

北海道における先天性副腎過形成症
マス・スクリーニングについて (1989. 1-1989. 3)

Mass-screening for Congenital Adrenal
Hyperplasia in Hokkaido (1989. 1-1989. 3)

木崎 節子 市原 侃 新井 純理
本間 寛 熊谷 満 松浦 信夫*
藤枝 憲二* 大柳 和彦** 奥野 晃正***

Takako Kizaki, Naoshi Ichihara, Junri Arai,
Hiroshi Honma, Mitsuru Kumagai, Nobuo Matsuura,
Kenji Fujieda, Kazuhiko Oyanagi, and Akimasa Okuno

目 的

先天性代謝異常等の早期発見と治療により障害発生や死亡を防止することを目的として行われているマス・スクリーニングは、1977年度にフェニルケトン尿症など五疾患を対象として始められ、1979年度からはクレチン症が対象疾患に加えられた。さらに、厚生省心身障害研究「新しいマス・スクリーニングの開発に関する研究」班を中心として、

先天性副腎過形成症 (CAH) が検討され¹⁻⁵⁾、北海道でも1985年から本症のパイロットスタディーを行い種々の検討を行ってきた⁷⁻¹¹⁾。その結果、国家事業として開始されることとなり、北海道では、1989年1月から、CAH マス・スクリーニングを従来の六疾患に加え、衛生行政事業として実施するはこびとなった。

CAH は、副腎皮質ホルモン合成過程に関与する酵素欠損により、ホルモンの産生分泌に異常をきたす疾患である。

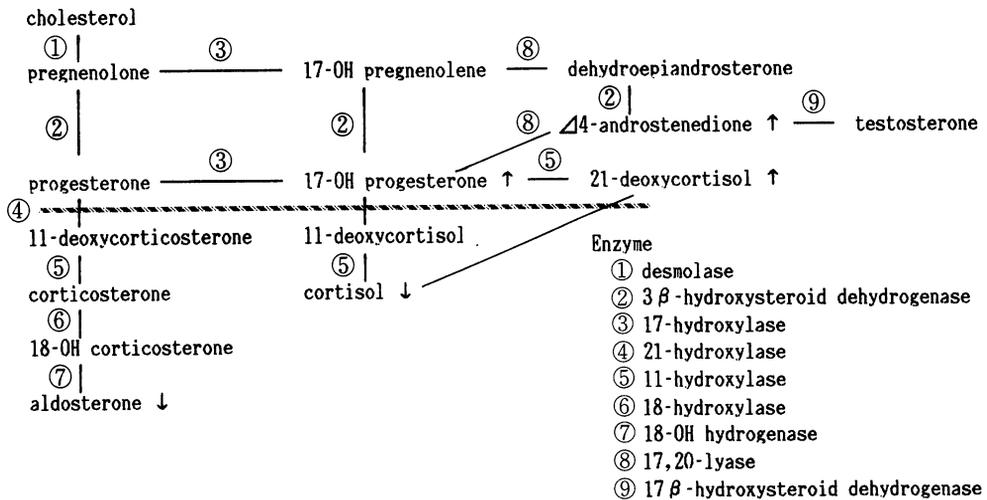


Fig. 1 Steroid metabolism and changes of several steroid levels in congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency

* 北海道大学小児科 ** 札幌医科大学 *** 旭川医科大学

副腎皮質で行われているステロイドの生合成経路を Fig. 1 に示した。本症の大部分 (85-95%) は、21-水酸化酵素欠損であり¹²⁾、塩喪失型と単純男性型の2型に分類される。この21-水酸化酵素欠損症では、血中の17-ヒドロキシprogesteron (17-OHP)、21-デオキシコルチゾール (21-DOF)、 Δ 4-アンドロステンジオン (Δ 4-AD) の濃度が上昇し、コルチゾール (F) やアルドステロンが低下する¹³⁻¹⁵⁾ (Fig. 1)。その結果、大量の男性化ホルモンの産生による男性化現象や、低Na血症、高K血症などの塩喪失症状を呈する。本症の日本における発生頻度は、1/20,570 (95%信頼限界では1/13,747-1/31,847) と高く¹⁶⁾、また、有効な治療法があるにもかかわらず、臨床的早期発見がしばしば困難で、脱水・ショック等で重篤な状態に陥

り、時には死亡してから本症と判明したり、性分化異常等の社会適応上の障害を残すこととなる。従って、マス・スクリーニングによる早期発見と早期治療が極めて重要となる疾患である。

