

# 札幌市における先天性代謝異常スクリーニングの概況について (第3報)

## Report on Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism in Sapporo City (Part III)

浅野みね子 辻 慶子 熊谷 泰光  
前田 博之 林 英夫 高杉 信男  
荒島真一郎\* 土山 晃\*\* 大柳 和彦\*\*

Mineko Asano, Keiko Tsuji, Yasumitsu Kumagai,  
Hiroyuki Maeda, Hideo Hayashi, Nobuo Takasugi,  
Shinichiro Arashima,\* Akira Tsuchiyama,\*\* and Kazuhiko Ohyanagi,\*\*

### 1 緒 言

札幌市は昭和52年4月から先天性代謝異常スクリーニングを実施してきたが、58年9月までに131,890名の新生児を対象に検査を行った。その結果、フェニールケトン尿症2名の他多くの患者が発見され治療を受けている。ガラクトース血症検査のペイゲン法について若干検討を試みた。当所で使用している大腸菌とファージの電子顕微鏡写真を掲載した。

### 2 方 法

札幌市衛生研究所年報54年7号<sup>1)</sup>で報告した方法と同様である。なお年度別採血日齢は各年度毎に500検体をコンピューターで抽出し調査に供した。顕微鏡写真は日立電子顕微鏡H-800を使用した。

### 3 結 果

昭和52年4月から58年9月16日までに、札幌市内で出生した新生児131,890名を対象として先天

性代謝異常スクリーニングを実施した。その結果フェニールケトン尿症2名、ヒスチジン血症20名、メイプルシロップ尿症1名の真性患者を発見した。患者発生頻度はヒスチジン血症が $\frac{1}{6,340}$ で全国平均<sup>2)</sup> $\frac{1}{7,900}$ と有意差はなく、フェニールケトン尿症についても $\frac{1}{65,900}$ で全国平均の $\frac{1}{69,600}$ とよく一致していた。年度別検査結果は表1のとおりであった。初回採血での陽性率が最も高かったのはガラクトース血症0.25%であり、以下ホモシスチン尿症0.12%、ヒスチジン血症0.04%、メイプルシロップ尿症0.04%、フェニールケトン尿症0.03%と続いている。

ガラクトース血症検査はポイトラー法とペイゲン法を用いているが、ペイゲン法の陽性数がポイトラー法の約8倍であり、全精密検査中のペイゲン法陽性数は48.6%を占めていた。そこで本法の陽性者について調査を試みた。昭和53年4月から58年3月までの106,654件の検査で、本法陽性者の272検体中ガラクトース $8\frac{m\mu}{dl}$ 以上を示した者、

\* 北海道教育大学養護教育学科

\*\* 札幌医科大学小児科学教室

表1 先天性代謝異常マス・スクリーニング成績（昭和52年4月～昭和58年9月）

年度	検査項目 各数	フェニールケトン	ヒスチジン	ホモシスチン	メイプルシロップ	ガラクトース血清		合計
		尿症	尿症	尿症	尿症	ベイゲン法	ポイトラー法	
52	検査数	15,396	10,423	10,423	10,423	10,423	10,423	
	再検査数	2	5	4	9	1	0	21
	精密検査数	0	1	0	0	0	0	1
53	検査数	22,631	22,631	22,631	22,631	22,631	22,631	
	再検査数	21	14	9	3	6	4	57
	精密検査数	1	4	0	0	0	0	5
54	検査数	21,511	21,511	21,511	21,511	21,511	21,511	
	再検査数	8	18	9	1	78	4	118
	精密検査数	0	8	1	0	8	0	17
55	検査数	21,028	21,028	21,028	21,028	21,028	21,028	
	再検査数	5	6	28	11	69	6	125
	精密検査数	0	1	2	1	12	0	16
56	検査数	20,326	20,326	20,326	20,326	20,326	20,326	
	再検査数	1	10	58	7	52	7	135
	精密検査数	0	1	3	0	9	0	13
57	検査数	21,158	21,158	21,158	21,158	21,158	21,158	
	再検査数	4	9	38	10	66	8	135
	精密検査数	1	5	2	0	7	0	16
58	検査数	9,840	9,840	9,840	9,840	9,840	9,840	
	再検査数	4	1	9	7	16	8	45
	精密検査数	1	1	2	2	0	0	6
合計	検査数	131,890	126,917	126,917	126,917	126,917	126,917	
	再検査数	45	63	155	48	288	37	636
	精密検査数	3	21	11	3	36	0	74
合計	検査数							
	再検査数							
	精密検査数							

