

## 中央病理診断手順

### （１）登録者側

#### 1, 登録

患者イニシャル、年齢（月齢まで）、施設、登録医、発生部位、Stage, MYCN増幅の有無(判明していれば)

#### 2, 病理標本

採取部位（原発部位、転移部位の記載）

生検、手術検体の別

#### 3, 提出標本

HE 標本 2 枚、未染 10 枚

### ★検体の肉眼標本観察および採取部位および採取方法（別図）

### （２）登録と検体送付の流れ（パワーポイントの図を参照）

1, 担当医は、神経芽腫と考えられる症例が発生した段階で、「日本神経芽腫スタディグループ研究参加のお願い」説明・同意文書を用いて、患者またはその保護者から JNBSG 研究への参加および病理・遺伝子診断用検体を JNBSG 検体センターへ送付・保存することの同意を取得する。

2, 「症例登録票」に必要な事項をすべて記入の上、登録センターへ FAX 送付する。追って JNBSG 登録センターから症例に対応した JNBSG 番号が通知される。以後、検体送付に当たっては JNBSG 番号を用いる。

3, 登録センター：国立成育医療センター研究所 FAX No 未定

受付時間：平日 9 時から 17 時まで（17 時以降に受信された FAX は原則として翌日の処理となる）。

#### 4, 病理標本送付

一次（初期）登録に引き続き可能なかぎり速やかに、病理検体センターに病理標本を提出する。

#### 5, 検体の搬送手順

1) 病理検体は、郵送等を利用して送付する。

2) HE 染色標本と未染標本には JNBSG 番号と施設名、症例のイニシャルを鉛筆で記入する。

3) 検体を送付する際には、紛失、検体の取り違え等を防ぐため、所定の検体送付票を用いる。あらかじめ検体センターに連絡する。

検体送付先 JNBSG 病理検体センター

国立成育医療センター 秦 順一 他

世田谷区大蔵 2-10-1 TEL : 03-5494-8265 (直通)、TEL : 03-3416-0181 (代表) FAX :

03-3416-0336 E-mail: [jhata@nch.go.jp](mailto:jhata@nch.go.jp)

### （３）中央病理診断

1, 診断：用いる神経芽腫組織分類：INPC

未治療の検体に対して INPC に基づく診断を附す。

なお、治療後の検体に関する腫瘍所見の記載法は別途定める。

2, HE 標本にて診断

但し、他の腫瘍との鑑別が必要な場合は以下の免疫染色を加える

抗 tyrosine hydroxylase (TH), NFP, gp9.5, S100 など

3, コンセンサス診断とする。

診断医：秦 順一、中川温子、浜崎 豊（大喜多肇）

最初の 2 名の診断が一致した場合、その診断を中央病理診断とする。不一致の場合は第 3 診断者へ送付し、3 者の協議の上中央病理診断とする。

4, 定められ報告用紙で報告する（File Maker ProV7）（別図）

5, 提出された標本の 2 枚は MYCN-FISH に用いる(担当；松岡健太郎)

ただし、診断は病理組織診断を優先させる(枚数が不足している場合)

6, 治療後の検体では予後を判定する診断を行わない。

7, 治療後の検体の取り扱いは別途定める。

#### 検体の肉眼標本観察と検体採取

##### ★未治療検体

- 1, 固定する前に最大断面で標本を切る。その断面全体を病理標本とする。その際、肉眼的に異なる部位から生物学的解析検体を適宜採取する→凍結。
- 2, 腫瘍が大きい場合は約 1cm 弱の厚さでスライスする。スライスされた標本をよく観察し、肉眼的に異なった部位から検体を採取し、病理標本ないしは生物学的検体を採取する。その際、腫瘍の状態をスケッチないし写真に撮り、採取した部位を明らかにしていくことが望ましい。
- 3, 生検検体も基本的に上記の要領で標本を採取する。病理診断確定のために充分量の病理検体を採取する。

★治療後の採取された検体の取り扱いは別途定める。

(資料9)

バーチャルバンキング運用規定

1) バーチャル腫瘍バンクの設立の骨子

- ① バーチャル腫瘍バンクは過去の神経芽腫腫瘍サンプルの国内、国外での共同使用を管理する。
- ② このバンクは、個人の権利とプライバシーを保護するガイドラインに正確に従った形で構築する。
- ③ バーチャルな腫瘍バンクに関するデータベースは、生物学的データの解析を容易にするために臨床のデータベースに連結不可能匿名化にて連結可能とする。
- ④ バーチャルな腫瘍バンクは様々な保管腫瘍の量、部位、収集と保管状況、質的グレードの情報を保管する。腫瘍は収集した施設にて全て保管され、研究のために交換する方法、中央的研究(マイクロアレイや腫瘍アレイなど)に提供する方法を確立し、学術審査委員会によって承認され、さらに全ての参加施設の合意のもとに施行する。

2) バーチャルバンキングの運営方法

- ① 症例の登録、管理:連結不可能匿名化された施設のコードにて管理され、研究者は、コード以外の個人情報を得ることはできない。当面は、匿名化番号を記載する事務局として、ひろしまがん治療開発推進機構にお願いすることとする。研究審査、倫理審査についても機構の委員会での審査をお願いする。現在の臨床データ、病理所見、さらに患者の治療、転記を記載したデータにコードを入れて、個人情報を廃棄したリストを作成する。データセンターはコードから、このコードにあるデータのみを研究者に供与する。
- ② 腫瘍検体の管理:参加施設は、外部にはコードのみで提供する。サンプルによって、残存量に差があるので、それらの情報を提供していただく。各施設の倫理審査は、ほとんどの症例が2000年以前（A群症例）であり、連結不可能匿名化でほぼ解決できる。
- ③ 輸送、管理にかかる経費（容器、人件費）：受益者負担とする

3) 神経芽腫バーチャルバンキングの研究審査等について

- ① 学術審査委員会は生物学的検体の使用申請を評価するガイドラインを作成する。委員会のメンバーは、また、生物学的検体使用に関わる研究者からの申請書の評価を行う。申請形式は、申請された研究の大きさに基づいた段階的な評価機構で構築されるべきである。
- ② マイクロアレイのデータを如何に集積し、解析し、利用するか規定を設立する。重要なのは、マイクロアレイのデータを他の一般的なデータと比較して普遍的なものとして利用可能とすることである。マイクロアレイのデータを(ウェブなどを利用した)共有するデータとする計画と、印刷物としてこのマイクロアレイのデータを使用することのルール作りを行うことである。
- ③ 研究審査委員会の立ち上げ:サンプルを供与して頂ける7施設から代表者を各1名と 病理医1名とし、倫理審査は、ひろしま癌治療開発推進機構に当面は委託する。

4) 保存検体の登録法:検体の種類と残量を登録する。

- ① 凍結腫瘍検体
  - 1. 原発巣
  - 2. 転移巣
  - 3. 再発巣
  - 4. 治療後切除標本
- ② 凍結切片
- ③ 抽出核酸
- ④ 抽出蛋白
- ⑤ 血清
- ⑥ 尿
- ⑦ 初代培養細胞
- ⑧ カルノア固定細胞
- ⑨ 樹立細胞株
- ⑩ 他

これらを明記したリストを参加施設に依頼し記載したされたものを事務局が管理する。

5) 保存検体の使用規定について

登録された検体に関しては、それを使用する際には、研究計画をあらかじめ審査委員会に提出し、審査後に必要サンプルを各施設から供与していただくこととする。さらに、外部審査委員を嶋田先生、秦先生にお願いする。

