は得られず、症例の主治医が両者を結びつける事になる。従って主治医の追跡調査に対する考え方が重要になる。主治医が追跡調査の必要性を認め、家族に追跡調査に対するインフォームドコンセントを求めることになる。そのための統一された書式を作ることが必要である。

5. 保護者との関係

例えば、PKU親の会と連携を深め、本調査の必要性を周知徹底するとともに、調査に際して「親の会」がどのような関わりも持てば患者の人権が保護でき、本調査が円滑に実施できるかなどについての検討も必要になる。親の会がない疾患もあるので、この点も検討が必要になる。

6. データのフィードバック

調査を依頼した医療機関への調査結果のフィードバックは、どのような内容のものが必要であるのか。追跡調査の結果はとりあえずは毎年発行される「特殊ミルク情報」誌に記載されており、追跡調査に協力を得られた主治医には送付している。

7. 調査資料の維持・管理

膨大なデータの維持・管理は容易ではない。現在は集められたデータをパソコンに入力し、可及的にデータを利用できる状態にある。追跡調査表は毎年増加していくので、その管理をいつまで行えばいいのか、検討を要する。これらの調査表を画像処理で保存していくことも検討すべきである。

考察

先天性代謝異常症は発生頻度が低いので、全国レベルでの追跡調査が必要になる。出生数の少ない自治体では、例えばフェニルケトン尿症は10年に1名程度、ホモシスチン尿症では50年に1例程度の発見になるであろう。各自治体単位での追跡調査が可能になれば、それを全国レベルで把握していくことも可能であろうが、実際にはごく一部の自治体で実施されているの過ぎない。追跡調査に対する行政の支援は得にくい。様々な立場からauthorizeされた組織が追跡調査を行うことが理想的であるが、現状では不可能である。

最近の追跡調査に関する知見としては、フェニルケトン尿症に関してであるが、1955年に本症の治療基準改訂され、その後の治療状態を検討してみると明らかに血中フェニルアラニン値は改訂前よりも低下していることが追跡調査で確認されている。恐らくこれからの治療成績は向上し、症例の本来の知能は十分に維持され発達していくものと考えられる。

スクリーニングで発見された症例は生涯に及ぶ管理が求められており、医師のみでの管理は不可能であろう。医師が中心となり、栄養士、心理士、ソーシャルワーカーなどがチームで症例の管理を行うことが求められている。すべての医療機関にこのようなチーム医療を求めるのは困難であるので、スクリーニングで発見された症例を専門的に管理していく医療機関を設置することもひとつの方法であろう。

「親の会」の様な組織との連携も求められている。電話、ファックス、e-mail、インターネットなどのIT関連の活用も今後の治療に対する方策のひとつである。

平成13年度から新生児マススクリーニング検査が一般財源化されるようになり、今後のスクリーニングのあり方が注目されているが、追跡調査で得られた様々な情報が医療機関や家族にフィードバックされて、より良き医療が継続されていくことが望まれる。

結論

効果的な新生児マススクリーニングが正しく実施されていくために必要な、追跡調査のあり方について検討し、今後の追跡のあり方を模索した。

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

高フェニルアラニン血症の鑑別診断におけるテトラヒドロピオプテリン（BH4）分析の役割

研究要旨

食事療法が基本である高Phe血症，即ちPhe水酸化酵素（PAH）異常症と薬物療法を要する高Phe血症であるBH4欠乏症を早期に鑑別する適切な方法について検討した。両者の鑑別に広く用いられているBH4試験においては，血中Pheの変化を捉えるだけでは不十分であり，尿中プテリジン化合物，その中でもテトラヒドロピオプテリン（BH4）を直接検出することが可能な分析系を使用してBH4負荷時のプテリン分析を行うことが必須と結論された。

研究協力者

大和田操（日本大学医学部小児科）
鈴木健，穴澤昭（東京都予防医学協会）

研究目的

新生児マス・スクリーニングで発見される高フェニルアラニン（Phe）血症は病因によって治療法が異なり，食事療法が必要なPhe水酸化酵素（PAH）異常症と薬物療法が必要なBH4欠乏症を早期に鑑別する方法を検討する目的で，高Phe血症患者に対して行ったBH4負荷試験の結果についての再検討を行った。

研究方法

新生児スクリーニングで高Phe血症を発見された症例および経過してからBH4欠乏症が疑われた年長例を対象としてBH4経口負荷（10mg/kg）を行い，経時的に血中Pheおよび尿中プテリジン化合物を分析した。血清Pheは日立L-8800形アミノ酸分析計を用いて測定し，尿プテリジン化合物分析はHPLC法によって表1に示した系を用いて行った。血中Pheおよび尿中プテリジン化合物の変化から症例をPAH異常症とBH4欠乏症に分類した。

研究結果

1) PAH異常症における血清Pheの変化

精密検査時の血清Phe濃度が著しく高い症例，いわゆる古典的PKU（血清Phe 20mg/dL以上）とnon-PKUhyperphenylalaninemia（血清Phe 20mg/dL未満）におけるBH4負荷時の血清Phe値の変化は明らかに異なっていた。（図1）

即ち，負荷前の血中Pheが20 mg/dL異常の例ではBH4を投与しても血中Pheに殆ど変化が見られな

かったのに対して，PAHの残存活性が高いと考えられるnon-PKUHPAではBH4負荷によって血中Phe値が前値の80%に低下する例が多かった。

2) BH4欠乏症における血清Pheの変化

血中Pheの変化と尿BH4の低値からBH4欠乏症と判定された例の中で負荷前の血清Phe値が高かった例では，負荷後の血清Pheが有意に低下したが，前値が低い例ではその変化を捉えることが困難であった。（図2）

3) 尿BH4の変化

PAH異常症では負荷前の尿プテリジンの中で，BH4が10-40%を占めていたのに対し，BH4欠乏症と判定された症例の尿中BH4は0~5%に分布していた。また負荷後のBH4増加の程度も両者で明らかに異なっていた。（図3，4）

考察および結論

PAH異常症とBH4欠乏症とは治療法が異なり，早期に両者を鑑別することが要求される。そして，10 mg/kgのBH4の負荷を行って前後の血中Pheの変化を捉えることが一般に行われているが，今回これまで行ってきた我々の結果を解析してみると，BH4負荷時の血中Pheの変化のみで両者を鑑別することは困難な例も少なくないことが明らかになった。そして，尿中BH4を分析することが必須であり，また，プテリジン分析には，BH4を直接検出する系を使用することが必要と結論された。

文献

- 1) Suzuki K and Owada MA Simple Sensitive Method for Determination of Pterins in Cerebrospinal Fluid. Clinical Usefulness for Management of Tetrahydrobiopterin

