

表7 2006年度のパイロットスクリーニングの成績 (2006年4月~11月)

● 確認検査数	120件/8,410件 (1.4%)
有機酸代謝異常	28 /120 (23.3)
脂肪酸代謝異常	77 /120 (64.2)
尿素サイクル異常	15 /120 (12.5)
● 再採血依頼数	44 /8,410 (0.5)
有機酸代謝異常	11 /44 (25.0)
脂肪酸代謝異常	32 /44 (72.7)
尿素サイクル異常	1 /44 (2.3)
● 再々採血依頼数 (再採血回収検体から)	4 /8,410 (0.05)
● フォロー症例数 (再々採血回収検体から)	2 /8,410 (0.02)
● 患者発見数	1 /8,410 (0.01)

表8 有機酸・脂肪酸代謝、尿素サイクル異常症で再採血依頼した44件の内訳

異常を示した項目	疑われた疾患等	件数	出生体重の平均値		range	
			mean	SD	min	max
C10高値	GA II	14	2,984	421	2,448	4,278
C3/2比、C3高値	MMAまたはPA	1	2,516			
C0低値	CRNT	6	3,388	313	2,852	3,704
C5OH高値	MCD欠損症	4	1,443	1,262	633	3,296
C8/C10高値	MCAD欠損症	6	1,317	1,040	725	3,412
C16OH、C18:1OH高値	LHCAD欠損症	5	2,527	716	1,415	3,090
Cit, Met高値 (Arg高値傾向)	NICCD	1	2,924			
C5高値	IVA	1	2,600			
C5高値	抗生剤(メイアクト)	5	3,136	300	2,922	3,662
C6-10, C14:1, C16OH高値	?	1	2,574			

表9 再々採血依頼検体4件の内訳と経過

症例No.	項目	出生体重(g) /在胎週数(w)	測定値 (nmol/L)			判定
			初回	再採血時	再々採血時	
1	C5OH	1194/28	494.1	476.4	391.7	正常
2	C5OH 尿中有機酸	633/26	485.3	510.1 (-)	864.5	フォロー中
3	C8/C10 C5OH	650/24	2.21 435.08	1.45 543.2	(検体到着待ち)	
4	C5OH 尿中有機酸	1007/26	1054.7	1043.3 (-)	1459.0	フォロー中

分担研究課題：タンデムマスによるマススクリーニングの効果に関する研究

札幌市におけるタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニング経過報告 2

研究要旨

札幌市では 2005 年 4 月から希望者を対象にタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングを研究的に開始した。2006 年 12 月までに先天性代謝異常症等検査を受けた 27,508 人のうち 27,116 人(98.6%)がタンデム質量分析計による多項目検査（以下；タンデム検査）を希望した。全員を対象としたアミノ酸代謝異常症 3 疾患の検査で 3 名，タンデム検査で 5 名を精査とし，前者のうち 1 名が古典的フェニルケトン尿症，後者のうち 1 名がグルタル酸尿症Ⅱ型であった。

研究協力者

野町祥介，太田 優，坂上絵理奈，臼井知美，
阿部敦子，太田紀之，福士 勝，藤田晃三
（札幌市衛生研究所）
長尾雅悦（国立病院機構西札幌病院小児科）
窪田 満（手稲溪仁会病院 小児科）

酸（フェニルアラニン，ロイシン，メチオニン）のみを測定する検査（以下；ルーチン検査）を実施している。本報で記す再採血，精査，発見例については 2006 年 12 月までに札幌市先天性代謝異常症等検査を受けた児を対象とし，測定平均値については 2006 年 9 月までにタンデム検査を受けた児(n=23,072)を対象とした。

A. 研究目的

札幌市で行っている新生児代謝異常症等検査にタンデム質量分析計（以下；タンデムマス）による多項目検査（以下；タンデム検査）を導入し，検査法の精度，対象疾患，カットオフ値，フォロー検査法等の検討を行う。

検査は安定同位体の標準物質を内部標準とするメタノール溶液を用いて，乾燥ろ紙血液ディスクからアミノ酸，アシルカルニチンを抽出し，塩酸の存在下ブタノールと反応させ，得られたブチルエステルを Quattromicro API(英 MicroMass)と送液装置 alliance-HT2795(Waters)を用いフローインジェクション法及び MRM モードにより測定した³⁾。データ解析はソフト Mass Lynx により行ない，検査データの統計処理は 2005 年 4 月から札幌市で運用しているデータ処理システムを用いた^{4,5)}。タンデム検査の対象疾患は本研究班によりまとめられた「新しい新生児マススクリーニング対象疾患の手引き」に準拠し，暫定カットオフ値も基本的にこれに従った。

B. 研究方法

札幌市では，「タンデムマスによる新生児マス・スクリーニングの研究実施要領」を制定し，これに従って 2005 年 4 月以降，新生児代謝異常検査の受検者のうち，保護者からタンデム検査の希望が署名により取得できた児を対象にタンデム検査を実施している¹⁾。また，合わせて「新生児先天性代謝異常症等検査実施要綱」を改訂し，通常のアミノ酸代謝異常症の一次検査法も HPLC からタンデムマス法に移行した²⁾。このため，保護者からタンデム検査の希望が得られなかった児については，タンデムマスにより，アミノ酸代謝異常症 3 疾患（フェニルケトン尿症，メープルシロップ尿症，ホモシスチン尿症）関連の指標となるアミノ

酸（フェニルアラニン，ロイシン，メチオニン）のみを測定する検査（以下；ルーチン検査）を実施している。本報で記す再採血，精査，発見例については 2006 年 12 月までに札幌市先天性代謝異常症等検査を受けた児を対象とし，測定平均値については 2006 年 9 月までにタンデム検査を受けた児(n=23,072)を対象とした。

検査は安定同位体の標準物質を内部標準とするメタノール溶液を用いて，乾燥ろ紙血液ディスクからアミノ酸，アシルカルニチンを抽出し，塩酸の存在下ブタノールと反応させ，得られたブチルエステルを Quattromicro API(英 MicroMass)と送液装置 alliance-HT2795(Waters)を用いフローインジェクション法及び MRM モードにより測定した³⁾。データ解析はソフト Mass Lynx により行ない，検査データの統計処理は 2005 年 4 月から札幌市で運用しているデータ処理システムを用いた^{4,5)}。タンデム検査の対象疾患は本研究班によりまとめられた「新しい新生児マススクリーニング対象疾患の手引き」に準拠し，暫定カットオフ値も基本的にこれに従った。

タンデム検査においてカットオフ値を超えた検体については，通常の新生児代謝異常症等検査と同様の手順で再採血による検査を実施したほか，疾患の可能性が特に高い例についてはコンサルタント医の助言に基づいて精密検査を実施した。精密検査児のフォローアップ検査は札幌市衛生研究所の調査研究事業である「ハイリスク・スクリーニング」の一環とし

て行なった。

なお、以下の文中で略表記される指標物質の正式名称は表 3 を参照の通りである。

C. 研究結果と考察

① 検査実施数と実施率

2005 年 4 月から 2006 年 12 月までの間に、札幌市の先天性代謝異常症等検査を受検した新生児は 27,508 人であった。このうち保護者の希望に基づいてタンデム検査を実施したのは 27,116 人で、実施率は 98.6%であった。

② タンデムマスによるルーチン検査の成績

2006 年 12 月までに 27,508 人を対象に検査を実施し、7 例を再採血、3 例を精査(うち、直接精査 2 例)とした。精査となった 3 例の内訳を表 1 の例 1~3 に示す。直接精査となった 2 例のうち 1 例が古典的フェニルケトン尿症患者であった(表 1 の例 2)。