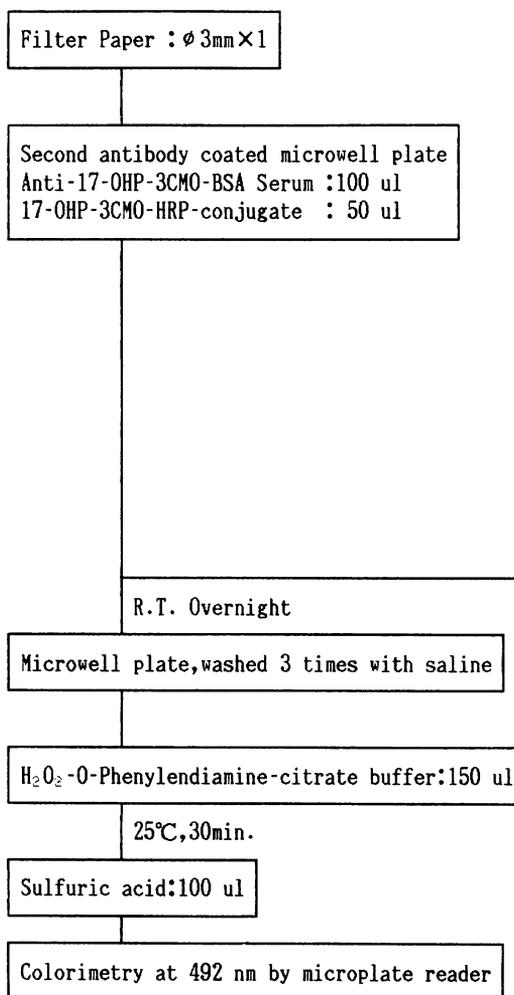
今回は、北海道に於ける1989年1月から3月までの3か月間の実施成績を報告すると共に、本症の特殊性を考慮したマス・スクリーニングシステムについて若干の考察を加えたい。

方 法

1. 対 象 :

1989年1月から1989年3月までに札幌市を除く北海道全域の産科医療機関等で生まれた新生児9,552人を対象とし、

Direct Method



Extraction Method

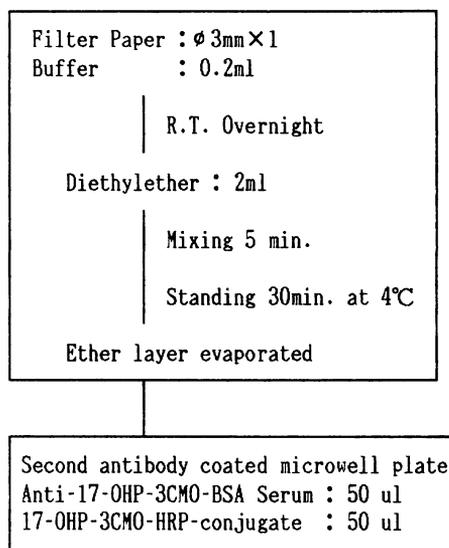


Fig. 2 Procedure of ELISA for 17-OHP in dried blood disc.

先天性代謝異常検査等のマス・スクリーニングに従来から用いられている方法で採取された検体（乾燥濾紙血液）を測定試料とした。

2. ELISA 法によるステロイドの測定

(1) 使用機器：使用した機種は以下の通りである。プレートミキサー：Model MX-4（三光純薬社製）、プレート洗浄器：Model MW-96SD（Bio Tec社製）、マイクロプレート光度計：Model MTP-32（コロナ電気社製）、データ処理装置：PC-9081VF（NEC社製）。

(2) 17-OHPの測定：マイクロプレートを用いた酵素免疫測定法による17-OHP測定キット「エンザプレート17 α -OHP」（札幌イムノダイアグノスティック社製）を使用した。本法は、第2抗体（ヤギ抗ウサギIgG抗体）を固相化したマイクロプレートに第1抗体（ウサギ抗17-OHP抗体）を結合させ、標識抗原（ペルオキシダーゼ標識17-OHP）と検体（乾燥血液濾紙3 mm disc 1枚）中の17-OHPを反応させる競合法を原理とする。直接法及び抽出法をFig. 2に示した。

(3) コルチゾールの測定：原理及び操作法は17-OHPの測定と同様であるが、第1抗体としてウサギ抗コルチゾール抗体を用いる。

3. HPLCによるステロイドの分析¹⁷⁾

(1) 標準ステロイド及び内部標準物質：標準ステロイドはTable 1に示した10種（Sigma社製）を用いた。内部標準

Table 1 Standard steroids

	Abbreviation
Cortisone	E
Cortisol	F
21-deoxycortisol	21-DOF
Corticosterone	B
11-deoxycortisol	S
Androstenedione	Δ^4 -AD
11-deoxycorticosterone	DOC
Testosterone	T
17 α -hydroxyprogesterone	17-OHP
Progesterone	P

