

札幌市における新生児ウィルソン病マス・スクリーニングの 実施成績と見逃し例について

野町 祥介 中澤 恵実理 野呂 奈津子 田上 泰子 水嶋 好清 尾崎 恒一
藤田 晃三 福士 勝^{*1} 山口 昭弘^{*2} 堤 裕幸^{*2} 窪田 満^{*3}

要 旨

札幌市では新生児乾燥濾紙血液を用いて血中セルロプラスミン濃度を測定することにより, 1995年4月からウィルソン病の新生児マス・スクリーニングを行っている。2001年3月までに104,117名の新生児を検査し, 1名を精査としたが, 患者の発見には至っていない。

また, 1996年に本マス・スクリーニングにおいて正常判定された児の1人が, ウィルソン病患者と判明した。これをふまえ, 再採血基準の見直し, あるいは別の時期でのスクリーニングなどの方法について検討する必要がある。

1. 緒 言

ウィルソン病は常染色体劣性遺伝の先天性銅代謝異常症であり, 細胞膜上に存在する銅膜輸送蛋白ATP7Baseをコードしている13番染色体長腕14.3に座位するATP7Bが責任遺伝子として同定されている。

同病は肝臓, 大脳中枢神経, 角膜あるいは腎臓などの諸臓器, 組織に銅が過剰蓄積することにより, 肝障害, 進行性錐体外路症状, Kayser-Fleischer 角膜輪などの症状を示す。その臨床像は多様で, 肝型, 神経型, 劇症型, 発症前型に大別され, 重症例においては, 小児期に劇症肝炎様で発病から数週間うちに不幸な転帰をとる例がある。しかし, 多臓器障害が出現する前に診断することができれば, 銅キレート薬投与により効果的な治療が期待できる疾患である。札幌市では1995年4月から, 現行の先天性代謝異常症等の新生児スクリーニングシステムに準じて, ウィルソン病のスクリーニングを実施してきた。ここでは2001年3月までの

6年間の結果をまとめ, 報告する。

2. 対象と方法

2-1 対 象

札幌市内で, 1995年4月から2001年3月までに出生した新生児104,117人をスクリーニング対象とした。

2-2 方 法

ウィルソン病患者においては顕著に血中の銅輸送蛋白セルロプラスミン(ceruloplasmin 以下 CP)の濃度が低下することから, CP測定によりウィルソン病新生児スクリーニングを実施した。また, 測定に用いた方法は以下の3つの時期において異なる。

(1) 1995年4月～1995年7月(以下, 初期)

ELISA法によりモノクローナル抗体を用い, 銅と結合したCP(ホ口体)を測定。

(2) 1995年8月～1998年8月(以下, 前期)

