

神経芽細胞種の乳児マス・スクリーニング 実施状況について(第4報)

好井信子・砂原千寿子

I 緒 言

神経芽細胞腫(以下NB)は、小児期に最も多い固形腫瘍であり、その予後は極めて不良であるが、早期発見、早期治療で、治癒が可能である。

早期発見を目的としたNBのマス・スクリーニングは、尿中に排泄されるバニールマンテール酸(以下UMA)、ホモバニリン酸(以下HVA)の異常増加を検出することにより生化学的診断が可能なることを利用し、昭和60年1月から、国の方針により6ヶ月児を対象に行なわれることになった。当県では、少し遅れ昭和61年10月から「香川県先天性代謝異常実施要綱」¹⁰⁾に基づき実施している。

平成3年3月までの実施状況は報告したので^{7),8),9)}平成3年4月から平成4年3月までの実施状況を報告する。

II 方 法

1. 尿の前処理

HLLCの試料とするため、尿200 μ lをリン酸塩緩衝液(pH7.4)(以下PBS)で希釈(以下希釈尿)。

2. VMAの定性

尿100 μ lをNo.2ろ紙にスポットし、ジアゾ化パラニトロアニリン試薬^{3),4)}で発色させ判定。

3. クレアチニンの定量

希釈尿50 μ lをマイクロプレートに分取し、以下、Jaffe反応を利用したFolin-Wu法^{5),6)}により、濃度を測定。

4. HPLCによるCA代謝物の定量

測定は、電気検出器で行った。

HPLC測定条件を図1、図2に示す。

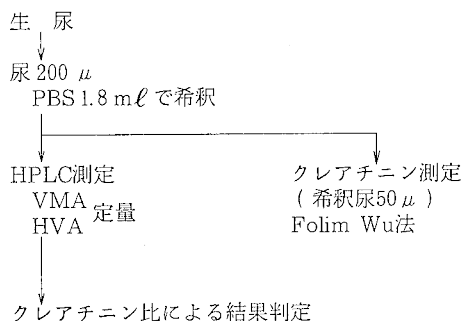


図1 HPLCによる測定

I { カラム=shim-pack CLC-VMA
移動相=5 mM 酒石酸
3% アセトニトリル
カラム温度=40°C
電圧=ESAクーロケム
流量=1.0 ml/min

図2 ECD測定条件

この条件で約25分間で、VMA・HVAの定量を行うことができた。

HPLCによる測定結果、VMA18 μ g/mgクレアチニン、HVA25 μ g/mgクレアチニンを越えるもの、あるいは、高値3~5%について、再採尿による再検査を行なうこととした。また病院への精密検査依頼は、再検査の結果なおcut-off値を越えるものについて実施することとした。

III 結果及び考察

平成3年4月から平成4年3月までのスクリーニングの結果を表1に示す。

再検査依頼数のうち検体不備数50.7%もしめ、これら全てクレアチニン低値である。これは、疑陽性のみのがし高再検査率の原因となるため、前年度に引き続き検討している。

また、要精検児1名をスクリーニングで発見した。

また、マス・スクリーニング後発症した2児、スクリーニング前(5ヶ月児)に発症した2児を経験した。

NBスクリーニングの時期及び尿中VMA・HVAのHPLC法及びELISA法による測定の検討を行なったので併せて報告する。

1. ELISA法による尿中VMA・HVA測定

現在NBのマス・スクリーニングはHPLCによる定量法が採用され、より精度の高い方法ではあるが、装置が高価であり、操作が煩雑で迅速性に欠けるなど欠点もある。そこでELISA法を用い尿中VMA・HVAを測定し検討を行う。