③ タンデム検査の成績

2006 年 12 月までに 27,116 人を対象に検査を実施し、94 例を再採血、5 例を精査(うち、直接精査 3 例)とした。タンデム検査における主な再採血の理由を表 2 に、精査となった 5 例の内訳を表 1 の例 4~8 に示す。直接精査となった 3 例のうち 1 例がグルタル酸尿症 II 型患者であった(表 1 の例 7)。また、5 例の精査例のうち 1 例は現在カルニチントランスポート異常症疑いでフォロー中である(表 1 の例 6)。

④ 測定値

札幌市のタンデム検査で定量している全物質と C3/C2 比の平均値及び SD、並びに 2 発見例(グルタル酸尿症 II 型、古典的フェニルケトン尿症)の検査データを表 3 に示す。

⑤ カットオフ値と指標物質の判定

札幌市のタンデム検査では、グルタル酸尿症 II 型カットオフ値として C8; 300pmol/ml かつ C10; 500pmol/ml を用いており、この条件を超えた場合、再採血を行っている。当所で発見された症例の検査値は C8; 616pmol/ml, C10; 927pmol/ml とカットオフ値を上回ってはいたが、他の再採血例と比べて際立って高い数値ではなかった。その一方で再採血後正

常となった例と異なり、C16, C14:1 がカットオフ値を上回る値を示したほか、指標外物質である C4, C12, C14, C16:1 も際立った高値を示した(表 3)。このため、直接精査とし、症例を早期に発見することができた。このことから、グルタル酸尿症 II 型のスクリーニングでは、タンデム検査により得られる全アシルカルニチン類の値をみて判定することが重要であると考えられた。

⑥ 二次検査フォローアップについて

新生児マス・スクリーニングにタンデムマスを導入することにより見出しうる疾患の数は増大するが、これに伴って、疾患の疑いがある場合の二次検査体制を確立することがきわめて重要である。札幌市では、調査研究ハイリスク・スクリーニングにおいて GC/MS による尿中有機酸の定性など、多様な代謝異常症に対応する化学的補助検査の体制を整えてきた。このことが、タンデム検査陽性例に対して、きわめて有益な補助的検査を行うことを可能とした。例えば、前報⁶⁾でも述べたように、C5OH の上昇により何らかの疾患の可能性が指摘された例では、尿中 3OH-isovalerate, 3Me-crotonylglycine 定性により、マルチプルカルボキシラーゼ欠損症等を否定することが可能であった。

今後、疑われる対象疾患ごとに二次検査及び精査後のフォローアップ体制を整備する必要があるが、参考までに現時点で札幌市衛生研究所が進めている検査体制を表 4 に示す。

タンデム検査によるスクリーニングでは、疾患の疑いを指摘するだけでなく、その後の二次検査ならびにフォローアップ体制を整備し、診断の精度を高めることが重要で、後の治療に結びつくものと考えられる。

D. 文献

- 1) 野町祥介, 本間かおり, 花井潤師 他: 札幌市におけるタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングのための体制整備, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 65-72, 2006.
- 2) 野町祥介, 花井潤師, 田上泰子 他: アミノ酸代謝異常症一次検査法としてのタンデム質量分析計法, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 85-90, 2006.
- 3) 本間かおり, 花井潤師, 野町祥介 他: 札幌市

におけるタンデム質量分析計によるマス・スクリーニングのためのデータ処理システム(1)事務処理システム, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 73-77, 2006.

- 4) 花井潤師, 本間かおり, 野町祥介 他: 札幌市におけるタンデム質量分析計によるマス・スクリーニングのためのデータ処理システム(2)検査データ処理と内部精度管理, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 79-84, 2006.
- 5) 阿部敦子, 野町祥介, 花井潤師 他: タンデムマスによる新生児スクリーニングの基礎的検討, 厚生労働科学研究費補助金 子ども総合研究事業 わが国の 21 世紀における新生児マススクリーニングのあり方に関する研究, 90-97, 2005.
- 6) 野町祥介, 阿部敦子, 坂上絵理奈 他: 札幌市におけるタンデム質量分析計による新生児マススクリーニング経過報告, わが国の 21 世紀における新生児マススクリーニングのあり方に関する研究 平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)分担研究報告書, 100-105, 2005.

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 野町祥介, 本間かおり, 花井潤師 他: 札幌市におけるタンデム質量分析計による新生児マススクリーニングのための体制整備, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 65-72, 2006.
- 2) 本間かおり, 花井潤師, 野町祥介 他: 札幌市

におけるタンデム質量分析計によるマス・スクリーニングのためのデータ処理システム(1)事務処理システム, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 73-77, 2006.

- 3) 花井潤師, 本間かおり, 野町祥介 他: 札幌市におけるタンデム質量分析計によるマス・スクリーニングのためのデータ処理システム(2)検査データ処理と内部精度管理, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 79-84, 2006.
- 4) 野町祥介, 花井潤師, 田上泰子 他: アミノ酸代謝異常症一次検査法としてのタンデム質量分析計法, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 85-90, 2006.

2. 学会発表

- 1) Shosuke Nomachi, Atsuko Abe, Junji Hanai, Kaori Honma, Yasuko Tagami, Miwa Yoshinaga, Noriyuki Ota, Masaru Fukushi and Kozo Fujita, Newborn Screening Program in Sapporo City -A pilot study on MS/MS screening and the storage and use of blood spot samples- 6th meeting of the International Society for Neonatal Screening, Awaji, Japan, 2006.
- 2) 野町祥介, 太田 優, 阿部敦子, 坂上絵理奈, 白井知美, 太田紀之, 福士 勝, 藤田晃三, タンデム質量分析計を用いた新しいスクリーニング試験研究(札幌市の場合) 第 58 回 北海道公衆衛生学会 旭川市, 2006.

表 1 要精査例の内訳

例	疑い疾患名	初回検査値 (採血日齢)	再採血検査値 (採血日齢)	精査結果等
1	フェニルケトン尿症	Phe; 200nmol/ml (7)		原因不明の肝不全と腸穿孔による腹膜炎で死亡
2	フェニルケトン尿症	Phe; 1454nmol/ml (17)		古典的フェニルケトン尿症
3	ホモシチン尿症	Met; 59.4nmol/ml (4)	Met; 83.4nmol/ml (15)	一過性高 Met 血症
4	イソ吉草酸血症	C5; 3.7nmol/ml (5)		抗生剤の影響
5	カルニチントランスポータ異常症	COH; 8.1nmol/ml (4)	COH; 7.5nmol/ml (11)	一過性の低値
6	カルニチントランスポータ異常症	COH; 6.0nmol/ml (5)	COH; 6.8nmol/ml (15)	現在フォロー中
7	グルタル酸尿症 II 型	C8; 616pmol/ml C10; 927pmol/ml 他 (5)		グルタル酸尿症 II 型
8	極長鎖アシル CoA 脱水素 酵素欠損症	C14:1; 0.5nmol/ml (5)		一過性の高値

例 1,2,3 はルーチン検査の対象疾患精査例 他はタンデム検査の対象疾患の精査例
略表記された指標物質の名称については表 3 を参照

表 2 主な再採血理由(対象:初回検査のみ)

(注: 再採血例数には, カットオフ値の見直しを行った前のも含む 文献 6 参照)

疑い疾患名	指標とカットオフ値 (2006 年 12 月現在使用のもの)	再採血例数
グルタル酸尿症 II 型	C10; 500pmol/ml かつ C8; 300pmol/ml 以上	36
カルニチントランスポータ異常症	COH; 10nmol/ml 以下	17
イソ吉草酸血症	C5; 1nmol/ml 以上	13
シトルリン血症	Cit; 40nmol/ml 以上	8
メチルマロン酸/プロピオン酸血症	C3/C2; 0.25 以上	9
マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	C5OH; 1nmol/ml 以上	3
その他		8

略表記された指標物質の名称については表 3 を参照

表3 定量物質とその平均値及び標準偏差 (n=23,072), 並びに見出された患者2例の検査データ

(注*: ASAの濃度はピークイオン強度による概算値 カットオフ値は指標物質としているもののみ表示)

