

羊水のステロイド分析による 21-水酸化酵素欠損症の同胞例の出生前診断

水嶋 好清 扇谷 陽子 福士 勝 清水 良夫
菊地由生子 伊藤 善也* 矢野 公一* 藤枝 憲二**

要 旨

21-水酸化酵素欠損症の同胞例の出生前診断を目的として、妊娠 16~20 週の羊水上清を用いて、4 例の HPLC によるステロイドホルモンの一斉分析を行った。

4 例のうち 1 例は、16 週の羊水で 17-OHP 4.0ng/ml, Δ 4-AD 2.2ng/ml, 21-DOF 3.6ng/ml といずれも高値で、出生後の所見から単純男性化型 21-水酸化酵素欠損症と診断された。残りの 3 例は羊水ステロイドホルモンレベルは正常であり、出生時にも異常が認められなかった。羊水を用いる HPLC によるステロイドホルモンの分析は 21-水酸化酵素欠損症の出生前診断に有用であった。

1. 緒 言

札幌市では先天性副腎過形成症 (CHA) のスクリーニングが昭和 57 年より開始し^{1,2)}、これまでに約 17 万人の新生児から 10 例の CHA 患児発見している。この疾患は常染色体劣性遺伝のため、次回の妊娠時に、その胎児が患児であるか否かの出生前診断を行うことは児の予後にとって重要である。本疾患の胎児期からの治療により女児の外性器異常を未然に防げることができた報告³⁾があり、また胎児期より患児の診断がつくことにより、出生直後より治療等の管理が可能ことから羊水を採取して検査を行うことが可能である^{4,5)}。

そこで我々は、CAH 同胞例について、羊水中ステロイドホルモンの高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による一斉分析を試みたので報告する。

2. 方 法

検体は前回患児を出生し、今回妊娠時に母親の同意を得て、妊娠 16~19 週に採取した 4 例羊水上清を用いた。

測定法は既報⁶⁾に準じて行った。前処理として羊水 1ml を用い、内部標準として 19-nortestosterone (19-NT) 10ng を加え、Extrelut column 1 (Merck 社製) に吸着させ、ジクロロメタン 10ml で溶出させ乾固する。移動相 20 μ l で溶解しその 10 μ l を分析する。HPLC の分離条件としてカラムは Senshu Pac ODS-2201-Y (センシュウ科学製)、移動相はメタノール、水を容積比で 6 対 4 とし、カラム温度 40 $^{\circ}$ C、検出波長 246nm とした。

分析対象としたステロイドは 10 種で、既報⁶⁾と同様とした。

表 1 各妊娠週数における羊水中のステロイドホルモンレベル

妊娠週数	個数	17-OHP (ng/ml)	Δ 4-AD (ng/ml)	21-DOF (ng/ml)	Progesterone (ng/ml)	cortisol (ng/ml)	cortisone (ng/ml)
16-20 w	49	1.46 \pm 0.41	<0.8	<0.5	31.1 \pm 11.4	4.6 \pm 3.2	12.8 \pm 4.7
20-25 w	26	1.28 \pm 0.69	<0.8	<0.5	25.3 \pm 12.5	8.9 \pm 5.5	10.2 \pm 5.1
26-30 w	8	0.51 \pm 0.49	<0.8	<0.5	24.5 \pm 9.1	9.8 \pm 3.2	7.9 \pm 3.0
31-35 w	13	0.51 \pm 0.52	<0.8	<0.5	22.2 \pm 10.6	14.4 \pm 6.0	10.6 \pm 6.6
36-40 w	5	0.42 \pm 0.39	<0.8	<0.5	18.5 \pm 6.5	11.6 \pm 4.5	10.3 \pm 2.8
妊娠週数との相関		r = -0.318*			r = -0.572*	r = +0.635*	r = -0.207

*p<0.001

*旭川医科大学小児科 **北海道大学医学部小児科

表2 CAH同胞例のHPLCによる羊水中ステロイドホルモンの測定

症例	週数	17-OHP (ng/ml)	Δ 4-AD (ng/ml)	21-DOF (ng/ml)	Progesterone (ng/ml)	cortisol (ng/ml)	cortisone (ng/ml)	出生後の臨床症状
1	18w	1.4	<0.8	<0.5	20.7	4.8	15.5	男児 正常
2	17w	1.9	<0.8	0.7	41.6	2.9	9.0	男児 正常
3	19w	1.7	<0.8	<0.5	21.0	9.1	13.5	女児 正常
4	16w	4.0	2.2	3.6	24.2	3.4	12.0	女児 陰核肥大, 色素沈着