物質としては、19-ノルテストステロン(19-NT：Sigma社製)を用いた。

(2) 前処理用及びHPLC用試薬：ジクロロメタン、メタノール、アセトニトリルは、液体クロマトグラフ用（和光純薬社製）を用いた。

(3) 試料の前処理：乾燥血液濾紙（直径10mm disc 1枚）に0.05Mリン酸緩衝液（pH 8.0）1 mlを加え抽出する。

この抽出液に内部標準物質として19-NTを10ng(30 μ l)添加混合し、Extrelut column 1（Merck社製）に保持させる。15分後、ジクロロメタン10mlで溶出し、溶媒を蒸発乾固する。残渣をHPLCの移動相60 μ lで溶解し、その30 μ lを分析に供した。

(4) HPLCの条件と装置：カラムはERC-ODS-1171（6 mm \times 150mm, エルマ社製）を用いた。条件は以下の通りである。カラム温度：40 $^{\circ}$ C, 移動相：メタノール：アセトニトリル：水=55：3：42, 流速：1.3ml/min, 検出波長：246nm。使用機器は、以下の通りである。送液ポンプ：Model L-6200（日立製作所製）、オートサンプラー：Model AS-4000（日立製作所製）、恒温槽：Model CTO-6 A（島津製作所製）、検出器：Model SPD-6 A（島津製作所製）、クロマトデータ処理装置：Model D-2500（日立製作所製）。

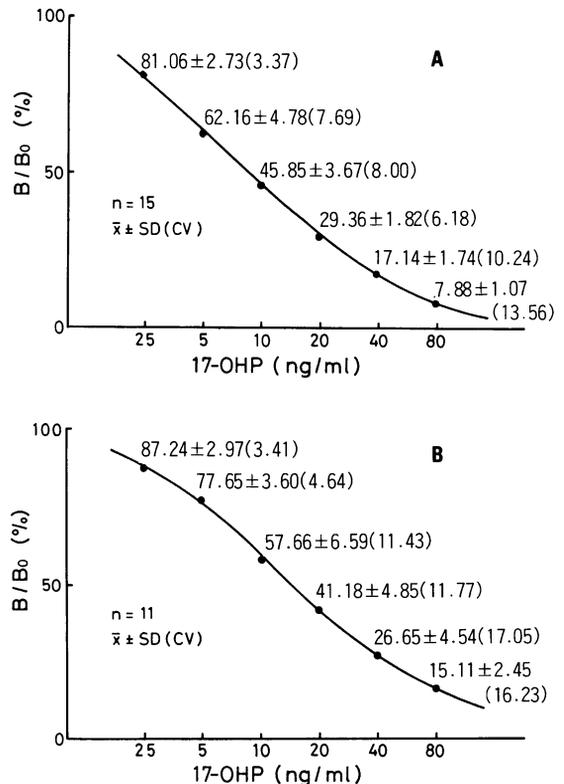


Fig. 3 Standard curves of 17-OHP. B/B₀=Absorbance at each concentration of 17-OHP/Absorbance without 17-OHP. Each value represents the mean (\bar{x}) \pm SD (CV) of n times experiments. A: direct method, B: extraction method

結 果

1. ELISA 法による17-OHP の測定

(1) 標準曲線および再現性：直接法および抽出法の標準曲線（回帰曲線=logit-log-1 (u)）を Fig. 3 に示した。各濃度における値は、17-OHP ゼロ濃度での吸光度に対する百分率(B/B₀)として表わした。各値について測定間の平均±標準偏差 ($\bar{x} \pm SD$)、及び変動係数 (CV) を同図に記した。CV は直接法で3.73%から13.56%、抽出法で3.41%から17.05%と測定間再現性として、良好であった。また、キッ

Table 2 Intraassay and Interassay precision of direct method

Samples	n	17-OHP $\bar{x} \pm SD$ (ng/ml)	CV (%)
Intraassay			
1	6	5.74±0.24	4.18
2	6	10.32±0.54	5.23
3	6	35.93±3.51	9.77
Interassay			
1	15	5.22±0.79	15.13
2	15	9.51±1.63	17.14
3	15	41.48±5.68	13.69

