

- 2) 石毛信之 他: 尿 α ガラクトシダーゼ A 蛋白と α ガラクトシダーゼ A 活性測定に関する研究. 日本マス・スクリーニング学会誌 17(2): 60, 2007.

1. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

表 1. スクリーニング成績

| | |
|---------|-----------------|
| 検査数 | 41,865名 |
| 再採血依頼数 | 247名(0.59%) |
| 精密検査依頼数 | 25名(0.06%) |
| 確定診断数 | プロピオン酸血症 1名 |
| | 3-MCC 1名 |
| | MCAD 2名 |
| | BH4欠乏症(PTPS) 1名 |
| | NICCD 2名 |

表 2. 判定基準変更前後の再採血率の変化

| 代謝疾患 | 最初の判定基準 | | 変更後の判定基準 | |
|----------------|-----------------------------------|------|------------------------------------|------|
| | cut-off | 再採血率 | cut-off | 再採血率 |
| MMA, PA | C3/C2 > 0.20 | 0.06 | C3 > 5.00 and C3/C2 > 0.25 | 0.01 |
| MCD | C5OH > 0.48 | 0.05 | C5OH > 1.00 | 0.02 |
| CRNT | D9 < 7.00 | 0.03 | C0 < 9.00 | 0.11 |
| GA II | C10 > 0.50 | 0.19 | C10 > 0.50 and C8 > 3.00 | 0.07 |
| MCAD | C8/C10 > 1.50 | 0.12 | C8 > 0.30 and C8/C10 > 1.00 | 0.02 |
| CPT-II | C16 > 0.50 or C18 > 2.50 | 0.03 | C18-1 > 3.00 and C16 > 0.50 | 0.02 |
| TFPI/ LCHAD | C16OH > 0.05 or C18-1OH > 0.05 | 0.04 | C16OH > 0.05 and C18-1OH > 0.05 | 0.02 |
| 総再採血率 | | 0.02 | | 0.28 |

表 3. 東京都で発見された症例の
初回測定値と確定診断までの検査

| 症例 | 初回測定値 | | | 診断確定までに行った検査項目 |
|-------------|-----------|-------|------|---|
| | 異常値を示した項目 | 値 | 参考値 | |
| プロピオン酸血症 | C3 | 18.30 | 5.00 | ・尿有機酸分析(3OH-proprionate等) ・酵素診断 (Spropionyl-CoA:acetyl-CoA 活性) |
| | C3/C2 | 1.15 | 0.25 | |
| 3-MCC | C3-OH | 1.05 | 1.00 | ・尿有機酸分析 (3-methylcrotonylglycine) |
| MCAD case-1 | C8 | 1.33 | 0.30 | ・尿有機酸分析(isovalerylglycine等) ・酵素診断 (octanoyl-CoA dehydrogenase 活性) |
| | C8/C10 | 2.50 | 1.00 | |
| MCAD case-2 | C8 | 5.53 | 0.30 | ・DNA解析 ・家系リンパ球培養細胞酸化能評価 |
| | C8/C10 | 10.28 | 1.00 | |
| NICD case-1 | Cit | 135 | 40 | ・DNA解析 |
| NICD case-2 | Cit | 272 | 40 | |
| HBA (PTPS) | Phc | 530 | 120 | ・尿プタリン化合物 |

測定値の単位: A/L/μmol/L, T/A&A-T: nmol/mL

表 4. 有機酸・脂肪酸代謝異常症で
異常を示す項目の測定値の経日変化

| 疾患 | 異常を示す項目 | Cut-off値 | 測定日 | | | |
|-------------|---------|----------|-------|-------|-------|-------|
| | | | 1月5日 | 1月7日 | 1月9日 | 1月11日 |
| PA | C3 | 6.00 | 18.30 | 16.38 | 85.08 | 22.3 |
| | C3/C2 | 0.28 | 1.15 | 1.62 | 6.77 | 1.00 |
| 3-MCC | C3-OH | 1.00 | 1.05 | 1.22 | 1.14 | 1.08 |
| MCAD case-1 | C8 | 0.30 | 1.33 | 0.64 | 0.68 | 0.67 |
| | C10 | 0.60 | 0.62 | 0.22 | 0.25 | 0.18 |
| | C8/C10 | 1.00 | 2.50 | 2.27 | 2.69 | 3.61 |
| MCAD case-2 | C8 | 0.30 | 5.53 | 1.48 | 2.22 | 1.78 |
| | C10 | 0.60 | 0.54 | 0.16 | 0.26 | 0.16 |
| | C8/C10 | 1.00 | 10.28 | 9.37 | 8.67 | 9.81 |

表 5. 有機酸・脂肪酸代謝異常症
新生児スクリーニングの課題

| | |
|----------------|--------------------------------|
| 1. 受診 | 一般人に対するMS/MSS新生児スクリーニングの普及 |
| | 受診者への有機酸・脂肪酸代謝異常症スクリーニングの意義の説明 |
| | 検査疾患項目の選別 |
| 2. 検査 | 一次検査陽性の場合、再採血必要性の説明 |
| | 方法の統一、ガスマスによる尿有機酸測定体制の確立 |
| 3. 精密検査・専門治療施設 | スクリーニング陽性例の検査を行う精密検査施設の確保 |
| | 専門治療施設および専門医の確保 |
| 4. Follow-up | 患者の追跡方法および個人情報保護の確立 |

分担研究課題：タンデムマスによるスクリーニングの効果の検討

タンデムマスを用いた新生児スクリーニング検査データの解析・評価システムの設計

研究要旨

大阪府では、年間 5 万件を超える新生児の乾燥血液濾紙を分析するために、タンデムマス 2 台（同機種）を導入して分析を行なっている。質量分析では、分析結果に影響を与える要因が数多く存在するため、それぞれにパラメータを設定して最適条件で分析を行なうことができる。しかし、同時に複数台の分析装置を使用すると、小さな誤差であっても機器間差としてとらえられるようになる。同じ事は、スクリーニング施設間にも生じていると考えられ、今後外部精度管理システムの確立とともに明確になってくると思われる。かつてわれわれが、内分泌項目のマス・スクリーニングで行なったように、タンデムマスを用いた新生児スクリーニングを全国同じレベルで行なうためには、まずこれらの誤差の発生とその傾向を正しくとらえることができる分析データの解析・評価システムを構築する必要があると思われる。

研究協力者

稲岡一考、竹島清美、笠原敏喜、
中山雅弘、和田芳直、
（大阪府立母子保健総合医療センター）
重松陽介
（福井大学医学部看護科小児科教授）

べ施設間差が大きいとの指摘がある。これら装置間差・施設間差の発生を客観的にとらえ評価するデータ解析システムの開発は、タンデムマスを用いたスクリーニングを全国的に同一レベルで行うために有用である。本研究では、タンデムマスを複数台用いた場合に明らかになる測定値のずれを示し、検査データの解析・評価システムの必要性を検討する。