6) 保存検体の使用規定について:学術審査委員会規定(案)を策定した。

- 1. 委員は、原則として検体を供与している施設から1名とし、10名以内とする。参加施設が10名を越えるときは、供与検体数、地域性から、毎年委員の見直しを行う。
  - 2. 検体の登録法を定める。
  - 3. 研究申請について定める
  - 4. 検体の審査手順を定める。その際、概ね下記の3群に分類し、審査を行う。
    - 1.) 制限以下の検体で大量に保存されている検体を用いる研究は全体会議の承認なしに迅速に許可可能とする。(たとえば、10g以上の腫瘍にかぎり20検体以下の研究)。これらの申請は、審査委員長と1-2名の審査委員の許可で可能とする。
    - 2.) 20-100検体を用いる研究申請は、全体の正式な学術審査委員会の許可を要す。
    - 3.) 100検体以上あるいい、希少なサンプルを5検体以上使用する研究は、学術審査委員会、外部顧問、参加施設の代表者の合意を必要とする。
- ただし、検体には数的、量的に限りがあること、遅れて提出された研究では内容が重複した研究の優先順位は下がる。また、同時期に提出された研究に関しては、検体を供与している施設に優先権を認める。
- 4. マイクロアレイのデータに関する管理と運営に関して別に定める。

## （資料10）神経芽細胞腫のリスク分類検討会資料

日時：平成17年12月12日（月）13：00～

場所：キャンパスイノベーションセンター東京 多目的室2

1. I N R G (International neuroblastoma risk grouping) meeting の報告

京都府立医科大学	家原 知子
筑波大学	金子 道夫
千葉がんセンター	中川原 章
広島大学	檜山 英三

2. 本邦の後ろ向きデータの集計報告

新潟大学	赤澤 宏平
------	-------

3. 本邦の病理解析データの報告

静岡県立こども病院	浜崎 豊
-----------	------

4. COGの対応と近況について

ロサンゼルス小児病院	嶋田 ヒロユキ
------------	---------

5. 本邦リスク分類の提案と討論

恩賜財団母子愛育会 子ども家庭総合研究推進事業  
厚生労働科学研究費補助金 子ども家庭総合研究事業  
—登録症例に基づく神経芽細胞腫マスキリーニングの効果判定と医療体制の確立—  
主任研究者 檜山 英三

## 小児神経芽腫 多変量解析によるリスク因子の同定

### 1. 解析の目的

Cox の比例ハザードモデルによる多変量解析を行い、小児神経芽腫症例の生存時間に影響を与える因子の同定を行う。

### 2. 解析の方法

(1) 逐次変数増減法(Stepwise 法)による Cox 解析を行う。モデルへの変数の投入は、尤度比検定で  $p$  値  $< 0.05$  のとき行われる。また、 $p$  値  $> 0.06$  のとき、その変数はモデルから除去される。

(2) 候補因子は以下のように処理する。

- 1) 2 値変数はそのまま候補因子とする。
- 2) 順序変数もしくは多値名目尺度変数はダミー変数を作成し候補因子とする。
- 3) 連続変数は折れ線関数を作成し候補因子とする。折れ線関数を候補因子とすることにより、非線形的に変化するハザードの大きさを適切に評価できる。

(折れ線関数の例) 治療開始月齢が 18 ヶ月未満と 18 ヶ月以上とで生存予後に大きな違いがあるときに以下の折れ線関数をモデルに入れるとハザードの大きさを正しく推定できる。

$$\text{Age18} = (\text{治療開始月齢} - 18) + |\text{治療開始月齢} - 18| / 2$$

治療開始月齢の場合、12 ヶ月、13 ヶ月、・・・、20 ヶ月までのカットオフ点で折れ線関数を作成した。

(3) 1800 例以上ある項目を候補因子とした。初発症状、国際組織分類、Shimada 分類、フェリチン、DNAploidy、TRK-A、腫瘍最大径は例数が足りないため、別解析で処理した。

(4) 上述により以下の 33 項目を候補因子とした。

- ・性別
- ・治療開始月齢
- ・治療開始月齢の折れ線関数(Age12、Age13、Age14、Age15、Age16、Age17、Age18、Age19、Age20)
- ・発見経路
- ・局所進展度
- ・マス結果
- ・リンパ節転移
- ・本邦組織分類
- ・骨転移
- ・本邦組織分類 2
- ・眼窩転移
- ・原発部位
- ・骨髄転移
- ・原発左右
- ・肝転移
- ・亜鈴型
- ・皮膚転移
- ・VMA
- ・他臓器転移
- ・HVA
- ・本邦病期分類
- ・NSE
- ・INSS 病期
- ・LDH
- ・N-myc 増幅

(5) 順序変数ならびに名目尺度変数のダミー変数への変換は以下のとおりである。

カテゴリ変数のコーディング<sup>a</sup> b,c,d,e,f

	度数	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
発見経路 <sup>a</sup>	1	693	0	0	0		
	2	16	1	0	0		
	3	18	0	1	0		
	4	215	0	0	1		
原発部位 <sup>a</sup>	1	542	0	0	0	0	0
	2	240	1	0	0	0	0
	3	27	0	1	0	0	0
	4	6	0	0	1	0	0
	5	126	0	0	0	1	0
	6	1	0	0	0	0	1
原発左右 <sup>a</sup>	1	395	0	0	0		
	2	476	1	0	0		
	3	62	0	1	0		
	4	9	0	0	1		
本邦病期分類 <sup>a</sup>	1	369	0	0	0	0	0
	2	213	1	0	0	0	0
	3	112	0	1	0	0	0
	4	134	0	0	1	0	0
	5	37	0	0	0	1	0
	6	77	0	0	0	0	1
INSS病期 <sup>a</sup>	0	1	0	0	0	0	0
	1	429	1	0	0	0	0
	2	62	0	1	0	0	0
	3	140	0	0	1	0	0
	4	59	0	0	0	1	0
	5	171	0	0	0	0	1
	6	80	0	0	0	0	0

a. 指標パラメータコーディング

b. カテゴリ変数: 発見経路 (1:VMAマス、2:健診、3:出生前診断、4:医療機関)

c. カテゴリ変数: 原発部位 (1:副腎、2:後腹膜、3:骨盤、4:腹部、5:胸部、6:頸部)

d. カテゴリ変数: 原発左右 (1:右、2:左、3:正中、4:両側)

e. カテゴリ変数: 本邦病期分類 (1:本邦病期分類I、2:II、3:III、4:IVA、5:IVB、6:IVS)

f. カテゴリ変数: INSS病期 (1:INSS分類1、2:2A、3:2B、4:3、5:4、6:4S)

### 3. 解析の結果

生存予後に有意な影響を与えるリスク因子として、以下の因子が選択された。

リスク因子 (参照群)	相対リスク	相対リスクの95%信頼区間
本邦病期分類 (病期分類 I)		
病期分類 II	3.29	(0.55, 19.86)
病期分類 III	14.08	(3.16, 62.72)
病期分類 IVA	10.93	(2.40, 49.87)
病期分類 IVB	5.32	(0.99, 28.51)
病期分類 IVS	4.91	(0.85, 28.46)
N-myc 増幅 (増幅なし)		
増幅あり	3.35	(2.18, 5.16)
発見経路 (VMA マス)		
健診	2.86	(0.34, 24.28)
出生前診断	8.20	(2.58, 26.13)
医療機関	7.72	(3.17, 18.81)
骨髄転移 (転移なし)		
転移あり	2.28	(1.32, 3.94)
治療開始月齢 (1ヶ月分)	1.01	(1.002, 1.015)