ELISA法によりポリクローナル抗体を用い, 全

*1 札幌市保健福祉局生活衛生部

*2 札幌医科大学

*3 北海道大学医学部

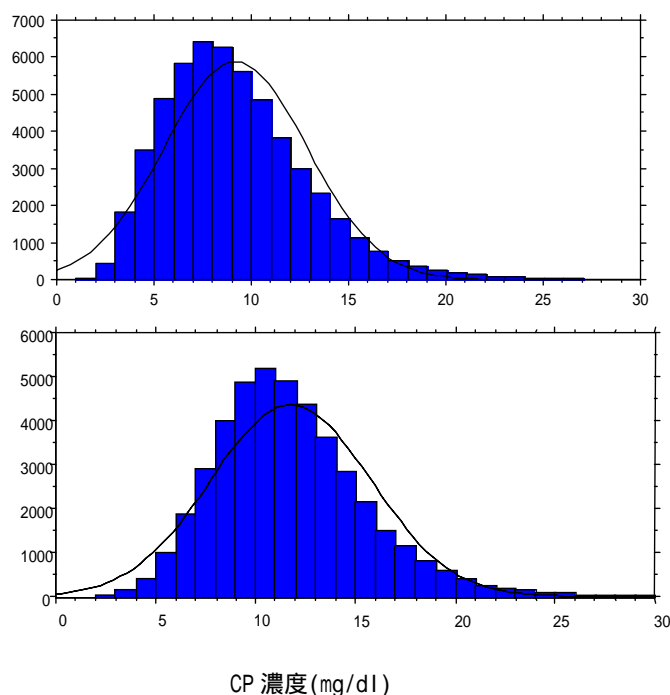
表1 '95-'00年度の新生児ウィルソン病マスキングの結果

時期	検体数	CP濃度 (mg/dl)		再採血数 (%)	再採血数に占める低出生体重児(2,000g以下)の数(%)	初回測定値が4mg/dlを下回った例数(%)
		平均値	標準偏差			
初期	6,104	12.06	6.11	3 (0.049%)	0	61 (1.00%)
前期	54,070	9.19	3.68	51 (0.094%)	10 (18.5%)	2,318 (4.29%)
後期	43,943	11.78	4.01	188 (0.43%)	96 (51.1%)	240 (0.55%)
総計	104,117			242 (0.23%)	106 (43.8%)	

図1
新生児濾紙血液による血清中 CP 濃度の測定結果を示したヒストグラム。

上: 前期 ELISA 法による測定結果

下: 後期 ネフェロメトリー法による測定結果



CP 量 (ホ口体 + アポ体) を測定。

(3) 1998 年 9 月 ~ 2001 年 3 月 (以下, 後期)

ネフェロメトリーを原理とする全自動免疫化学分析装置により, 全 CP 量 (ホ口体 + アポ体) を測定。

これらの基礎的検討は既報¹⁻⁴⁾にまとめた。また, 全法において, 一次検査のカットオフ値は 4mg/dl を用い, これを下回った検体について再検査を行い, 再度カットオフ値を下回った検体について 1 ヶ月後の再採血を依頼した。

3. 結果

3-1 全体のデータ

1995 年 4 月 ~ 2001 年 3 月の新生児濾紙血液を用いた血清中 CP 濃度の測定結果を表1に示す。

これまで, 104,117 人の新生児について検査を行い, 96 年に 1 名を精査としたが, 患者の発見には至ってい

ない。これらの測定による新生児血清中の CP 濃度分布をヒストグラムにより示したものが図1である。ネフェロメトリー法を用いた後期の方が, やや高濃度域にシフトしているが, 特に後期の結果はほぼ正規分布を示した。

3-2 CP 濃度の採血時体重依存性

表1に示したように, 出生時体重 2,000g 以下の低出生体重児において高い再採血率を示す傾向が認められた。出生時体重 2,000g 以下の児が全体に占める割合はおおよそ 1.5%程度であるにもかかわらず, 再採血判定となった 242 例中 106 例(43.8%)が出生時体重 2,000g 以下の低出生体重児であった。

今回の測定成績に基づき、血清中 CP 濃度値と採血時体重を図2に示すが、CP 濃度は採血時体重が小さいほど低い。

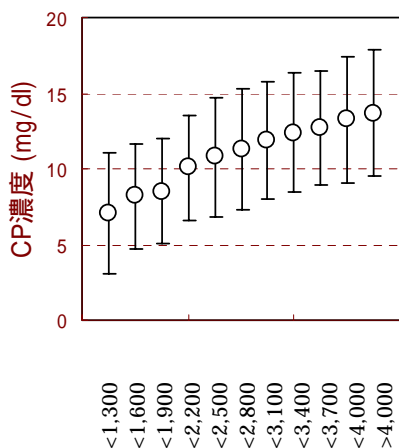


図2 C P 濃度と採血時体重

3-3 見逃し例

1996年に札幌市におけるウィルソン病新生児マス・スクリーニングにおいて正常判定された児が2001年1月ウィルソン病と確定診断された。本例検体は1996年8月28日に受けられ、8月30日にELISA法により、同時期に受けられた計238件と同時に1次検査が行われた。全件の測定値平均±標準偏差は、11.00±3.17mg/dlで、本例は238件中最も低い値(3.8mg/dl)を示した。測定値を出生体重によりプロットしたものを図3に示す。本例はカットオフ値(4.0mg/dl)を下回ったため、9月3日の検査で、新規検体122件とともに、再度測定を行った(全件:11.60±3.40mg/dl)。その結果を図4に示す。本例は2度の測定の結果、それぞれ5.4mg/dl、4.7mg/dlとカットオフ値を上回り、9月4日に正常と判定された。一方、低体重の2例がそれぞれ測定値2.1mg/dl、4.1mg/dlと低値を示し、次回検査でも同様の測定値だったため再採血判定となった。