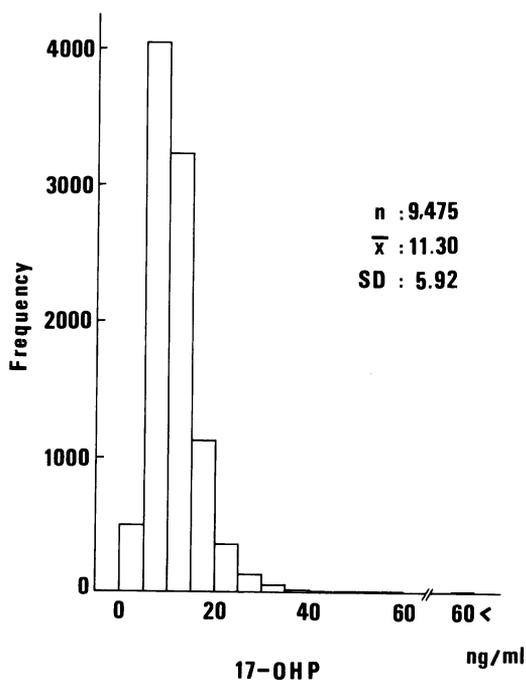


Fig. 4 Distribution of 17-OHP in newborn babies by the direct method

Table 3 The result of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia in Hokkaido (1989.1-1989.3)

No. of tested	No. of repeated	No. of recalled	No. of medical examination	No. of patients
9,552	491 (5.11%)	57 (0.60%)	3	1

トに添付された3濃度の精度管理用コントロール血液濾紙を用いて同一検体の測定値の変動を調べた。1回の測定内 (Intraassay) における変動及び日を異にして行なった測定間 (Interassay) の変動を Table 2 に示した。

(2) 新生児乾燥濾紙血液17-OHPの濃度分布：Fig. 4に9,475検体について、直接法により測定した17-OHP濃度分布を示した。平均値 (\bar{x}) は11.30ng/ml、標準偏差 (SD) は5.92であった。全体の約3%が、 $\bar{x} + 2 SD$ 以上の値を示し、30ng/ml以上は約1% (102件)、60ng/ml以上の異常高値を示したものは7件であった。

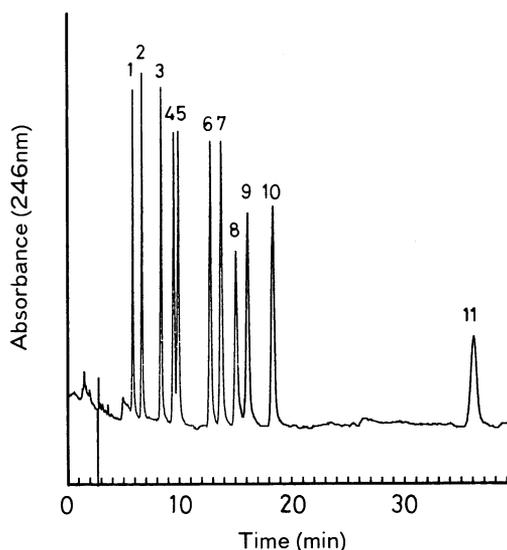


Fig. 5 Typical chromatogram of standard mixture of steroids and internal steroid, 19-NT. Standard mixture and 19-NT were chromatographed on a column of ERC-ODS-1171 (6mm×150mm) which was previously equilibrated with methanol/acetonitrile/H₂O (55:3:42). The elution was carried out with a flow rate of 1.3ml/min at 40°C. Steroids were located by measuring the absorbance at 246nm. 1: E, 2: F, 3: 21-DOF, 4: B, 5: S, 6: 19-NT, 7: Δ4-AD, 8: DOC, 9: 2 T, 10: 17-OHP, 11: P.

2. HPLCによるステロイドの分析

(1) 標準ステロイドのクロマトグラム：Fig. 5に10種の標準ステロイドと内部標準物質（19-NT）のクロマトグラムを示した。各ステロイドの分離は良好であった。

(2) 正常新生児、及びCAH患児の乾燥濾紙血液のクロマトグラム：Fig. 6に正常新生児と、CAH患児の6日目と10日目の乾燥濾紙血液のクロマトグラムを示した。正常新生児ではF以外は同定されないが、患児では6日目には17-OHP、F、21-DOFが、10日目には17-OHP、F、21-DOF、 $\Delta 4$ -ADなど他多数の未同定ピークが出現していた。