略称	正式名称	平均値±標準偏差 (SD)	カットオフ値 (SD比)	発見例(表2の例7) グルタル酸尿症II型	発見例(表2の例2) フェニルケトン尿症
Phe	phenylalanine	49.8 ± 9.5 nmol/ml	120 (+7.4SD)	37.2 (-1.3SD)	1454 (+148SD)
Leu + Ile	leucine + isoleucine	200 ± 43 nmol/ml	300 (+2.3SD)	299 (+2.3SD)	169 (-0.7SD)
Met	methionine	21.8 ± 4.8 nmol/ml	50 (+5.9SD)	23.3 (-0.3SD)	16.3 (-1.1SD)
Cit	citrulline	11.2 ± 3.6 nmol/ml	40 (+8.0SD)	17.0 (+1.6SD)	15.4 (+1.2SD)
Arg	arginine	13.5 ± 7.7 nmol/ml	100 (+11.2SD)	17.9 (+0.6SD)	14.5 (+0.1SD)
ASA	argininosuccinic acid	93.0 ± 42.7 *	500 (+9.5SD)	69 (-0.6SD)	78 (-0.4SD)
Gly	glycine	349 ± 113 nmol/ml		401 (+0.5SD)	212 (-1.2SD)
Ala	alanine	328 ± 120 nmol/ml		559 (+1.9SD)	116 (-1.8SD)
Val	valine	135 ± 31 nmol/ml		57.1 (-2.5SD)	32.2 (-3.3SD)
Tyr	tyrosine	108 ± 47 nmol/ml		118 (+0.2SD)	67.5 (-0.9SD)
Asp	aspartic acid	44.4 ± 20.0 nmol/ml		28.5 (-0.8SD)	22.2 (-1.1SD)
Glu	glutamic acid	329 ± 74 nmol/ml		197 (-1.8SD)	143 (-2.5SD)
Om	ornithine	131 ± 65 nmol/ml		66.2 (-1.0SD)	53.2 (-1.2SD)
COH	free carnitine	25.7 ± 8.0 nmol/ml	10 (-2.0SD)	19.3 (-0.8SD)	27.7 (+0.3SD)
C2	acetyl carnitine	21.5 ± 6.7 nmol/ml		9.8 (-1.7SD)	10.9 (-1.6SD)
C3	propionyl carnitine	1.73 ± 0.66 nmol/ml		0.72 (-1.1SD)	0.47 (-1.9SD)
C4	butyryl carnitine	208 ± 71 pmol/ml		2198 (+28SD)	165 (-0.6SD)
C5	isovaleryl carnitine	123 ± 89 pmol/ml	1000 (+9.9SD)	667 (+6.1SD)	103 (-0.2SD)
C5:1	tiglyl carnitine	10.9 ± 4.1 pmol/ml	100 (+21.7SD)	3.7 (-1.8SD)	7.3 (-0.9SD)
C6	hexanoyl carnitine	44.2 ± 23.5 nmol/ml		713 (+28SD)	62.9 (+0.8SD)
C5OH	3-OH-isovaleryl carnitine	106 ± 33 pmol/ml	500 (+11.9SD)	71.0 (-1.1SD)	145 (+1.2SD)
C8	octanoyl carnitine	63.2 ± 30.4 pmol/ml	300 (+7.8SD)	616 (+18SD)	49.9 (-0.4SD)
C10:1	decanoyl carnitine	84.2 ± 28.3 pmol/ml		136 (+1.8SD)	105 (+0.7SD)
C10	decanoyl carnitine	128 ± 70 pmol/ml	500 (+5.3SD)	927 (+11SD)	85.3 (-0.6SD)
C5DC	glutaryl carnitine	40.0 ± 16.9 pmol/ml	200 (+9.5SD)	265 (+13SD)	44.2 (+0.2SD)
C12	dodecanoyl carnitine	142 ± 64 pmol/ml		987 (+13SD)	66.1 (-1.2SD)
C14:1	myristoyl carnitine	95.8 ± 43.0 pmol/ml	400 (+7.1SD)	989 (+21SD)	36.3 (-1.4SD)
C14	myristoyl carnitine	217 ± 62 pmol/ml		2341 (+34SD)	138 (-1.3SD)
C14OH	3-OH-myristoyl carnitine	14.1 ± 5.2 pmol/ml		27.8 (+2.6SD)	11.8 (-0.4SD)
C16:1	palmitoleyl carnitine	126 ± 58 pmol/ml		1167 (+18SD)	39.3 (-1.5SD)
C16	palmityl carnitine	2.36 ± 0.86 nmol/ml	8.0 (+6.6SD)	10.1 (+9SD)	0.76 (-1.9SD)
C16OH	3-OH-palmityl carnitine	16.3 ± 5.8 pmol/ml		38.7 (+3.9SD)	8.7 (-1.3SD)
C18	steroyl carnitine	762 ± 239 pmol/ml	3000 (+9.4SD)	2762 (+8.4SD)	694 (-0.3SD)
C18:1	oleyl carnitine	11.2 ± 4.5 pmol/ml		33.3 (+4.9SD)	7.5 (-0.8SD)
	COH / (C16+C18)	9.48 ± 5.72	100 (+15.8SD)	1.50 (-1.4SD)	19.0 (+1.7SD)
C3 / C2	propionyl carnitine / acetyl carnitine	0.083 ± 0.062	0.25 (+2.7SD)	0.07 (-0.2SD)	0.04 (-0.7SD)

表 4 タンデム検査陽性例におけるおもなフォロー検査項目

タンデム検査で異常値を示した項目	疑われる疾患	主要なフォロー検査	
		方法	主なチェック項目(一部検討予定のものを含む)
Phe	フェニルケトン尿症	HPLC	血中 Phe, Tyr
Leu + Ile	メープルシロップ尿症	HPLC	血中, 尿中 Leu, Ile, Val, アロイロイシン
		GCMS	尿中 2-keto-isocaproate, 2-keto-3-methylvalerate, 2-keto-isovalerate
		比色法	血中, 尿中 乳酸・ピルビン酸
Met	ホモシスチン尿症	HPLC	血中 Met
		HPLC	血中, 尿中 ホモシスチン・シスタチオン
Cit	シトルリン血症 I 型, II 型	HPLC	血中, 尿中 Cit, Arg, Ser, Thr, Met, Phe, Lys, Tyr, Gln
		酵素法	ガラクトース, ガラクトース-1-リン酸
		遺伝子解析	SLC25A13 変異解析
ASA	アルギニノコハク酸尿症	HPLC	血中 Cit, 尿中 Cit
		タンデムマス	尿中 ASA
Arg	アルギニン血症	HPLC	血中 Arg, Orn
C3/C2	プロピオン酸血症	GCMS	尿中 3-OH-propionate, Propionylglycinate
		HPLC	血中, 尿中 Gly
		比色法	血中, 尿中 乳酸・ピルビン酸
	メチルマロン酸血症	GCMS	尿中 Methylmalonate
		HPLC	血中, 尿中 ホモシスチン・シスタチオン
		比色法	血中, 尿中 乳酸・ピルビン酸
C5DC	グルタル酸尿症 I 型	GCMS	尿中 Glutarate
C5	イン吉草酸血症	タンデムマス	血中 Isovaleryl-glycine, Gly
		HPLC	血中 Gly
		GCMS	尿中 Isovaleryl-glycinate, 3-OH-isovaleryl-glycinate
		比色法	血中, 尿中 乳酸・ピルビン酸
C5OH	マルチプルカルボキシラーゼ欠損症	GCMS	尿中 3-OH-propionate, Methyl-Citrate
		比色法	ビオチニターゼ活性
		比色法	血中, 尿中 乳酸・ピルビン酸
	3-メチルクロニルグリニン尿症	GCMS	尿中 3OH-isovalerate, 3Me-crotonylglycine
		比色法	血中, 尿中 乳酸・ピルビン酸
βケトオラーゼ欠損症	GCMS	尿中 2-Methyl-3-OH-butyrate, Tiglylglycine	
C8, C10	グルタル酸尿症 II 型	GCMS	尿中 Glutarate, Adipate
C8	中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症	遺伝子解析	ACADM 変異解析
C14:1	極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症	GCMS	尿中 Dicarboxylate
COH	カルニチントランスポータ異常症	GCMS	尿中 Dicarboxylate
		タンデムマス	尿中 COH