A. 研究目的

大阪府立母子保健総合医療センターでは、大阪府下（大阪市を除く）で生まれ、保護者から同意の得られた新生児に対してマススクリーニング検査を実施しており、平成 19 年度の初回検査件数は 54,509 件であった。このうち、有機酸・脂肪酸代謝異常症のパイロットスタディへの同意率は 97% であり、年間 5 万件を超える新生児の乾燥血液濾紙を 2 台の同型タンデムマス（ABI 社製 API3200LC/MS/MS）を用いて分析を行なっている。しかし、二台の分析装置を長期間にわたり同じ状態に保つことは意外に難しく、分析値に機器間差を認める。また、施設間差についても日本公衆衛生協会スクリーニング研究開発センターや CDC（Centers for Disease Control and Prevention、米国）による外部精度管理において他の分析方法に比

B. 研究方法

整備・調整直後のタンデムマス同型機 2 台を用いて、新生児スクリーニング用に処理した同じプレート进行分析し、機器間差の存在を確認した。

<装置>

MS 部：API3200 MS/MS（Applied Biosystems）

LC 部：HPLC-10A/20（島津製作所）

CPU：Dell Precision 360/370

+ Analyst1.42(Applied Biosystems)

<導入法>

Flow-Injection Analyst(FIA)

<分析法>

ブチルエステル化を行わない非誘導体化法

<定量法>

Multiple Reaction Monitoring(MRM)

<内部標準物質>

Labeled Amino Acid Standards (NSK-A)

Labeled Carnitine Standards (NSK-B)

(CIL社: Cambridge Isotope Laboratory)

<移動相>

MeCN: MeOH: H₂O = 5: 3: 2 (+0.05% HCOOH)

<機器メンテナンス>

本体の真空を解除し、Q0・スキマー(Skimmer)・オリフィス(Orifice)・カーテンプレート(Curtain Plate)を清掃、エレクトロード(Electrode)の交換、ターボスプレープローブ(Turbo spray probe)の位置調整を行った。

<キャリブレーション>

本体真空復帰後1晩安定化。翌日、質量校正用PPG(Polypropylene Glycol)溶液を用いて m/z = 59.05、175.13、616.46、906.67、1254.93、1545.13の6点でQ1(Positive mode)、Q3(Positive Mode)の質量ずれに更正を行った。

<分析条件の最適化>

パラメータ CurtainGas(CUR)、IonSpray Voltage(IS)、Temperature (TMP)、Ion Source Gas1(GS1:Nebulizer Gas)、Ion Source Gas 2(GS2:Turbo Gas)について再設定を行い、次に内部標準物質を用いて測定物質ごとに DP(Declustering Potential)、EP(Entrance Potential)、CEP(Collision Cell Entrance Potential)、CE(Collision Energy)、CXP(Collision Cell Exit Potential)の最適化を行った。

<新生児検体の分析>

分析対象は、血中アミノ酸・アシルカルニチンで、日常分析と同様に前処理にエステル化を行わない非誘導体化法で測定した。乾燥血液濾紙を直径3mmディスクにパンチし、これに内部標準液(CIL社 Set-A、Set-B)を添加して成分を溶出、フローインジェクションで質量分析計に導入した。定量はMRMモードで行い、同時にNL(Neutral Loss Scan)、PS(Precursor Ion Scan)モードを用いて分析成分の増減、疾患パターンをモニターした。この分析メソッドに必要なスキャン時間は90秒/検体である。

C. 研究結果

内部標準セットに含まれる測定物質について得られた最適条件を(表1)に、内部標準の含まれない物質については、代用して用いられる内部標準物質の一覧を(表2)に示す。特にLeu、TyrのDP値設定では、装置の自動最適化機能が大きく外れた値を示すため、自動処理で得られたパラメータを参考にマニュアルモードでの再設定を行なっている。

次に、得られた最適条件で、新生児スクリーニング検体(同一プレート)を2台の装置でそれぞれ分析し、得られた結果の違いを(装置A/装置B)の比で表した(表3)。実際の日常測定においては、これらの誤差を、定期的に求めた補正係数を用いて修正している。しかし、濾紙検体からの成分溶出等を考慮すれば、実サンプルの測定分布を利用するなど、日々得られた情報を基に統計学的手法を用いた評価も加味して、総合的に判断する方が望ましい。たとえば、単純に平均値を代表値に用いる場合でも、異常値の影響を除去するために分布の両端数%を破棄して計算するなどの前処理が有用である。また、スクリーニング用に設定したCutOff値が日々の測定値分布の中でどの辺りに位置するのかを明確に把握することは、安定したスクリーニングの維持のために重要である。

D. 考察

タンデムマスを用いた新生児スクリーニングでは、多量検体を処理するために、分析カラムを使用しないフローインジェクションモードで行なう。定量は内部標準法で、各検体に測定対象と質量のみ異なる安定同位体を既知量加え、濃度計算を行なう。このため外部標準を用いる高速液体クロマト(以下HPLC法)より定量性に優れていると思われるが、実際には装置内への汚れの蓄積など種々の要因で分析値に影響を受けやすいことが分かった。これらの変動は僅かであっても、複数台の分析装置を用いた場合には、機器間差として明確にとらえることができ、同じことが施設間差としても生じていると考えられる。特に、同じ

構造の内部標準が準備されていない物質では、この影響が大きい。

E. 結論

分析に発生する誤差を補正する機能を有し、発生した誤差のレベルが臨床的許容範囲内であるか簡便に統計的に判断することのできるソフトウェアの開発は、施設間のカットオフ値の統一化にも応用できることが期待でき、タンデムマススクリーニングの普及に極めて有効であり、引き続き設計・開発に着手する意味があると思われる。

G. 研究発表

1. 学会発表

1. 稲岡一考、竹島清美、中村しのぶ、笠原敏喜、中山雅弘、和田芳直、重松陽介：タンデムマ

ス・スクリーニングのための新内部標準セットの検討。第 35 回日本マススクリーニング学会。島根、2008.9

2. 稲岡一考、中山雅弘、和田芳直：無誘導体化法における問題点と対処法。第 32 回日本医用マススペクトル学会。京都、2007.09
3. 稲岡一考、宮城晶子、竹島清美、宮道徹、中山雅弘、和田芳直、重松陽介：大阪府における非誘導体化タンデムマス法を用いた新生児マススクリーニング。第 34 回日本マススクリーニング学会。千葉、2007.9。