3. スクリーニング成績

1989年1月から1989年3月までのマス・スクリーニング

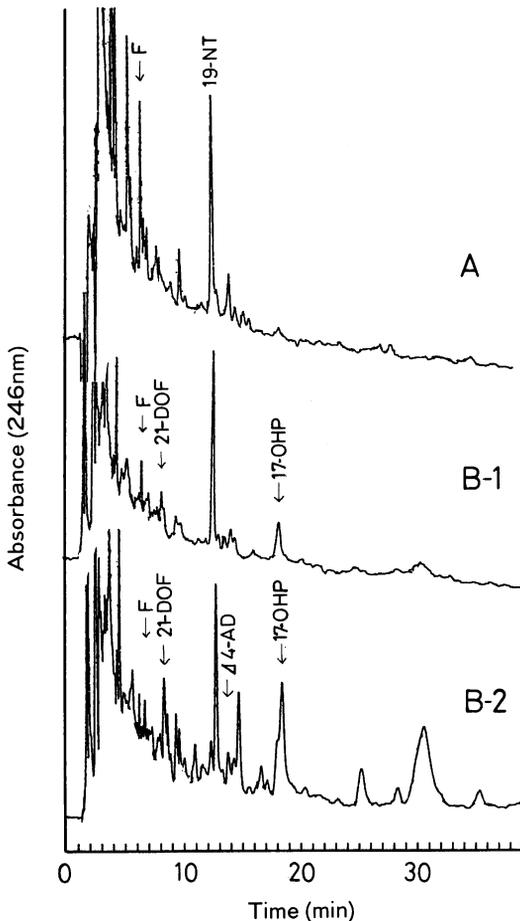


Fig. 6 High performance liquid chromatography elution profiles of filter paper blood. Sample of normal infant (A), the initial (B-1) and the second (B-2) sample of the CAH patient. Samples were chromatographed under the same conditions as in Fig. 5

Table 4 Clinical and laboratory data of a patient with Congenital Adrenal Hyperplasia

Age (days)	0	6	10	12
Poor Wt. gain	-	-	-	-
Poor sucking	-	-	-	+
Genital ambiguity	?			+
Hyperpigmentation	-			+
Vomiting, Diarrhea	-			+
Dehydration	-			+
Steroids				
ELISA (ng/ml)				
17-OHP (Direct)		618.8	2597.4	
(Extract)		225.9	552.5	
F (Direct)		45.0	47.5	
HPLC (ng/ml)				
17-OHP		136.9	423.1	
21-DOF		77.4	232.2	
$\Delta 4$ -AD			102.9	
F		111.6	85.8	
Serum Electrolyte				
Na (mEq/l)				131
K (mEq/l)				9.8

Pathological diagnosis: Congenital Adrenal Hyperplasia

Genetic Sex: M

成績を Table 3にまとめた。総検査数は9,552件で、抽出法による再測定検査数は491件 (5.14%)、このうち再採血を依頼したのは57件 (0.60%)で、低出生体重児32人が含まれていた。精密検査対象となったものは3件で、そのうち2件は再検査2回目まで17-OHP濃度が軽度高値を持続していたので精密検査を依頼したが、その後の検査で正常値となり現在経過観察中である。他の1例については、精密検査を依頼する前に生後12日目で嚥下性窒息により死亡し、CAH患児と診断された。Table 4に本死亡症例の理学的及び検査学的所見をまとめた。乾燥濾紙血液中の17-OHPは、生後6日目で136.9ng/ml、10日目には423.1ng/mlと急激に上昇していた。また、HPLCにより17-OHPの他、F、21-DOF、 $\Delta 4$ -AD等が同定された。

4. 17-OHP異常値を示した新生児例

初回検査（直接法）で17-OHPが60ng/ml以上を示した新生児は患児1名を含む7例であった。患児 (Table 5: 例1) 以外は全例2,500g以下の低出生体重児で、さらにその6例中5例は2,000g以下であり、いずれも再検査による経過観察の過程で、17-OHPの値は正常値となった (Table 5)。

Table 5 Follow-up of 17-OHP, F and 17-OHP/F in newborn infants showed abnormal level of 17-OHP by screening

