

# 神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおける 尿中VMA, HVA値について

## Urinary Excretion of VMA and HVA in Mass Screening for Neuroblastoma

花井 潤師 辻 慶子 田口 武 落合 玲子  
佐藤 栄里子 佐藤 泰昌 前田 博之 青木 襄  
林 英夫 高杉 信男 武田 武夫<sup>\*</sup>

Junji Hanai, Keiko Tsuji, Takeshi Taguchi,  
Reiko Ochiai, Eriko Sato, Yasumasa Sato,  
Hiroyuki Maeda, Minoru Aoki, Hideo Hayashi,  
Nobuo Takasugi, and Takeo Takeda<sup>\*</sup>

昭和56年4月から実施している神経芽細胞腫マス・スクリーニングにおいて、58年度にはあらたに3例の患児を発見したが、いずれも摘出手術後の経過は良好である。

より高精度なスクリーニングを行うために、高感度な電気化学検出器を用いた高速液体クロマトグラフィーによる検査法を検討し、約3,000検体の乳児の尿中VMA, HVA値を測定した結果、その正常値について若干の知見を得るとともに、クレアチニン補正の妥当性を確認した。

### 1 結 言

札幌市では全国の自治体に先がけて、昭和56年4月から神経芽細胞腫マス・スクリーニングを実施し、57年度までに4例の患児を発見する成果を上げるとともに、厚生省「母子保健・医療に関する管理体系システム開発に関する研究」研究班に参加してきた<sup>1)</sup>。58年度にはあらたに3例の患児を発見し、スクリーニング開始以来の合計7例について、医療機関における治療を行っている。

このスクリーニングは、カテコールアミン代謝産物のうち、当初からVMAに加えてHVAを測定することによって発見もれを少なくするとともに、さらに検査精度の向上を図るために、これらの測定に高速液体クロマトグラフィー(以下HPLC)

をとり入れている<sup>2),3)</sup>

今回は、これまでのスクリーニング結果と、あらたに発見した3症例について述べるとともに、従来のけい光検出器に比べ、さらに高感度な電気化学検出器(以下ECD)を用いたHPLCによるスクリーニング法の検討と、乳児の尿中VMA, HVAの正常値について得た若干の知見を報告する。

### 2 方 法

#### 2-1 マス・スクリーニング方法

前報<sup>2),3)</sup>に従って、尿ろ紙および蓄尿によるスクリーニングを行った。

<sup>\*</sup> 国立札幌病院小児科

## 2-2 ECDによるHPLC

### 2-2-1 尿ろ紙の前処理法

ECDはこれまでのけい光検出器に比べ、50~100倍の感度であるため、前報<sup>2),3)</sup>の尿紙尿量および濃縮操作を一部変更した。すなわち、尿ろ紙の打抜き枚数を5枚とし、酢酸エチル2.5 mlで抽出し、その1.5 mlを濃縮乾固後、移動相200  $\mu$ lに溶解して試料とした(図1)。

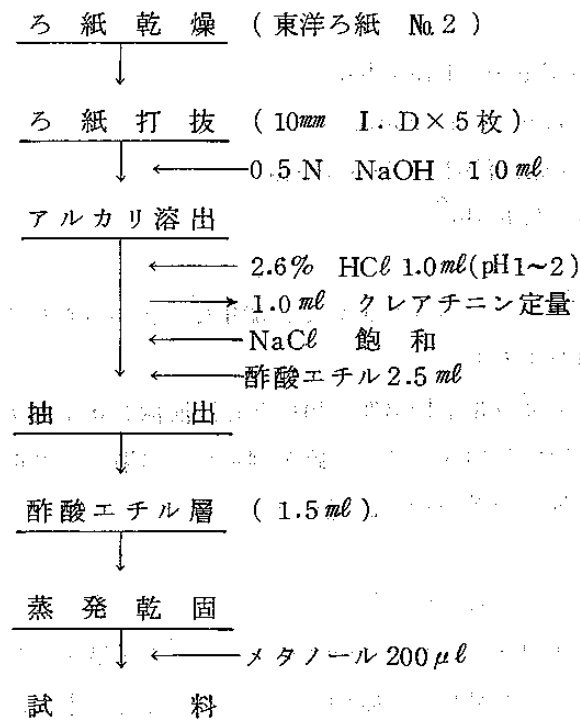


図1 尿ろ紙の前処理

### 2-2-2 HPLC条件

ECDはBioanalytical System社製LC-4Bを用い、設定電圧は850 mV vs Ag/AgCl; 感度は50 nA / FSとし、他はすべて、けい光検出器による前報<sup>2),3)</sup>の条件と同一にした。