* GCMS; Gass Chromatography-Mass Spectrometry HPLC; High performance liquid chromatography

略表記された指標物質の名称については表 3 を参照

分担研究課題：タンデムマスによるマス・スクリーニングの効果に関する研究

島根大学におけるタンデムマスによる新生児マス・スクリーニング 2006 年の成績

研究要旨

我々は 2005 年 4 月からタンデムマスによる新生児マス・スクリーニングのパイロットスタディーを開始している。2006 年 1 月 1 日から 2006 年 12 月まで、24,464 検体を分析した。2006 年の再採血率は 0.40% であり、精査となったのは 6 例であった。そのうち 4 例の先天代謝異常症が発見され、その内訳はカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1 (CPT-1) 欠損症、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症、イソ吉草酸血症 (IVA)、オキソプロリン尿症がそれぞれ 1 例であった。CPT-1 欠損症、VLCAD 欠損症、IVA は発症前に発見され、治療により現在は無症状で経過している。オキソプロリン尿症は対象疾患としていなかったが、C5 アシルカルニチンの高値であったことから IVA を疑い GC/MS による尿中有機酸分析を行ったところ診断に至った。これまでに発見した一過性メチルマロン酸血症、軽症プロピオン酸血症、3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症の各 1 例をふくめても全例正常発達で経過しており、タンデムマスによるマス・スクリーニングの有用性が示唆される。

研究協力者

小林弘典、長谷川有紀、遠藤充、山口清次
(島根大学小児科)
重松陽介 (福井大学看護学科・小児科)

ルニチン分析を行った。分析検体は現行スクリーニングで使用済みとなった検体を各スクリーニング施設の協力を得て島根大学小児科に転送した。

A 研究目的

島根大学でタンデムマスによるパイロットスタディーを開始し、我が国における疾患頻度を前方視的に調査するとともに、発見される患者の生育歴についても調査し、我が国にマス・スクリーニングにおけるタンデムマス分析の役割について検討する。

B 研究方法

2005 年 4 月からパイロットスタディーを開始し、愛媛県、岡山県、山口県、兵庫県については県内の特定の施設で、宮城県、島根県では県下の全産科施設にパイロットスタディーへの参加を呼びかけて希望のあった施設において出生した児のうち保護者の同意を得た場合にタンデムマスによるアミノ酸分析とアシルカ

C 研究結果と考察

(1) 分析検体について

2006 年 1 月から 12 月までの総分析数は 24,464 検体であった。前年度の分析数とあわせると累計 36,906 検体を分析した。2006 年における再採血率は 0.40% であり、最近 6 ヶ月間に限れば 0.27% であった。再検率を下げるためには複数のパラメータを利用して総合的に結果を判断することが有用であった。

(2) 発見された異常について

2005 年に発見された先天代謝異常症は 3 症例、すなわち軽症プロピオン酸血症 (PPA)、一過性メチルマロン酸血症 (MMA)、3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症 (MCC) がそれぞれ 1 例であった。

2006 年に新しく発見された対象疾患の患児

はカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1 (CPT-1 欠損症)、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素(VLCAD) 欠損症、イソ吉草酸血症(IVA)が各 1 例であった。いずれも発症前の発見であった。VLCAD 欠損症はその後の遺伝子検索などから筋型である可能性が強いと考えられる。IVA は診断指標である C5 アシルカルニチンが 1.29 μ M(基準値 1.0)と低く、その後の臨床経過からもいわゆる軽症型である可能性が強い。また、CPT-1 欠損症については遺伝子解析を行える施設が国内に見あたらず確定診断に難渋するなど、スクリーニングをとりまく診断支援における問題点も明らかになった。

また、C5 アシルカルニチンの高値のために精査を行った際、偶然にオキソプロリン尿症の患者が発見された。本疾患はスクリーニング対象疾患ではなかったが今後はこのような場合にどのように対応するかも課題と考える。

(3) これまでに発見された患児の経過

これまでに発見された症例の現在の治療を以下に示す。

疾患	診断時症状	治療	経過・転帰
一過性 MMA	なし	無治療	正常発達
軽症 PPA	なし	無治療	正常発達
MCC	高アンモニアロイシン血症	除去ミルク、カルニチン投与	正常発達
CPT1 欠損症	なし	MCT ミルク	正常発達
VLCAD 欠損症	なし	MCT ミルク	正常発達
IVA	なし	ロイシン除去ミルク	正常発達

いずれも現在のところは良好な経過をとっており、タンデムマスによる新生児マス・スクリーニングの有用性が示唆される。MMA や PPA については古典型ではなく、治療も現在のところ必要としていない。このような症例の今後の自然歴を追っていくことはスクリーニングの対象疾患を検討する意味でも重要と考えられる。

D 結論

- 2006 年は 24,464 検体を分析し、これまでの分析数とあわせると累計 36,906 検体を分析した。再採血率を下げるために複数のパラメーターを組み合わせることが重要であると考えられた。
- これまでに 6 例のスクリーニング対象の患者が発見されており 2 例は無治療で経過、残りの 4 例は治療を行い発達・発育ともに良好な経過をとっており、タンデムマスによるマス・スクリーニングの有用性が示唆される。

E 研究発表 論文発表

- Kobayashi H, Hasegawa Y, Endo M, Purevusuren J, Yamaguchi S: ESI-MS/MS study of acylcarnitine profiles in urine from patients with organic acidemias and fatty acid oxidation disorders. J Chromatogr B (in press)
- Fujiwaki T, Tasaka M, Takahashi N, Kobayashi H, Murakami Y, Shimada T, Yamaguchi S: Quantitative evaluation of sphingolipids using delayed extraction matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry with sphingosylphosphorylcholine as an internal standard Practical application to cardiac valves from patient with Fabry disease. J Chromatogr B 832: 97-102, 2006
- 山口清次, 小林弘典: 先天性脂肪酸代謝異常症. 小児科臨床 59(4): 89-97, 2006

学会発表

- 小林弘典, 長谷川有紀ほか. 尿中アシルカルニチン分析による脂肪酸・有機酸代謝異常症の代謝解析の試み. 第 31 回日本医用マススペクトル学会年会 (2006 年 9 月 28 日, 名古屋)
- Hironori Kobayashi, Yuki Hasegawa, Mitsuru Endo, Seiji Yamaguchi. Evaluation of urinary acylcarnitines for differential diagnosis of

cases showing blood carnitine deficit in the tandem MS screening. The 10th International Congress of Inborn Errors of Metabolism (September 12-19, Makuhari, Japan) 2006

3. 小林弘典、長谷川有紀、遠藤充、山口清次：
乳児期以降に診断された先天代謝異常症患者の新生児期におけるタンデムマス分析による検討. 第 109 回日本小児科学会学術集会. (2006 年 4 月 21 日-23 日, 金沢)