		Initial test	Second test	Third test	Fourth test	Fifth test	Sixth test	Seventh test
1	Age	6day	10day					
	Weight	3.380g	3.380g					
	Direct ^a	> 158.87ng/ml	> 169.58ng/ml					
	Extract ^b	250.11ng/ml	317.30ng/ml					
	17-OHP/F ^c	> 3.53	> 3.57					
2	Age	9day	25day	32day	35day	44day	51day	55day
	weight	640g	670g	750g	790g	866g	848g	842g
	Direct	113.48ng/ml	86.52ng/ml	82.95ng/ml	80.04ng/ml	98.32ng/ml	63.55ng/ml	12.75ng/ml
	Extract	47.27ng/ml	15.28ng/ml	32.39ng/ml	25.53ng/ml	17.08ng/ml	22.95ng/ml	4.23ng/ml
	17-OHP/F	1.21	1.02	2.98	2.02	1.07	0.15	0.06
3	Age	7day	33day	47day				
	weight	982g	838g	936g				
	Direct	82.96ng/ml	11.16ng/ml	17.25ng/ml				
	Extract	35.01ng/ml	6.21ng/ml	13.01ng/ml				
4	Age	7day	18day	22day	29day			
	weight	2,114g	2,095g	2,122g	2,098g			
	Direct	62.51ng/ml	20.99ng/ml	23.64ng/ml	39.49ng/ml			
	Extract	24.36ng/ml	5.39ng/ml	5.34ng/ml	6.77ng/ml			
5	Age	8day	15day	17day	18day	21day	61day	
	weight	1,408g	1,480g	1,510g	1,510g	1,535g	2,610g	
	Direct	64.53ng/ml	47.44ng/ml	52.59ng/ml	49.60ng/ml	66.41ng/ml	27.96ng/ml	
	Extract	54.69ng/ml	24.36ng/ml	23.15ng/ml	23.98ng/ml	30.81ng/ml	5.98ng/ml	
6	Age	5day	27day	50day				
	weight	535g	590g	1,027g				
	Direct	72.63ng/ml	63.03ng/ml	18.26ng/ml				
	Extract	7.46ng/ml	16.98ng/ml	2.74ng/ml				
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220g	1,465g					
	Direct	72.08ng/ml	11.7ng/ml					
	Extract	19.67ng/ml	3.96ng/ml					
7	Age	10day	24day					
	weight	1,220						

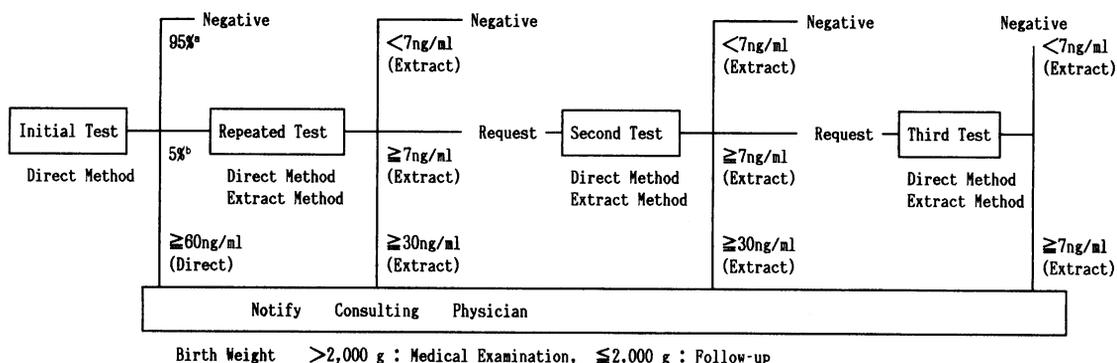


Fig. 7 Protocol for newborn screening and following program for 21-hydroxylase deficiency in Hokkaido. ^a: Samples with disc 17-OHP value under 95th percentile of the assay. ^b: Samples with disc 17-OHP value above 95th percentile of the assay

Age (days)	Condition of the Infant		Screening				
	Weight	Sacking	ELISA of 17-OHP		HPLC		
			Initial Sample	Second Sample			
0	Birth	3,490 g +					
6	Initial Bleeding	3,380 g +					
8			Initial Sample Receipt	Direct method			
9			Contact by Phone	Result (high level)			
10	Second Bleeding Discharge	3,380 g +					
12	Asphyxiation due to Milk Aspiration	-	Second Sample Receipt	Extract method	Direct method	Extract method	Identification of several steroids
13					Result (high level)		
14				Result (high level)		Result (high level)	

Fig. 8 The progress of tests for the CAH patient

医学部付属病院小児科)に連絡する。コンサルタント医師から産科医療機関に臨床症状が確認され、体重が2000gを越えている場合は適当な精密検査医療機関での受診が、また体重が2000g以下の場合は再採血による再検査を随時行い経過観察することが指示される。また再測定に於ける抽出法での値が異常高値(≥30ng/ml)の場合も上記と同様の指示がされる。一方、17-OHP値が軽度高値(抽出法: ≥7 ng/ml)の場合は、産科医療機関に再採血を依頼し、直接法及び抽出法で再検査を行い、17-OHP値の軽度高値が

3度持続していればコンサルタント医師に連絡し上記と同様、体重を考慮して対処する。この他に、出生時または新生児早期の臨床所見や家族歴等からCAHが疑われ送られてきた検体については、直ちに17-OHPを直接法、抽出法で測定すると同時に、HPLCによりステロイドホルモンの一斉分析を行う。