249 検体について採血日齢に基づいて分類した。

年度別採血日齢を各年度ごとに調査した結果を表2にまとめた。推定検体数は表2の昭和53年から57年までの合計数を用いて算出した。推定陽性率は  $\frac{\text{陽性数}}{\text{推定検体数}} \times 100$  で求めた。

陽性率は4日0.32%、5日0.25%、6日0.24%、7日0.19%と日齢増加に従って減少するが、7日以後は変化しない事が予測された。図1で○は2回目採血の結果再びベイゲン法陽性を示した検体

であるが、初回陽性検体中の再陽性率に注目すると、5日4.4%、6日12.5%、7日36.4%と、順次高率になる傾向をみた。

精密検査を受診した36名は、肝疾患、UDP-ガラクトース-4-エピメラーゼ欠損症と診断された者もあったが、古典的ガラクトース血症であるガラクトース-1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ欠損症は発見されていない。

ここで、ベイゲン法について若干検討したので



以下にその結果を報告する。

ペイゲン法は大腸菌 Q 396 がフェージ C 21 に吸着されると溶菌現象が起こるが、ガラクトースの存在で溶菌が阻止されることから大腸菌の生育量に相応するガラクトース含有量を測定する方法であり、ペイゲンによって発見され、先天性代謝異常検査に応用されている。当所では電子顕微鏡の使用によってペイゲン法に使用されている大腸菌とバクテリオフェージを撮影したので写真の一部を掲載する。(図2~図5)

本法は検査プレートを作製後数十日間冷蔵後も使用出来る極めて便利な方法であるが、日数経過に従って大腸菌の生育ゾーンの直径にどのような変化があるか、また同一プレート上での大きさの差(変動)についても調査した。プレート作製後27日間にわたり、標準ガラクトース血液  $8 \text{ mg/dl}$   $\frac{1}{8}$  インチディスク19個を置き、ディスクの周囲に生育した大腸菌の円の大きさの変化を調べた(表3)。

大きさの変動はあるものの27日経過後のプレートも十分判定出来た。また同一プレート上の直径の変動係数は、1.7%から5.0%の間であった。

更にガラクトース標準  $6 \text{ mg/dl}$ ,  $8 \text{ mg/dl}$ ,  $10 \text{ mg/dl}$  の生育円の大きさの変化を14日間にわたって測定した(図6)。

大腸菌、フェージともに少ない方が経日変化が少ないように観察された。

培地にラクトースを加える変法が吉田等によって報告された<sup>1)</sup>が、この方法についても検討した(図7)。

ラクトースを含まない培地に比べて経日的に生育円が著しく減少し、長期保存には不適であると思われた。

乾燥ろ紙血液中のガラクトースの経日変化を本法により肉眼測定した。ヘマトクリット55%O型

血液にガラクトース ( $8 \text{ mg/dl}$ ) を添加し乾燥血液ろ紙作製後シリカゲルとともに、室温、冷蔵、冷凍の3方法に保存しながら約6カ月間ガラクトースを測定した。室温では、18日までは変化がなく、その後徐々に低下し、177日後では  $4 \sim 6 \text{ mg/dl}$  の低下が測定された。冷蔵では86日後まで目立った変化はみられず、その後低下が観察され、177日まで  $1 \sim 3 \text{ mg/dl}$  の低下が測定された。冷凍保存では、測定値にバラつきはあるものの177日後もガラクトースは低下していないことが観察された(図8)。