(1) 対象 香川県下の6ヶ月児 1,200件

(2) 結果

HPLC法とELISA法の同時測定を行った結果、良好な相関が認められた。

HPLC法によるVMA・HVA高値検体は、ELISA法においても同様高値を示した。

表1 神経芽細胞腫マス・スクリーニング検体数・再検数

		平成3年										平成4年			計
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
検査 実 人 員 数	大内	7ヶ月以降	57	37	47	56	58	39	48	41	49	47	51	36	566
		7ヶ月以降	17	13	12	14	5	10	12	6	4	10	9	9	121
	土庄	7ヶ月以降	23	12	20	19	8	21	27	19	18	17	19	27	230
		7ヶ月以降	7	6	8	6	1	3	4	0	1	6	2	5	49
	高松	7ヶ月以降	254	259	199	230	242	196	254	204	205	229	223	237	2,732
		7ヶ月以降	35	52	49	58	49	42	43	46	32	83	51	75	615
	坂出	7ヶ月以降	55	83	56	40	66	66	70	57	64	64	58	63	742
		7ヶ月以降	13	9	11	5	19	10	4	18	3	16	14	24	146
	丸亀	7ヶ月以降	60	45	58	44	70	43	59	46	61	49	59	43	637
		7ヶ月以降	9	19	21	8	15	12	6	8	3	9	9	10	129
琴平	7ヶ月以降	37	45	42	39	56	37	47	37	38	56	40	47	521	
	7ヶ月以降	16	11	8	14	12	8	8	9	4	18	10	10	128	
観音寺	7ヶ月以降	70	60	65	62	76	62	67	60	87	60	83	67	819	
	7ヶ月以降	18	16	14	18	26	15	26	15	3	16	10	16	193	
計		556	541	487	490	576	464	572	464	522	522	533	520	6,247	
		115	126	123	123	127	100	103	102	50	158	105	149	1,381	
再検依頼数		62	75	80	58	64	44	50	33	50	38	39	30	623	
再検数(%)		55 (89)	35 (47)	78 (98)	65 (112)	69 (108)	67 (152)	39 (78)	34 (103)	54 (108)	37 (97)	34 (87)	40 (133)	607 (97)	
検体不備数		40	41	55	19	33	16	29	13	17	13	23	16	315	
疑陽性数		22	34	25	39	31	28	21	20	33	25	16	14	308	

陽性1件(坂出)

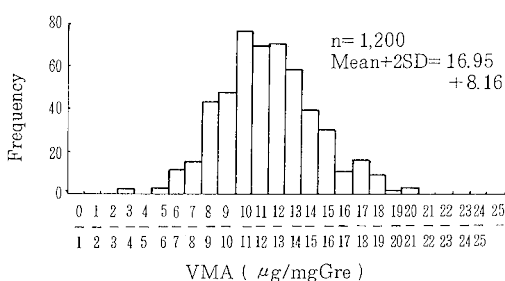
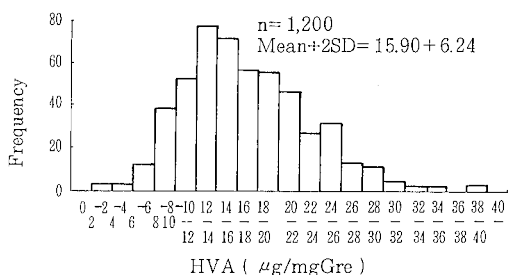
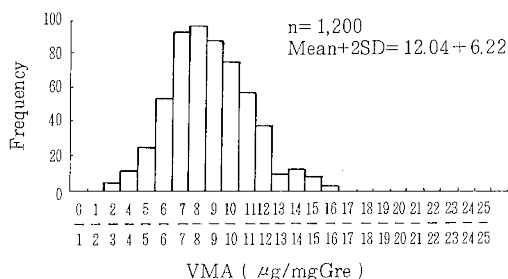
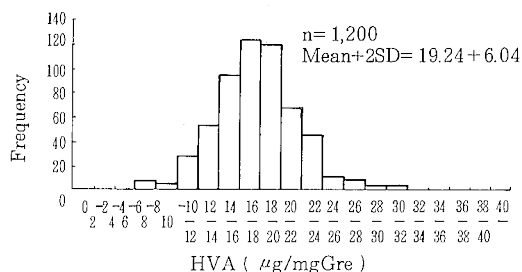