考 察

17-OHP測定キット「エンザプレート17α-OHP」は、標

準曲線、再現性、直接法における操作の簡便性の点で有用であった。マス・スクリーニングにおいては再採血基準となるカットオフ値の設定が重要なポイントとなる。また、マス・スクリーニングに於ける再検査率は、0.5-0.6%を超えないことが望ましい。カットオフ値として $\bar{x} + 2$ SD 値がよく採用されるが、本キット直接法による17-OHP 濃度分布に見られるように $\bar{x} + 2$ SD 以上の値をとるものは約3%と高くマス・スクリーニングに於けるカットオフ値としては不適當であった。一方、抗17-OHP 抗体の交差反応性のため、直接法で30ng/ml 以上の高値を示しても抽出法で低値となる例も多数あり、直接法の値だけで判断すると偽陽性が多くなると予想される。さらに、今までに、血中17-OHP 濃度が14ng/ml の単純男性型患児が発見されており¹⁸⁾、このような患児を見逃さないようなカットオフ値を設定する必要がある。従って精度の良い抽出法の併用が必要であった。現在までのところ抽出法で7 ng/ml をカットオフ値に設定しており、総検査数9,552件のうち再検査57件(0.60%)と、本スクリーニング開始当初としては妥当な再検査率を得ている。しかし、抽出法は操作が煩雑で検査結果を得るまでの時間が長く(Fig. 2)、緊急を要する本症のスクリーニング実施上の問題点となっている。また、初回測定で17-OHP が高値を示した同一検体が再測定で低値となった例を経験している。現在のところ原因が不明であり、今後の検討が必要である。

HPLC によるステロイドの測定は、乾燥濾紙血液1スポットを要し、操作もやや煩雑ではあるが、迅速で再現性よく多項目のステロイドを測定できる。従って、正常では検出されないステロイドホルモンが異常に増加するCAH の確定診断には有効である。また、より早期診断・治療のために、1次スクリーニングにおいて異常高値の場合、抽出法等の結果を待たず HPLC によるステロイドの迅速分析を併用することが可能であろう。

マス・スクリーニングのシステムは、偽陽性をできるだけ少なくし、偽陰性を皆無とするように設定しなければならない。特に、CAH の治療にはステロイド剤を使用するため、偽陽性児に予防的に治療を行うのはかえって危険である。従って、判定の適確性が必要とされる。しかし、一方、本症は発生頻度が高いのみでなく、従来のスクリーニング対象疾患のうちメープルシロップ尿症やガラクトース血症と同様、可及的に即応する必要がある。この特殊性を十分考慮したシステムの重要性を指摘した例として、Fig. 8 に本スクリーニング期間に確認された CAH 患児についての検査経過を示した。本症例は、1) 初回検査後の電話連絡時点で新生児に CAH を疑わせる臨床症状が明かでないこと、2) 検査過程に休日を含んだこと、3) ミルクの

誤飲により窒息を起こしたこと等が重なり、不幸にして救命できなかった例である。発症が生後11-12日と早いばかりでなく、臨床症状がでてから死に至るまでが極めて短期間であり、検査の緊急性を指摘するものである。従って、誤判定をさけるための再測定あるいは抽出法等による確認検査の結果を待たず医療機関に連絡し、速やかに対応できる体制(Fig. 7)を整えておく必要があると考えられる。

一方、低出生体重児では、患児でなくても17-OHP 値が高いことがあることが知られている¹⁹⁾。本スクリーニングにおいても、再採血を依頼した57件のうち32件(56%)が低出生体重児($\leq 2,500$ g)、18件(32%)が体重2,000g 以下であった。また、異常高値を示した7例中、患児1人以外の6例が低出生体重児であり、いずれの場合も経過観察によって17-OHP が正常値に下がったことを確認した。特に、その6例中5例が2,000g 以下であったことから、2,000g 以下の新生児が異常高値を示した場合には、コンサルタント医師、及び産科医療機関と連絡をとりながら経過観察すること(Fig. 7)によって、偽陽性の精密検査を少なくすることができることが示唆された。また、軽度高値による再採血についても、今後集積されるデータをもとに、出生体重を考慮した判定基準が確立されることがのぞまれる。

偽陽性を少なくする方法の1つとして、ストレスや低出生体重児の場合は、17-OHP と共にコルチゾール濃度も上昇することから、17-OHP とコルチゾールの比を、判定基準とする方法²⁰⁾についても、現在検討している。

今後、CAH マス・スクリーニングは、本症が緊急を要する疾患であると同時に治療が CAH 専門医の元で行われるべきである等、その特殊性を考慮し、産科医療機関、検査施設、行政機関、及び治療機関の連携を密にして迅速適切な対応を図っていく必要があると考える。