#### 4 結 語

昭和52年から58年まで131,890名の新生児を対象に先天性代謝異常スクリーニングを実施し、フェニルケトン尿症2名、ヒスチジン血症20名、メイプルシロップ尿症1名、その他の代謝異常患者を発見した。ガラクトース血症陽性率は採血日齢が少ないほど高く、また日齢増加するとともに、持続型ガラクトース血症陽性者の発見率が高くなる傾向が予測された。

ペイゲン法で乾燥ろ紙血液中のガラクトースの経日変化を観察した結果、室温において18日間は変化がなく、その後減少が認められた。冷蔵保存においては86日後まで変化なくその後徐々に減少を示した。

#### 5 文 献

- 1 浅野みね子他：札幌市衛生研究所年報7, 79 - 82 (1979)
- 2 厚生省児童家庭局母子衛生課長：昭和57年度先天性代謝異常等検査の実施状況の結果について (1983)
- 3 吉田篤子他：代謝異常スクリーニング研究会会報4, 121 - 122 (1979)

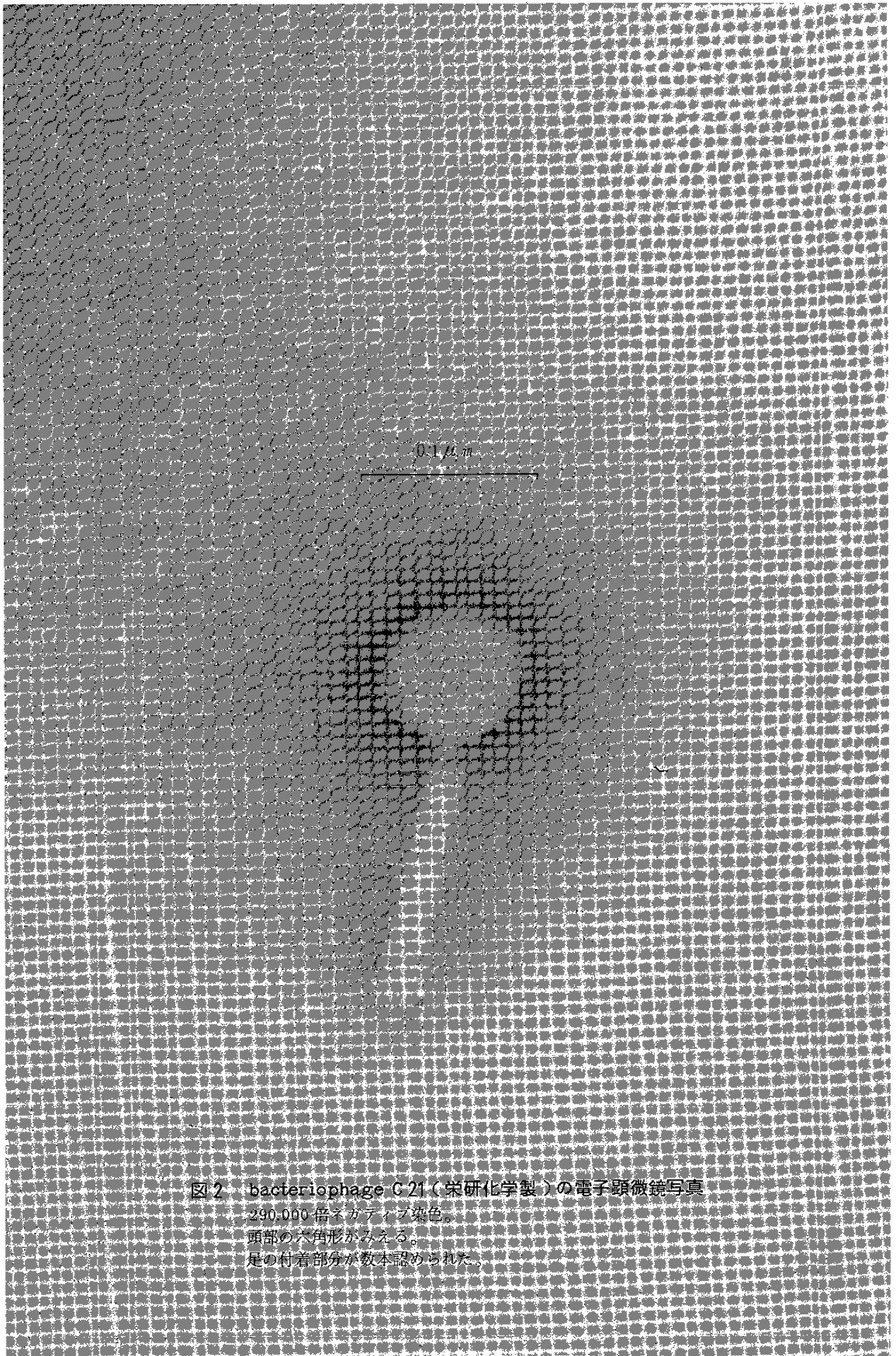


図2 bacteriophage C 21 (栄研化学製) の電子顕微鏡写真  
290,000 倍ネガティブ染色。  
頭部の六角形がみえる。  
足の付着部分が数本認められた。



図3 E. coli Q 396 (栄研化学製) 電子顕微鏡写真  
46,000倍ネガティブ染色。  
100本以上の線毛に覆われている。  
外膜が粗面に見えるのはR型菌か。