図3 VMA, HVAのHPLC・ELISA測定の結果のヒストグラム

検体処理時間についても、良好であった。

マス・スクリーニングに有用と考えられた。

2. 6ヶ月時のマス・スクリーニング以降に発症した2例 (症例2)
 (症例1) 1歳9ヶ月 女児
 主訴 発熱
 家族歴 特記すべきことなし
 生後7ヶ月時 マス・スクリーニング 正常
 VMA 12.8 HVA 14.4 $\mu\text{g}/\text{mg}\cdot\text{cre}$

1歳9ヶ月児

VMA 45.15 HVA 171.23 $\mu\text{g}/\text{mg}\cdot\text{cre}$

3歳5ヶ月 男児

主訴 下肢痛 顔面不良

家族歴 特記すべきことなし

生後7ヶ月時 マス・スクリーニング 正常

VMA 10.4 HVA 16.4 $\mu\text{g}/\text{mg}\cdot\text{cre}$

2症例共経過観察中

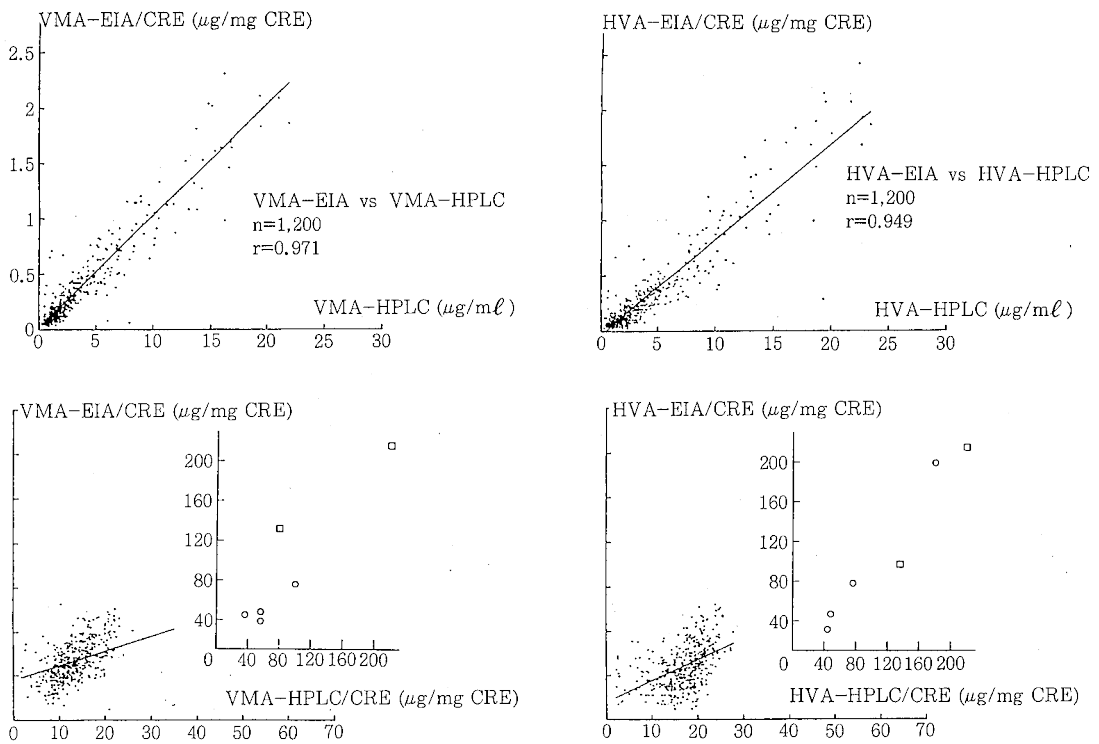


図4 VMA・HVAのHPLC ELISA測定の間関

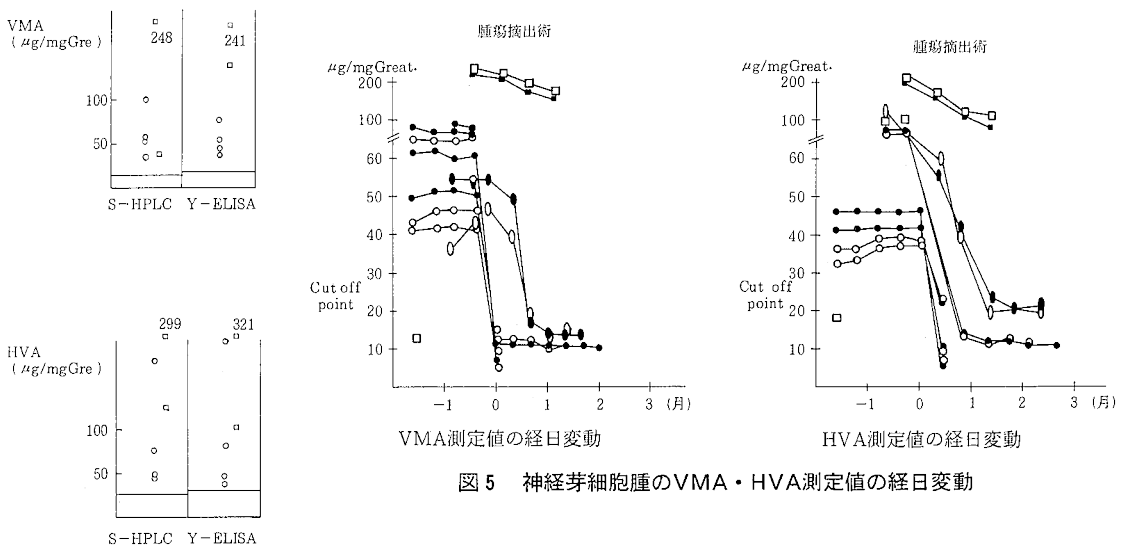


図5 神経芽細胞腫のVMA・HVA測定値の経日変動

図5 神経芽細胞腫における尿中VMA・HVA値

IV 結 論

HPLCによるNBマス・スクリーニングを本年は 7,628 件について実施した。再検査依頼については、100%の回収率である。また1名の患児を発見することができた。

今年度は、実施率も80%と少し向上したが、これは県市町の保護者への働きかけによるものである。しかし100%となるよう今後も努力していかなければならない。

