

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 (第3報)

好井 信子・久保 裕子・白石名伊子

I 諸 言

神経芽細胞腫 (以下NB) のマス・スクリーニングは早期発見・早期治療を目的とし、予後不良のNB患児をカテコールアミン¹⁾²⁾ の代謝産物であるバニールマンデル酸 (以下VMA) , ホモバニリン酸 (以下HVA) を尿中から、液体クロマトグラフィ法 (以下HPLC) で定量的に測定し発見をしている。

この方法で、年間全国的に100例を越え検出されている。

当県でも昭和61年10月から、NBのマス・スクリーニングを香川県先天性代謝異常実施要綱³⁾ に基づき実施して2名の患児を発見することができた。

平成2年3月までの実施状況は報告したので⁷⁾⁸⁾ 平成2年4月から平成3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 (pH 7.4) (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。

この条件で約20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、Iの条件でVMA 25 μ g/mgクレアチニン、HVA 30 μ g/mgクレアチニン、IIの条件でVMA 18 μ g/mgクレアチニン、HVA 25 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

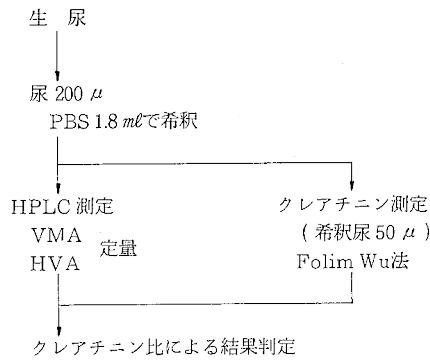


図1 HPLCによる測定

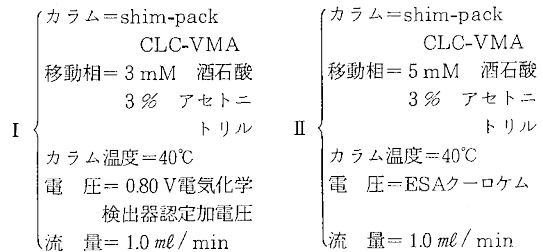


図2 ECD測定条件

ものについて実施することとした。

III 結果及び考察

平成2年4月から平成3年3月までのスクリーニングの結果を表1に示す。

再検依頼数のうち検体不備数が53.7%もしめ、これら全てクレアチニン低値である。今年度は、季節に関係なく多かった。これは、疑陽性のみのがし、高再検率の原因となる。

また、NB患児はいなかったが4名が(原因については検討中であるが)、HPLCによりVMA・HVAが高値を示した。

以下、クレアチニン値の検討HPLC高値についての検討をしたので報告する。

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2年					平成3年					計			
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
検査 実 人 員 数	大内	7ケ月 7ケ月以降	51 6	45 11	38 7	41 7	39 11	35 6	40 15	34 11	35 6	47 10	39 3	40 14	484 107
	土庄	7ケ月 7ケ月以降	21 4	24 6	21 0	24 3	15 4	22 1	13 5	24 7	12 3	18 3	22 6	19 4	235 46
	高松	7ケ月 7ケ月以降	208 54	277 69	247 48	190 48	223 57	194 71	245 49	233 53	196 39	255 74	218 48	259 48	2,745 658
	坂出	7ケ月 7ケ月以降	57 14	63 5	64 20	56 7	50 9	50 10	58 13	53 18	53 13	66 15	51 10	65 20	686 154
	丸亀	7ケ月 7ケ月以降	44 13	52 7	58 11	40 6	41 15	31 9	62 21	42 14	46 13	49 13	52 12	32 14	549 148
	琴平	7ケ月 7ケ月以降	53 14	47 13	52 4	44 12	54 14	41 13	53 13	39 10	30 13	51 17	56 11	41 10	561 144
	観音寺	7ケ月 7ケ月以降	82 17	90 21	57 17	68 8	72 18	51 18	69 15	71 11	56 19	64 22	72 23	99 15	851 204
	計	7ケ月 7ケ月以降	516 122	598 132	537 107	463 91	494 128	424 128	540 131	496 124	428 106	550 154	510 113	555 125	6,111 1,461
	再検依頼数			28	40	32	19	32	34	39	33	25	41	45	55
再検数(%)			40 (143)	22 (55)	44 (138)	19 (100)	24 (75)	20 (59)	37 (88)	40 (121)	32 (128)	13 (31)	38 (77)	45 (83)	374 (88.4)
検体不備数			9	13	14	3	8	20	34	29	12	19	28	38	227
疑陽性数			19	27	18	16	24	14	5	4	13	22	17	17	196