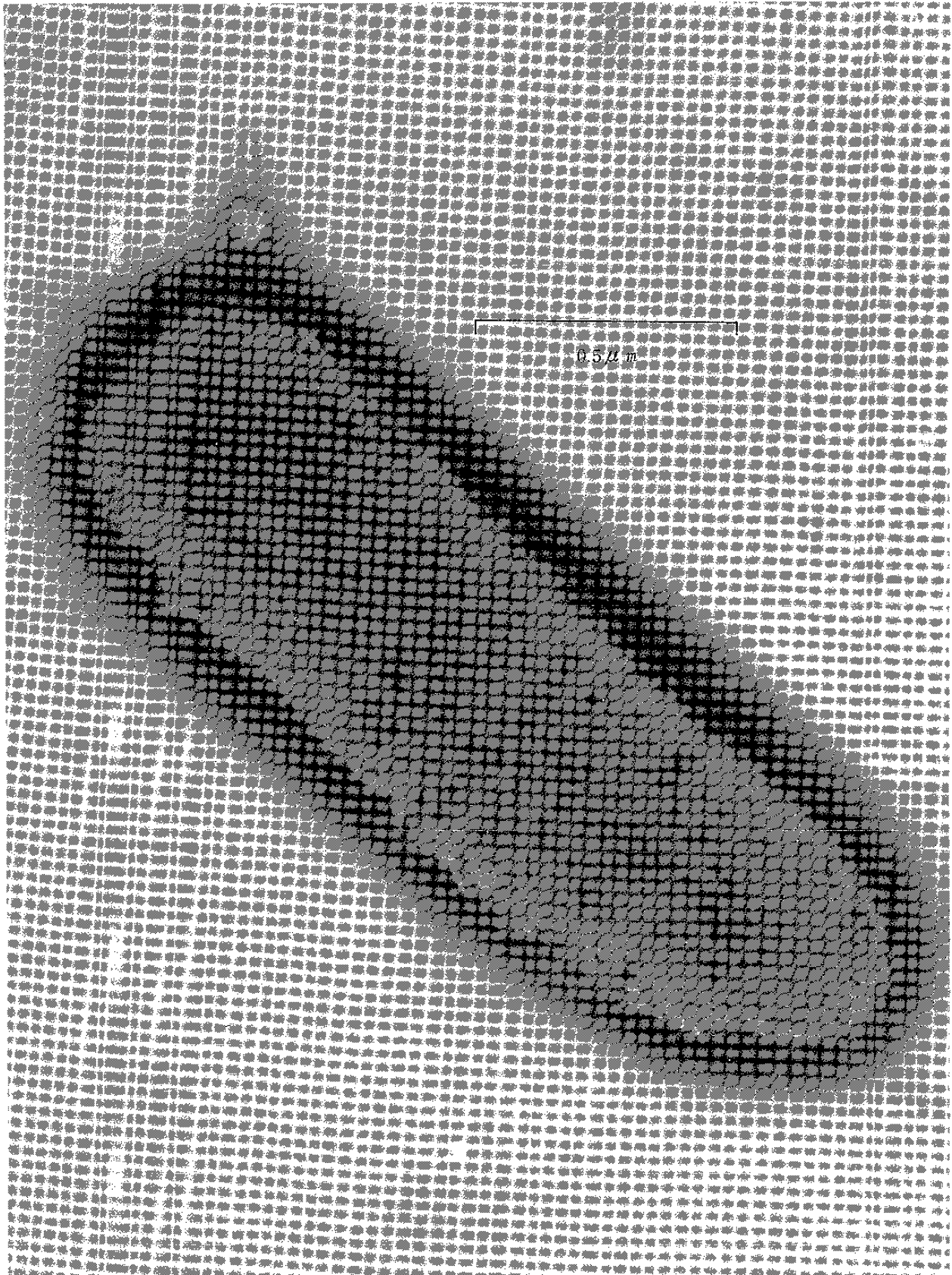


図4 E. coli Q396とBacteriophage C21

(栄研化学製)の電子顕微鏡写真

82,000倍ネガネグ染色。