3. 結果

3-1 各妊娠週数における正常範囲

各週数における正常範囲は既報⁶⁾により求めた値を用いた(表1)。適当な羊水採取時期である妊娠16~20週では、17-hydroxy progesterone (17-OHP)は $1.46 \pm 0.41 \text{ ng/ml}$ で、Androstenedione (Δ 4-AD), 21-deoxycortisol (21-DOF)は検出限界(0.8ng/ml, 0.5ng/ml)以下であった。

3-2 CAH同胞例の羊水分析

今回分析した4例中、症例1~3は羊水ステロイドホルモンレベルが正常であり、出生した児の臨床所見、検査学的所見いずれも異常を認めなかった。症例4は、17-OHP 4.0ng/ml, Δ 4-AD 2.2ng/ml, 21-DOF 3.6ng/mlとCAHで高値となる3指標がいずれも高値であり、出生した児は陰核肥大、色素沈着が認められ、単純男性化型CAHと診断された(表2)。

症例4は女児であったが、母親の同意を得られなかったため、胎児期の治療は行われなかったが、出生0日令より治療が開始された。

0日目の血清によるHPLC分析では17-OHPは17ng/ml, Cortisolは30ng/mlであり、同時に採血された濾紙血液中の17-OHPは抽出法で14.2ng/ml bloodであった。

4. 考察

CAHのマススクリーニングが普及し、患児が数多く発見管理され、その後出生してくるハイリスクの児に対しても早期からの適切な管理を必要とする。CAHに罹患している胎児の場合、病気を治すことはできないが、治療により女児の外生殖器異常の出現を抑えることは可能である^{3,5)}。また、胎児期より正常の結果を得ることは、母親に不要の心配を抱かせず安心した出産を迎えられ、また、患児の場合でも、出生直後から適

切な治療が開始できることから胎児期での診断の意義は大きい。

胎児がCAHの場合、羊水上清に17-OHP, Δ 4-AD等が増量することが知られ、Pangら⁷⁾は在胎週数12~20週の3例で17-OHPは13~19ng/ml, Δ 4-ADは3.3~9.0ng/mlと増加することを報告している。

我々の症例では、17-OHPは4.0ng/mlで正常の平均値 1.46 ± 0.41 からするとmean+6SDとなるが、平均値の2.7倍とそれほど高値ではなかった。しかし、21-DOF 3.6ng/ml, Δ 4-AD 2.2ng/mlと正常では検出できないステロイドホルモンが増加しており、HPLCによるステロイドホルモンの一斉分析が有効であった。CAHで出生後低下するcortisolについては患児羊水でも3.4ng/mlと正常であった。

羊水上清のHPLCによるステロイドホルモンの一斉分析はCAHの出生前診断に有用である。

5. 文献

- 1) 福士勝, 他・日本内分泌学会雑誌, 62, 683-696, 1986.
- 2) 福士勝, 他・日本内分泌学会雑誌, 63, 113-122, 1987.
- 3) Frasier SD, et al・J. Pediatr, 86, 310-312, 1975.
- 4) 藤枝憲二, 他・代謝異常スクリーニング研究会会報, 9, 8-20, 1985.
- 5) Pang S, et al: New Engl J Med, 322, 111-115, 1990.
- 6) 水嶋好清, 他・日本内分泌学会雑誌, 63, 102-112, 1987.
- 7) Pang S, et al: J Clin. Endocrinol. Metab., 51, 223-229, 1980.

Analysis of Steroids in Amniotic Fluid with High-performance Liquid Chromatography for Diagnosis of Congenital Adrenal Hyperplasia Due to 21-Hydroxylase Deficiency

Yoshikiyo Mizushima, Yoko Ogiya, Masaru Fukushi,
Yoshio Shimizu, Yuko Kikuchi, Zenya Ito,
Koichi Yano and Kenji Fujieda

ABSTRACT

We analyzed steroids in amniotic fluids from 16 to 20 gestational weeks of pregnant women that congenital adrenal hyperplasia patient had been born. Three samples were normal, and one sample was abnormal results that this sample on 16 gestational weeks had higher 17-OHP (4.0ng/ml), Δ 4-AD (2.2ng/ml) and 21-DOF value (3.3ng/ml). This HPLC method seems suitable for the prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia using amniotic fluid.