(1) クレアチニンについての検討

- ① 対象 香川県下の乳幼児 182 件
- ② 結果

1 pHの検討 万能pH試験紙(東洋ろ紙)にて測定。
検査当日、冷蔵保存24時間後、さらに室温24時間放置
後測定。pH値は11件を除きすべて1~2高く移行した。

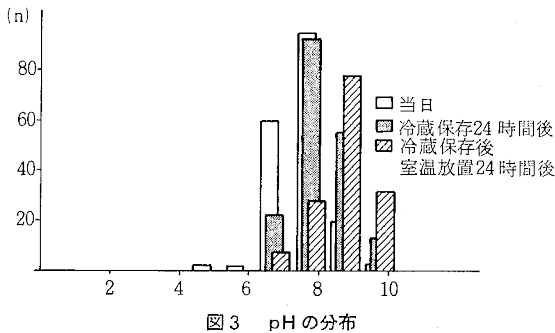


図3 pHの分布

2 pHとクレアチニン値の検討

pHと同様に、当日、冷蔵保存24時間後、さらに室温
に24時間放置後測定したが、クレアチニン値は7件を除
きさらに高値となった。(図4、図5)

3 尿中の細菌検査

pH、クレアチニン値に関係なく、4件を除きグラム陰
性の桿菌を検出。

4件は、グラム陽性菌を検出した。

4 HPLCの再測定

HPLC測定した希釈尿を3日後、再測定した。同機種、

同条件でHPLC測定を行った結果158件(87%)にフロ
ントピークの消失、分析値の低下がみられた。

5 不備検体について

電話によるアンケート調査の結果、地域性、おむつの
相違(紙、布、その他)等はなかった。

③ 考察

pH、クレアチニン値は、冷蔵保存、室温保存しても高
値となった。採尿してから受付まで郵送のためその間
でも日数を経ているので、それまでにも変動が考えられる。
また、G-桿菌の検出から検体が受けられるまでも
菌の混入が考えられる。

HPLC測定は、時間と共に低値となる可能性がある。
不備227件のクレアチニン低値は、真実その尿の実測値
であるか、あるいは、受け付けまでに何らかの影響があ
ったかとも考えられる。

今後、採尿時と同状態の検体を測定出来るよう、採尿
セット(カット綿、紙コップ、採尿チューブ)等の検討
を行い、行政、保護者、医療機関の協力の中で、スク
リーニングを行っていかねばならないと考える。

(II) HPLCにより高値を示した検体についての検討

NB測定には、HPLC法により定量分析を行うのが見
逃しがなく最良と、マス・スクリーニングにとり入れら
れ行っているが今回我々は、初回にVMA・HVA値が共
にCut off値を越えたが、乳幼児に症状はなく再検査の
結果も正常となった4検体を経験した。