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表 1. 最適化処理後の分析条件

| A | Q1 | Q3 | Dwell time | 装置A | | | | | 装置B | | | | |
|--------|-------|-------|---------------|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|-----|
| | | | | DP | EP | CEP | CE | CXP | DP | EP | CEP | CE | CXP |
| Ala IS | 94.0 | 47.9 | 100 | 21.0 | 9.0 | 9.0 | 19.0 | 4.0 | 18.0 | 7.5 | 10.0 | 19.0 | 0.0 |
| Val IS | 126.1 | 80.0 | 100 | 21.0 | 10.0 | 10.0 | 18.0 | 4.0 | 19.0 | 7.5 | 10.0 | 18.5 | 0.0 |
| Leu IS | 135.1 | 89.0 | 100 | 23.0 | 9.0 | 10.0 | 17.0 | 4.0 | 20.0 | 7.5 | 10.0 | 16.0 | 0.0 |
| Orn IS | 135.1 | 72.0 | 100 | 23.0 | 9.0 | 10.0 | 26.0 | 4.0 | 21.0 | 8.5 | 10.0 | 26.0 | 0.0 |
| Glu IS | 151.1 | 87.0 | 100 | 23.0 | 9.0 | 10.0 | 26.0 | 4.0 | 21.0 | 8.5 | 10.0 | 26.0 | 0.0 |
| Met IS | 153.1 | 107.0 | 100 | 23.0 | 9.0 | 10.0 | 17.0 | 4.0 | 20.0 | 8.5 | 10.0 | 16.0 | 0.0 |
| Phe IS | 172.1 | 126.0 | 100 | 21.5 | 9.5 | 10.0 | 19.0 | 4.0 | 23.0 | 8.0 | 10.0 | 19.5 | 0.0 |
| Cit IS | 178.1 | 115.0 | 150 | 22.0 | 9.0 | 12.0 | 25.0 | 4.0 | 23.0 | 7.5 | 10.0 | 23.0 | 0.0 |
| Arg IS | 180.1 | 75.0 | 150 | 33.0 | 12.0 | 12.0 | 38.0 | 4.0 | 32.0 | 9.0 | 10.0 | 40.0 | 0.0 |
| Tyr IS | 188.1 | 142.0 | 100 | 26.5 | 9.0 | 12.0 | 18.0 | 4.0 | 28.0 | 7.5 | 10.0 | 20.0 | 0.0 |
| C0 IS | 171.1 | 102.9 | 100 | 39.0 | 11.0 | 12.0 | 26.0 | 4.0 | 38.0 | 9.0 | 7.5 | 25.0 | 0.0 |
| C2 IS | 207.1 | 84.8 | 100 | 33.0 | 10.0 | 12.0 | 28.0 | 4.0 | 33.5 | 8.0 | 9.0 | 29.0 | 0.0 |
| C3 IS | 221.1 | 84.8 | 100 | 36.0 | 10.0 | 12.0 | 28.0 | 4.0 | 33.5 | 8.0 | 9.0 | 29.0 | 0.0 |
| C4 IS | 235.1 | 84.8 | 100 | 36.0 | 11.0 | 14.0 | 31.0 | 4.0 | 34.0 | 9.0 | 10.0 | 31.0 | 0.0 |
| C5 IS | 255.2 | 84.9 | 150 | 38.0 | 12.0 | 16.0 | 34.0 | 4.0 | 35.0 | 9.0 | 11.0 | 34.0 | 0.0 |
| C8 IS | 291.2 | 84.9 | 100 | 42.0 | 10.0 | 16.0 | 38.0 | 4.0 | 40.5 | 9.5 | 11.0 | 39.0 | 0.0 |
| C14 IS | 381.3 | 84.9 | 100 | 54.0 | 10.0 | 16.0 | 47.0 | 4.0 | 58.0 | 10.0 | 13.0 | 47.0 | 0.0 |
| C16 IS | 403.4 | 84.9 | 100 | 61.0 | 10.5 | 16.0 | 49.0 | 4.0 | 61.0 | 10.0 | 16.0 | 49.0 | 0.0 |

表 2.測定物質と内部標準物質の組み合わせ

| 測定物質 | Q1 | Q3 | 内部標準 | 測定物質 | Q1 | Q3 | 内部標準 | 測定物質 | Q1 | Q3 | 内部標準 |
|------|-------|-------|------|------|-------|-------|------|----------|-------|------|------|
| Ala | 90.0 | 43.9 | Ala | C0 | 162.1 | 102.9 | C0 | C10:1 | 314.3 | 84.9 | C8 |
| Ser | 106.1 | 60.0 | Ser | C2 | 204.1 | 84.8 | C2 | C10 | 316.3 | 84.9 | C8 |
| Val | 118.1 | 72.0 | Val | C3 | 218.1 | 84.8 | C3 | C12:1 | 342.3 | 84.9 | C14 |
| Thr | 120.1 | 74.0 | Thr | C4 | 232.1 | 84.8 | C4 | C12 | 344.3 | 84.9 | C14 |
| Leu | 132.1 | 86.0 | Leu | C4OH | 248.1 | 84.8 | C4 | C14:1 | 370.3 | 84.9 | C14 |
| Orn | 133.1 | 70.0 | Orn | C5:1 | 244.2 | 84.9 | C5 | C14 | 372.3 | 84.9 | C14 |
| Glu | 148.1 | 84.0 | Glu | C5 | 246.2 | 84.9 | C5 | C16 | 400.3 | 84.9 | C16 |
| Met | 150.1 | 104.0 | Met | C5OH | 262.2 | 84.9 | C5 | C16OH | 416.4 | 84.9 | C16 |
| Phe | 166.1 | 120.0 | Phe | C5DC | 276.2 | 84.9 | C8 | C18:1 | 426.4 | 84.9 | C16 |
| Cit | 176.1 | 113.0 | Cit | C6 | 260.2 | 84.9 | C8 | C18 | 428.4 | 84.9 | C16 |
| Arg | 175.1 | 70.0 | Arg | C8 | 288.2 | 84.9 | C8 | C18:1 OH | 444.4 | 84.9 | C16 |
| Tyr | 182.1 | 136.0 | Tyr | | | | | | | | |

表 3.最適化後の測定機器間差 (補正前)

| 測定物質 | A/B | 測定物質 | A/B | 測定物質 | A/B | 測定物質 | A/B |
|------|-------|------|-------|-------|-------|----------|-------|
| Ala | ≒ 1.0 | Cit | ≒ 1.0 | C4OH | ≒ 1.0 | C12:1 | ≒ 1.0 |
| Ser | ≒ 1.0 | Arg | 0.9 | C5:1 | ≒ 1.0 | C12 | ≒ 1.0 |
| Val | 1.5 | Tyr | ≒ 1.0 | C5 | 0.8 | C14:1 | ≒ 1.0 |
| Thr | ≒ 1.0 | | | C5OH | ≒ 1.0 | C14 | 0.9 |
| Leu | ≒ 1.0 | | | C5DC | 1.3 | C16 | 0.9 |
| Orn | ≒ 1.0 | C0 | 1.1 | C6 | ≒ 1.0 | C16OH | ≒ 1.0 |
| Glu | ≒ 1.0 | C2 | ≒ 1.0 | C8 | 0.9 | C18:1 | ≒ 1.0 |
| Met | ≒ 1.0 | C3 | ≒ 1.0 | C10:1 | ≒ 1.0 | C18 | ≒ 1.0 |
| Phe | ≒ 1.0 | C4 | ≒ 1.0 | C10 | ≒ 1.0 | C18:1 OH | ≒ 1.0 |

分担研究課題：タンデムマスによるスクリーニングの効果の検討

先天性副腎過形成症スクリーニングの2次検査へのタンデムマスの応用

研究要旨

先天性副腎過形成症（CAH）スクリーニングの精度を向上させるため、低出生体重児でのストレス性の17-ヒドロキシprogステロン（17-OHP）高値による偽陽性を減らすことを目的として、タンデム質量分析計による17-OHP等ステロイド分析条件を検討した。本法を応用し、新生児ろ紙血液中ステロイドの分析を確立することにより、CAHスクリーニングへの適用が可能であると示唆された。

研究協力者

藤倉かおり，野町祥介，花井潤師，福士勝，
矢野公一（札幌市衛生研究所）

A. 研究目的

CAHスクリーニングの精度を向上させるため、低出生体重児でのストレス性の17-OHP高値による偽陽性を減らすことを目的とし、タンデム質量分析計による17-OHP等ステロイド分析条件を検討した。