#### <解釈>

本邦病期分類、N-myc 増幅、発見経路、骨髄転移、治療開始月齢の5因子が、生存予後に有意な影響を与えるリスク因子として選択された。

治療開始月齢については、12ヶ月から20ヶ月までの折れ線関数はどれも選択されず、オリジナルの治療開始月齢が選択された。このことは、12ヶ月から20ヶ月までの間にハザード(瞬間死亡率)が大きく変化する月はないこと、即ち、この期間ハザードは直線的に増加することが示唆された。

本邦病期分類は、Kaplan-Meier 法による生存率曲線の推定では、IVA、IVB、IIIの順番で予後不良であったが、Cox 解析の結果、相対リスクが高いのはIII、IVA、IVBの順であり、かつ、IVBはI群と有意差がないことが示唆された。逐次変数増減法の解析結果を詳細に分析すると、骨髄転移の有無と本邦病期分類には何らかの交絡があることが示唆された。



逐次変数増減法による Cox 解析の結果

方程式中の変数

	B	標準誤差	Wald	自由度	有意確率	Exp(B)	Exp(B) の 95.0% CI	
							下限	上限
ステップ 1			126.094	5	.000			
本邦病期分類								
本邦病期分類(1)	1.043	.913	1.306	1	.253	2.838	.474	16.986
本邦病期分類(2)	3.246	.753	18.589	1	.000	25.677	5.872	112.284
本邦病期分類(3)	4.833	.717	45.480	1	.000	125.640	30.836	511.908
本邦病期分類(4)	3.529	.802	19.369	1	.000	34.084	7.080	164.085
本邦病期分類(5)	2.282	.866	6.945	1	.008	9.799	1.795	53.498
N-myc増幅	-1.289	.211	37.408	1	.000	.276	.182	.416
ステップ 2			83.431	5	.000			
本邦病期分類								
本邦病期分類(1)	1.025	.913	1.261	1	.262	2.787	.466	16.682
本邦病期分類(2)	3.182	.753	17.864	1	.000	24.107	5.511	105.456
本邦病期分類(3)	4.362	.724	36.297	1	.000	78.419	18.973	324.127
本邦病期分類(4)	3.324	.803	17.123	1	.000	27.782	5.753	134.156
本邦病期分類(5)	2.190	.866	6.391	1	.011	8.936	1.636	48.821
ステップ 3			31.577	3	.000			
発見経路								
発見経路(1)	1.160	1.085	1.142	1	.285	3.191	.380	26.784
発見経路(2)	2.656	.557	22.711	1	.000	14.235	4.776	42.434
発見経路(3)	2.356	.433	29.599	1	.000	10.551	4.515	24.658
Nmyc増幅	-1.000	.208	22.989	1	.000	.368	.245	.554
本邦病期分類			29.638	5	.000			
本邦病期分類(1)	1.117	.915	1.491	1	.222	3.056	.509	18.367
本邦病期分類(2)	2.603	.761	11.684	1	.001	13.502	3.036	60.059
本邦病期分類(3)	3.043	.741	16.887	1	.000	20.974	4.912	89.547
本邦病期分類(4)	2.198	.819	7.200	1	.007	9.009	1.809	44.875
本邦病期分類(5)	1.786	.873	4.188	1	.041	5.968	1.078	33.033
ステップ 4			28.867	3	.000			
発見経路								
発見経路(1)	1.095	1.089	1.012	1	.314	2.990	.354	25.274
発見経路(2)	2.497	.565	19.563	1	.000	12.145	4.017	36.720
発見経路(3)	2.303	.439	27.574	1	.000	10.001	4.234	23.620
Nmyc増幅	-1.047	.209	25.123	1	.000	.351	.233	.529
骨髄転移	.846	.284	8.896	1	.003	2.330	1.336	4.061
本邦病期分類			21.900	5	.001			
本邦病期分類(1)	1.097	.915	1.439	1	.230	2.996	.499	17.993
本邦病期分類(2)	2.587	.762	11.525	1	.001	13.295	2.985	59.214
本邦病期分類(3)	2.406	.778	9.556	1	.002	11.095	2.413	51.025
本邦病期分類(4)	1.538	.855	3.233	1	.072	4.655	.871	24.889
本邦病期分類(5)	1.361	.891	2.335	1	.126	3.900	.681	22.345
ステップ 5			7.235	1	.007	1.009	1.002	1.015
治療開始月齢	.009	.003	7.235	1	.007	1.009	1.002	1.015
発見経路			20.510	3	.000			
発見経路(1)	1.050	1.092	.925	1	.336	2.858	.336	24.278
発見経路(2)	2.104	.591	12.672	1	.000	8.202	2.575	26.131
発見経路(3)	2.043	.455	20.204	1	.000	7.717	3.166	18.809
Nmyc増幅	-1.209	.219	30.415	1	.000	.299	.194	.459
骨髄転移	.826	.279	8.784	1	.003	2.284	1.323	3.944
本邦病期分類			19.380	5	.002			
本邦病期分類(1)	1.191	.917	1.686	1	.194	3.290	.545	19.856
本邦病期分類(2)	2.644	.762	12.033	1	.001	14.076	3.159	62.715
本邦病期分類(3)	2.392	.774	9.541	1	.002	10.932	2.397	49.865
本邦病期分類(4)	1.671	.857	3.800	1	.051	5.315	.991	28.510
本邦病期分類(5)	1.591	.897	3.147	1	.076	4.908	.846	28.461

Shimada 分類、フェリチン、DNAploidity を加えて Cox 回帰分析

処理したケースの要約

		N	パーセント
分析で使用されたケース	事象 <sup>a</sup>	5	.1%
	打ち切り	172	4.9%
	全体	177	5.0%
除外されたケース	欠損値のあるケース	3334	95.0%
	負の時間のあるケース	0	.0%
	ストラタ内で一番早い段階のイベントの前に打ち切られたケース	0	.0%
	全体	3334	95.0%
全体		3511	100.0%

a. 従属変数: 生存期間

モデル係数のオムニバス検定<sup>b,c</sup>

ステップ	-2 対数尤度	全体 (得点)			前のステップからの変更			前のブロックからの変更		
		カイ2乗	自由度	有意確率	カイ2乗	自由度	有意確率	カイ2乗	自由度	有意確率
1 <sup>a</sup>	29.665	25.888	1	.000	13.739	1	.000	13.739	1	.000

- a. ステップ番号 1: Shimada分類 で変数が入力されました。  
 b. 開始ブロック番号 0、初期対数尤度関数:-2 対数尤度: 43.404  
 c. 開始ブロック番号 1。方法 = 変数増加法ステップワイス (尤度比)

方程式中の変数

ステップ	変数	B	標準誤差	Wald	自由度	有意確率	Exp(B)	Exp(B) の 95.0% CI	
								下限	上限
ステップ 1	Shimada分類	3.673	1.132	10.525	1	.001	39.363	4.280	362.048

・さらに国際組織分類を加えると 11 症例のみとなり、解析不能になった。

< 解釈 >

症例数、特に死亡例数が極端に少ないので、解析の信頼性が低く公表できる結果は得られなかった。

### Ⅲ. 研究報告

厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事）

研究報告書

# 生物学的指標からみた乳児神経芽腫マスキリーニングの評価

研究協力者 田中 丈夫<sup>1</sup>許（堀川）洋子<sup>1</sup><sup>1</sup>国立病院機構 呉医療センター・中国がんセンター 小児科・臨床研究部