Deficiency. J. Inher. Metab. Dis. 14, 1991; 825- 830

- 2) 大和田操, 鈴木健: テトラヒドロピオプテリン欠乏症 (悪性高フェニルアラニン血症) の診断と治療 -15年の経験- 東京都予防医学協会年報 1995年度版 (26巻), 1997; 187-190

- 3) 大和田操, 中曾根一彦, 鈴木健: 診断と治療に苦慮したテトラヒドロピオプテリン欠乏症の1例. 特殊ミルク情報 32号, 1996; 5-8
 4) 大和田操: 遺伝性テトラヒドロピオプテリン (BH4) 欠乏症の治療と問題点. 日本先天代謝異常学会雑誌 13巻 (2号), 1997; 293-297

表1. プテリジン化合物分析条件

分析装置	: 日本分光 880型HPLCシステム
分析条件	
カラム・温度	: 強酸性陽イオン交換樹脂 IECSP-125・50℃
移動相 1	: 0.1mM アスコルビン酸および 0.1mM EDTAを含む1.5mM 酢酸アンモニウム
移動相 2	: 100mM 酢酸アンモニウム
移動相流量	: 1.0ml/min
酸化相・流量	: 4mM 亜硝酸ナトリウム・1.0ml/min
酸化反応温度	: 80℃
測定波長	: EX 345 EM 455

図2. BH4欠乏症患者のBH4負荷後の血液中Phe値の変化 n=8

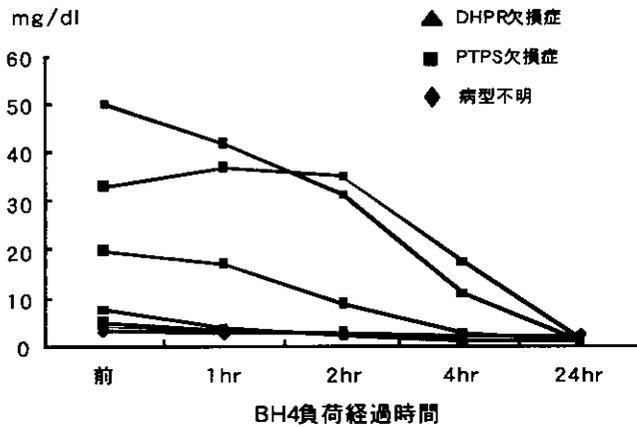


図4. BH4欠乏症患者のBH4負荷後の尿中BH4血 (%) の変化 n=8

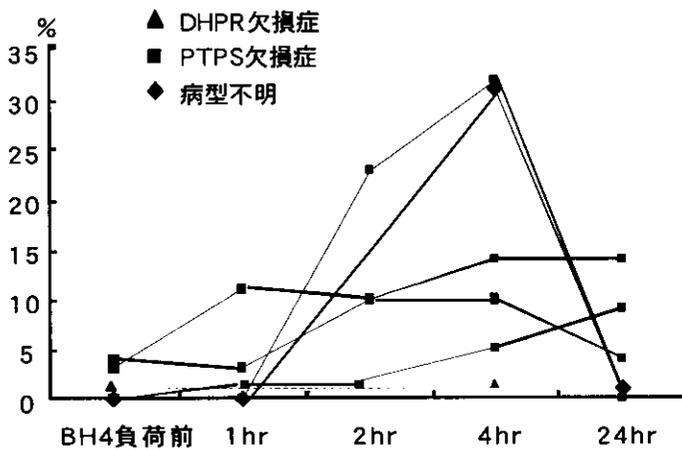


図1. PAH異常に基づく高Phe値症例におけるBH4負荷試験 (血液中のPhe値の変化)

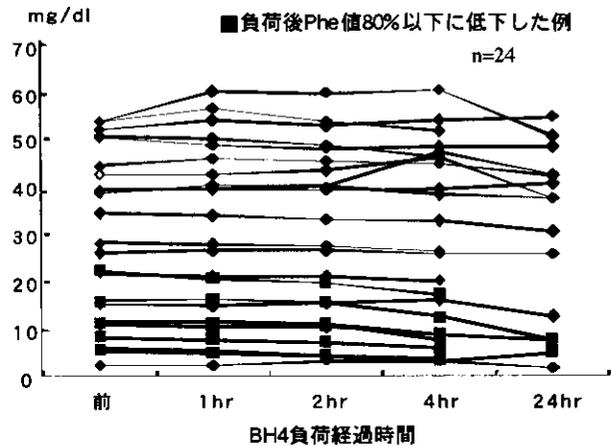
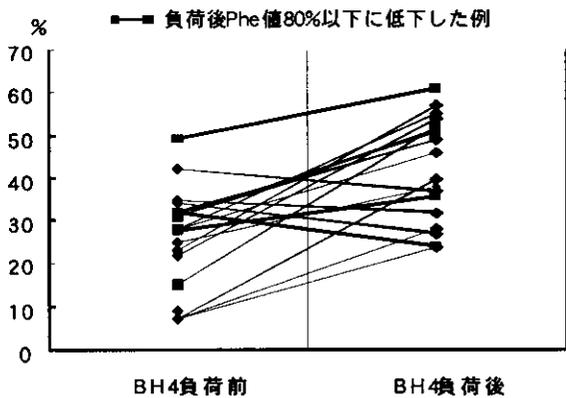


図3. PAHの異常にもとづく高Phe血症症例におけるBH4負荷試験 (尿中BH4の変化 n=22)



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

1～6才児を対象としたウイルソン病マススクリーニングの検討

研究要旨

1～6才児を対象とし、血中セルロプラスミン値を指標としたウイルソン病パイロットスクリーニングの5年間の結果を報告する。総計10,580名の検査を行ない、2名（1才、32才）の発症前患者と1名（3才）の肝機能障害を既に来たしている患者を発見した。3才の発症している患児はD-ペニシラミン、発症前の2例には硫酸亜鉛による治療を開始し現在3例とも経過は順調である。発症前患者の確定診断には遺伝子診断が有用であった。血中セルロプラスミンを指標とするスクリーニングは採血上の問題（誰が、どこで、採血費用は？）があり、地域小児科医による任意採血の場合は受診率低下は避けられない。尿中セルロプラスミンを指標とする場合、検体の採取は容易であるが、測定までの検体の運搬と保存法の改良が必要であろう。本スクリーニングはウイルソン病患者発見に有効であり、今後実施の為の体制作りが必要であると思われる。