本例は、1999年2月(2歳半時)、感冒にて市内小児科を受診し、血液検査にて肝機能異常(GOT 44IU/l、GPT 268IU/l)を示した。グリチロン、タチオンなどの経口薬治療にて経過観察したが改善せず、札幌医科大

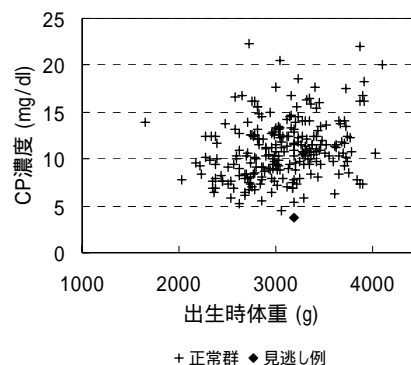


図3 8月30日のCP測定結果

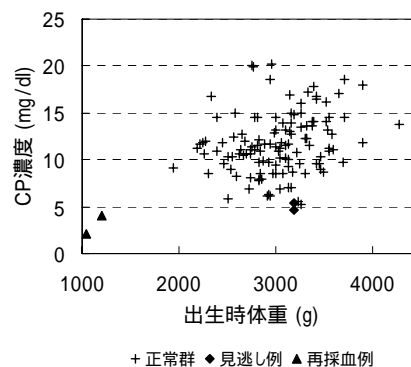


図4 9月3日のCP測定結果

学を紹介され、CP低値(血清中濃度1.0mg/dl以下)が発見された。身体発育、精神運動ともに正常で、腹部エコー、頭部MRI、眼科的にも異常なく、尿中銅排泄量の増加も明らかには認められない。肝臓肥大を認め、銅制限食が開始され、現在銅キレート剤を投与されている。

また、本例は、当所におけるウィルソン病責任遺伝子ATP7Bの変異解析⁵⁾によりEx14 A1063V (GCG>GTG)、Ex18 N1270S (AAT>AGT)の二つのヘテロ病因変異が同定され、2001年1月25日に同病と確定診断された。

4. 考察

1995年4月から開始された乾燥濾紙血検体による札幌市新生児ウィルソン病マス・スクリーニングではこれまで約10万人の新生児を検査したが、患児は見出されず、今回はじめて見逃し例が出た。

ウィルソン病の発症頻度は、様々な報告があるが、最近の報告では、およそ35,000人に1人(保因者は90人に1人)とされている⁶⁾。札幌市では小児慢性疾患

受給者台帳に4名の登録があり、今回の1名を加え、該当する世代の人口から単純に計算すると5/320,000で約64,000人に1人となる。ただし母集団には“発症前患者”が含まれていると考えられ、一般的な頻度から考えると今回が唯一の見逃し例とは考え難い。

今回の見逃し例は初回検査で正常と判定されたが、現在の再採血率(約0.5%)では再採血判定になっていた可能性が高い。しかし、新生児期のCP濃度を指標としたスクリーニングで多くの患者を見出せるかは疑問である。一方、全国のパイロットスタディでは、宮城県の1~6歳時の希望者採血検査⁷⁾、東京都の学童検尿を用いたCP断片測定⁸⁾⁹⁾などで効率的に患者が見つかっている。

今回の見逃し例は、臨床像と遺伝子型¹⁰⁾から神経系や肝に重篤なダメージをあたえる重症例とは異なることが考えられるため、重症例が現行の新生児期マス・スクリーニングで見出されるかについては、さらなる検討が必要である。しかし、今回の見逃し例は、新生児期の検査において3.8~5.4mg/dlの低いCP濃度を示していたが、発症時に1.0mg/dl以下とより一層低下していた。新生児期に行う現行のスクリーニングで見逃さないための対応策として再採血基準の見直しも考えられる。しかし、3~4万人に1人の発症頻度の疾患を対象とする検査であることを考えると、さらに再採血率を上げることは好ましくないと考えられる。