BacteriophageはE. coliの長さの13.2%。

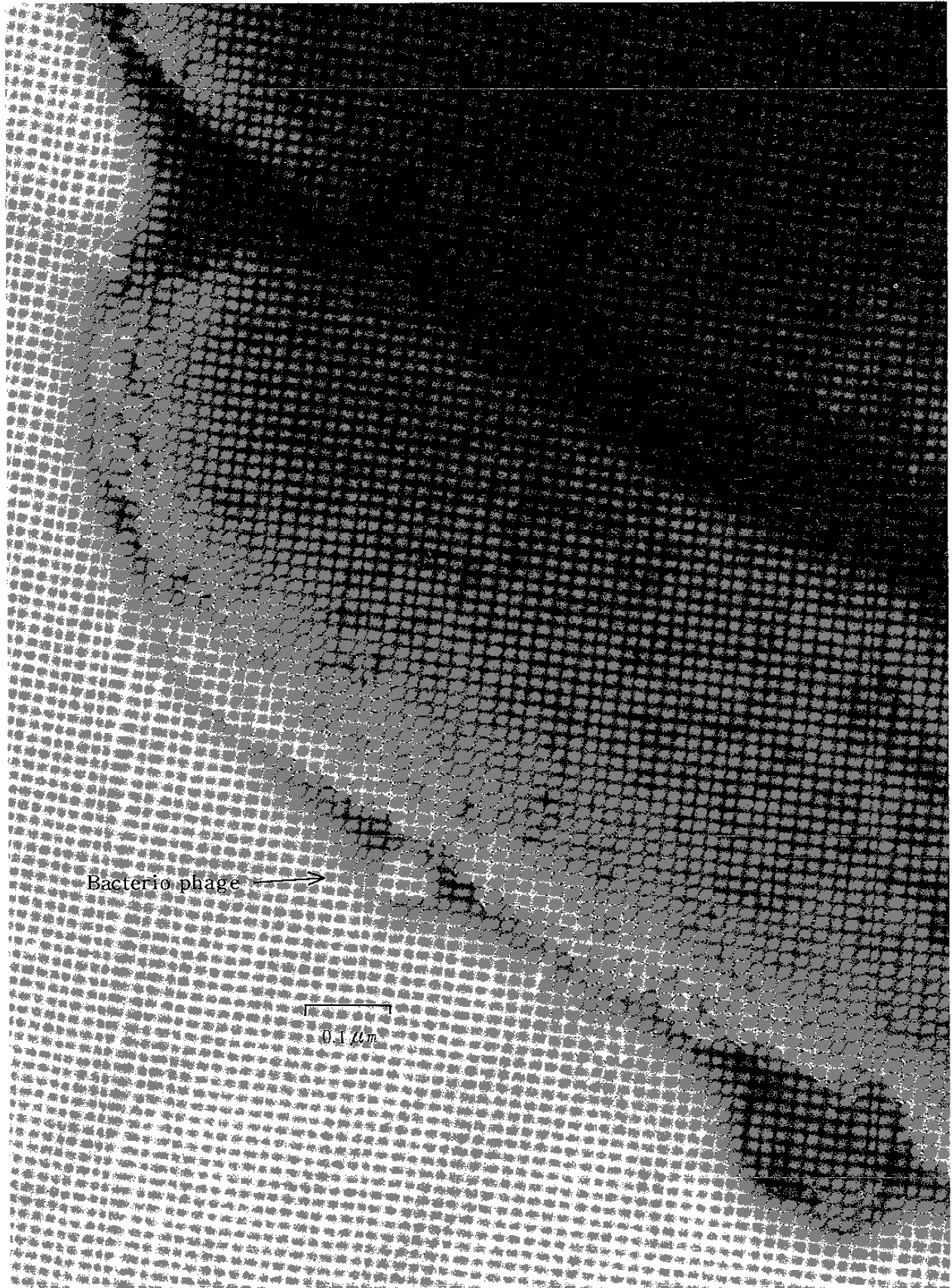


図5 E. coliとBacteriophage（栄研化学製）電子顕微鏡写真

133,000倍ネガライズ染色。