研究協力者

大浦敏博（東北大学大学院医学研究科
小児病態学分野）
白石広行（宮城県保健環境センター微生物部）

研究目的

ウイルソン病はD-ペニシラミンやトリエンチンなどのキレート剤により治療可能であり、早期より治療された者の予後は良好である。しかし、劇症肝炎や、肝硬変で発見され予後不良の経過を取るものも少なくない。我々は本症を発症前に発見するためのスクリーニングシステムの開発を目指し、1～6歳児を対象とした血中セルロプラスミン値を指標とするパイロットスクリーニングを平成8年度より実施しており、既に3例の患者を発見しその結果を報告した¹⁾²⁾³⁾。今年度は今までの5年間のスクリーニング結果を総括し、本スクリーニングが患者発見に有効であるかどうかを検討する。

研究方法

平成12年度も宮城県小児科医会の会員全員（180名）にウイルソン病マススクリーニング実施にあたり協力依頼を行い、80名より回答を得た。そのうち賛同を得られた63名の会員に検査に当たっての説明書、同意書、濾紙、返信用封筒、切手、ポスターを発送した。対象は何らかの理由で上記医療機関を受診し採血の機会があった乳幼児とし、採血の際に余った血液を1滴濾紙に滴下して採取した。検査を行なうにあたっては保護者に説明を行ない、同意書に署名をお願いし、承諾が得られた者のみについてセル

ロプラスミン測定を行なった。

セルロプラスミン測定はニッショー（株）の作成したセルロプラスミン測定キットを用い、濃度は全血表示で表わした。下位5パーセント以下以下の検体については同じ濾紙血を用いて再測定を行ない、再検でも低値であった検体について再採血を依頼した。

研究結果

1. 平成12年度の結果

9～12月の4ヵ月間スクリーニングを実施し、1,910名の濾紙血中のCPを測定した。その内再検にても低値であった9件（0.5%）について再採血依頼を行なった。1名は再採血検体が得られなかったが残り8名の結果は正常であった。

2. 5年間のまとめ

5年間で測定した検体数は平成8年度2,789名、平成9年度2,474名、平成10年度1,601名、平成11年度1,806名、平成12年度1,910名で総計10,580名、再採血率は0.5%以下であった。この間平成8年度には2名、平成11年度には1名の患者を発見し早期に治療を開始することが出来た。以下3症例の経過を報告する。

[症例1] 平成7年1月2日生まれ、男児

家族歴：患児の診断後に出生した妹もセルロプラスミン低値、遺伝子診断よりウイルソン病と診断された。

既往歴：アトピー性皮膚炎、貧血

精検時（1才11ヶ月）の血液生化学的検査には異常なく、肝組織学的にも正常であった。肝銅含量は

162mg/g wet tissueと軽度増加していた。ウイルソン病の責任遺伝子ATP7Bの解析ではA803T/2871delCの複合ヘテロ接合体であった。患児は硫酸亜鉛による治療を開始したが尿中銅の排泄量は0.03mg/mg Crとコントロールは良好である。

[症例2] 平成5年10月27日生まれ、女児

家族歴：特記すべきことなし

既往歴：気管支喘息

精検時（3才1ヶ月）の検査結果ではGOT/GPTの軽度上昇（60～80）を既に認めていた。また、感冒罹患時等には200まで上昇した。肝生検では門脈周囲の肝細胞に核内空胞化が目立ち、軽度の線維増生が見られた。肝小葉、肝細胞索構築は保たれており、炎症性細胞浸潤は認めていない。肝銅含量は1,170mg/g wet tissueと著増していた。遺伝子解析ではR778L/G1035Vの複合ヘテロ接合体であった。患児はD-ペニシラミンによる治療を開始し、トランスアミナーゼは正常化、休薬時の尿中銅排泄も0.04mg/mg Crとコントロール良好である。

[症例3] 昭和42年6月16日生まれ、女性

家族歴：3才年上の兄が平成11年4月ウイルソン病（肝神経型）と診断され、その際患者も肝機能検査が行なわれたが正常であったため心配ないと言われていた。

既往歴：特記すべきことなし。

精検時（32才）血液生化学的検査に異常なく、肝組織学的検索でも炎症像、線維化は認めなかったが、肝細胞への軽度の脂肪滴の貯留、核の空胞化が見られた。肝銅含量は204mg/g wet tissueと増加していた。遺伝子型はL549P/A874Vであった。硫酸亜鉛による治療を開始したが尿中銅排泄量は0.14mg/mg Crとコントロール良好である。

考察

1～6才児を対象とし、血中セルロプラスミンを指標としたウイルソン病パイロットスクリーニングを

行ない10,580名の検査を施行することが出来た。

その中で2名（1才，32才）の発症前患者と1名（3才）の既に肝障害を来している患者を発見した。この結果より本スクリーニングは患者発見に有効である事が明らかとなった。血液生化学的検査を用いて発症前患者を診断するのは困難であったが、確定診断には肝銅含量測定と遺伝子診断が有用であった。

血中セルロプラスミンを指標とするスクリーニングは採血上の問題（誰が、どこで、採血費用は？）があり、地域小児科医による任意採血の場合は受診率低下は避けられない。尿中セルロプラスミンを指標とする場合、検体の採取は容易であるが、測定までの検体の運搬と保存法の改良が必要であろう。

結論

ウイルソン病をマススクリーニングすることは極めて有用である。セルロプラスミンは血液、尿いずれを用いてもスクリーニング可能であり、実現に向けての体制作りを早急に行なう必要があると思われる。

文献

- 1) 大浦敏博, 虻川大樹, 白石広行他：1～6才時を対象としたウイルソン病マススクリーニングの検討。：日本マス・スクリーニング学会誌 第8巻, 1号, 7-12, 1998年
- 2) Ohura T, Abukawa D, Shiraishi H, et al: Pilot study of screening for Wilson disease using dried blood spots obtained from children seen at outpatient clinics. J Inher Metab Dis 22: 74-80, 1999 Feb.
- 3) 大浦他：1～6才児を対象としたウイルソン病マススクリーニングの検討。平成11年度厚生科学研究（子ども家庭総合研究事業）報告書（第1/6）pp349-351

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

乳幼児期以降のWilson病マス・スクリーニング：3年間のまとめ

研究要旨

乳幼児期以降の濾紙血セルロプラスミン（Cp）値測定による3年間の結果をまとめた。Cp値測定はニッショーのキットを用いELISA法にて行い、以下の結果を得た。1) 総数は1,247例で、値は 17.1 ± 5.5 mg/dl（最小値3.5 mg/dl, 最大値39.2 mg/dl）であった。再検率（初回Cp<10 mg/dl）は9.86%で、再採血では全例正常であった。2) 生後6ヶ月未満ではCp値のばらつきが目立ったが、1歳未満全体では 16.6 ± 4.4 mg/dlであり、年齢間の差は認めなかった。3) 気温の高い時期（5～10月）では検体採取後10日前後で測定値は約60%（1週間では約70%）に低下し、特に夏場では検体の取り扱いおよび保存に注意が必要である。4) Wilson病患者の尿中Cp値を測定したところ1.32 ng/mg Crで、対照（N=14）の平均147.62 ng/mg Crと比べ明らかに低値であった。