なお、試料の導入(オートサンプラー)からクロマトグラムの面積計算(データ処理装置)までを自動化し、定量はろ紙に正常乳児尿及びVMA, HVAの標準液を添加したものから作成した検量線法で行った。

## 3 結果及び考察

### 3-1 マス・スクリーニング結果

昭和58年度には、15,796名がスクリーニングを受け、うち3例の患児を発見した。また、スクリーニング開始以来3年間で41,437人がスクリーニングを受け、7例が確定診断をされており、現時点における発生頻度は約6,000人に1人であって、厚生省研究班の調査結果の17,621人に1人<sup>1)</sup>と比べ、極めて高率である(表1)。

また、市内で出生した全乳児に対する受診率もこの3年間で63.0%, 74.3%, 76.1%と徐々に上昇しており、このスクリーニングに対する市民の意識も定着してきたものと思われる。

表1 神経芽細胞腫スクリーニング検査結果

1981.4 ~ 1984.3

期間	被検者数	再検数(率)	精検数(率)	患者数
'81.4 '82.3	10,634	66(0.6%)	2(0.02%)	0
'82.4 '83.3	15,007	190(1.3%)	9(0.06%)	4
'83.4 '84.3	15,796	361(2.3%)	17(0.11%)	3
総数	41,437	617(1.5%)	28(0.07%)	7

### 3-2 あらたに発見した3症例

前報<sup>2),3)</sup>の4例(症例1~4)につづき、58年度にはあらたに3例(症例5~7)の患児を発見した。

症例5は、生後8カ月でスクリーニングを受け、初回、再検査ともにVMA, HVAいずれも高値なために、精密検査となったものであり、受診時における24時間尿のVMA, HVA値についても、3日間の平均でそれぞれ35, 54  $\mu$ g/mgクレアチレ

ンと高かったが、他の臨床所見では特に異常が認められず退院となった例である。

しかし、約3カ月後に、外来で採取した尿中のVMA、HVA値がそれぞれ91、119  $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニンと上昇していたために再入院、精査となった。その結果、抱水クロラール睡眠下で右上腹部に腫瘤を触知し、さらに、腹部CTなどの所見から神経芽細胞腫と診断され、その後、原発腫瘍が全摘出され、病理組織学的診断などからStage IV Sと確定診断された。

症例6は、スクリーニング時のVMA値がカットオフ値の約11倍、HVA値は約3.5倍と極めて高い値のために、また症例7は、HVA値がカットオフ値付近であったが、VMA値が高値のために精密検査となったものである。この2例とも、初診時に腫瘤を触知し、腹部CTや選択的血管造影などからも異常所見を認めたため、神経芽細胞腫と診断されて摘出手術が行われ、それぞれStage III、Stage IIの神経芽細胞腫と確定診断された。

これらの3例は、ともに化学療法による治療を続けており、経過は良好である(表2)。

なお、これまでに発見した7症例は、すべて原

表2 神経芽細胞腫スクリーニング発見症例

(昭和58年4月~昭和59年3月)

症 例		5. Y.W.	6. T.Y.	7. T.C.
スクリーニング時月齢		8カ月	7カ月	7カ月
スクリーニング	初回検査	VMA 25 HVA 40	217 145	85 49
	再検査	VMA 44 HVA 95	217 368	57 80
精密検査結果	VMA	35	368	80
	HVA	54	140	52
手術時月齢		13カ月	8カ月	8カ月
原発部位		右副腎	左副腎	後腹膜
原発腫瘍の大きさ		70g (6.5×5.5×4.5cm)	190g (9×7.5×5cm)	55g (5×3×7cm)
病 期		IV S	III	II
経過(59年3月現在)		良好(17カ月)	良好(9カ月)	良好(9カ月)

測定値はいずれもHPLCによる定量結果  
(単位： $\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン)

発腫瘍の摘出手術が行われているが、病期分類ごとの例数をみると、Stage Iが2例、Stage IIおよびリンパ節に転移の認められたStage IIIが各1例、肝臓や他の組織への転移の認められたStage IV Sが3例であった。

### 3-3 手術前後のVMA、HVA値の経過

7症例について、手術前後における24時間尿中のVMA、HVA値をみると、手術前については、HVA値のみがカットオフ値以下の1例を除き、HVAはカットオフ値の1.4~3.8倍であり、VMA値は2~19倍であった。