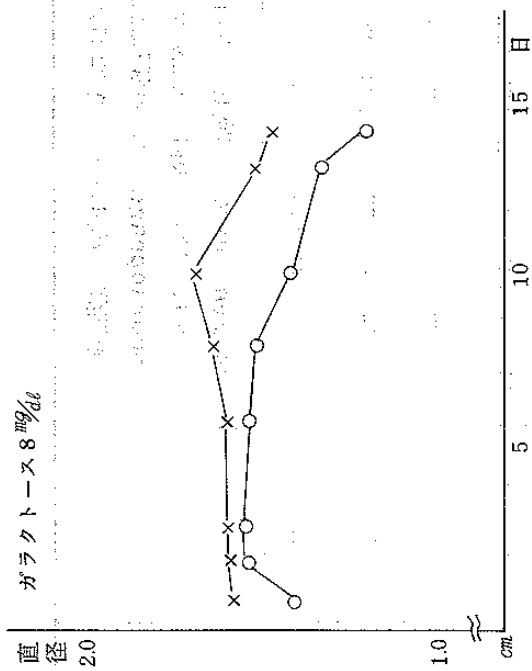
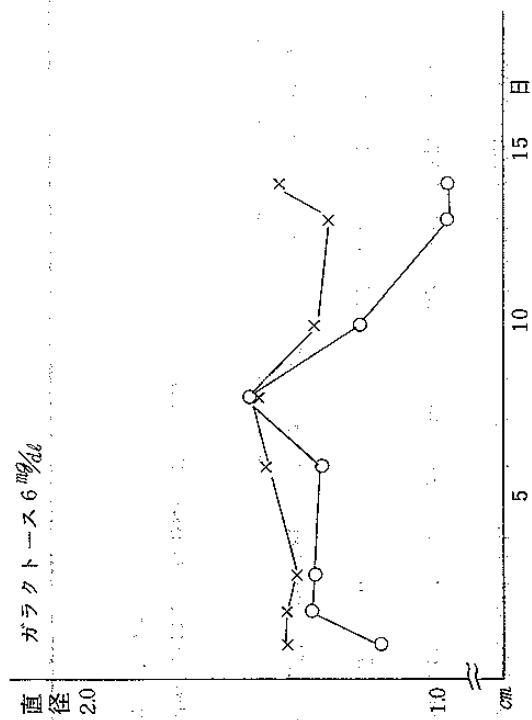
E. coli Q296がBacteriophage C24に吸着されていると思われる。