研究協力者

坂京子（名古屋市立大学医学部小児科）
小林正紀（名古屋市立守山市民病院）
一木貴（厚生連海南病院）
杉山成司（市立四日市市民病院）

研究目的

乳幼児期以降のWilson病マス・スクリーニングについて、濾紙血セルロプラスミン値測定による任意スクリーニングを行い、カットオフ値および対象年齢、測定値に影響を与える因子（検査実施季節、検体輸送期間）について検討した。

研究方法

方法は4施設の協力を得て、保護者の同意の下に濾紙血検体を採取し、ニッショーのCp測定キット（セプラトーン・W）を用いてELISA法にてCp値を測定した。また尿中Cp値について、Wilson病患者と対照で測定比較した。検体は外来で採尿後4℃に保存し5日以内に上記キットを用い測定した。

研究結果

1. 濾紙血セルロプラスミン値全データの分布（図1）

濾紙血Cp値のデータ総数は1247例で、正規分布を示し、Cp平均値は 17.1 ± 5.5 mg/dlで最小値は3.5 mg/dl, 最大値は39.2 mg/dlであった。Cp値が10 mg/dl未満のものを再検とし、再検率は9.86%であった。再採血による再検では全て正常であった。

2. 年齢によるセルロプラスミン値の変化（表1）

生後1歳未満における濾紙血Cp値（生後1ヶ月未満の新生児は除外）は、6ヶ月未満ではCp値のばら

つきが目立ったが6ヶ月以後は比較的まとまった値を示した。1歳未満全体ではデータ総数は203例、Cp値は 16.6 ± 4.8 mg/dlであった。乳児期以降～6歳までのデータでは年齢によるCp平均値の差は認めなかった。7歳以上の平均値が低かったが、これは例数が少ないことと測定までの保存条件が悪いものが多かったことのためと考える。

3. 季節別セルロプラスミン測定値の減少率（図2）

各施設からの検体輸送期間にばらつきがあり、特に夏場においてCp値が低く再検となる率が高かったため、室温放置日数によるCp測定値の変化について月毎に検討した。室温放置日数0の値を基準として放置日数の経過による測定値の減少程度を検討した。5月から10月と11月から4月の2つの期間にまとめて比較すると、気温の高い時期では検体採取後1週間で測定値は約70%の値となり、10日前後では約60%までに低下した。気温が低い11月～4月では検体採取後2週間半でも約85%の値を示し比較的安定していた。

4. 尿中セルロプラスミン値の検討

Wilson病患者1名（10歳5ヶ月、男児）と他の代謝内分泌疾患等で外来通院中の児14名（男女各7名、平均年齢10.3歳）の尿中のCp値について検討した。患児は、昨年2月にインフルエンザ罹患の際、比較的高度の肝機能障害（AST 803 U/l, ALT 575 U/l）を認め、血清Cu 8 μg/dlおよび総Cp 2.1 mg/dl, 濾紙血Cp 0.2 mg/dl, Dペニシラミン負荷試験にて尿中Cu排泄の著明な増加を認めWilson病と診断され、Dペニシラミンに薬剤アレルギーを示したため現在メタライトを内服投与中である。尿中Cp値は1.32 ng/mg Crと対照の平均147.62 ng/

mg Crと比べ明らかに低値であった。

考察・まとめ

1) 3年間のスクリーニング総数は1,247例で、濾紙血Cp値平均は 17.1 ± 5.5 mg/dl, 再検率は9.86%であった。再採血では全て正常であった。2) 濾紙血Cp値によるマス・スクリーニングは生後6ヶ月以降

が望ましい。3) 夏季の検体は室温放置により測定値が低下しやすく、検体の取り扱いおよび保存に注意が必要である。4) 尿中Cp測定にて、患児は対照に比し明らかに低値であり、尿中Cp値によるスクリーニングも患者発見に有効な方法となりうると考えられた。

図1 濾紙血Cp値のヒストグラム

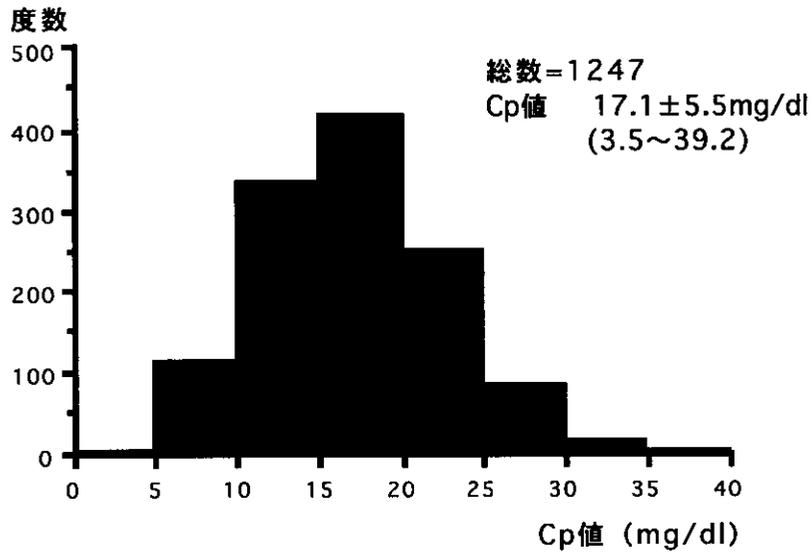
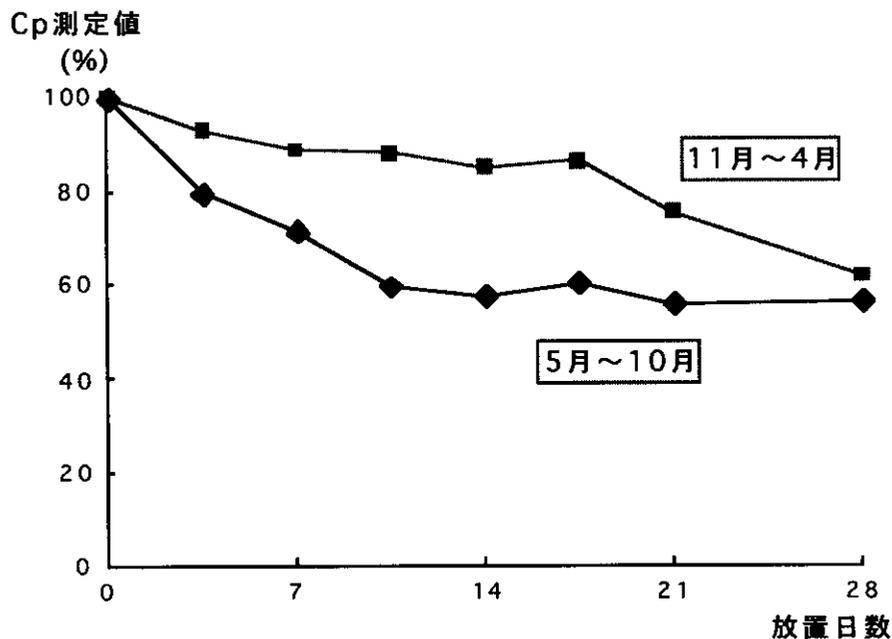