## 研究要旨

本邦乳児マスキリーニングの有効性にはなお一致した広域疫学的結論がみられていないのも事実である。今回、本研究で疫学的検討とは別に、性状多様性が特徴である臨床発見神経芽腫で確認された複数の生物学的指標により、マスキリーニング発見神経芽腫の性状はその25%が臨床発見腫瘍での「high risk」性状を有する腫瘍であることからマスキリーニングの有効性と妥当性を示唆する結果が得られ、また治療関連障害を予防すべき「low risk」腫瘍の層別も今回の検討で可能であった。

## Summary

Efficacy of Japanese infantile mass-screening program for neuroblastoma (NB) has not been conclusive. In this study, we estimated biological profiles of neuroblastomas detected through the mass-screening by using highly specific and sensitive combination of biological markers, "MYCN amplification", "Ha-ras /Trk-A expression" and "INPC finding". NBs detected through mass screening were classified into three categories for progression : 40% in low risk group, 25% in high risk group and the remaining 35% were in intermediate risk group. The Japanese infantile NB mass screening program should salvage cases with the high risk NBs and a part of intermediate risk NBs by the early intervention.

## A. 研究目的

1984年から2004年4月まで継続された乳児神経芽腫マスキリーニング事業はスクリーニング発見神経芽腫症例の生存率98%と極めて良好な臨床予後であった。一方、予測以上のマスキリーニング診断症例数と、退縮腫瘍の存在からスクリーニング発見神経芽腫全体が「良性腫瘍の過剰診断・治療」の印象すら持たれるようになった。2002年に方法論、精度に問題のある欧米からの2論文<sup>1)2)</sup>の掲載を契機に本事業が休止に至った。本来の早期発見早期治療介入によるマスキリーニングの広域疫学的評価の結論に至っていないのも事実である<sup>3)-7)</sup>。

今回の本研究の目的は疫学的検討とは別に、性状多様性が確認されている臨床発見神経芽腫で確認された複数の生物学的指標により、マスキリーニング発見神経芽腫の性状解析からマスキリーニングの妥当性の評価を行うことである。

## B. 研究方法

### 1. 生物学的指標

臨床発見神経芽腫で腫瘍性状に基づく生物学的指標として用いられたのは臨床的に有用性が確認されている「MYCN遺伝子増幅」<sup>8)</sup>、「International Neuroblastoma Pathology Classification (INPC)」<sup>9)</sup>、(INPC報告1999年以前の症例は腫瘍組織の再評

価を行った)。「Ha-ras/Trk-A遺伝子発現」<sup>10)</sup>、「診断時腫瘍進展度 (Evans分類)」<sup>11)</sup>である。マスキリーニング診断例 (マス例) とは別に臨床発見症例 (非マス例) 226例で進展リスク (腫瘍性状) 評価に対する上記指標の特異性、感度を確認し、マス例での性状評価を行った。

## 2. マスキリーニング診断症例

本邦6ヶ月乳児神経芽腫マスキリーニング開始の1984年から2001年の間に診断され、3年以上の臨床経過 (予後) の判明している248例の神経芽腫。この症例数はこの期間全国スクリーニング発見腫瘍症例数 (2366例) の10.5%である。

## C. 研究結果および考察

### 1. 生物学的指標の特異性および感度 (Table. I)

#### 1) MYCN遺伝子増幅

同遺伝子増幅の検討された149例中増幅症例は31例で、そのうち26例 (84%) が2年以内に再発死亡の転帰であり、「悪性性状を示す強力な指標」として高い特異性 (specificity) が示された。一方この26例は検討対象149例中臨床転帰不良症例58例中の45% [感度 (sensitivity)] であり、MYCN非増幅症が必ずしも「腫瘍良好」を意味するものではないことも示された。

#### 2) INPC所見

INPCの検討された186例中 "unfavorable histology (UH)" 症例は60例で、そのうち37例 (62%) が不幸な転帰で「悪性性状」を示す指標として特異性が示された。一方この37例は検討対象186例中臨床転帰不良症例76例中の "UH" 指標の感度は49%であり、約半数の予後不良例が "favorable histology (FH)" の症例にも含まれることも示された。

### 3) Ha-ras/Trk-A遺伝子発現

両遺伝子発現の検討された178例中「両遺伝子低発現」症例は65例で、そのうち39例 (60%) が不幸な転帰で「悪性性状指標」として特異性 (specificity) が示された。一方この39例は検討対象178例中臨床転帰不良症例70例中の感度 (sensitivity) は56%であった。

### 2. 多変量解析によるリスク評価 (Table. II)

臨床的に多様性を示す神経芽細胞腫の腫瘍細胞の性状決定には複数の細胞増殖・分化機構における変異が推測され、「MYCN遺伝子」は細胞増殖に、「Trk-A遺伝子」はNGF (神経増殖因子) との関連で神経細胞の生存維持と分化に、「Ha-ras遺伝子」は神経機能分化とそれぞれ異なる機転での関わりが判明している。「INPC所見」「MYCN遺伝子増幅」、「Ha-ras/Trk-A、遺伝子発現」による多変量解析 (n=115) から、「MYCN非増幅」「Ha-ras/Trk-A高発現」腫瘍のhazard ratio 1.0に対し「MYCN増幅」「Ha-ras/Trk-A低発現」腫瘍のhazard ratio は9倍、「MYCN増幅」「Ha-ras/Trk-A高～中間発現」腫瘍および、「MYCN非増幅」「Ha-ras/Trk-A中間～低発現」腫瘍では2.0～3.9倍とリスクの層別化が明確に示された。

### 3. 指標の組み合わせによるリスク層別の感度と特異性

「INPC所見」を加えた「MYCN遺伝子増幅」、「Ha-ras/Trk-A遺伝子発現」の検討された87例の非マス神経芽腫 (3年以上の無病生存42例、再発あるいは死亡の45例) について検討した (Table. III)。

「INPC"UH"」「MYCN遺伝子増幅」、「Trk-A/

	MYCN amplification	Unfavorable histology (the Shimada system)	Low expression of Ha-ras/Trk-A
<b>Specificity to risk<sup>a</sup></b>	<b>84%</b> (26/31)	<b>62%</b> (37/60)	<b>60%</b> (39/65)
<b>Sensitivity to risk<sup>b</sup></b>	<b>45%</b> (26/58)	<b>49%</b> (37/76)	<b>56%</b> (39/70)

Specificity to risk; ratio of deceased patients to cases with the positive marker  
Sensitivity to risk; ratio of cases with the positive marker to patients who deceased

Ha-ras/Trk-A	high	intermediate	low
absent	1.00* - n=38	2.03 (0.67-6.16)** n=22	2.67 (0.95-7.50) n=28
present	2.92 (0.35-24.70) n=3	3.91 (1.05-14.61) n=3	9.34 (3.43-25.42) n=21

\*:hazard ratio    \*\*: 95%confidence intervals

**Table III. Background of the 87 patients who were examined using the three prognostic factors.**

<b>1. 【Stage at diagnosis (Evans)】</b> I 7 cases II 10cases III 15 cases IV 48 cases IVs 7 cases		<b>4. 【MYCN amplification】</b> (+) 22 cases (-) 65 cases	
<b>2. 【Age at diagnosis】</b> 1-5 months 28 cases 6-11 months 9 cases 12-23 months 17cases >24 months 33 cases		<b>5. 【Histopathology (the Shimada system)】</b> "Favorable" 54cases "Unfavorable" 33 cases	
<b>3. 【Clinical outcome】</b> Patients who died of NB or with relapse 45 cases Disease-free survivor (>2years) 42cases		<b>6. 【Ha-ras/trk A Expression】</b> High 30 cases Intermediate 21 cases Low 36 cases	