B. 研究方法

1) 使用装置

トリプル四重極 LC/MS Agilent6410、高速液体クロマトグラフ Agilent1200series

2) 試薬

ステロイド標準品：17-OHP、コルチゾール（F）、21-デオキシコルチゾール（21-DOF）、11-デオキシコルチゾール（11-DOF）、4-アンドロステン-3,17-ジオン（ $\Delta 4-A$ ）（以上、シグマ社）

ステロイド安定同位体標準品：17-OHP-2,2,4,6,6,21,21,21-d8、F-9,11,12,12-d4、21-DOF-2,2,4,6,6,21,21,21-d8、11-DOF-21,21-d2、 $\Delta 4-A$ -2,2,4,6,6,16,16-d7（以上、CDN Isotopes社）、
移動相：LC/MS用メタノール（和光純薬工業）、ギ酸（関東化学工業）

3) 標準ろ紙

ステロイド標準品（17-OHP、F、21-DOF、11-

DOF、 $\Delta 4-A$ ）の水溶液（20 μ g/ml）に同容量の濃厚赤血球を添加したものをろ紙に50 μ lずつスポットして超高濃度の標準ろ紙血液を作成した。

4) ろ紙血液の前処理

ガラス試験管にろ紙血液 ϕ 5mmディスク4枚をパンチし、蒸留水300 μ lを加えて超音波水槽で5分間溶出した。溶出液に2mlのジエチルエーテルを加え、ミキサーで5分攪拌後2500rpmで遠心した後、ドライアイス-エタノール槽で水相を凍結してジエチルエーテル相を別のガラス試験管に移した。窒素気流下でジエチルエーテルを除去して得た抽出物に液体クロマトグラフィーの移動相100 μ lを加えて攪拌し、試料とした。

5) 測定条件の検討

ステロイド標準ろ紙血液を上述の方法により前処理して得た試料を用いて、プリカーサーイオンの質量電荷比(m/z)及びフラグメンター電圧はMS2スキャンにより、プロダクトイオンのm/z及びコリジョン電圧はプロダクトイオンスキャンによりそれぞれ最適な条件を検討した。

C. 研究結果

1) 測定条件

エレクトロスプレーイオン化法MRMポジティブモードで測定した。ガス温度350 $^{\circ}$ C、乾燥ガス流量10.0L/min、ネブライザーガス圧50psiで検討した結果、表1に示す条件が最適であった。

2) 液体クロマトグラフィー条件

表 2 の条件で、保持時間 3.2 分に F、4.3 分に 21-DOF、4.6 分に 11-DOF、4.9 分に Δ 4-A、5.4 分に 17-OHP のピークが観測できた。(図)

D. 考察と結論

CAH スクリーニングでは、一次検査 (ELISA 法) で 17-OHP が高値を示す検体について、水溶性ステロイドの交差反応による偽陽性を減らす目的で確認検査として、エーテル抽出による ELISA 抽出法が全国的に行われている。札幌市衛生研究所では ELISA 抽出法の代わりに HPLC による 17-OHP 測定を実施しているが¹⁾、いずれの場合でも低出生体重児におけるストレス性の 17-OHP 高値による偽陽性を減らすことは難しい。近年、タンデム質量分析計で 17-OHP 及びコルチゾール等 CAH において高値または低値を示すステロイドを短時間で同時測定し、それらを指標とすることで効果的なスクリーニングが行なえるとの報告^{2,3)}があるが、国内ではまだ実用的にスクリーニングに応用している施設はない。従来の ELISA 抽出法または HPLC 法に代わってタンデム質量分析計によるステロイド分析を、CAH スクリーニングにおける確認検査として導入することにより、偽陽性を減らしスクリーニングの精度を向上させるために非常に有用と思

われる。

今回、タンデム質量分析計による 17-OHP、F、21-DOF、11-DOF、 Δ 4-A の一斉分析法を検討した。本法を応用し、新生児ろ紙血液中ステロイドの分析を開発できれば、CAH スクリーニングへの適用が可能であると示唆された。

E. 文献

- 1) 三上篤、本間かおり、水嶋好清、他: 先天性副腎過形成症スクリーニング改良の試み。札幌市衛生研究所年報 29, 48-56, 2002.
- 2) J.M.Lacey, C.Z.Minutti, M.J.Magera, et al.: Improved Specificity of Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia by Second-Tier Steroid Profiling Using Tandem Mass Spectrometry. *Clinical Chemistry* 50, 621-625, 2004.
- 3) N.Janzen, M.Peter, S.Sander, et al.: Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia: Additional Steroid using liquid Chromatography-tandem mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab* 92, 2581-2589, 2007.

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表 1. 質量分析 (MRM) 測定条件

| | Precursor Ion (m/z) | Product Ion (m/z) | Fragmentor (V) | Collision energy (eV) |
|-----------------|---------------------|-------------------|----------------|-----------------------|
| 17-OHP | 331.2 | 109.1 & 97.0 | 140 | 40 |
| 17-OHP-d8 | 339.2 | 113.0 & 100.0 | 140 | 30 |
| F | 363.2 | 121.1 | 140 | 40 |
| F-d4 | 367.3 | 121 | 140 | 40 |
| 21-DOF | 347.2 | 311.2 | 150 | 15 |
| 21DOF-d8 | 355.3 | 319.3 | 150 | 15 |
| 11-DOF | 347.2 | 97.0 | 150 | 30 |
| 11DOF-d2 | 349.2 | 97.0 | 150 | 30 |
| Δ 4-A | 287.2 | 109.0 & 97.0 | 140 | 25 |
| Δ 4-A-d7 | 294.3 | 113.1 & 100.2 | 140 | 25 |

表 2. HPLC 測定条件

| | |
|--------------------|---|
| カラム | Waters Symmetry C18, 3.5 μ m, 2.1 \times 50mm |
| 注入用 | 20 μ L |
| 移動相 A | H ₂ O (1% HCOOH) |
| 移動相 B | メタノール |
| 流速 | 0.25mL/min |
| グラジエント条件 (移動相Bの割合) | 0→1min 50%→85% |
| | 1→4min 85%→100% |
| | 4→10min 100% |
| | 10→12min 100%→50% |
| | 12min→ 50% |