表1 年齢別Cp値 (mg/dl)

年齢 (y)	0	1	2	3	4	5	6	7以上
例数 (n)	203	254	171	149	103	84	56	177
Cp平均値	16.6	19.1	17.5	18.7	17.9	17.6	15.9	12.6
標準偏差	4.8	5.7	5.1	4.8	4.5	4.5	5.5	5.0

図2 季節別Cp測定値の減少率



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

徳島県および香川県におけるウィルソン病スクリーニング検査成績

研究要旨

これまで新生児を対象として濾紙血を用いたウィルソン病スクリーニング検査を徳島県において22,250名に、香川県において64,580名に対して行った。またさらに、徳島県においては乳幼児を対象として濾紙血を用いたウィルソン病任意スクリーニング検査を978名に対して行った。新生児を対象としたスクリーニング検査では、ウィルソン病が疑われる1例が見いだされ、現在確定診断のために遺伝子変異の検索が行っている。乳幼児を対象としたスクリーニング検査ではウィルソン病患者は発見されなかったが、低セルロプラスミン血症と考えられる2例が見いだされた。これまでの結果から血液濾紙を用いたウィルソン病スクリーニング検査は、新生児期ではその感度に、乳幼児期では受検率に問題があり、現時点では尿を用いて乳幼児・学童を対象としたスクリーニング検査を実施するのが最も有効な方法と考えられる。

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（徳島県保健環境センター）
好井信子（香川県衛生研究所）
伊藤進、大西鐘寿（香川医科大学小児科）

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。そこで、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・香川県において新生児ウィルソン病マス・スクリーニングのパイロットスタディを行ってきた。また、新生児ウィルソン病スクリーニング検査では患者が見いだされなかったことから、徳島県においては新生児期でのスクリーニングを終了し1998年1月から原則として生後6カ月から6歳までの小児を対象とした乳幼児ウィルソン病任意スクリーニングシステムを構築し、スクリーニング検査を行ったので、その結果を報告する。

研究対象および方法

新生児：徳島県および香川県で出生した新生児のうち保護者からウィルソン病スクリーニング検査の同意の得られた新生児を対象とした。

乳幼児：徳島県小児科医会会員の所属する医療機関のうち、研究協力の承諾が得られた医療機関を受診し、ウィルソン病スクリーニング検査を希望し、

保護者から同意の得られた乳幼児（原則として生後6カ月から6歳未満）を対象とした。

これら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および香川県衛生研究所へ郵送した。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。カットオフ値以下の検体については、同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新生児では再々採血検査を依頼し、乳幼児で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。新生児において再々採血検査でもカットオフ値以下の場合、精密検査を実施した。

研究結果

表1に徳島県での新生児ウィルソン病スクリーニング検査の結果を、表2に香川県での新生児ウィルソン病スクリーニング検査の結果を示す。徳島県では、22,250名が新生児ウィルソン病スクリーニング検査を受検したが、精密検査対象者は見いだされなかった。香川県では、64,580名が新生児ウィルソン病スクリーニング検査を受検し再々採血陽性者が30名いたが、精密検査で29名は正常と判定された。残り1名は血中ホロセルロプラスミンが1mg/dl以下、総セルロプラスミンは2mg/dl以下が持続し血中Cu値も7~15mg/dlと低値であり、ウィルソン病が疑われ現在確定診断のために遺伝子変異の検索を行っている。なお、本患児は現在まで理学的所見で異常は認めず、肝機能も正常である。1998年1月から2000年11月までに徳島県で978名が乳幼児

ウィルソン病スクリーニング検査を受検した。この結果を表3に示す。受検者の年齢は3カ月から14歳8カ月であった。このうち6例が精密検査対象者となったが、精密検査の結果4例は正常と判定された。残り2名はホロセルロプラスミン値および総セルロプラスミン値は正常値以下が持続し、血清Cuは正常下限であった。この結果からこの2例についてはウィルソン病保因者である可能性が考えられたため、遺伝子変異の解析を行ったが、遺伝子変異は認められず、ウィルソン病保因者は否定され、低セルロプラスミン血症の可能性が高いと考えられた。

考察

これまで、我々は新生児および乳幼児を対象として濾紙血を用いたウィルソン病のスクリーニング検査を行ってきたが、香川県における新生児を対象としたスクリーニング検査でウィルソン病が疑われる1例が見いだされたにすぎない。本患児は現在遺伝子診断を行っており確定診断にはいたっていない。

これまでの濾紙血を用いたスクリーニング検査での問題点を考えてみると、乳幼児を対象とした任意スクリーニング検査で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のないことであるが、本検査では採血が必要であり、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。また、新生児を対象としたスクリーニング検査では、現行のスクリーニングシステム上での採血が可能であることから、十分な受検者数が得られるものの、新生児期のセルロプラスミン値が低いことから患者発見はかなり困難であることが考えられる。事実、これまでの20万人以上の新生児を対象としたスクリーニング検査では、患児は発見されておらず、もし、今回我々のスクリーニング検査で発見された症例がウィルソン病と確定診断されれば新生児スクリーニング検査で発見されたウィルソン病患児の第1例目となる。このことから考えても、新生児期のスクリーニング検査ではかなりの患者が見逃される可能性が高いと思われる。

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、採取が容易な尿を用いたスクリーニングでは、十分な受検率が得られ、また患児も発見されている。これまで、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ったが、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見いだされ、この問題も克服された。

これまでの結果をあわせて考えると、現時点ではウィルソン病のスクリーニング検査は、乳幼児・学童を対象として尿中ホロセルロプラスミン測定により実施するのが最も効果的であると考えられる。