新生児期のマス・スクリーニングは困難であるが、ウィルソン病のマス・スクリーニングは費用対効果の面でも有効であることから、今後は時期を幼児期に移行し、生尿を検体とした検査に移行していくことが望ましい。

5. 結語

現行の先天性代謝異常症等の新生児スクリーニングシステムに準じて行ったウィルソン病のスクリーニングでは、高頻度に見逃し例がる可能性がある。今後は幼児期の生尿検体によるスクリーニングについて検討を進める予定である。

6. 文献

- 1) 荒島真一郎, 福士 勝, 山口昭弘, 他: ウィルソン病の新生児マス・スクリーニングの検討, 平成5年度厚生心身障害研究報告書 143-146, 1993.
- 2) 水嶋好清, 山口昭弘, 福士 勝, 他: ウィルソン病マス・スクリーニングの基礎的検討, 札幌市衛生研究所年報, 19, 79-85, 1992.
- 3) 山口昭弘, 中澤恵実理, 石橋麻里子, 他: 札幌市におけるWilson病の新生児マス・スクリーニング, 札幌市衛生研究所年報, 22, 66-71, 1995.
- 4) 野町祥介, 三浦友未佳, 田上泰子, 他: ネフェロメトリーによるウィルソン病マス・スクリーニング, 札幌市衛生研究所年報, 26, 43-46, 1999.
- 5) 野町祥介, 田上泰子, 水嶋好清, 他: ウィルソン病患者における責任遺伝子ATP7Bの解析, 札幌市衛生研究所年報, 27, 46-51, 2000.
- 6) JR Forbes DW Cox: Functional Characterization of Missense Mutations in ATP7B: Wilson Disease Mutation or Normal Variant?: *Am.J.Hum.Genet.* 63: 1663-1674, 1998.
- 7) 大浦敏博, 白石広行, 多田啓也: 1~6歳児を対象としたウィルソン病マススクリーニングの検討, 平成10年度厚生科学研究報告書 346-347, 1998
- 8) 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, 平成10年度厚生科学研究報告書 360-361, 1998.
- 9) 鈴木 健, 大和田操, 穴澤 昭, 他: 尿セルロプラスミン測定によるWilson病スクリーニング法の検討, 日本小児科学会雑誌 105(8), 846-852, 2001.
- 10) 山口昭弘: 医療に貢献している分子生物学の進歩その1 - PCR 直接塩基配列解析によるウィルソン病のDNA診断 -, 日本マス・スクリーニング学会誌 7: 47-55, 1997.

Newborn Screening for Wilson Disease in Sapporo City from April 1995 to March 2001 and an Overlooked Case

Shosuke Nomachi, Emiri Nakazawa, Natsuko Noro, Yasuko Tagami,
Yoshikiyo Mizushima, Tsuneichi Ozaki, Kozo Fujita,
Masaru Fukushi ^{*1}, Akihiro Yamaguchi ^{*2}, Hiroyuki Tsutsumi ^{*2}, Mitsuru Kubota ^{*3}

In Sapporo, newborn screening for Wilson disease has been carried out by measuring the concentrations of ceruloplasmin(CP) in dry blood sample on filter paper since April 1995. From April 1995 to March 2000, 104,117 newborn infants were screened but no patient was detected. In 2000, a two-year-old infant was diagnosed as Wilson disease clinically and it was confirmed by our analysis for responsible gene. This patient had been judged as normal by our newborn screening. Based on these facts, we are going to investigate another screening method for Wilson disease using fresh urine from 14-month-old infants together our neuroblastoma screening.

* 1 Department of Public Sanitation, Health and Welfare Bureau of Sapporo City

* 2 Sapporo Medical University

* 3 Department of Pediatrics, Hokkaido University School of Medicine