分担研究課題：タンデムマスによるマス・スクリーニングの効果に関する研究

大阪市における 5 年間のタンデムマスによるマス・スクリーニングの結果

研究要旨

大阪市では 2001 年よりタンデムマス (MS/MS) による新生児マススクリーニングのパイロットスタディーを行い、2005 年までの 5 年間で 30,354 件施行した。その結果、MS/MS 検査では 25 件の要再採血検体があり、全例について MS/MS による再採血検査を行い、その内 1 件についてはプロピオン酸血症あるいは MMA の疑いで尿の有機酸分析を実施したが、いずれも患者ではなかった。要再採血検体の疑疾患名は 複合カルボキシラーゼ欠損症、グルタル酸尿症 II 型、プロピオン酸血症、MMA、MCAD 欠損症、シトリン欠損症、高チロシン血症 I 型、肝障害であった。

当検査室における現行アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングでは、この 5 年間の要再採血検体は 488 件で、463 件について再採血検査し、37 件が要精密検査となっている。その中で、MS/MS 実施群での現行アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの要再採血検体は 152 件で 133 件について再採血検査し、11 件が要精密検査となった。その結果は軽症 HPA、高チロシン血症、一過性高側鎖アミノ酸血症等であった。MS/MS 未実施群は 90,649 件で、要再採血検体の 336 件の内 330 件について再採血検査が実施され、26 件が要精密検査となった。その結果は PKU、軽症 HPA、高メチオニン血症、シトリン欠損症、新生児シトルリン血症等であった。シトリン欠損症に関しては初回検査段階でのシトルリンおよび関連アミノ酸の測定を MS/MS 検査し、迅速に診断された。

研究協力者

大竹治美、藤本昭榮、酒本和也、宮城富子
(大阪市環境保健協会検査室)

岡野善行、新宅治夫、山野恒一
(大阪市立大学大学院
医学研究科発達小児医学)

長谷 豊 (大阪市北区保健福祉センター)
重松陽介 (福井大学医学部看護学科)

1) 使用検体

大阪市内の「MS/MS 法による新しい新生児マススクリーニング」のパイロットスタディー協力医療機関で出生した新生児の内、保護者の同意が得られた新生児の濾紙血を検体とした。

2) 方法

大阪市環境保健協会に郵送された検体のうち、1)に該当する検体から 1/8 インチ濾紙血 2 枚を抜き取り、保冷状態で福井大学医学部に送付した。

A. 研究目的

大阪市では 2001 年 11 月よりタンデムマス (MS/MS) による新生児マススクリーニングのパイロットスタディーを実施している。現在、アミノ酸代謝異常症のマス・スクリーニング検査法として MS/MS 法の導入を検討中であるため、今回 2005 年までの約 5 年間のパイロットスタディー結果を報告する。

B. 研究方法

C. 研究結果

2001 年 11 月から 2005 年までの約 5 年間の MS/MS パイロットスタディー実施検体数は 30,354 であった (表 1)。25 件の要再採血検体があり、その疑疾患は表 2 に示すように、複合カルボキシラーゼ欠損症が 2 件、グルタル酸尿症 II 型が 4 件、プロピオン酸血症あるいはメチルマロン酸血症が 10 件、中鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症が 4 件、シトリン欠損症が 3 件、高チロシン血症 I 型

が1件、肝障害が1件であった。全例MS/MSによる再採血検査を行い、その内1件のプロピオン酸血症あるいはメチルマロン酸血症の要精密検査者に対しては尿の有機酸分析を実施したが、いずれも患者ではなかった。

MS/MS 実施群での現行アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニング検査の要再採血検体は152件で133件について再採血検査し、11件が要精密検査となり、9件が患者であった。その診断名は軽症高フェニルアラニン血症が7件、高チロシン血症が1件、一過性高側鎖アミノ酸血症が1件であった(表3)。

MS/MS 未実施群での現行アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニング検査は90,649件で要再採血検体は336件で330件について再採血検査を実施し、26件が要精密検査となり、19件が患者であった(表1)。その診断名はフェニルケトン尿症が1件、軽症高フェニルアラニン血症が11件、高メチオニン血症が4件、シトルリン欠損症が2件、新生児シトルリン血症が1件であった(表3)。

D. 考察

MS/MS 実施群での要再採血検体の疑疾患が有機酸、脂肪酸代謝異常症が中心であるのに対し、現行アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングではその陽性結果から精密検査で診断された疾患は高フェニルアラニン血症を中心としており、その疾患は異なり共通ではなかった。MS/MS 実施群と未実施群ともに現行アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングでの陽性結果後、精密検査で診断された疾患は共通しており、軽症高フェニルアラニン血症であった。以上のことは表4に示すように、当検査室HPLC法によるカットオフ値が福井大学MS/MS法に比べ低値に設定されていることに起因し、その結果より多くの要再採血・要精密検査数となり、軽症疾患を検出していると推測された。加えて軽症高フェニルアラニン血症が多く発見されているのは、内部精度管理にMDA法を採用している¹⁾ためと考えられる。

2例のシトルリン欠損症に関しては、両者共に

MS/MS 未実施群検体でフェニルアラニンの軽度増量が契機となって発見されたが、再採血と初回採血段階でのシトルリンおよび関連アミノ酸の測定をMS/MS検査に依頼した結果、両者とも初回採血時からシトルリンが増量しており、速やかな診断に結びついた。

また、新生児シトルリン血症I型の1例もMS/MS未実施群検体で初回採血(生後5日)時にメチオニン:1.83mg/dl、チロシン:7.84mg/dl、フェニルアラニン:1.29mg/dlであり再採血の対象となったが、初回採血した当日に精密医療機関に搬送され、血清アミノ酸分析でシトルリンが24.28mg/dlと上昇していた。この検体について、初回採血検体をMS/MSで測定したところやはりシトルリンが31.6mg/dlと著増していた。

以上のことから、大阪市でのMS/MSによるパイロットスタディーでは患者が発見されていないが、仮に全検体をMS/MSでスクリーニングしていれば、少なくとも2件のシトルリン欠損症と1件の高シトルリン血症が発見されていたと推測される。またシトルリン欠損症においては、診断をより早期に確定することが可能であったと考えられた。

文献

- 1) 大竹治美、酒本和也、長谷 豊 他:HPLC短時間法によるアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニング—5年間の成績。日本マス・スクリーニング学会誌 Vol.15, No.1:45-54, 2005.

表1. 大阪市におけるアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニング検査成績 (2001～2005年)

年		タンデムマス法検査実施		タンデムマス法検査未実施
		タンデムマス検査	アミノ酸代謝異常症 マススクリーニング検査(HPLC法)	アミノ酸代謝異常症 マススクリーニング検査(HPLC法)
2001	初回受付数	3032	3032	22438
	再採血依頼数	2	21	98
	再採血検査数	2	20	96
	要精検者	0	1	5
	患者数	0	1	5
2002	初回受付数	5582	5582	18996
	再採血依頼数	6	39	88
	再採血検査数	6	33	88
	要精検者	0	5	11
	患者数	0	3	7
2003	初回受付数	7206	7206	17184
	再採血依頼数	6	26	51
	再採血検査数	6	20	51
	要精検者	0	2	2
	患者数	0	2	1
2004	初回受付数	7286	7286	16311
	再採血依頼数	5	33	44
	再採血検査数	5	29	42
	要精検者	0	1	3
	患者数	0	1	3
2005	初回受付数	7248	7248	15720
	再採血依頼数	6	33	55
	再採血検査数	6	31	53
	要精検者	1	2	5
	患者数	0	2	3
合計	初回受付数	30354	30354	90649
	再採血依頼数	25	152	336
	再採血検査数	25	133	330
	要精検者	1	11	26
	患者数	0	9	19

表2. タンデムマス検査における要再採血検体の疑疾患名

要再採血の疑疾患名	2001	2002	2003	2004	2005	合計
複合カルボキシラーゼ欠損症	2					2
グルタル酸尿症Ⅱ型			1	2	1	4
プロピオン酸血症あるいはメチルマロン酸血症		5	1	2	2	10
MCAD 欠損症			2	1	1	4
シトリン欠損症		1	2			3
高チロシン血症(I型)					1	1
肝障害					1	1
合計	2	6	6	5	6	25