結論

新生児・乳幼児を対象とし、濾紙血を用いたウィルソン病スクリーニング検査を徳島県および香川県で実施したが、これまでの結果からすると、現時点ではウィルソン病のスクリーニング検査は、乳幼児・学童を対象として尿中ホロセルロプラスミン測定により実施するのが最も効果的であると考えられた。

表1：徳島県での新生児ウィルソン病スクリーニング検査結果
(1993年8月～1997年12月)

検査数	22,250名
初回検査陽性数	385名
再採血検査数	291名
再採血検査陽性数	23名
再々採血検査数	21名
再々採血検査陽性数	0名

表2：香川県での新生児ウィルソン病スクリーニング検査結果
(1993年8月～2000年9月)

検査数	64,580名
初回検査陽性数	350名
再採血検査数	300名
再採血検査陽性数	208名
再々採血検査数	208名
再々採血検査陽性数	30名
ウィルソン病疑い*	1名

*現在、確定診断のためATP-7B
遺伝子の解析中

表3；乳幼児任意ウィルソン病スクリーニング検査
徳島県（1998年1月～2000年11月）

年齢	3カ月～14歳8カ月
検査数	978名
初回検査陽性者	29名
再採血検査数	28名
再採血検査陽性者	6名
精密検査数*	6名
ウィルソン病患者数	0名

*精密検査対象者のうち2名はウィルソン病保因者の可能性があったため、保護者の同意のもとATP-7B遺伝子解析を行ったが、遺伝子変異は認められなかった。

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

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年度から、開業小児科医に感冒などで受診する患児・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を実施し、本年度までに1,600件のスクリーニングを行ったので、このシステムに関する有効性や問題点を報告する。

研究協力者

遠藤文夫 (熊本大学小児科)
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8年度から12年度にわたる小児科専門開業医を窓口としたウイルソン病スクリーニングの成績ならびに本システムの有効性や問題点を報告する。

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15 mg/dLとした。

研究結果

計1,600名をスクリーニングした。大学病院で再検・精密検査を行った症例は2例でいずれも異常を認めなかった。年齢別では0～6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。スクリーニングの実施状況をみると、各開業医間での件数のばらつきが多いことと、スクリーニング開始直後に件数は集中し以後漸減傾向にあることを認めた。

考察

保護者の子どもの健康に対する関心は高く、任意で自己負担のあるスクリーニング検査でも、事業が全く成り立たないわけではない。しかし、受診率は4割前後にとどまり、それ以上あげるのには困難だった。その理由として、1) 採血という負荷が大きく、発熱などの理由で血液検査が必要な時に限られること、つまり、スクリーニングのためだけの採血はほとんどなかったこと、2) 忙しい診療の合間にスクリーニング検査を行っているため、インフルエンザなどの疾患が流行すると、積極的にスクリーニングを勧める時間がなくなること、3) ひとつの開業医を受診する層は固定されるきらいがあり、一度スクリーニングを済ませると需要が減ってしまったこと、などが考えられる。

これらを解決するには、スクリーニングの規模を大きくすること、採血の負担がない尿でスクリーニングすること、受診率の高い乳幼児健診を利用すること、などが考えられるが、いずれも費用負担をどのように解決するかが課題と思われる。

結論

計1,600名をスクリーニングした。大学病院で再検・精密検査を行った症例は2例でいずれも異常を認めなかった。この方法は有効な方法と思われるが、これまでの経緯からは多数の被験者を集めることに難点があると考えられた。

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・みやざきこどもクリニック・渡辺医院

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

秋田市3才児健診におけるウイルソン病マススクリーニングの試み

研究要旨

秋田市の3才児健診受検者を対象に、一般尿検査に用いた検体を用い尿中セルロプラスミンを測定しウイルソン病マススクリーニングを実施した。期間は1999年4月から2000年12月までで、受検者は3才児健診受検者の95%以上である4,379名であった。測定の結果、陽性は3例で、再検査を実施したがウイルソン病は否定された。測定値は、平均（標準偏差） 107.7 ± 83.9 ng/mgCrであった。尿中セルロプラスミン値は保存による測定値の低下傾向が問題になるとされており、特に気温による影響が大きいと考えられている。しかし、我々の検討では測定値の季節変動はみられず比較的安定であった。今回の試みでは、受検者は本検査に高い関心を示し高い受検率が得られた。また本検査を積極的に受検しようとする対象が多かった。本検査を秋田県全体で実施する場合には、約60存在する自治体からの検体の輸送や保存などが一番の問題と思われた。

研究協力者

高田五郎

（秋田大学小児科）

研究目的

血液セルロプラスミン(Cp)測定によるウイルソン病スクリーニングの方法が見出されたが、新生児マススクリーニングとして実施する場合に、新生児期に生理的に存在する低Cp血症により患者発見は困難であることが判明した。そのため幼児期での採血が検討されたが、採血手技の困難さから高い受検率を得ることは困難である。最近、ウイルソン病患者では尿中Cp値が低値を示すことが解明され、この測定がスクリーニングとして有用であることが分かった。しかし、尿中Cp値は不安定でありマススクリーニングに適応可能かどうかは実際の試みが必要である。このような背景をふまえて我々は、秋田市の3才児健診受検者を対象に、尿によるウイルソン病マススクリーニングを試みた。

研究方法

1999年4月から2000年12月まで、秋田市3才児健診の対象者全員に秋田市保健所の協力を得て健診に前もって郵送でウイルソン病マススクリーニングの説明書と同意書を郵送した。尿は一般検査用に当日朝にプラスチック容器に採取してもらった検体の残りを、同意の得られたものに関してのみ回収した。回収した検体は、測定まで4℃で保存して4日以内に尿クレアチニンとCp値を測定した。尚、2000年1月からは安定化剤としてグルコン酸クロルヘキシジン（ヒビテン）を加えた。クレアチニンは比色法による標準法にて、セルロプラスミンはニッショ

ーにより提供された測定キットを用いて測定を行った。初回測定で低値（ ≤ 15 ng/mgCr）示したものを陽性として再検依頼を秋田保健所および本人に連絡し尿検体採取、血セルロプラスミン測定、肝機能検査を実施した

研究結果

1999年4月から2000年12月まで、秋田市の3才児健診の対象者数4,910名に対して健診受検者は4,481名（3才児健診受検率：91.26%）であった。3才児健診受検者のうちウイルソン病マススクリーニングを受検したものは4,379名で本検査の受検率は、97.72%であった。したがって全対象に対して89.2%の受検率が得られた。月別の測定者数を表1に示した。

期間中に4,379名が本検査を受検して陽性者は3名であった。再検査の結果、尿Cp値はすべて正常であった。また同時に採血した血Cp値や肝機能検査は正常であった。したがってウイルソン病患者は発見されなかった。3名の陽性者の検査結果を表2に示した。

尿Cp値は平均 107.68 ng/mgCr（標準偏差 83.98 ng/mgCr）であった。ヒストグラム（図1）は、 $70-80$ ng/mgCrにピークがある分布を示すが正規分布は示さなかった。 200 ng/mgCr以上の高値を示す例が多数存在した。

尿Cp値は不安定で特に温度による影響が大きいと言われている。そこで測定値の季節変動に関して検討した。図2に3ヶ月ごとに尿Cp値の平均値と標準偏差値を示した。2000年1. 2. 3月と2000年10.