これに対し、手術後のVMA、HVA値の推移は、患児の病期と密接な関係があり、腫瘍を全摘出したStage I、IIの3例は術後直ちに正常値となった。しかし、肝臓やリンパ節に転移が認められたStage III、IV Sの3例では、術後もなお高値が続いたが、その後の化学療法により腫瘍が縮小、消失するとともに、術後約2~3カ月で正常値となった(図2、3)

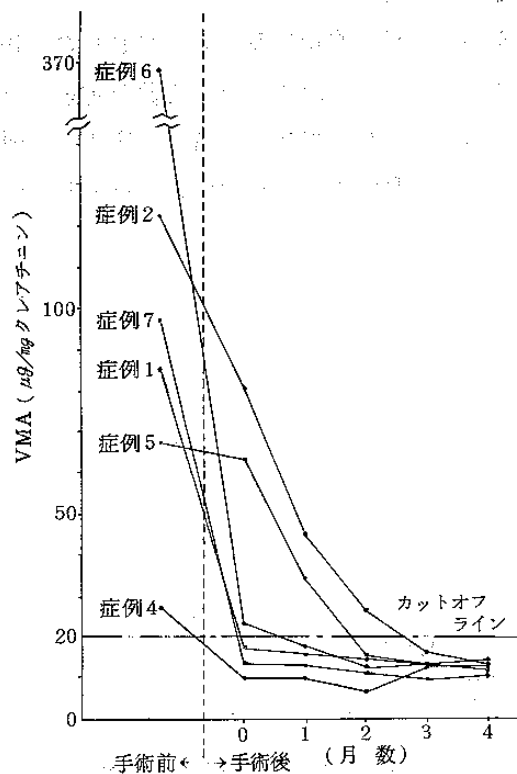


図2 発見症例の尿中VMA値の経過

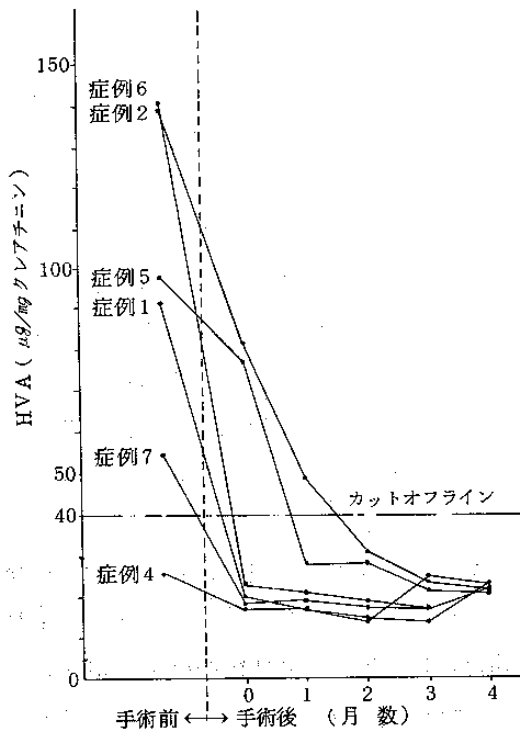


図3 発見症例の尿中HVA値の経過

### 3-4 ECDによるHPLC

#### 3-4-1 従来法との比較

従来法<sup>2)</sup>のけい光検出器によるHPLC(標準添加法)によってVMA, HVA値が定量済みの尿50 $\mu$ lをろ紙5枚に添加し,新しく変更した前処理法で試料を調製後,ECDによるHPLCによ