表3. 大阪市におけるアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングで発見された患児の疾患別内訳

年度	MS/MS 検査	フェニル 尿症	軽症高フェニル アラニン血症*1	高チロシン 血症*2	シリン 欠損*3	高チロシン 血症*4	一過性高側鎖 アミノ酸血症*5	高シリン 血症*6	合計
2001	実施		1						1
	未実施		3	1	1				5
2002	実施		2				1		3
	未実施		5	1	1				7
2003	実施		1			1			2
	未実施			1					1
2004	実施		1						1
	未実施	1	2						3
2005	実施		2						2
	未実施		1	1				1	3
合計	実施	0	7	0	0	1	1	0	9
	未実施	1	11	4	2	0	0	1	19

*1 初回採血時 Phe : 1.35~2.82mg/dl、Tyr : 0.86~2.60 mg/dl

*2 初回採血時 Met : 0.76~1.15mg/dl

*3 初回採血時 Phe : 1.98~1.99mg/dl、Tyr : 2.90~4.60 mg/dl、Met : 0.39~0.51 mg/dl

*4 初回採血時 Tyr : 9.60mg/dl (2003年当時のMS/MS検査では高Tyr血症はスクリーニング対象外)

*5 初回採血時 Leu : 2.24mg/dl、Ile : 1.39mg/dl、Val : 2.98mg/dl

*6 初回採血時 Met : 1.83mg/dl、Tyr : 7.84mg/dl、Phe : 1.29mg/dl、Cit : 31.6mg/dl

表 4. MS/MS 法と HPLC 法のカットオフ値 (mg/dl)

	Phe	Met	Tyr	Leu	Ile	Val	BCAA
MS/MS 法	2.0	1.5	5.5	5.9		3.0	8.9
HPLC 法	1.7	0.8	6.0	2.0	1.3	3.0	7.0

分担研究課題：タンデムマスによるマスキングの効果に関する研究

検査施設におけるアミノ酸・アシルカルニチンの無誘導体化測定

研究要旨

乾燥血液濾紙中アミノ酸・アシルカルニチンのタンデムマス分析では、高感度な装置を用いれば、ブチルエステル化を行うことなく測定出来る。そこでわれわれは、検査施設で購入候補となる価格帯のタンデムマス分析装置と精度管理用検体を用いて、マスキング検査に無誘導体化分析が導入可能かを検討した。本年は、濾紙血中のアシルカルニチンを検討対象に追加して検討を試みたところ、アミノ酸・アシルカルニチンともに測定再現性は、C.V.10%以下を示し、内部標準の入手可能な化合物について、おおむね C.V.5%以下の良好な結果を得た。無誘導体化法は、検査手技の簡略化のみならず、高価な誘導体化試薬を必要しないため、スクリーニングのランニングコストの改善にも効果が期待される。検査施設で購入可能なタンデムマスで、十分実用可能な分析法と思われる。

研究者協力者

稲岡一考，竹島清美，中村しのぶ，入江明美，
宮城晶子，畝川謙太郎，宮道徹，中山雅弘，
和田芳直

（大阪府立母子保健総合医療センター）

成瀬浩，前田昌子，鈴木恵美子，渡辺倫子

（(財)日本公衆衛生協会）

重松陽介

（福井大学医学部小児科・看護学科）

A. 研究目的

従来、アミノ酸・アシルカルニチンをタンデムマスで分析する場合には、前処理として試料の誘導体化（ブチルエステル化）を行うのが一般的であったが、高感度化した最新のタンデムマス分析装置では、試料の誘導体化を行うことなく、これらの物質を分析する事が可能となった。しかし、多量の検体を取り扱うマスキング施設では、装置の分析感度のみならず検体処理件数にも配慮して機器選定を行う必要があり、限られた予算の中で下位機種を複数台設置する場合も多いと思われる。そこでわれわれは、検査施設で選択対象となるような価格帯の最新タンデムマスを用いて、乾燥血液濾紙中のアミノ酸・アシルカルニチンの無誘導体化分析をスクリーニング検査として行うことが可能か否か検討を試みた。

B. 研究方法

1) 使用装置

API3200+Prominence LC/MS/MS 装置
(API3200 : Applid Biosystems)
(Prominence : Shimazu)

2) 分析ソフト

Analyst 1.4.1 (Applid Biosystems)
Chemoview 1.3.1 (Applid Biosystems)

3) 試薬

- Labeled Amino Acid Standards Set-A
(Cambridge Isotope Laboratories, Inc.)
- Labeled Carnitine Standards Set-B
(Cambridge Isotope Laboratories, Inc.)
- 固定液
(CH₃OH : CH₃COCH₃ : H₂O = 7 : 7 : 2)
- 誘導体化試薬
(Acetyl Chloride : 1-Butanol = 1 : 9)
1-Butanol for HPLC (Sigma-Aldrich Lab.)
Acetyl Chloride 015-00551 (和光純薬工業)
- Formic Acid abt.99% (和光純薬工業)
- Methanol for LCMS (和光純薬工業)
- Acetonitrile for LCMS (和光純薬工業)

4) 検体

標準血液濾紙 (富士レビオ)
内部精度管理検体 I (精度管理センター)
外部精度管理検体 I (精度管理センター)
管理検体 II (CDC)
無作為抽出マスキング検体

5) 方法

タンデムマスを用いた新生児スクリーニング

で想定される測定対象物質一覧を(表1)に示す。現在スクリーニング検査の対象となっているアミノ酸(Phe, Leu, Met)については、ガスリー検査用標準血液濾紙(富士レビオ)・精度管理検体(日本公衆衛生協会スクリーニング精度管理センター, CDC)を用いて、誘導体化法, 無誘導体化法による分析を行い, 同時再現性について評価を行った。また, 新たにスクリーニング対象として追加されるアシルカルニチンについては, 内部標準が入手できるC0・C2・C3・C4・C5・C8・C14・C16について, 精度管理検体(CDC)を用いて同様の検討を行った。

次に, 大阪府立母子保健総合医療センターで受理した新生児スクリーニング検体のうち, 無作為に抽出した集団(n=450)についても, 現在の標準法である誘導体化法測定値を対象に, 無誘導体化分析法を比較した。

誘導体化分析法

- ① 検体(1/8inch disk)をマイクロプレートに採取。
- ② Hb固定液10 μ lを加え自然乾燥。
- ③ メタノール溶解内部標準液100 μ l分注。
- ④ 30min振盪抽出。
- ⑤ 上清を別マイクロプレートに分取
- ⑥ 窒素環流下40 $^{\circ}$ C加温して蒸発乾固。
- ⑦ 誘導体化試薬100 μ l分注後密閉。
- ⑧ 60 $^{\circ}$ C15min加温しブチルエステル化。
- ⑨ 窒素環流下40 $^{\circ}$ C加温して蒸発乾固。
- ⑩ 移動相100 μ lで再溶解。
- ⑪ 試料5 μ lをインフュージョンESI分析。

無誘導体化分析法

- ① 検体(1/8inch disk)をマイクロプレートに採取。
- ② Hb固定液10 μ lを加え自然乾燥。
- ③ メタノール溶解内部標準液100 μ l分注。
- ④ 30min振盪抽出。
- ⑤ 2000rpm15min遠心。
- ⑥ (上清を別マイクロプレートに分取)
- ⑦ 移動相100 μ lで再溶解。
- ⑧ 試料5 μ lをインフュージョンESI分析。

C. 研究結果

スクリーニング精度管理センターから提供を受けた内部精度管理濾紙, 外部精度管理濾紙中のアミノ酸を, HPLC法, タンデムマス(誘導体化法), タンデムマス(無誘導体化法)で分析したところ, 概ねC.V.値5%以下の良好な測定再現性