11. 12月の間で有意の差 ($p < 0.008$) が見られたが、他の間では有意差はみられなかった。測定キット間の検定は実施しなかった。予想された冬に高値を示し夏に低値を示す傾向はみられなかった。

考察

血Cp測定によるウイルソン病スクリーニング法が作成されたが、新生児期には困難であることが判明したため、小児科外来を窓口とした幼児を対象とした任意での検査が試みられた。患者の発見などもされ有用性が示されたが高い受検率が得られないことが問題とされている。最近、尿Cp値測定によるスクリーニングが可能なが分かり、採血せずに検査可能であることから3才児健診での尿検査の検

体を用いてスクリーニングすることが現実的であるとの見方が出てきた。

われわれは、1つの自治体全体（秋田市）を対象として尿Cpによるマススクリーニングを実施したが、3才児健診対象者の90%近い受検率が得られ、マススクリーニングとしては有用な方法と思われた。今後、例数を増やして陽性者の発見などが確認されれば現実的な方法と思われた。今回、キット間の測定値のばらつきなどに関しては検討していないが、季節による温度差による影響は少ないものと思われた。

今後、秋田県全体での実施を考える場合に全部で約60ある自治体からの検体輸送が一番の問題で、検体の安定性に関する検討などさらに必要と思われた。

表1 秋田市でのウイルソン病マススクリーニング

月	対象者数	3才児健診	Wilson病受検査	受検率(%)
1999.04	234	199	184	92.5
1999.05	242	224	216	96.4
1999.06	205	186	179	96.2
1999.07	226	213	209	98.1
1999.08	198	176	171	97.2
1999.09	219	203	201	99.0
1999.10	226	207	204	98.6
1999.11	269	246	245	99.6
1999.12	253	230	219	95.2
2000.01	270	254	248	97.6
2000.02	257	233	228	97.9
2000.03	256	245	236	96.3
2000.04	259	248	238	96.0
2000.05	225	205	204	99.5
2000.06	246	219	217	99.1
2000.07	200	187	181	96.8
2000.08	212	176	176	100.0
2000.09	223	209	207	99.0
2000.10	210	197	195	99.0
2000.11	265	236	235	99.6
2000.12	215	188	186	98.9
計	4,910	448	4,379	97.7

表2

	Urine CP (ng/mgCr)		GOT(IU/l)	GPT(IU/l)	Serum CP (mg/dl)
	1st	2nd			
K.R.	8.7	22.8	28	17	33
K.T.	16.6	222.9	27	12	29
A.A.	10.2	135.0	23	9	27

図1

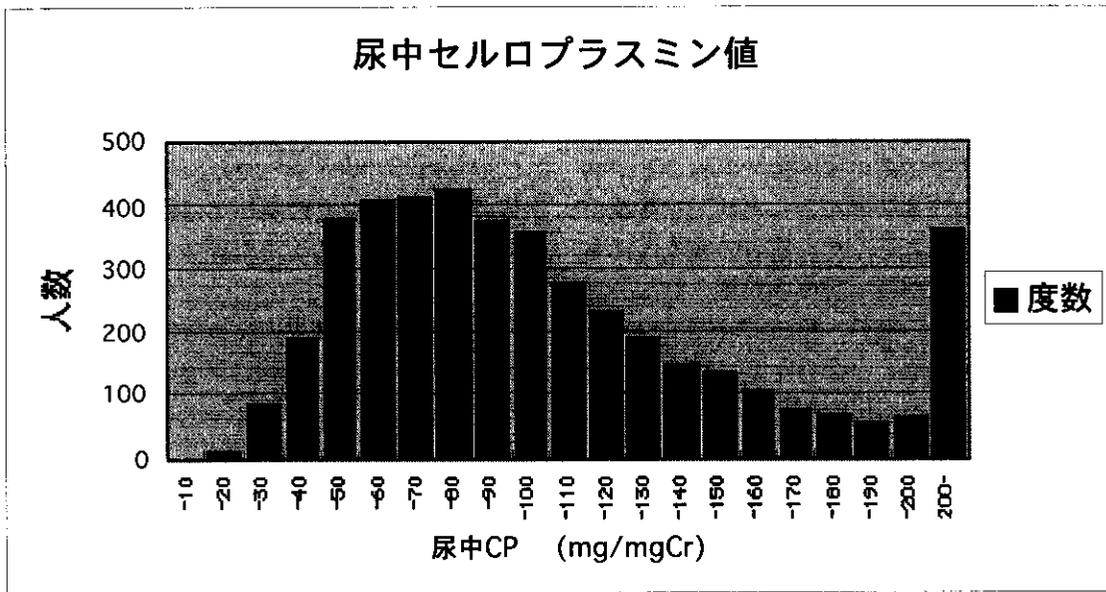
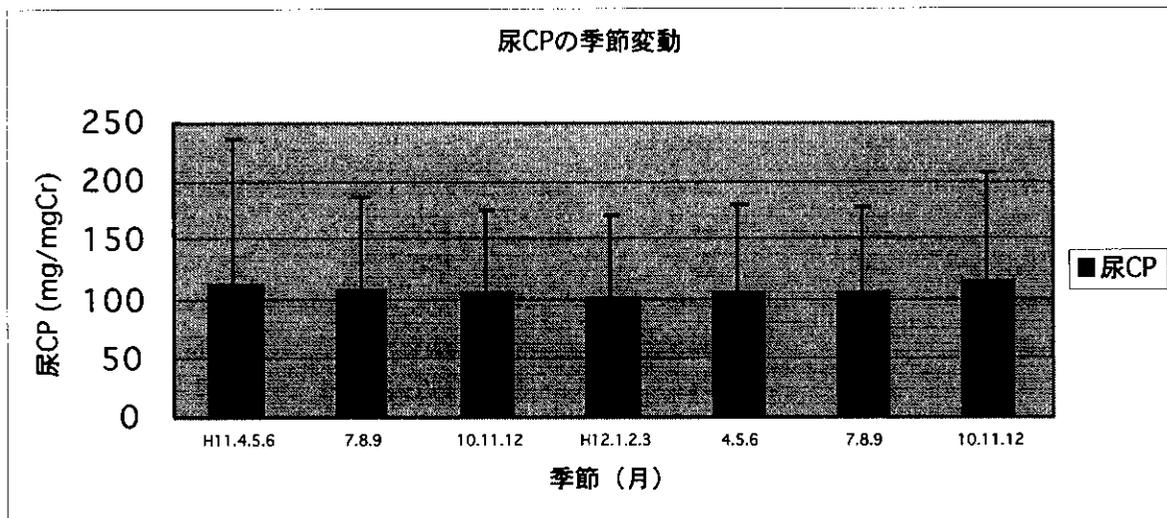