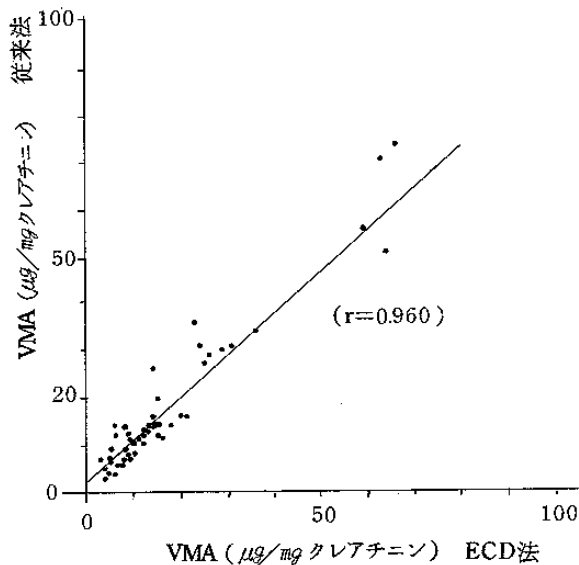


図4 ECD法と従来法とのVMA値の相関

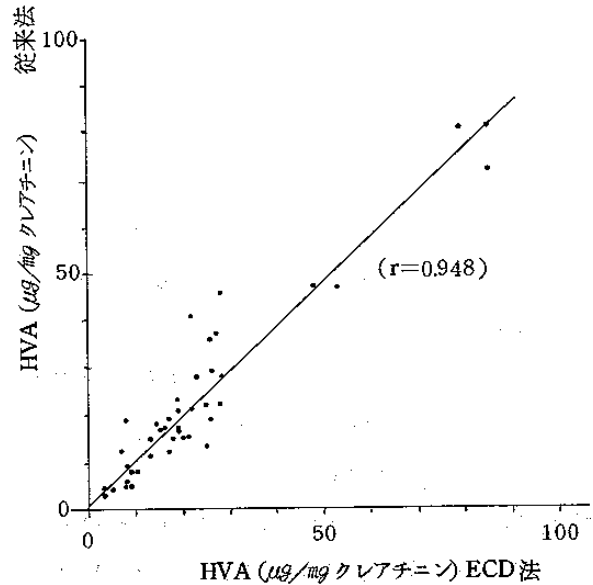


図5 ECD法と従来法とのHVA値の相関

ってVMA, HVA値を定量して,従来法での測定値と比較したところ,VMA, HVA値とも良好な相関が認められた(図4, 5)。

このことから,ECDによるHPLCは,少量のろ紙尿で済み,標準添加の繁雑さもない上,精度もよく,一次検査法として有効であることが確認された。

#### 3-4-2 尿中のVMA, HVA値とクレアチニン量との相関

われわれは,尿ろ紙中の尿の絶対量やその濃度などが不明なので,尿中の常成分であるクレアチニンを測定して,VMA, HVAの値を単位mgクレアチニン当りの $\mu$ g数で表わしている。

そこで,尿ろ紙5枚当りのVMA, HVA値とクレアチニン量を比較するために,約100検体について,ECDによるHPLCによって測定したところ,VMA, HVA値とクレアチニン量はともに良好な相関を示し,また,7症例のVMA, HVA値はともにカットオフ領域に位置していた(図6, 7)。

以上のことから,尿ろ紙でのVMA, HVA値による判定は,その絶対量では疑陽性や見逃しの

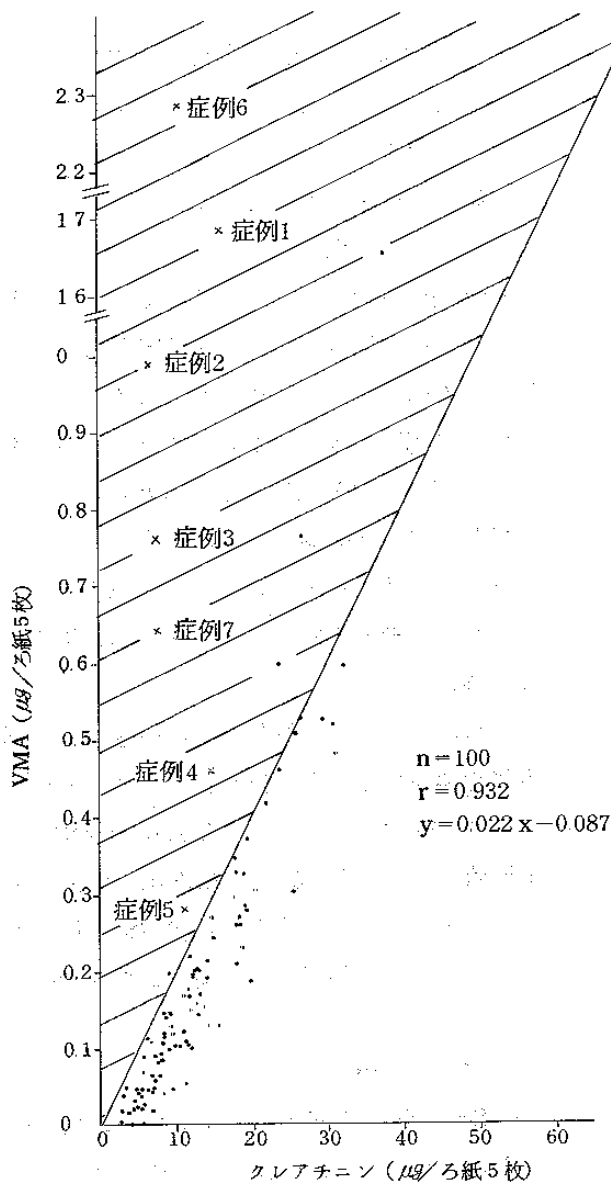


図6 クレアチニン値とVMA値の相関  
(斜線内はカットオフ領域)