要 約

北海道では1989年1月から、副腎過形成症(CAH)マス・スクリーニングを開始した。検査結果は以下の通りである。

1. 3月までに札幌市を除く北海道全域で生まれた新生児9,552名を対象として検査を行った。酵素免疫測定法を用いた17-OHP 測定キットは、標準曲線、再現性、及び直接法における操作の簡便性の点で有用であったが、抗体の交差反応性のため測定値が高くなることがあり、抽出法により交差反応性のある成分を除いて測定することが必要であった。従って、直接法による上位5%について抽出法による再測定を行い7 ng/ml 以上の場合再採血を依頼した。成績は、再測定検査数491件(5.14%)、再採血数57件(0.60%)、精密検査数3件であった。
2. 精密検査3件のうち1件が CAH 患児であった。乾燥

濾紙血液中の17-OHPは、生後6日目には136.9ng/ml、生後10日目には423.1ng/mlと急激に上昇し、また、HPLCによりF, 21-DOF, 44-ADが同定された。この患児は、生後11-12日まで顕著な臨床症状が見られず、生後12日目に嚥下性窒息により死亡した。この例は、本症スクリーニングシステムにおける可及的即応の重要性を指摘するものである。

3. 再採血を依頼した57件のうち18件(32%)、また、17-OHP異常高値(≥60ng/ml)を示した7例中5例が体重2,000g以下の低出生体重児で、いずれも、1-6回の再検査で正常値となった。この知見から、出生体重を考慮したスクリーニングシステムが必要であることが示唆された。

文 献

- 1) 諏訪誠三他：日児誌，85，204 (1981)
- 2) Naruse, H., *et al.* : 458, 103 (1985).
- 3) Fujieda, K., *et al.* : Advances in Neonatal Screening (Therrell, B. L., ed.), Amsterdam : Excerpta Medica, 281 (1986).
- 4) 富士 勝他：日内分泌誌，62，683 (1986).
- 5) 下澤和彦：日内分泌誌，59，1860 (1983).
- 6) 下澤和彦他：代謝異常スクリーニング研究会会報，9，124 (1986).
- 7) 成瀬 浩他：厚生省心身障害研究「新しいマス・スクリーニングの開発に関する研究」昭和59年度報告書，252 (1985).
- 8) Ichihara, N., *et al.* : Advances in Neonatal Screening (Therrell, B. L., ed.), Amsterdam : Excerpta Medica, 147 (1987).
- 9) 市原 侃他：機器・試薬，10，1151 (1987).
- 10) 市原 侃他：第15回代謝異常スクリーニング研究会抄録集，41，(1987).
- 11) 市原 侃他：機器・試薬，11，631 (1988).
- 12) 諏訪誠三：ホルモンと臨床，36，1007 (1988).
- 13) Shimozawa, K. *et al.* : Acta Endocrinology, 107, 513 (1984).
- 14) 疋田良典：日内分泌誌，61，197 (1985).
- 15) 高杉信男：日本医事新報，3327 (1988).
- 16) Suwa, S., *et al.* : International Symposium on Pediatric Endocrinology, abstracts, 56 (1988).
- 17) 水嶋好清他：日内分泌誌，63，102 (1987).
- 18) 富士 勝他：第15回代謝異常スクリーニング研究会抄録集，33 (1987).
- 19) 下澤和彦：東京都予防医学協会年報，18，173(1987).
- 20) 藤枝憲二他：医学のあゆみ，138，989 (1986).

英 文 要 約

Neonatal mass-screening for congenital adrenal hyperplasia (CAH) in Hokkaido was started in January, 1989. During the study period of 3 months, 9,552 neonates were tested by enzyme linked immunosorbent assay. 17-OHP was reexamined after ether extraction in subjects with 17-OHP values higher than the 95th percentile. With setting the cut-off point at 7ng/ml in the extraction method, 57 neonates (0.60%) were recalled, and 3 neonates needed medical examination.

Amongst these 3 neonates, one CAH patient was included. This sample showed significant elevation of 17-hydroxyprogesterone. And 21-deoxycortisol, 44-androstendione, and cortisol were identified by HPLC. This CAH patient was suffocated to death due to milk aspiration on the twelfth day after his birth. This case made considerable point of a prompt dispatch in a screening.

Analysis of recall cases showed that one third recall samples derived from the low birth weight infants. Further, five from 7 neonates showed high level of 17-OHP (≥60ng/ml) were low birth weight infants under 2,000g. These results suggest our taking the birth weight into consideration in a screening system.

Key Words : congenital adrenal hyperplasia, 17-hydroxyprogesterone, mass-screening, neonate, Hokkaido