混合してから40分を経過。



表3 ペイゲン法プレート保存試験（生育円の直径測定値）

plateの 保存日数	ふ卵器の温度	直 径 測 定 値 (cm)																			平均値 ±標準偏差	変動 係数
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		
0	37 °C	1.65	1.66	1.62	1.63	1.64	1.67	1.64	1.62	1.59	1.62	1.67	1.61	1.62	1.59	1.65	1.67	1.65	1.57	1.72	1.636±0.035	2.1%
2	37 °C	1.53	1.50	1.52	1.52	1.54	1.50	1.53	1.48	1.52	1.49	1.49	1.50	1.50	1.50	1.56	1.58	1.53	1.55	1.52	1.519±0.026	1.7%
5	37 °C	1.58	1.53	1.64	1.64	1.63	1.63	1.56	1.52	1.53	1.53	1.50	1.52	1.48	1.50	1.50	1.52	1.50	1.49	1.49	1.542±0.055	3.6%
8	37 °C	1.54	1.49	1.53	1.52	1.49	1.49	1.47	1.46	1.41	1.55	1.53	1.49	1.50	1.39	1.44	1.38	1.38	1.40	1.41	1.467±0.057	3.9%
8	37 °C	1.57	1.55	1.56	1.57	1.52	1.46	1.48	1.52	1.48	1.49	1.49	1.48	1.50	1.52	1.51	1.54	1.48	1.53	1.50	1.513±0.033	2.2%
12	37 °C	1.49	1.52	1.52	1.46	1.44	1.48	1.43	1.41	1.34	1.47	1.41	1.42	1.36	1.38	1.52	1.50	1.45	1.45	1.43	1.446±0.053	3.6%
15	37 °C	1.46	1.47	1.45	1.45	1.45	1.33	1.33	1.43	1.39	1.42	1.38	1.43	1.38	1.37	1.37	1.32	1.30	1.32	1.27	1.385±0.061	4.4%
20	37 °C	1.58	1.60	1.50	1.54	1.55	1.64	1.62	1.68	1.58	1.69	1.69	1.58	1.62	1.62	1.51	1.48	1.45	1.50	1.43	1.572±0.079	5.0%
23	37 °C	1.76	1.74	1.70	1.77	1.87	1.89	1.86	1.84	1.86	1.92	1.82	1.72	1.76	1.73	1.78	1.80	1.70	1.77	1.63	1.785±0.075	4.2%
27	37.5 °C	1.72	1.86	1.71	1.74	1.68	1.88	1.67	1.75	1.80	1.72	1.68	1.71	1.80	1.86	1.79	1.64	1.76	1.74	1.80	1.755±0.070	4.0%
		Paigen plate 作製日 昭和54年8月22日 E. coli Q 396 栄研 Lot. No. 95NOIA 0.1ml/150ml Agar Oxoid 1.2g/150ml Bacteriophage C21 栄研 Lot. No. 94 NOBA 0.3 ml/150 ml 実施期間 昭和54年8月22日から9月18日まで																				



直径 2.0  
1.0 cm

ガラクトース 10 mg/dl

X—X— E. coli Q 396 0.3ml Phage C21 0.2ml  
 O—O— E. coli Q 396 0.3ml Phage C21 0.6ml

培地 栄研化学 Lot. #14 NOBA  
 E. coli 栄研化学 Lot. #14 BOKA  
 Phage 栄研化学 Lot. #15 BOHA

ガラクトース標準血液ろ紙 富士臓器製薬 Lot. # US 60909

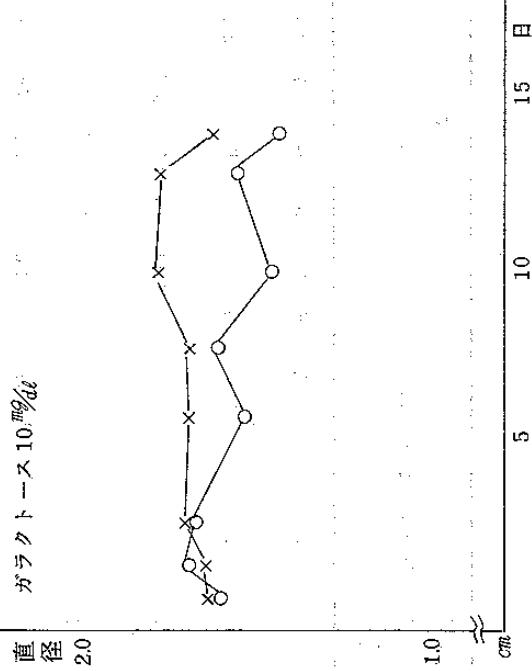


図6 ペイゲン法プレート保存試験 (昭和56年12月1日～12月15日)