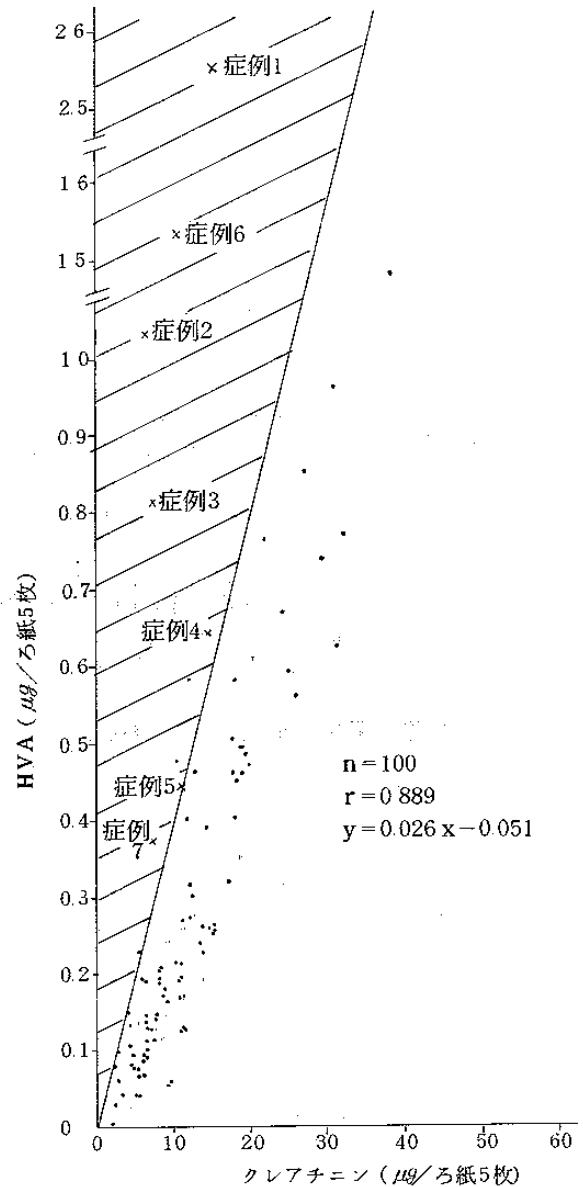


図7 クレアチニン値とHVA値の相関  
(斜線内はカットオフ領域)

危険性があるために、クレアチニン比で表わした数値で行う必要があることが確認された。

### 3-4-3 尿中VMA, HVAの正常値

すでに、尿中のVMAやHVAの正常値について、薄層クロマトグラフィー<sup>3),4),5)</sup>やペーパークロマトグラフィー<sup>6),7),8)</sup>による報告例はあるが、いずれも精度に疑問があるほか、対象年齢も不統一であり、HPLCを用い、生後6か月から1年までの乳児に限定して、正常値を検討した報告はない。

そこで、スクリーニングを受けた約3,000検体について、ECDによるHPLCでVMA, HVA値を測定したところ、その平均値と標準偏差はそれぞれ  $12.1 \pm 8.5$ ,  $20.3 \pm 13.4 \mu\text{g}/\text{mg}$  クレアチニンであり、そのヒストグラムはともにほぼ正規分布を示した(図8, 9)。