No case who was detected through mass-screening was included

Ha-ras遺伝子低発現」はそれぞれ独立した予後不良因子であることより、いずれかの因子を有する腫瘍を「high risk腫瘍」として臨床的に予後不良であった45例がどの程度予後不良として層別化できるかを検証した (Figure. I)。まず「MYCN遺伝子増幅」で19例が、「INPC"UH"」で13例がさらに「Ha-ras/Trk-A遺伝子低発現」で6例の計38例 (84% : 感度) が高リスク腫瘍として診断時に予測できる結果となった。

一方、対象87例 (Figure. II) で上記3指標のいずれかの予後不良指標を有する52例中臨床転帰不良であったのは37例で予測特異性は73%であった。また、上記予後不良因子を示さない腫瘍 (「MYCN遺伝子非増幅」、「INPC"FH"」 「Ha-ras/Trk-A遺伝子高発現」) は検討対象87例中25症例で、この内22症例は3年以上の無病生存例であり、予後良好予測特異性は88% (22/25) であり、臨床的に現行の治療方針で無病生存が期待できる腫瘍群であることが示された。

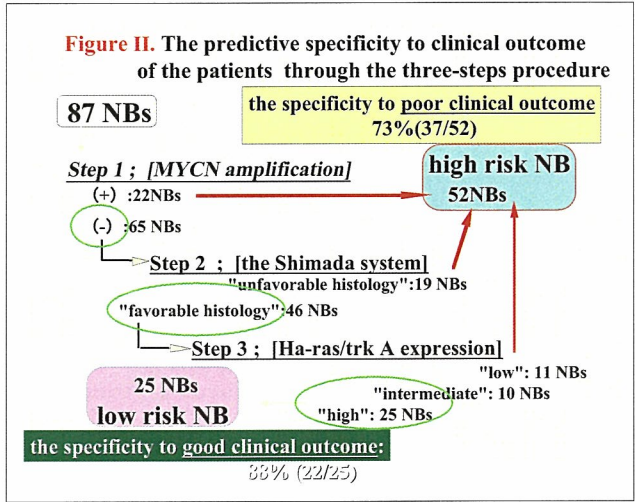
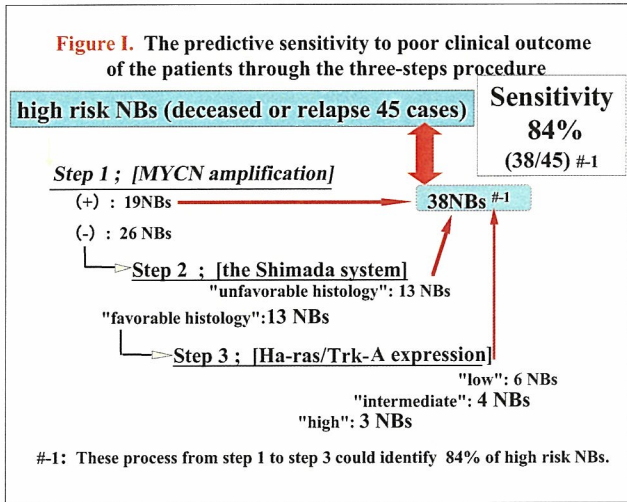
「INPC」 「MYCN遺伝子増幅の有無」、「Ha-ras/Trk-A遺伝子発現」の三指標はと診断時の腫瘍進展度 (今回は Evans分類で検討) でお互い補完し高い精度で症例の予後を予測できることが判明した。すなわち「INPC"FH"」 「MYCN遺伝子非増幅」、「Ha-ras/Trk-A遺伝子高発現」とリスク要因を持たず I , II期の限局腫瘍群は無病生存100%の "Low risk"腫瘍であった。これに対し「INPC"UH"」 「Ha-ras/Trk-A遺伝子低発現」いずれかをもつ腫瘍群は生存率58%と "high risk"であった。「INPC"FH"」 「MYCN遺伝子非増幅」、「Ha-ras/Trk-A遺伝子高発現」とリスク要因を示さないが進展腫瘍 (IVs, III, IV期) 群および「INPC"FH"」 「Ha-ras/Trk-A遺伝子中間発現 (いずれか一方がリスク要因の低発現である組み合わせ)」の腫瘍群は無病生存73%の "Intermediate risk" とリスクの層別も可能であった。

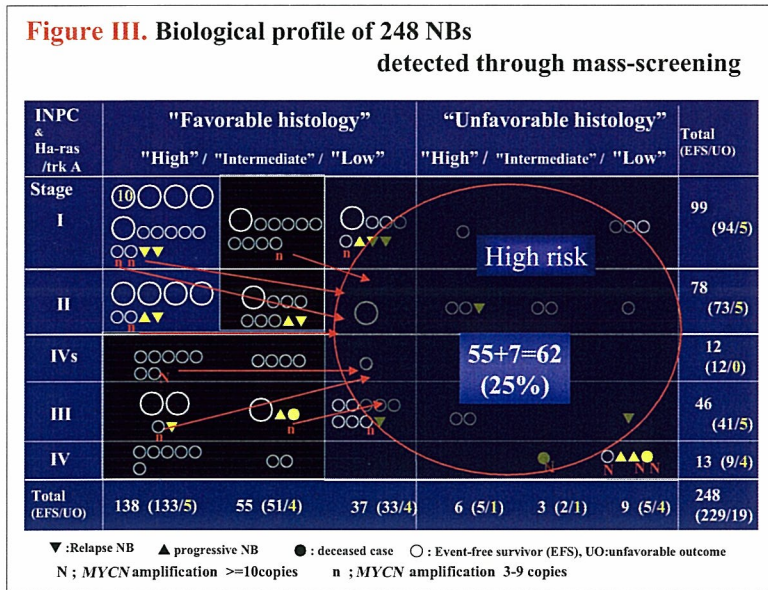
さらに high risk腫瘍でも限局腫瘍の場合、臨床予後は良好 (無病生存率86%) で早期外科的治療介入が有効であることも判明した。High risk の進展腫瘍群 (III, IVs, IV期) では無病生存29%と真の high risk群と考えられた。

「MYCN遺伝子増幅」30症例のうち27例 (90%) は high risk 群に含まれた。

4. マスキリーニング発見腫瘍群の生物学的プロフィール

1984年から2001年の間に本邦乳児マスキリーニングにより診断された神経芽腫は2366例であり、この内約10%に相当する248例について前記生物学的指標「INPC」 「MYCN遺伝子増幅」、「Ha-ras/





Trk-A遺伝子発現」により、生物学的性状のリスク評価をおこなった。(Figure.Ⅲ)