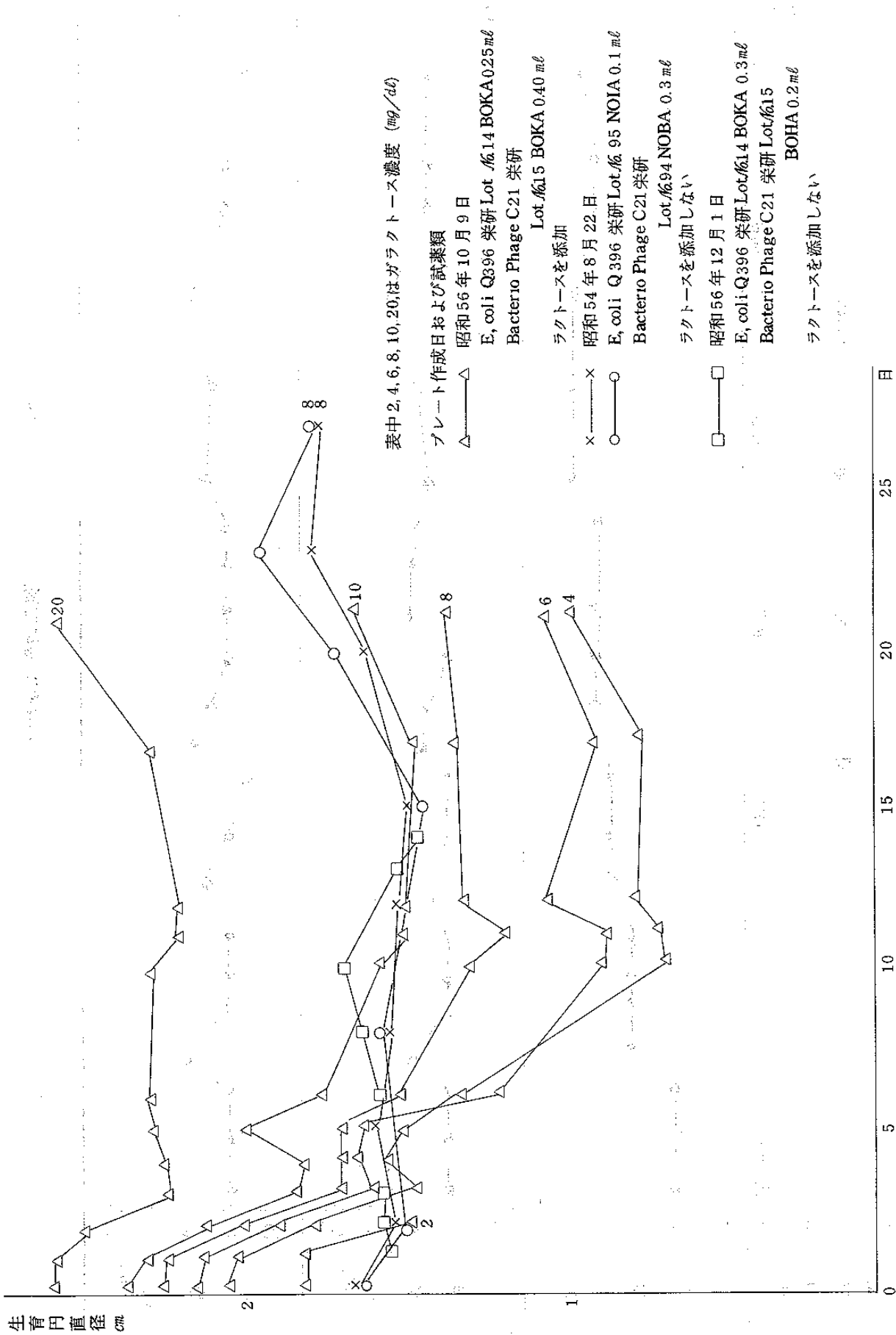


図 7 ベイゲン法プレート保存試験