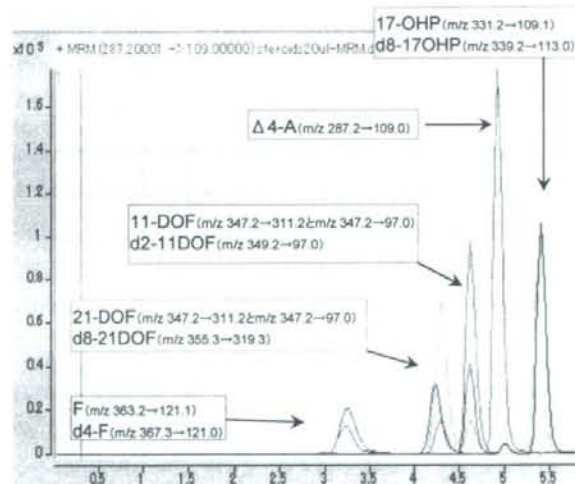


図 標準ろ紙からのステロイド抽出物のクロマトグラム

分担研究課題：タンデムマスによるスクリーニングの効果の検討

質量分析法による代謝異常症スクリーニング化学診断成績

研究要旨

我々は、ろ紙血 MS/MS 法と尿 GC/MS 法の両質量分析法を用いて先天性代謝異常症スクリーニング化学診断の試験研究を施行している。これまでリスク児を中心に 1,488 例を分析し、メチルマロン酸血症 3 例をはじめ 8 疾患 17 症例を化学診断した。これらのうち、メチルマロン酸血症 1 例、プロピオン酸血症 2 例、3-メチルクロトニル-CoA カルボキシラーゼ (MCC) 欠損症 2 例の新生児期保存ガスリーろ紙血について MS/MS 分析を行った結果、5 症例とも各疾患の診断マーカーカルニチンに異常高値を認め、少なくともこれら 3 疾患に関して新生児早期での発症前発見の可能性が強く示唆された。今回の検討により、MS/MS 法による新生児マススクリーニングの有効性ならびに早期開始の必要性が確認された。同時に発症前の無症状例や軽症型などに対するフォローアップ体制の確立が必要と考えられた。

研究協力者

田代恭子、猪口隆洋、青木久美子、松下優美、
稲場美佐、井上かおり、原 千尋、松石豊次郎
(久留米大学医学部 GC/MS 医学応用研究施設)
渡辺順子、芳野 信 (久留米大学医学部 小児科)

A. 研究目的

タンデムマス (MS/MS) とガスマス (GC/MS) の両質量分析法を用いて先天性代謝異常症をスクリーニング化学診断し、わが国の新生児マススクリーニングにおける質量分析法、とりわけ MS/MS 法の有効性ならびに有用性を検討した。

B. 研究方法

久留米大学病院をはじめ他の医療機関より分析依頼を受けた代謝異常症疑いリスク児を中心に、MS/MS 分析と GC/MS 分析を同時に行うセット質量分析法を用いて先天性代謝異常症のスクリーニング化学診断を行った。

MS/MS 法は重松らの方法に準じ、Waters Quattro Premier LC/MS/MS を用いてろ紙血中のアミノ酸、アシルカルニチンを分析した。GC/MS 法は松本、久原らの方法に準じ Agilent

5973, 5975B GC/MS を用いて尿中の代謝産物を一斉分析した。

なお、MS/MS 法および GC/MS 法による新生児スクリーニング試験研究は、久留米大学医学部倫理委員会で承認され、各医療機関で文書を用いた説明により保護者から得られたインフォームドコンセントに基づくものである。

C. 研究結果

これまで (2004 年 6 月～2008 年 12 月まで) にリスク児を中心に、1,488 検体 (うち 2008 年は 550 検体) をスクリーニングし、8 疾患 17 症例を化学診断した。内訳は、メチルマロン酸血症 3 例、プロピオン酸血症 3 例、メープルシロップ尿症 2 例、MCC 欠損症 2 例、イソ吉草酸血症 1 例、シトリン欠損症 3 例、CPT II 欠損症、カルニチン/アシルカルニチントランスポーター欠損症疑い 2 例、短鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症 1 例である。これらの中で 3 ヶ月時発症メチルマロン酸血症 1 例、発症前プロピオン酸血症 2 例、1 歳 3 ヶ月時発症 MCC 欠損症 1 例、発症前 MCC 欠損症 1 例の計 5 例の新生児期保存のガスリーろ紙血を MS/MS 分析した結果、

それぞれの診断マーカーカルニチンにカットオフ値を超える異常高値を認めた。

D. 考察

当施設でセット質量分析法により化学診断した3疾患5症例の新生児期保存ガスリーろ紙血を後方視的にMS/MS分析した結果、5症例とも新生児早期での発症前発見が十分可能であることが確認された。発症前発見はスクリーニングの最も重要な要素であり、これまでの我々の経験は、新生児マススクリーニングにおいて、質量分析法とりわけMS/MS法の有効性ならびに早期開始の必要性を強く示唆するものである。また、今後MS/MSスクリーニングが本格的に開始されると、軽症型や一過性を含む良性型および発症前の無症状例が増加することが予測される。スクリーニングの本格実施前に、これら特に無症状例に対する指導、治療、検査方針等のガイドラインの設定などフォローアップ体制の確立が望まれる。

E. 結論

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ならびに早期開始の必要性が確認された。同時に軽症型や良性型を含む無症状例、特に発症前無症状例に対するフォローアップ体制確立の必要性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 青木 久美子, 松下 優美, 猪口 隆洋, 田代 恭子, 稲場 美佐, 井上 かおり, 原 千尋, 渡辺 順子, 芳野 信, 松石 豊次郎: 発症前3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症のスクリーニング. 第35回日本マス・スクリーニング学会. 2008.8.29. (松江)
- 2) 田代恭子, 猪口隆洋, 松下優美, 青木久美子, 稲場美佐, 井上かおり, 原 千尋, 渡辺順子, 芳野 信, 松石豊次郎: 質量分析法による新生児代謝異常マス・スクリーニングの重要性. 第50回日本先天代謝異常学会. 2008.11.7. (米子)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

Ⅱ. 分担研究報告書

3. 新生児マススクリーニングの精度管理体制に関する研究

研究分担者 原田正平（国立成育医療センター研究所室長）

分担研究課題

新生児マススクリーニングの精度管理体制に関する研究

研究分担者 原田正平（国立成育医療センター研究所室長）

研究要旨

平成 19 年度に新生児スクリーニング研究開発センター（NSセンター）と国立成育医療センターが共同で開始した、ブラインドサンプル（ブランド）による新しい外部精度管理システムの検討、タンデムマススクリーニング導入に向けての精度管理体制整備、採血機関での実情調査を引き続き行うことに加え、平成 20 年度は、検査後の乾燥血液濾紙（濾紙血）の保管と目的外使用に関する研究及び先天性甲状腺機能低下症の新規ガイドライン作成の検討を目的として研究を行った。ブラインド導入では、現行外部精度管理では明らかにできなかったシステム上の問題が明らかとなり、タンデムマスの新規ガイドライン確立、採血部位・採血方法の再評価、検査済み濾紙血の保管・使用の指針作り、先天性甲状腺機能低下症の新規ガイドラインについて、いずれも平成 21 年度に向け引き続き検討が必要である。

研究協力者

鈴木恵美子 (財)日本公衆衛生協会
平原史樹 横浜市立大学大学院教授
渡辺倫子 (財)日本公衆衛生協会
山上祐次 神奈川県予防医学協会担当部長
九曜雅子 富山県衛生研究所副主幹研究員
望月孝一 埼玉県立小児医療センター主任
田崎隆二 化学及血清療法研究所検査係長
小田切正昭 さいたま市健康科学センター
鈴木 健 東京都予防医学協会参与
福士 勝 札幌市衛生研究所保健科学科長
花井潤師 札幌市衛生研究所保健科学係長
石山 洋 静岡県予防医学協会技幹
吉井千代子 広島市医師会臨床検査センター
園山京子 島根県立中央病院副科長
安片恭子 ちば県民保健予防財団グループ長
中村多加良 福島県保健衛生協会主任技師
安部真理子 秋田県健康環境センター上席研究員
稲岡一考 大阪府立母子保健総合医療センター
河地 豊 愛知県健康づくり振興事業団
芳野 信 久留米大学小児科教授