図2



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

尿によるウイルソン病マススクリーニング -三歳児健診との連携-

研究要旨

本年度は、三歳児健診を利用して、早朝尿での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12年4月より13年1月までに検査を受けた総数は1,816名で、受検率92.3%であった。尿中CP値が50ng/mgCr以下のもの12名（0.7%）、クレアチニン未補正の測定値が20ng/ml以下のもの6名（0.3%）について、再検査を要請した。来院時尿に比べて希釈尿が少なく、再検率が低下した。再検査では全例正常値で、精検査当者はなかった。保健センターからの意見も、早朝尿の持参により、従来の来院時尿に比べて健診の流れがスムーズになり、受診者の負担も軽減できたとのことであり、実施上の混乱はなかった。これまでに我々は、三歳児健診において、濾紙血、来院時尿による方法も検討してきたが、早朝尿の利用が最も容易に導入可能な方法と考えられた。しかし、偽陽性が多い、長期の検体保存が不可能、検体回収方法などの問題点も挙げられ、カットオフ値の設定を含めた更なる検討が、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）
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は、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る。我々はこれまでに、三歳児健診を利用して、濾紙血および来院時尿を用いたスクリーニングを試みてきた。しかし、濾紙血の利用では受検率が低く、採血の人員確保が必要であるなどの問題があった。また、来院時尿では、受診者の負担は少なくなり、受検率が増加したものの、希釈尿が多いために再検率が高くなった。そこで本年度は、早朝尿を用いた、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の実施について検討を行った。

研究方法

平成12年4月より13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、採尿用のスピッツ、採尿方法と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、早朝尿をスピッツに採取してネームシールを貼り、同意書に必要事項を記入して健診会場に持参してもらった。健診の一般検尿が終了後、同意書の提出のあった児の尿を、福井医科大学小児

科で回収し、4℃で保存した。

尿中CP測定は、採尿から一週間以内に、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尿を4倍希釈して測定した。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）を要請することとした。再検査、精査などの通知、結果は、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、1968名で、そのうち、スクリーニング検査を受けた児は1,816名で、受検率は92.3%であった。

尿中CPの測定値の平均は、 379.4 ± 238.0 ng/mgCrで、昨年度とほぼ同様の分布であった（図1）。

また、尿中クレアチニン濃度は、図2に示すように、昨年に比べると極端な低値は少なく、季節的な変動もなかった。

尿中CP値が50ng/mgCr以下を示したものは、12名（0.7%）、未補正の測定値が20ng/ml以下を示

したものは、6名(0.3%)で、合計では18名

(1.0%)に再検査を要請した。このうち、実際に再検査を受けたものは、10名であったが、いずれも再検査では正常値を示し、精査の基準に該当するものはなく、研究期間内にウイルソン病患者の発見はなかった。

福井市保健センターの保健婦の皆さんからは、早朝尿を利用することで、一般検尿の受検率も増加した、健診の流れがスムーズになり、採尿における受診者の負担が減少した、健診の方法を見直すきっかけとなったなどの意見がよせられた。スクリーニングを健診と同時にを行うことについても、受診者一覧表や専用のスピッツ立てを導入することで、検体の取り違いなどのミスもなく実施できたとのことであった。

考察

発症前にウイルソン病患者を確実に診断する方法として、幼児期のスクリーニングが有用と考えられている。我が国では、各自治体において三歳児健診が行われているが、その受診率は高い。従って、保護者の意識を高めるという意味でも、三歳児健診はスクリーニングの機会として適当と考えられる。我々が昨年度実施した来院時尿を用いたスクリーニングからは、先に述べたような、いくつかの問題点が挙げられたため、早朝尿を用いたスクリーニングを試みた。

早朝尿の利用では、自宅にて余裕をもって採尿できることから、受診者の採尿についての負担が軽減し、受検率が増加した。また、尿中クレアチニン値のばらつきが比較的小さく、極端な希釈尿で評価不可能な検体が減少したため、再検も非常に減少した。検体の収集における保健センター側の負担の増加もほとんどなかったとのことで、今までと同じ健診スタッフのみでスムーズに実施することができた。以上のことから、早朝尿の利用が、スクリーニングにより適していると考えられた。

我々は、今までに三歳児健診を利用したウイルソン病マススクリーニングとして、濾紙血、来院時尿、早朝尿の利用を検討してきた(表1)。受検率は、早朝尿の利用が最も高かった。しかし、検査結果については、尿を利用した場合には、再検率が比較的高くなり、そのほとんどが再検では正常を示す偽陽性者であった。濾紙血によるスクリーニングでは、陽性者が1人発見され、精査により保因者と考えら

れたが、尿では現在までのところ陽性者は発見されなかった。表2に、血液あるいは尿の利用について、それぞれの利点、欠点をまとめてみた。血液の利用は、偽陽性や偽陰性が少なく、検査としてはより有用と考えられ、検体輸送の面でも簡便であるが、採血が必要であることによる受検率の低下や人員確保の問題が避けられない。一方、尿の利用では、検体採取が容易で受検率も高く、現時点で三歳児健診に取り入れて実施していくには、最も実現可能な方法と考えられる。しかし、偽陽性が比較的多く、偽陰性の存在についても否定できない。他の施設での検討においても、三歳児健診の尿によるスクリーニングでは、いまだ患者は発見されていない。これは、実施人数がまだ少ないことによるとは思われるが、検査の確実性についても確立されたわけではない。また、尿中CPの安定性が低いために長期保存が不可能であり、検体輸送を冷蔵で直ちに行うためには、輸送手段の確保、費用が問題となる。

今後、スクリーニングの実現のために、検体保存法や測定法の統一、データの蓄積によるカットオフ値の再検討、輸送法の確立などを行っていく必要があると考えられる。

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、早朝尿の利用によって、より現実的に実施可能となると考えられた。しかし、実施に向けては、検体保存法、測定法、検体輸送法、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