マス・スクリーニングで陰性と判断され、その後発症した例があり、検査時期、それに伴う検査方法などについて検討を続けていかなければならないと思われた。

稿を終えるにあたり、ご指導下さいました香川小児病院岩井朝幸先生、札幌市衛生研究所花井潤師先生、ヤマサ醤油㈱黒田真美先生、佐藤 靖先生に深謝します。

また、検討のため試薬を提供下さいました㈱ヤマサ醬

油に御礼申し上げます。

文 献

- 1) Sundlew, M&Ruthver : Lancet, II : 114 (1959).
- 2) Githow, S.E.et al : Cancer, 25, 1977 (1970).
- 3) 佐藤展男, 吉永 馨, 石田 望 : 最新医学, 16, 371 (1961).
- 4) 沢田 淳 : 現代小児科学大学大系, 年刊追補 168, 中山書店 (1971).
- 5) Bosnes & Taussky : J.Bjol, Chen, 158, 158 (1945)
- 6) 金井 泉, 金井正光 : 臨床検査法提要 第28版, VII-39 (1978).
- 7) 神経芽細胞腫の乳児マス・スクリーニング実施状況について 香川県衛生研究所報, 16, 67~69, (1987).
- 8) 神経芽細胞腫の乳児マス・スクリーニング実施状況について 香川県衛生研究所報, 17, 95~97 (1988).
- 9) 神経芽細胞腫の乳児マス・スクリーニング実施状況について 香川県衛生研究所報, 18, 91~94, (1990).
- 10) 香川県環境保健部 : 香川県先天性代謝異常検査実施要綱.