猪股弘明 いのまたこどもクリニック院長
杉原茂孝 東京女子医科大学小児科教授
南谷幹史 帝京大学ちば総合医療センター准教授

研究目的

平成 19 年度に新生児スクリーニング研究開発センター（NSセンター）と国立成育医療センターが共同で開始した、ブラインドサンプル（ブランド）による新しい外部精度管理システムの検討、タンデムマススクリーニング導入に向けての精度管理体制整備、採血機関での実情調査を引き続き行うことに加え、平成 20 年度は、検査後の乾燥血液濾紙（濾紙血）の保管と目的外使用に関する研究及び先天性甲状腺機能低下症の新規ガイドライン作成の検討を目的として研究を行った。

B. 研究方法

1. スクリーニング外部精度管理システムへのブラインドサンプル導入

日本産婦人科医会代表と協議し、パイロット研究開始の了解を得た。一般新生児濾紙血と区別が

つかない「ブラインド」を作成し、協力参加施設からスクリーニング検査機関に送付。その取り扱われる過程を各地域、検査機関で検証することで、外部精度管理検体送付による現行のシステムを補完する。

2. タンデムマススクリーニングにおける精度管理の現状

アシルカルニチンとアミノ酸添加検体を作成し、その保存性と各検査機関での測定値を比較検討する。

米国疾病予防管理センター（CDC）で実施している Newborn Screening Quality Assurance Program（NSQAP）に参加しその有用性を確認する。

3. 採血部位と採血方法によるアミノ酸及びガラクトースのデータ比較

平成 19 年度に行った採血部位と採血方法（足底を穿刺した毛細管血、手背からの静脈血）に関するアンケート結果に基づき、アミノ酸とガラクトース値を比較した。

4. 検査後の乾燥血液濾紙（濾紙血）の保管と目的外使用

一般市民、フェニルケトン尿症（PKU）親の会会員、総合病院医療職員、専門病院職員、小児科医、産婦人科医、日本マス・スクリーニング学会会員に対し行った新生児マススクリーニング及び濾紙血の保管と目的外使用に関する意識調査を行い、その結果を基に保存濾紙血によるパイオバンク化について考察した。

5. 先天性甲状腺機能低下症の新規ガイドライン作成の検討

「Minds 診療ガイドライン作成の手引き 2007」（医学書院、2007 年）を参考にし、日本小児内分泌学会マススクリーニング委員会と日本マス・スクリーニング学会から作業部会メンバーを選抜し、過去 10 年間の「先天性甲状腺機能低下症」に関する文献検索を網羅的に行った。

C. 研究結果

1. スクリーニング外部精度管理システムへの

ブラインドサンプル導入

平成 17 年度に試験的に 2 施設で開始し、平成 20 年度までに 10 施設が参加。産科医療機関としては 24 施設が協力。

平成 20 年 12 月までに 9 施設に 48 検体（正常値検体 20、異常値検体 28）を送付し、1 検体が発見されなかった。

その原因調査を行い問題点を是正すると共に、ブラインドを用いた新しい外部精度管理システムとして、ヒヤリ・ハット事例集作成による情報共有システム確立を検討した。

またブラインドを全国に拡大するための「パイロットスタディ実施計画書」を作成した。

2. タンデムマススクリーニングにおける精度管理の現状

自家製のアシルカルニチンとアミノ酸添加検体及び NSQAP からの検体を測定した。

自家製検体では Phe と Met 添加検体は施設間差が少なかったが、Leu(Leu+Ileu)添加検体ではタンデムマス法と HPLC 法で差が大きかった。

3. 採血部位と採血方法によるアミノ酸及びガラクトースのデータ比較

正常体重児では、酵素法による測定値が、Phe 以外で採血部位の違いにより有意差があり、HPLC 法では Phe, Met, Leu がいずれも有意差を認めた。低出生児では有意差がなかった。採血方法の違いでは、HPLC 法により正常体重児の Phe と Met に有意差があった。

4. 検査後の乾燥血液濾紙（濾紙血）の保管と目的外使用

新生児マススクリーニングそのものの認知度が一般市民で非常に低く（知らないが 72.1%）、濾紙血の目的外使用と長期保存についても、他の群より 6～13% 賛成が少なかったが、反対意見も少なかった。

5. 先天性甲状腺機能低下症の新規ガイドライン作成の検討

Medline、Cochrane および医学中央雑誌を用いて検索し、合計 799 文献が抽出された。作業部会メンバーにより 200～300 文献程度まで取捨選択

している。今後は選ばれた文献の原本を取り寄せ、構造化抄録作成、エビデンスのレベル決め、ガイドライン作成と進める予定である。

D. 考察

ブラインド導入の過程で見逃しが起こり、従来的一般検体と異なる外部精度管理検体の送付では判らなかつた、スクリーニング検査機関における問題があぶり出された。単にミス指摘に終わらず、ブラインド導入を契機として各地のスクリーニングシステムの見直しを行うことが、わが国のスクリーニング全体の精度向上につながることを期待される。

タンデムマスの精度管理の確立には、適切な外部精度管理検体の作成も含め課題が多いことが明らかとなった。さらなる検討が必要である。

スクリーニング開始以来行われてきた、足底の穿刺による毛細管血採取以外の方法が現実に行われていることから、手背からの静脈採血の実態について全国調査が必要であり、平成 19 年度の研究で明らかとなった TSH 値の差も含め、慎重な検討が望まれる。

濾紙血の目的外使用と長期保存について標準的な方法の検討も重要であるが、新生児マススクリーニング自体についての認識が低いことから、画像媒体などを活用した積極的な情報提供、啓発

活動が前提となる。その上で、二次元バーコードなどでサンプル管理を行うなど、バイオバンク化を進めるための検討課題は多い。

先天性甲状腺機能低下症マススクリーニングのガイドラインは平成 10 年のものが最新版であることから、近年主流となっている、新しい診療ガイドライン作成の手順を踏襲しての平成 21 年度中の作成が望まれる。

E. 結論

ブラインド導入による現行の外部精度管理の向上、タンデムマスの新規ガイドライン確立、採血部位・採血方法の再評価、検査済み濾紙血の保管・使用の指針作り、先天性甲状腺機能低下症の新規ガイドラインについて、いずれも平成 21 年度に向け引き続き検討が必要である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 (別掲、個別に掲載)