を示した。なお, 対象とするHPLC法の結果は精度管理センターで分析された結果である(表2, 表3, 表4)。

CDCの管理用管理血液濾紙を用いたアミノ酸, アシルカルニチンの検討においても, 誘導体化分析法, 無誘導体化分析法ともにC.V.値5%程度の再現性が得られている(表5, 表6)。次に, 管理検体表示値を基準にして, 各物質のRR Factorを設定したところ, 誘導体化法で0.8~1.3程度, 無誘導体化法で0.7~1.2程度の結果が得られた。

無作為抽出した新生児マススクリーニングの実際的な検体を誘導体化法, 無誘導体化法を比較したところ, 主要アミノ酸, 主要アシルカルニチンは十分測定可能であった。

D. 考察

われわれの検討した誘導体化を行わない濾紙血中アミノ酸・アシルカルニチンの新しい分析法は, 処理を簡略化し, テクニックエラーの発生を予防する。また, 高価な誘導体化試薬を不要にするため, ランニングコストの軽減効果も期待できるため, マスクリーニングに適した分析法である。今回の検討では, スクリーニング検査施設で購入可能なタンデムマスを用いてアミノ酸・アシルカルニチン無誘導体化分析を試みたが, 十分実用可能であると思われた。ただ, 対象物質の一部の測定結果で, 誘導体化法と無誘導体化法の間に解離が認められた。この差は十分補正可能なレベルのものであるが, 今後, 両分析法で異なるカットオフ値が設定されることがないように, 測定値解離の原因の究明を続ける必要がある。また, 内部標準の調整は, 1000検体単位で行う必要がある。日差誤差が生じやすく精度管理面で問題がある。これに対処するには, 長期間安定な既知濃度検体を用いて補正する方法も考えられるが, この検体は精度管理検体とは別に準備する必要があり, 日本のスクリーニングに適した内部標準や精度管理検体の作成と併せて議論されるべきである。タンデムマス普及に当たっては, 日本マススクリーニング学会技術部会, スクリーニング精度管理センターを中心とした, 精度管理面での整備がますます重要になると思われる。

E. 学会発表(予定)

日本マス・スクリーニング学会

表1. 測定対象物質と内部標準物質

Structure Type	Sample				CIL				CDC	
	Material	[M+H] ⁺	fragments 1	fragments 2 (Loss)	Reference Standards	[M+H] ⁺	fragments 1	fragments 2 (Loss)	Testing Panels	QC Materials
Amino Acid	1 Alanine	90.0	44.0	46.0	⊙ ² H ₄ -Alanine	94.0	48.0	46.0		
	2 Valine	118.0	72.0	46.0	⊙ ² H ₈ -Valine	126.0	80.0	46.0	⊙	⊙
	3 Leucine	132.0	86.0	46.0	⊙ ² H ₃ -Leucine	135.0	89.0	46.0	⊙	⊙
	4 Methionine	150.0	104.0	46.0	⊙ ² H ₃ -Methionine	153.0	107.0	46.0	⊙	⊙
	5 Phenylalanine	166.0	120.0	46.0	⊙ ² C ₆ -Phenylalanine	172.0	126.0	46.0	⊙	⊙
	6 Arginine	175.0	70.0	105.0	⊙ ² H ₄ : 5- ¹³ C-Arginine·HCl	180.0	75.0	105.0		
	7 Citulline	176.0	159.0	17.0	⊙ ² H ₂ -Citulline	178.0	161.0	17.0	⊙	⊙
	8 Tyrosine	182.0	136.0	46.0	⊙ ¹³ C ₆ -Tyrosine	188.0	142.0	46.0	⊙	⊙
	9 <i>Serine</i>	<i>106.0</i>	<i>60.0</i>	<i>46.0</i>						
Carnitine	1 C0	162.1	77.1	85.0	⊙ ² H ₉ -free carnitine (CN)	171.1	86.1	85.0		⊙
	2 C2	204.1	119.1	85.0	⊙ ² H ₃ -Acetylcarnitine (C2)	207.1	122.1	85.0		⊙
	3 C3	218.2	133.2	85.0	⊙ ² H ₃ -Propionylcarnitine (C3)	221.2	136.2	85.0	⊙	⊙
	4 C4	232.2	147.2	85.0	⊙ ² H ₃ -Butyrylcarnitine (C4)	235.2	150.2	85.0	⊙	⊙
	5 <i>C4OH</i>	<i>248.2</i>	<i>163.2</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₃-Butyrylcarnitine (C4)</i>	<i>235.2</i>	<i>150.2</i>	<i>85.0</i>		
	6 C5	246.2	161.2	85.0	⊙ ² H ₉ -Isovalerylcarnitine (C5)	255.2	170.2	85.0	⊙	⊙
	7 <i>C5:1</i>	<i>244.2</i>	<i>159.2</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₉-Isovalerylcarnitine (C5)</i>	<i>255.2</i>	<i>170.2</i>	<i>85.0</i>		
	8 <i>C5OH</i>	<i>262.5</i>	<i>177.5</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₉-Isovalerylcarnitine (C5)</i>	<i>255.2</i>	<i>170.2</i>	<i>85.0</i>		
	9 <i>C5DC</i>	<i>276.2</i>	<i>191.2</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₄-Glutarylcarnitine (C5DC)</i>	<i>280.2</i>	<i>195.2</i>	<i>85.0</i>	⊙	⊙
	10 <i>C6</i>	<i>260.2</i>	<i>175.2</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₃-Octanoylcarnitine (C8)</i>	<i>291.2</i>	<i>206.2</i>	<i>85.0</i>	⊙	⊙
	11 C8	288.2	203.2	85.0	⊙ ² H ₃ -Octanoylcarnitine (C8)	291.2	206.2	85.0	⊙	⊙
	12 <i>C10</i>	<i>316.2</i>	<i>231.2</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₃-Octanoylcarnitine (C8)</i>	<i>291.2</i>	<i>206.2</i>	<i>85.0</i>	⊙	⊙
	13 <i>C10:1</i>	<i>314.2</i>	<i>229.2</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₃-Octanoylcarnitine (C8)</i>	<i>291.2</i>	<i>206.2</i>	<i>85.0</i>		
	14 <i>C12</i>	<i>344.2</i>	<i>259.2</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₉-Myristoylcarnitine (C14)</i>	<i>381.2</i>	<i>296.2</i>	<i>85.0</i>		
	15 <i>C12:1</i>	<i>342.2</i>	<i>257.2</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₉-Myristoylcarnitine (C14)</i>	<i>381.2</i>	<i>296.2</i>	<i>85.0</i>		
	16 C14	372.2	287.2	85.0	⊙ ² H ₉ -Myristoylcarnitine (C14)	381.2	296.2	85.0	⊙	⊙
	17 <i>C14:1</i>	<i>370.2</i>	<i>285.2</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₉-Myristoylcarnitine (C14)</i>	<i>381.2</i>	<i>296.2</i>	<i>85.0</i>		
	18 C16	400.3	315.3	85.0	⊙ ² H ₃ -Palmitoylcarnitine (C16)	403.3	318.3	85.0	⊙	⊙
	19 <i>C16OH</i>	<i>416.3</i>	<i>331.3</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₃-Palmitoylcarnitine (C16)</i>	<i>403.3</i>	<i>318.3</i>	<i>85.0</i>		
	20 <i>C18</i>	<i>428.3</i>	<i>343.3</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₃-Palmitoylcarnitine (C16)</i>	<i>403.3</i>	<i>318.3</i>	<i>85.0</i>		⊙
	21 <i>C18:1</i>	<i>426.3</i>	<i>341.3</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₃-Palmitoylcarnitine (C16)</i>	<i>403.3</i>	<i>318.3</i>	<i>85.0</i>		
	22 <i>C18:1OH</i>	<i>444.3</i>	<i>359.3</i>	<i>85.0</i>	<i>²H₃-Palmitoylcarnitine (C16)</i>	<i>403.3</i>	<i>318.3</i>	<i>85.0</i>		