今後さらに例数を増して、乳児期の真の正常値を予測し、スクリーニングにおける妥当なカットオフ値を検討していく必要があると考えている。

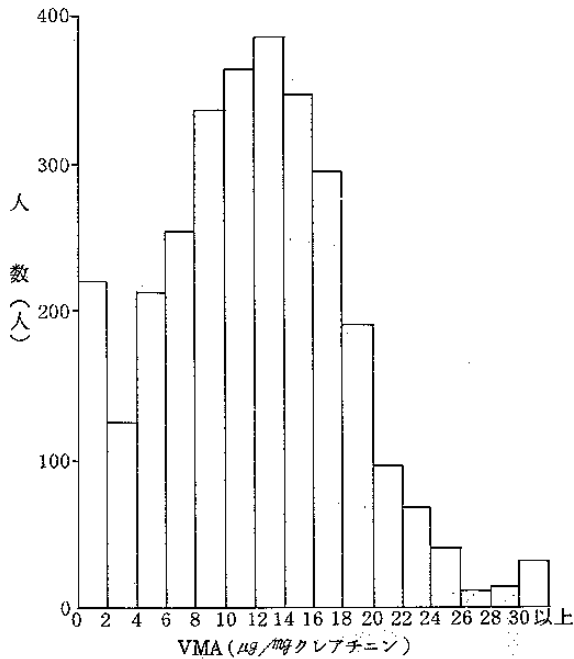


図8 尿中VMAヒストグラム

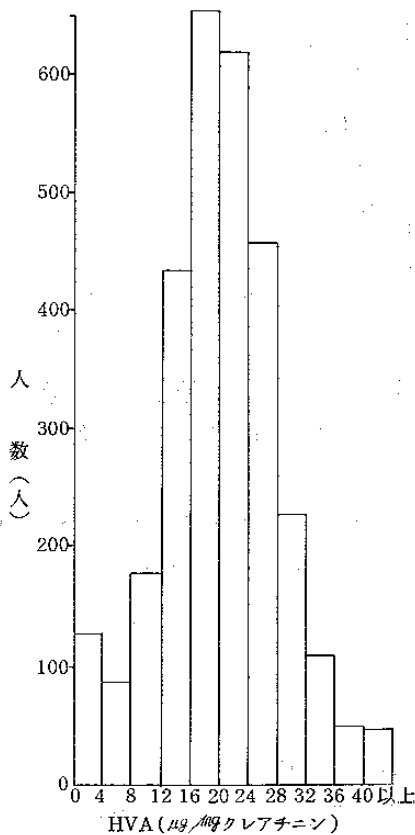


図9 尿中HVAヒストグラム

#### 4 結 語

昭和56年4月、神経芽細胞腫マス・スクリーニング開始以来、59年3月までに41,437人の検査を行い、前年度までの4例に加え、昭和58年度にあらたに3例の患児を発見した。

このうちの1例は、VMA、HVA値の測定による経過観察の重要性が改めて確認された症例であって、医療機関における精密検査時にはVMA、HVAの高値以外、臨床所見では特に異常が認められずに退院となったが、その後の経過観察でさらにVMA、HVA値が上昇したために再入院した結果、神経芽細胞腫と診断されたケースである。

また、ろ紙尿中のVMA、HVA値とクレアチニン量を比較した結果、クレアチニン補正の妥当性が確認された。

さらに、すべての検体の一次検査を、高感度の電気化学検出器によるHPLCによって検討後、約3,000検体のVMA、HVA値を測定した結果、平均値はそれぞれ121、20.3 μg/mgクレアチニンであったが、今後さらに検体数を増やして、カットオフ値の検討を行う必要があると考える。

#### 5 文 献

- 1) Sawada, T., Hirayama, M., Nakata, T., Takeda, T., Takasugi, N., et al: Lancet. II, 271~273 (1984).
- 2) 佐藤泰昌, 佐藤勇次, 田口武, 林英夫, 高杉信男, 武田武夫: 札幌市衛生研究所年報. 9, 68~72 (1981).
- 3) 佐藤泰昌, 佐藤勇次, 田口武, 辻慶子, 林英夫, 高杉信男, 武田武夫: 小児科. 24, 1133~1140 (1983).
- 4) 今宿晋作, 高田洋, 楠智一: 小児科. 10, 168~175 (1969).
- 5) 中田幸之介, 宮川富三雄: 日小外誌. 15, 381~391 (1979).

6) 木下洋子, 植松信康, 高橋多加子, 他: 小兒科診療. 47, 363~367 (1984).

7) Gitlow, S. E., Bertani, L. M., Rausen, A., et al : Cancer. 25, 1377~1383 (1970)

8) LaBrosse, E. H., Comoy, E., Bohuon,

C., et al : J. Natl. Cancer Inst. 57, 633~638 (1976).

9) Laug, W. E., Siegel, S. E., Shaw, K. N. F., et al : Pediatrics. 62, 77~83 (1978).