H. 知的財産権の出願・登録 なし

分担研究課題：新生児マススクリーニングの精度管理体制に関する研究

新生児マススクリーニングの使用済み濾紙血液検体の
長期保存と研究利用の自治体と検査施設の現状

研究要旨

【目的】自治体とスクリーニング検査施設における検査済み濾紙血液の保存と利用の現状を把握して、今後のあり方を検討する。【方法】47 都道府県、17 政令指定都市のスクリーニングを実施している 45 検査機関を対象として、調査票をメールで送付して回答を得た。【結果】アンケートの回収率は 91.1%であり、カバーされる自治体数では 93.8%であった。検査済み濾紙血液の保存では、保護者からインフォームドコンセントを取っているのは 2 施設しかなかった。保存期間は 1 年間で 12 施設と最も多く、2 年間で 9 施設、3 年間で 8 施設、4 年間で 1 施設、5 年間で 6 施設、5 年以上 10 年未満が 2 施設、10 年以上が 2 施設であった。保存の根拠としては、自治体の「先天性代謝異常症検査実施要綱」よるものが 17 施設、自治体との委託契約書よるものが 5 施設、検査機関の規定が 8 施設、その他 5 施設であった。検査済み濾紙血液の利用目的は、通常検査の精度管理、現行スクリーニング疾患の検査法の改善・新規開発、見逃し例などの再確認検査、新しいスクリーニング疾患の検査法の開発、感染症や環境汚染物質などの疫学調査、今後開発される画期的な検査法に備えておくためなどであった。研究などへの利用経験があるのは 36 施設であった。倫理審査委員会を設置しているのは 11 施設しかなかった、倫理審査の対象となる全てについて承認を受けているが 6 施設のみであった。【まとめ】新生児マススクリーニングの検査済み濾紙血液検体の研究などへの目的外利用を推進するため、全国の自治体は実施要綱・要領などに検査済み濾紙血液検体の長期保存の目的・方法・期間、本来の目的以外に使用する場合の手続きなどを明確に規定し、検査機関における検査済み検体の有効利用がいつでも可能になるようにすべきである。また、検査済み濾紙血液検体を用いる研究計画の策定には、各自治体の新生児マススクリーニングに関する連絡協議会などが十分機能し、倫理審査委員会での審査が確保されていること、採血時の十分な説明と検査機関における個人情報の保護が適切に実施されていることが前提となる。

研究協力者

富士 勝（札幌市衛生研究所）
梅橋豊蔵（熊本保健科学大学）
原田正平（国立成育医療センター研究所）

A. 研究目的

新生児マススクリーニング終了後の濾紙血液検体の研究利用を推進するため、自治体と検査施設における検体の保存と研究利用の実態を調査して、今後のあり方を検討する。

B. 研究方法

1) 調査対象

47 都道府県、17 政令指定都市のスクリーニングを実施している 45 検査機関

2) 調査実施時期

2008 年 4 月下旬から 5 月中旬

3) 調査内容

- i) 検査済み濾紙血液の保存と利用の現状
- ii) スクリーニング説明書、検査申込書の記載項

目、インフォームドコンセント取得の現状

iii) 倫理審査委員会の設置状況と研究計画の承認

C. 研究結果

1) アンケート回収率

45 検査機関中 41 検査機関から回答があり、91.1%の回収率であった。カバーされる自治体数では 64 自治体中 60 自治体 (93.8%) であった。

2) 検査済み濾紙血液の保存、根拠、説明と同意

保存期間は、1 年間で 12 施設 (29.3%)、2 年間で 9 施設 (22.0%)、3 年間で 8 施設 (19.5%)、4 年間で 1 施設 (2.4%)、5 年間で 6 施設 (14.6%)、5 年以上 10 年未満が 2 施設 (4.9%)、10 年以上が 2 施設 (4.9%) であった。保存条件は、 -20°C 以下が 5 施設 (12.2%)、 4°C 保存が 14 施設 (34.2%)、室温保存が 7 施設 (17.1%) であり、その他 15 施設 (36.9%) であった。保存時の濾紙血液の形態は、採血濾紙全体をそのまま保存が 37 施設 (90.2%)、血液部分と個人情報部分を切り離して保存が 3 施設 (7.4%)、検体によって変えているのが 1 施設 (2.4%) であった。根拠となっている規定として、自治体の「先天性代謝異常症検査実施要綱」が 17 施設 (41.5%)、自治体との委託契約書に記載が 5 施設 (12.2%)、検査機関の規定が 1 施設 (2.4%)、検査担部門の規定が 7 施設 (17.1%)、その他 5 施設 (12.2%) であった。保存の目的と利用について、採血時に保護者への説明が十分されているかどうかでは、説明書に記載して配布が 1 施設 (2.4%)、説明書に記載して配布と主治医の説明が 1 施設 (2.4%)、説明書の配布及び主治医の説明のいずれも行われていないが 22 施設 (53.7%)、検査施設では分からない・不明が 17 施設 (41.5%) であった。保存について保護者からの同意取得では、採血医療機関で説明をして書面で同意を得るが 2 施設 (4.9%)、採血医療機関などで説明書を渡すか口頭で説明するのみで同意を得ていないが 1 施設 (2.4%)、何もして同意も得ていないが 24 施設 (58.5%)、検査施設では分からない・不明が 34.2 施設 (41.5%) であった。

3) 検査済み濾紙血液の利用

検査済み濾紙血液の利用の有無では、経験ありが 36 施設 (87.8%)、経験なしが 5 施設 (12.2%) であった。これまでに実際に利用したことがある 36 施設における利用項目は、通常検査の精度管理に使用が 6 施設 (16.7%)、現行スクリーニング疾患の検査法の改善・新規開発が 9 施設 (25.0%)、見逃し例などの再確認検査が 13 施設 (36.1%)、新しいスクリーニング疾患の検査法の開発が 5 施設 (13.9%)、新しいスクリーニング疾患のパイロットスタディが 11 施設 (30.6%)、感染症や環境汚染物質などの疫学調査が 4 施設 (11.1%)、他機関の研究のため提供が 19 施設 (52.8%)、その他が 13 施設 (36.1%) であった。

4) 倫理審査委員会

倫理審査委員会を設置しているが 11 施設 (26.8%)、1 年以内に設置予定が 1 施設 (2.4%)、設置していないが 29 施設 (70.7%) であった。設置している 11 施設が全て施設単独の委員会であった。検査済み濾紙血液の利用時に倫理審査委員会での承認を得ているかどうかでは、倫理審査の対象となる全てについて承認を受けているが 6 施設 (14.6%)、承認を受けていないが 22 施設 (53.7%)、利用することがないので審査する必要がないが 3 施設 (7.3%)、回答なしが 10 施設 (24.4%) であった。

D. 考察と結論

検査済み乾燥濾紙血液は有用性としては、①現行スクリーニングの精度管理、検査法の改善・新規開発、②見逃し例のスクリーニング時検査データの再評価による適切な対応、③採血医療機関における適切な採血と検査機関での検査が確実に行われたことを証明する重要な物的証拠となり得る。また、検査済み乾燥濾紙血液は新たな疾患のマススクリーニング確立のための研究を実施するためには必須なものである。検査済み乾燥濾紙血液を適切な状態で長期間保存し、一定の自治体の検体を提供してもらうことにより数十万人単位の試験研究を短期間で実施することが可能

となること、感染症サーベイランスや環境汚染物質などの疫学的研究や遺伝子解析への応用も報告されており、母子保健事業ばかりでなく他分野での健康政策事業の企画・立案・実施・評価に極めて有用である。以上のことから、現行の新生児マススクリーニングで採取される乾燥濾紙血液を一定期間保存し、本来の目的以外の研究に使用することは、血液を採取された児や保護者ばかりでなく、社会全体にとっても有益である。しかしながら、今回の調査では保存期間、保存条件、保存形態は施設により大きく異なっており、今後は保存の目的を明確にして全国的に統一された指針のもとで保存利用していくシステムを構築していく必要がある。