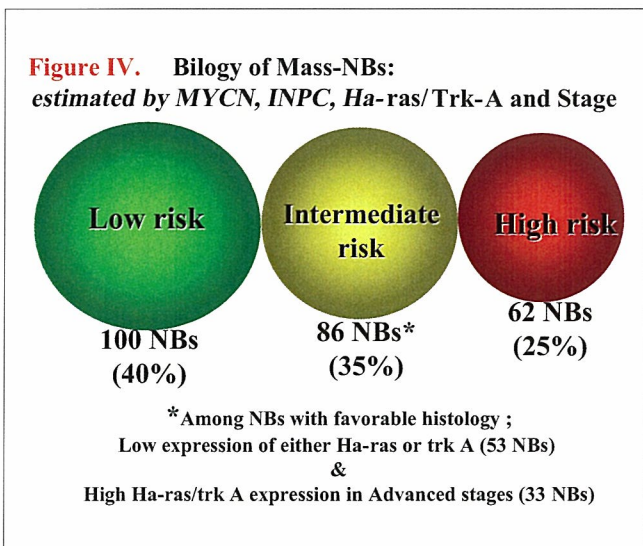
マス発見248例中無病生存は93%（死亡3例、腫瘍増大・再発15例）であった。High risk指標である「Ha-ras/Trk-A遺伝子低発現」46例（「INPC"FH"」37例「INPC"UH"」9例）および「Ha-ras/Trk-A遺伝子高発現」であるが「INPC"UH"」の6例、「Ha-ras/Trk-A遺伝子中間発現」で「INPC"UH"」の3例、計55例が High risk群であった。一方、「MYCN遺伝子増幅」5例と「MYCN遺伝子3-9コピー」が8例で計13例（5%）に MYCN遺伝子変化がみられた。臨床非マス腫瘍ではMYCN遺伝子変化の90%が「Ha-ras/Trk-A遺伝子低発現」か「INPC"UH"」の high risk腫瘍に含まれたが、マス腫瘍では7例54%が「intermediateあるいはlow risk腫瘍」であった。生物学的指標による high risk

腫瘍55例と「MYCN遺伝子変化」のある7例の計62例（25%）がマス例の High risk 腫瘍と考えられた。これら high risk 62例中無病生存は52例（84%）であった。

一方マス発見神経芽腫で「INPC"FH"」 「MYCN遺伝子非増幅」、「Ha-ras/Trk-A遺伝子高発現」で診断時限局（I,II期）腫瘍である「low risk」神経芽腫は100例（40%）で、無病生存は96%であった。残り86例（35%）は「INPC"FH"」で「Ha-ras, Trk-A遺伝子いずれかの低発現の中間発現」の55例と「Ha-ras/Trk-A遺伝子高発現」であるが進展（Ⅲ, IVs, IV期）腫瘍33例が intermediate risk腫瘍に層別され、この群の無病生存率は95%であった。

5. 生物学的指標よりみたマスキリーニングの評価

臨床発見神経芽腫から得られた生物学的指標「MYCN遺伝子増幅」、「INPC」、「Ha-ras/Trk-A遺伝子発現」からみたマスキリーニング発見神経芽腫の25%は「high risk」で臨床的にマスキリーニングの恩恵を受けた腫瘍群であると推測される。特に注目されるのは臨床発見神経芽腫では「MYCN遺伝子増幅」及び「3-9コピーの変化」例の90%が「high risk」群に存在したが、マスキリーニング神経芽腫（Figure.Ⅲ）ではその54%（7例/13例）が「low risk」あるいは「intermediate risk」群に存在し、いわゆるその後の経過で「clonal evolution」を示唆する所見もあった。マスキリーニングでの早期発見治療介入（予後不良性状で限局



**Table IV. Biological profiles in NBs**  
the risk distribution and their event-free survival between NB groups detected clinically & through mass-screening.

risk group	"Low risk"	"Intermediate risk"	"High risk"
NBs Diagnosed Clinically (n=177)	Distribution of cases <b>14%</b> Event-free survival <b>100%</b>	Distribution of cases <b>33%</b> Event-free survival <b>73%</b>	Distribution of cases <b>53%</b> Event-free survival <b>58%</b> I & II ; 86%, III, IVs & IV; 29%
NBs Detected Through Mass-screening (n=248)	Distribution of cases <b>40%</b> Event-free survival <b>96%</b>	Distribution of cases <b>35%</b> Event-free survival <b>95%</b>	Distribution of cases <b>25%</b> Event-free survival <b>84%</b> I & II ; 90%, III, IVs & IV; 66%

Low risk: [MYCN not amplified]&[INPC"FH"] & [Ha-ras/Trk A high expression] & [localized NB]  
High risk: [MYCN changed/amplified] or [INPC"UH"] or [Ha-ras/Trk A low expression]  
Intermediate risk: the cases other than High and Low risk groups mentioned above.

腫瘍)の治療成績改善の効果・恩恵をうけた群と考えられる。

一方、マスキリーニングでリスク指標を持たず限局腫瘍で診断される「low risk」群は症例の40%を占めた。マスキリーニング発見腫瘍で自然退縮するいわゆる「過剰診断」神経芽腫がこの群に含まれるのはその発見診断頻度からも可能性が大であり、過剰治療(ajuvant chemotherapy, 広範囲所属リンパ節の廓清など)による障害を避ける必要がある腫瘍群と推測できる。

Table IVに示すように「intermediate risk」のマスキリーニング例の無病生存率は95%と臨床発見例の73%に比べ、また「high risk」マスキリーニング例の無病生存84%(進展腫瘍群では66%)と臨床発見例の58%(進展腫瘍群の29%)に比べ共に良好で、1才未満年齢要因と早期発見治療介入(マスキリーニング)の効果が窺える結果であった。

なお、この研究は1987年からの継続研究であり一部は既に論文発表<sup>11)-13)</sup>されており、詳細は参照されたい。

## D. 結論

1. 生物学的指標からマスキリーニング発見神経芽腫は「low risk」腫瘍が40%、「high risk」腫瘍が25%「intermediate risk」腫瘍が35%に層別できた。
2. 今回用いられた生物学的指標の腫瘍性状示唆の特異性と感度から、「high risk」群および「intermediate risk」群の生存率が臨床発見例の生存率に比べ良好であることより、マスキリーニングによる無症状での早期発見と治療介入の効果があると考えられた。

## E. 参考文献

1. Woods WG, et al. Screening of infants and mortality due to neuroblastoma. *N Engl J Med* 364 : 1041-1046, 2002.
2. Shiling FH, et al. Neuroblastoma screening at one year of age. *N Engl J Med*. 364 : 1047-1053, 2002.
3. Nishi M, et al. Mass screening for neuroblastoma and mortality in birth cohort. *Int J Cancer* 71 : 552-555, 1997.
4. Suita S, et al. Mass screening for neuroblastoma : Quo vadis? A 9-year experience from the Kyushu area in Japan. *J Pediatr Surg*, 31: 555-558, 1996.
5. 久繁哲徳他. 神経芽細胞腫スクリーニングの評価-1. 全国前向きコホート研究による検討(中間解析結果), 平成12年度厚生科学研究費(子ども家庭総合研究事業)総括報告書(1/7), 293-300, 厚生労働省2001.
6. Yamamoto K, et al. Marginal decrease in mortality and marked increase in incidence as a result of neuroblastoma screening at 6 months of age : Cohort study in seven prefectures in Japan. *J Clin. Oncol*, 20 : 1209-1214, 2002.
7. 林 邦彦 他. 神経芽細胞腫マスキリーニングプログラムの疫学評価, 神経芽細胞腫スクリーニング評価のための全国乳児疫学研究. 平成14年度厚生科学研究(子ども家庭総合研究事業)研究報告書(2/11), p 135-140, 厚生労働省, 2003.
8. Seeger RC, et al. Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastoma. *N Engl J Med* 313: 1111-1116, 1985.
9. Shimada H, et al. The international neuroblastoma pathology classification(the Shimada system). *Cancer* 86 : 364-372, 1999.
10. Tanaka T et al : Prognostic discrimination among neuroblastomas according to Ha-ras/Trk-A gene expression. *Cancer* , 83: 1626-1633, 1998.
11. 田中丈夫 他. 神経芽細胞腫の進展リスク評価の特異性と感度臨床診断神経芽腫での検討. *小児がん*, 41 : 71-75, 2004.
12. 田中丈夫 他. 生物学的指標によるマスキリーニング発見神経芽腫の腫瘍進展リスクの評価. *小児がん*, 41 : 76-78, 2004.
13. Tanaka T, et al. Diversity in neuroblastomas and discrimination of the risk to progress. *Cancer Letters*, 228 : 267-270, 2005.



厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）

研究報告書

# 神経芽細胞腫マスキリーニングの外部精度管理の結果と問題点

研究協力者 鈴木恵美子<sup>1</sup> 成瀬 浩<sup>1</sup>新田 邦子<sup>1</sup> 前田 昌子<sup>1</sup>分担研究者 升島 努<sup>2</sup>長谷川朝美<sup>2</sup><sup>1</sup>財日本公衆衛生協会スクリーニング精度管理センター<sup>2</sup>広島大学大学院医歯薬学総合研究科

## 研究要旨

平成17年度より、神経芽細胞腫マスキリーニング（以下 NBMS）を公費にて継続中の検査施設および自費にて継続中のスクリーニング施設に対して、外部精度管理を年1回行い、測定値の正確性、カットオフ値について、異常か正常かの判定状況および内部精度管理・標準液等について調査を行った。その結果を施設にフィードバックすると共に、改善の必要がある施設には、情報提供・指導を行い、検査の標準化を図ってきた。一部改善が見られたが、カットオフ値統一等の問題が残っている。今年度は、HPLC 法の一次標準品作製にあたり、広島大学升島研究室の協力により LC/MS による値付けが可能となった。今後、各施設での内部精度管理の強化を行うと共に継続した外部精度管理を行い検査精度を保つことが重要である。

## A. 研究目的

HPLC を用いて NBMS を実施しているスクリーニング施設の技術水準及び問題点を把握し、必要に応じ情報提供・指導を行うことにより、スクリーニング水準を維持向上させる。そのため、外部精度管理検体を送付し、測定値の正確性、カットオフ値の妥当性、異常か正常かの判定状況等について調査検討を行い、必要がある施設には、情報提供・指導を行う。

## B. 研究方法

### 1. 対象

大阪血清微生物研究所、大阪府立母子保健総合医療センター、(財)化学及血清療法研究所、札幌市衛生研究所、(財)静岡県予防医学協会、聖マリアンナ医科大学病院、(財)新潟県保健衛生センターの7施設とスクリーニング精度管理センターの合計8箇所である。

### 2. 外部精度管理検体調整法

#### 1) 標準溶液

S I G M A 社製 Vanillylmandelic acid (VMA) および Homovanillic acid (HVA)、和光純薬製 Creatinine (CRE) を蒸留水に溶解し任意の濃度に作製した。LC/MS による安定同位体標識 <sup>13</sup>C<sub>6</sub>-VMA, d<sub>2</sub>-HVA, d-CRE を用いた内部標準法により標準液に値づけした。値は、VMA 9.97 μg/ml、HVA 14.83 μg/ml、CRE 29.84 mg/dl (広島大学升島研究室測定)。

#### 2) 生尿検体

BIORAD 社製尿コントロールに VMA・HVA・CRE を加え任意の濃度に調整した。防腐剤としてヒビテンを添加した。

#### 3) ろ紙尿検体

アドバンテック東洋株式会社 No327VMA 用ろ紙上に描かれた2個の円に、2)の生尿を（ヒビテン添加前の尿）300 μl づつ滴下し2時間風乾した。

### 3. 検体等の送付

平成17年11月、平成18年4月、平成18年11月に生尿とろ紙尿を各2検体ずつ常温で郵送した。全ての施設に生尿とろ紙尿の測定依頼を行った。施設からは、検体の測定値、カットオフ値、正常か陽性の判断についての報告（ろ紙尿を日常検査する施設はろ紙尿での判断）を受けた。平成18年11月には、LC/MSにて定量した標準水溶液を凍結にて施設に送付し、それを基準として得た測定結果も報告願った。

## C. 研究結果と考察

### 1. LC/MSによる安定同位体を用いたVMA・HVA測定法の確立について

6ヶ月児対象の神経芽細胞腫スクリーニング外部精度管理の結果<sup>1, 2)</sup>、「正確さのずれに起因する測定値の施設間差」が問題となり、正確さを保証する為に基準となる測定法と標準物質が必要となった<sup>3)</sup>。前田らは、LC/MSによる安定同位体内部標準法を用いたVMA・HVAの同時定量法を確立し<sup>4)</sup>、さらに、升島研究室との共同研究により安定同位体CREも使用した形で、標準液と尿検体の測定が可能となった<sup>5)</sup>。値付けされた標準液の使用により、日常分析法の信頼性、正確さが保証され、施設間差の解消が期待される。

### 2. 採尿方法等について

1)平成17年度には、No2のろ紙使用の施設があったが、研究班からNo327ろ紙の提供が受けられるようにし、平成18年度からは、全てNo327に統一された。同時に、ろ紙の印刷様式も、「神経芽細胞腫スクリーニングにおける検体管理に関するガイドライン（修正案）」<sup>6)</sup>に則り、標準採尿ろ紙（Aタイプ）に変更した。

2)現在、生尿は1施設のみである。この施設についても、ガイドラインに則り、平成18年度から全検体に防腐剤入り容器使用に変更願った。

### 3. カットオフ値と検査の対象月齢について

表1に示したように、平成18年11月時点でもカットオフ値は全施設で異なり、検査対象月齢も18ヶ月以外が存在する。19年度からの前向き研究にむけて、早急な対処が必要である。カットオフ値の算

表1. 施設カットオフ値と検査対象乳児月齢

2006.11 調査

カットオフ値 ( $\mu\text{g/mlCRE}$ )	VMA	13	14	14	14	15	16	17
	HVA	27	23	25	26	28	30	30
検査対象児月齢	18	18	18	(18)	12	18	9~12	
施設数	1	1	1	1*	1	1**	1***	

\* : 検体が少ないため全ての月齢行う

\*\* : 検査は生尿を用いる

\*\*\* : 検査は生尿・ろ紙尿を用いる。カットオフは生尿・ろ紙尿とも同じ値

表2. 標準液の違いによる施設測定値のばらつき

—生尿検体— 2006.11 送付

試料	標準液	施設数	VMA		HVA		Cre	
			$\mu\text{g/ml}$	CV%	$\mu\text{g/ml}$	CV%	mg/dl	CV%
UE	施設	8	3.92	6.06	4.49	5.52	28.53	5.49
	センター	8	3.84	4.65	4.46	6.14	28.87	3.68
UF	施設	8	4.43	6.16	7.62	4.20	28.43	7.49
	センター	8	4.40	2.98	7.53	2.76	28.90	4.62

出方法は、実施要綱に平均値+3SDと規定されたが、各施設において一定数の18ヶ月乳児の測定を行い、不備検体を除き、はずれ値の棄却を行った後その測定値分布を確認して、注意深く設定する必要がある。日本マスキング学会技術部会の作成したヒストグラム作成ソフトの使用を推奨する。

### 4. 標準液の違いによる施設測定値のばらつきについて

センターにて作製し、LC/MSにて値付けした標準液を用いた場合と、施設作製の標準液を用いた場合の施設測定値のばらつきを比較した（表2）。どちらの標準液を用いても測定値平均は差が少ないが、センター作製標準液を用いた方がCV%は小さかった（試料UEのHVA以外）。この結果から、同一標準液の使用により施設間差を小さくする事が可能と推測される。試料UEについては、標準液以外の原因と考えられる。