初回検体について、クレアチニン値23~37, VMA 直
接64~95, 抽出62~87, HVA 直接47~93, 抽出44~85。

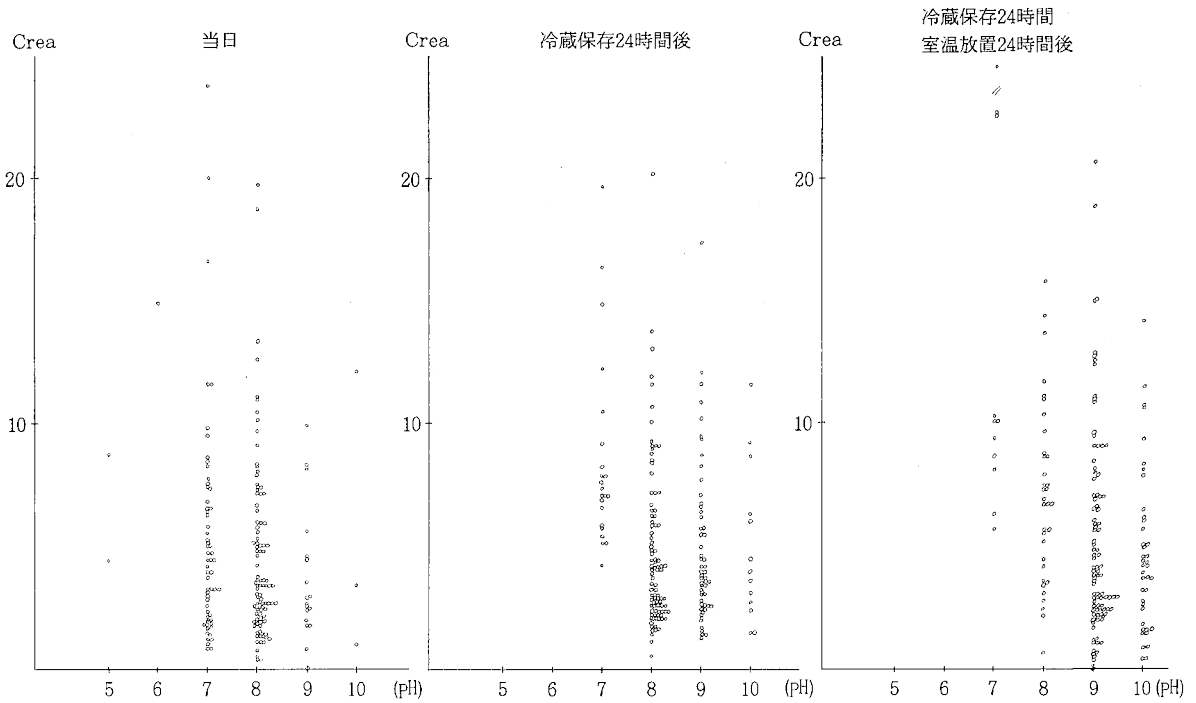


図4 pHとクレアチニンの分布

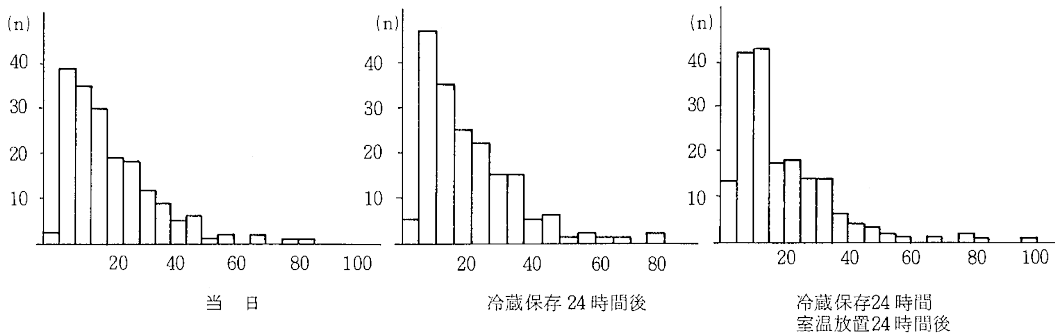


図5 クレアチニンの分布

1人のみ風邪薬を飲んでいた。その幼児の薬剤投与は、ケフラル、スルピリン、フェノバル等であった。これらを含む風邪薬を13種、アレルギー用薬、心疾患用薬（ジコシン、ラシツクス、アルダクトン外）、抗生物質等、53種についてHPLCで検討を行ったが、VMA・HVAは分析しなかった。

いずれも正常と判定しがたく、医師等相談の結果フォローしていくこととした。

IV 結 論

HPLCによるNBマス・スクリーニングを実施して今年度は7,522件について実施した。再検査依頼について約90%の回収率である。

今年度は、実施率70%と低く受検率向上に努めなければならないと考える。

昭和62年から実施してはいるが、まだまだ症例も少な

く、HPLC 操作の煩雑さ、検査工程上時間的・経済的にも多くの問題がある。今後これらの問題も検討し改善していき、出来るだけ迅速に、発見もれのないようスクリーニングを行っていかなければならない。

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 黒田真実先生に深謝します。

文 献

- 1) Sndlev, M&Ruthven;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, (1974), 中山書店
- 5) Bosnes & Taussky;J.Bjol, Chem, 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) 神経芽細胞診の乳児マス・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) 香川県環境保健部:香川県先天性代謝異常検査実施要綱