表2. HPLCによる管理検体分析結果

物質名	種別	N	平均 (mg/dl)	S.D.	C.V.(%)	
Val	I	5	2.34	0.110	4.7	
	II	5	3.80	0.140	3.7	
	III	5	4.26	0.130	2.9	
Leu	I	Leu	5	3.80	0.170	4.4
		Ileu	5	0.70	0.030	4.6
	II	Leu	5	5.75	0.210	3.6
		Ileu	5	1.93	0.070	3.8
	III	Leu	5	3.84	0.120	3.1
		Ileu	5	1.67	0.050	3.2
Met	I	5	1.48	0.050	3.4	
	II	5	2.96	0.120	3.9	
	III	5	1.40	0.040	3.0	
Phe	I	5	2.91	0.060	2.1	
	II	5	4.76	0.170	3.6	
	III	5	3.61	0.060	1.6	

測定:スクリーニング精度管理センター

表3. 誘導体化測定 精度管理センター管理検体

物質名	種別	N	平均 (nmol/ml)	S.D.	C.V.(%)	平均 (mg/dl)	HPLC値
Val	I	10	163.68	4.61	2.81	1.95	2.34
	II	10	256.42	7.32	2.85	3.05	3.80
	III	10	292.41	17.35	5.93	3.48	4.28
Leu/Ile	I	10	265.23	10.18	3.84	3.53	4.50
	II	10	409.61	12.33	3.01	5.45	7.68
	III	10	287.59	15.29	5.32	3.82	5.51
Met	I	10	99.90	3.17	3.17	1.51	1.48
	II	10	194.81	5.02	2.58	2.94	2.96
	III	10	111.83	3.51	3.14	1.69	1.40
Phe	I	10	144.66	5.74	3.97	2.42	2.91
	II	10	229.73	8.44	3.67	3.84	4.76
	III	10	178.76	7.76	4.34	2.99	3.61

大阪府立母子保健総合医療センター

表4. 無誘導体化測定 精度管理センター管理検体

物質名	種別	N	平均 (nmol/ml)	S.D.	C.V.(%)	平均 (mg/dl)	HPLC値
Val	I	10	208.22	11.56	5.55	2.48	2.34
	II	10	325.75	16.76	5.14	3.88	3.80
	III	10	385.81	18.94	4.91	4.59	4.28
Leu/Ile	I	10	387.72	18.15	4.68	5.16	4.50
	II	10	654.84	38.21	5.83	8.71	7.68
	III	10	498.95	26.47	5.30	6.64	5.51
Met	I	10	87.53	5.80	6.63	1.32	1.48
	II	10	164.56	10.12	6.15	2.48	2.96
	III	10	87.77	6.30	7.18	1.33	1.40
Phe	I	10	171.38	5.23	3.05	2.86	2.91
	II	10	274.23	7.48	2.73	4.58	4.76
	III	10	203.44	13.81	6.79	3.40	3.61

大阪府立母子保健総合医療センター

表5a. 誘導体法測定法再現性
ガスリー法用標準血液濾紙 (n=10)

	表示値 (mg/dl)	平均 (mg/dl)	S.D.	C.V.	Fc*
Leu/Ile	4.00	3.40	0.260	7.65	1.18
Met	4.00	3.40	0.241	7.09	1.18
Phe	4.00	2.91	0.085	2.91	1.37

Fc(factor)=表示値/測定平均値

表5b. 誘導体法測定法再現性
ガスリー法用標準血液濾紙 (n=10)

	表示値 (mg/dl)	平均 (mg/dl)	S.D.	C.V.	Fc*
Leu/Ile	8.00	6.67	0.220	3.30	1.20
Met	8.00	6.73	1.285	19.10	1.19
Phe	8.00	6.01	0.394	6.56	1.33

Fc(factor)=表示値/測定平均値

表5c. 誘導体法測定法再現性
精度管理センター 外部精度管理検体 (n=10)

	表示値 (mg/dl)	平均 (mg/dl)	S.D.	C.V.	Fc*
Leu/Ile	7.25	5.35	0.185	3.45	1.35
Met	2.78	2.32	0.228	9.80	1.20
Phe	5.16	4.06	0.212	5.21	1.27

Fc(factor)=表示値/測定平均値

表5d. 誘導体法測定法再現性
CDC精度管理検体 I 測定再現性 (n=5)

No.622	Conc.	平均 (mg/dl)	S.D.	C.V.	Fc*
Val	2.20	2.57	0.071	2.77	0.86
Leu/Ile	5.70	5.37	0.138	2.58	1.06
Met	1.50	1.26	0.024	1.90	1.19
Phe	4.30	3.31	0.106	3.21	1.30
Cit	1.10	1.16	0.049	4.22	0.94
Tyr	3.40	3.43	0.159	4.63	0.99
No.662	Conc.	平均 (nmol/ml)	S.D.	C.V.	Fc*
C0	145.00	166.33	4.699	2.82	0.87
C2	42.26	56.01	2.028	3.62	0.75
C3	4.69	5.70	0.396	6.95	0.82
C4	1.18	1.21	0.040	3.27	0.97
C5	0.58	0.61	0.026	4.25	0.95
C8	0.59	0.63	0.057	9.05	0.93
C14	0.62	0.48	0.013	2.70	1.29
C16	4.30	3.97	0.259	6.52	1.08

Fc(factor)=表示値/測定平均値

表5e. 誘導体法測定法再現性
CDC精度管理検体 II 測定再現性 (n=5)

No.623	Conc.	平均 (mg/dl)	S.D.	C.V.	Fc*
Val	3.70	4.35	0.102	2.35	0.85
Leu/Ile	10.20	10.01	0.282	2.82	1.02
Met	3.70	3.39	0.322	9.50	1.09
Phe	8.20	6.52	0.216	3.32	1.26
Cit	2.50	3.03	0.104	3.45	0.83
Tyr	6.70	7.25	0.194	2.68	0.92
No.663	Conc.	平均 (nmol/ml)	S.D.	C.V.	Fc*
C0	249.16	280.36	7.862	2.80	0.89
C2	68.54	79.42	3.245	4.09	0.86
C3	9.54	11.40	0.364	3.19	0.84
C4	2.64	2.66	0.069	2.59	0.99
C5	1.49	1.52	0.047	3.06	0.98
C8	1.13	1.19	0.050	4.21	0.95
C14	1.51	1.21	0.021	1.72	1.25
C16	7.52	6.68	0.300	4.49	1.12

Fc(factor)=表示値/測定平均値

表5f. 誘導体法測定法再現性
CDC精度管理検体 III 測定再現性 (n=5)

No.624	Conc.	平均 (mg/dl)	S.D.	C.V.	Fc*
Val	5.60	6.59	0.268	4.07	0.85
Leu/Ile	14.00	13.82	0.627	4.54	1.01
Met	6.90	5.80	0.342	5.89	1.19
Phe	11.70	9.25	0.504	5.45	1.27
Cit	4.70	5.23	0.136	2.61	0.90
Tyr	9.80	10.15	0.469	4.62	0.97
No.664	Conc.	平均 (nmol/ml)	S.D.	C.V.	Fc*
C0	371.50	397.36	11.730	2.95	0.93
C2	98.00	102.18	4.009	3.92	0.96
C3	14.41	16.78	0.794	4.73	0.86
C4	5.09	5.01	0.099	1.97	1.02
C5	2.88	2.85	0.174	6.10	1.01
C8	2.76	2.70	0.107	3.96	1.02
C14	3.07	2.33	0.090	3.88	1.32
C16	10.60	9.24	0.314	3.40	1.15

Fc(factor)=表示値/測定平均値