### 5. 外部精度管理検体測定結果

（平成17年度～18年度）

#### 1)測定値のばらつきについて

図1には、各施設で測定した検体（生尿6、ろ紙尿6）の測定結果が平均値からどれだけ隔たっ

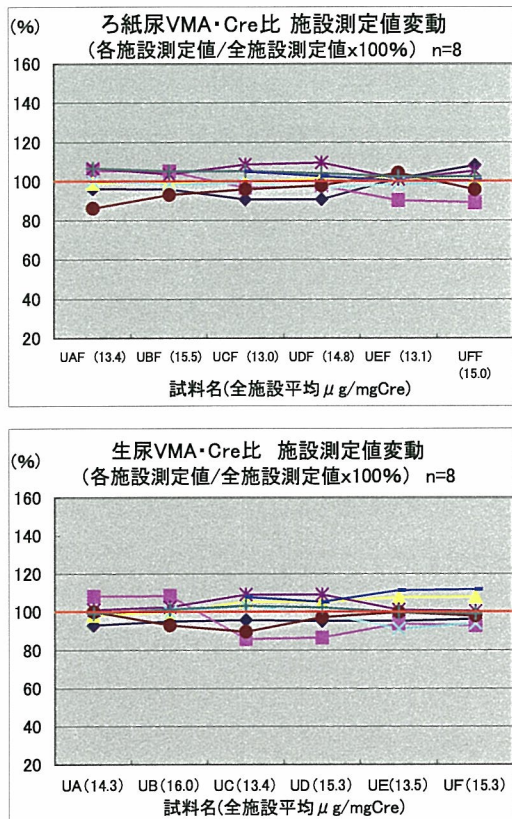


図1. 外部精度管理検体測定値 Cre比のまとめ  
—ろ紙尿・生尿—2005.11 & 2006.4 & 2006.11 送付

ているかを示した。通常のスクリーニングで用いるVMA・CRE比を示したが、多くの施設では $\pm 10\%$ 以内であり安定した結果である。VMA・CRE比の施設間における測定値のばらつきは、ろ紙尿4.0~6.9%、生尿4.2~8.1%、HVA・Cre比のろ紙尿4.7~9.4%、生尿4.2~8.7%であり前述の様に標準液を統一する事により、一部は改善されると推測する。

2) ばらつきのあった施設について

平成18年11月送付の生尿検体UE・UFにおいて、VMA・CRE比とHVA・CRE比の結果では問題がなかったが、VMA・HVA・CREの測定濃度が大きくばらついた(表3-A)。調査の結果、1施設では、試料希釈後、元に戻す計算の時に誤った換算係数を入力した。1施設では試料希釈装置の不具合があったことが判明した。担当者からの説明と測定チャート・X-R管理図、再検討データ等の提出を受け判断したが、2施設で実施していた内部精度管理では、これらの問題が分らなかった。

この事は、CRE比を用いるスクリーニング結

表3. 生尿測定値 平均とCV%

VMA・HVA・CRE・CRE比 2006.11 送付

A. 報告データ

試料	施設数	VMA ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	HVA ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Cre ( $\text{mg}/\text{dl}$ )	補正值( $\mu\text{g}/\text{mgCre}$ )	
					VMA	HVA
UE	8	3.90 (20.6)	4.58 (23.1)	28.74 (18.8)	13.52 (5.4)	15.84 (8.1)
UF	8	4.36 (17.6)	7.67 (19.5)	28.40 (16.3)	15.34 (5.1)	26.94 (7.6)

(CV%)

B. 問題検討後のデータ

試料	施設数	VMA ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	HVA ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Cre ( $\text{mg}/\text{dl}$ )	補正值( $\mu\text{g}/\text{mgCre}$ )	
					VMA	HVA
UE	8	3.92 (6.1)	4.49 (5.5)	28.53 (5.5)	13.76 (6.4)	15.79 (7.1)
UF	8	4.43 (6.2)	7.62 (4.2)	28.43 (7.49)	15.62 (6.2)	26.85 (6.7)

(CV%)

試料希釈後の換算係数入力誤りあり、試料希釈装置不具合ありの2施設については再提出の結果を使用

果に影響はないが、内部精度管理の強化が必要である。

3) 陽性検体に対する各施設の判断状況

平成16年度にカットオフ値を低く設定した施設(VMA11,HVA21)では、検体を全て陽性と判断したが、その後、データを集積しカットオフ値の見直しを行い(VMA14,HVA23)判定は改善された。表1に示したように、カットオフ値が全ての施設で異なっており、検査対象月齢を18ヶ月として早急にカットオフ値の統一が必要である。

また、1つの尿検体から、陽性を仮定して生尿とろ紙尿検体を作製し、各施設のカットオフ値に照らして陽性・正常の判断を得たが、ろ紙尿を検査する5施設で陽性(測定値平均VMA15.0、HVA29.6)、生尿を検査する2施設で正常(測定値平均VMA15.6、HVA26.9)であった。この判断の差は問題であり、施設のカットオフ値や施設測定値のばらつき、検体側の問題等が考えられ、BIORADの尿を調整しているためのバイアスの可能性も否定できない。乳児の尿を調整して用いるか、あるいは患児尿の使用が可能となれば、より現実的な精度管理が期待される。倫理的に問題なければ検討したいと考える。

## E. 結論

18ヶ月児対象のカットオフ値が各施設まちまちであり、前向き研究の為に早急なる統一化が必要である。

LC/MSによる安定同位体標識 VMA, HVA, CRE を用いて標準液を値づけすることが可能になり、HPLC法の基準化が前進した。

スクリーニングの検査水準を維持するためには、施設において内部精度管理を強化すると共に、外部精度管理を継続して実施することが重要である。

## F. 参考文献

1. 成瀬 浩. 外部精度管理の今後の方針, 日本マスキリーニング学会, 11 (2) : 114 - 118, 2001.
2. 鈴木恵美子, 吉岡悟子, 辻 章夫, 成瀬 浩. 神経芽細胞腫マスキリーニング外部精度管理結果とその問題点. 日本マスキリーニング学会, 14 : 53 - 63, 2004.
3. 辻 章夫. HPLC法の基準法の作成について. 日本マスキリーニング学会誌, 11 (2) : 109 - 113, 2001.
4. 渡辺倫子, 茅野朋子, 小宮智浩, 伊藤克敏, 荒川秀俊, 辻 章夫, 成瀬 浩, 前田昌子. LC/MSによる精度管理用標準溶液中の Homovanillic Acid 及び Vanilmandelic Acid の同時定量. 日本マスキリーニング学会誌, 13 : 63, 2003.
5. 長谷川朝美, 升島 努, 檜山英三. 予後不良神経芽腫の特異的腫瘍マーカーの検索—プロテオーム解析から. 厚生労働科学研究登録症例に基づく神経芽細胞腫マスキリーニングの効果判定と医療体制の確立 平成18年度研究報告, in press.
6. 花井潤師, 福士 勝, 穴沢 昭, 木下洋子, 石山 洋, 河地 豊, 沼田公介, 竹島清美, 田崎隆二, 鈴木恵美子. 神経芽細胞腫スクリーニングにおける採尿用具の統一化に関するアンケート調査結果. 日本マスキリーニング学会誌, 14 : 39 - 46, 2004.