新生児スクリーニング検査済み乾燥濾紙血液の長期保存とその目的外使用を進めていく場合、国のガイドラインである「疫学研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」に基づく個人の尊厳・人権の尊重、個人情報の保護などに配慮した研究の実施が求められる。従って、検査説明書に検査済み乾燥濾紙血液の長期保存と現行マススクリーニング対象疾患の検査以外にも使用されることについての説明を加え、検査申込書へ長期保存と対象疾患検査以外にも使用されることを承諾する項目を加えることが必要となる。この他に検査説明書へ追加されるべき項目としては、長期保存の目的、対象疾患の検査以外でどのようなことに使用されるか、現在承諾しても将来承諾を取り消すことができることとその手続き方法、これを拒否しても現行のスクリーニングの受検においてまったく不利益をうけることがないことがあげられる。

また、長期保存と目的外使用を拒否した場合はその検体は検査終了後各自治体の保存期限の規定により保存された後に個人情報保護に配慮した方法で廃棄されることも記載されなければならない。さらに、上述のインフォームドコンセントが受けられたとしても、検査済み乾燥濾紙血液の目的外使用においては、各自治体の新生児マススクリーニングに関する協議会や連絡会議などが十分機能していて、倫理審査委員会での審査が確保されていること、実施主体の自治体の協力・支援が受けられること、採血時の十分な説明と検査機関における個人情報の保護が適切に実施されていることが前提となる。また、新生児マススクリーニングの実施主体である各自治体においては実施要綱・要領などに検査済み乾燥濾紙血液の長期保存の目的・方法・期間、本来の目的以外に使用する場合の手続きを明確に規定しておくことも必要である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 福士 勝: タンデム質量分析計による新生児スクリーニングの検査施設基準に関する検討. 日本マス・スクリーニング学会誌 2008, 18: 210-214

2. 学会発表

- 1) 福士勝: マス・スクリーニングで結ぶ医師、行政、検査、患者家族の連携 - 検査施設のあり方と検査・行政・医療機関の連携 -. 第 35 回日本マス・スクリーニング学会. 松江, 2008.

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

分担研究課題：新生児マスキングの精度管理体制に関する研究

スクリーニング外部精度管理システムへのブラインドサンプル導入の進展

研究要旨

より精度の高い効果的な外部精度管理システムの一つとして、ブラインドサンプルの導入を図るため、その目的・意義を理解し自主参加された検査施設と協力し、全国実施にむけたパイロットスタディを平成 17 年度以来実施してきた。

全国のスクリーニング検査施設 47 中、パイロットスタディ参加施設は 10、協力医療機関は 23、臨床家大学関係者 7 名であり、平成 20 年度に参加した 1 施設は自治体の積極的な協力を得ている。今までに 48 検体（正常値検体 20、異常値検体 28）送付し、異常値の 1 検体が発見できなかった。その原因は、ガスリー法において管理検体と見誤り正常と記載しその後のダブルチェックが無かったためと考えられた。外部精度管理機関から改善策を提示し、当該施設はこれを実行しているが、十分な人員確保の問題等が根本の問題として残っている。平成 19 年度に「パイロットスタディ実施手順書(案)」を作成、20 年度は産科採血機関も含めたパイロットスタディ実施計画書(案)を作成した。

ブラインドサンプル導入の全国施行にむけ、パイロットスタディで現状を把握し問題があれば個々に助言指導し、さらにシステム全体の見直しにつなげ、また医療現場の「ヒヤリハット」のように事例の記録収集・原因究明・警告事例を提示し、重大事故の未然防止にも視点を置き、実施計画にそって作業を進めている。

研究協力者

| | |
|-------|----------------|
| 鈴木恵美子 | (財)日本公衆衛生協会 |
| 渡辺倫子 | (財)日本公衆衛生協会 |
| 前田昌子 | (財)日本公衆衛生協会 |
| 成瀬 浩 | (財)日本公衆衛生協会 |
| 望月孝一 | 埼玉県立小児医療センター |
| 山上祐次 | (財)神奈川県予防医学協会 |
| 安片恭子 | (財)ちば県民保健予防財団 |
| 田崎隆二 | (財)化学及血清療法研究所 |
| 九曜雅子 | 富山県衛生研究所 |
| 園山京子 | 島根県立中央病院 |
| 吉井千代子 | 広島市医師会臨床検査センター |
| 安部真理子 | 秋田県健康環境センター |
| 中村多加良 | (財)福島県保健衛生協会 |
| 平原史樹 | 横浜市立大学大学院 |
| 加藤忠明 | 国立成育医療センター |
| 松井 陽 | 国立成育医療センター |

研究分担者

| | |
|------|------------|
| 原田正平 | 国立成育医療センター |
|------|------------|

A. 研究目的

現行の外部精度管理システムより精度の高い効果的なシステムとして、ブラインドサンプル導入の有用性を検証するため、本研究の目的・意義を理解し自主的に参加されたスクリーニング検査施設（以下施設）と協力し、平成 17 年度以来パイロットスタディを実施し、全国的にブラインドサンプルの導入が実際に可能かどうかを検討した。

B. 研究方法

1. 日本産婦人科医会代表との協議によりパイロットスタディ開始の了解を得て実施
2. 現行の外部精度管理評価とは全く切り離す
3. 協力産科採血機関においてブラインドサンプル（当センター作製）に仮の母親名を記入し、一般検体と一緒に施設に送付。施設は、産科採血機関に結果報告した時にそれが「ブラインド」と告げられる。正常異常の判定、測定値、受付から報告までの日数等をセンターに集約。ブラインドサン

ブルの送付は、2～3回/年、1回の送付枚数は、1～2枚。

4. 本研究は、現状を把握し、問題があればシステム全体の見直しにつなげることを目指す。ミスがあった場合も個々の責任追及ではなく「ヒヤリハット」のようにその原因を究明し再び事故の要因にならぬよう警告事例として取り上げ、重大事故の未然防止をはかる

C. 結果

1. パイロットスタディ参加施設

平成17年度に試験的に2施設で開始し、現在10施設が自主的に参加（21年度からさいたま市が参加）。ブラインドサンプルと解らない検体作製、パイロットスタディ手順書案作りを行った。

2. 協力体制

自治体1、連絡協議会1、医療機関24、臨床家24、採血機関選定者7名。ブラインドサンプル導入の重要性・必要性を理解頂き、継続的な協力を得ている。当センターから採血機関へのブラインドサンプル送付時、採血機関から施設への送付時に遅配・誤配・遅配が生じぬ様に、送付方法と確認連絡法の打ち合わせを行い、安全手順を確立した。

3. ブラインドサンプル送付数

1回の送付は、1,2検体（正常か異常または両方）とし、平成20年12月までに9施設に合計48枚（正常値検体20、異常値検体28）を送付した。異常値検体（ロイシン）1つが発見できなかったが、直後に、その施設で通常の測定法（BIA）にて2回再測定したところ、問題なく異常値と判定した。通常2人で行う判定を1人で行い、隣の管理検体と見誤って正常と記載、「ダブルチェックされなかった」のが第一の原因と推測。外部精度管理機関から改善策を提示し、当該施設からはそれを実行したとの報告を得た。協力機関には、一連の経過と対処を報告することで、引き続き支援協力を頂いている。

当該施設と協力し、ヒヤリハット事例集の作成のために「問題確認書（案）」を作成した。

4. パイロットスタディ実施計画書（案）（表1）

平成19年8月にパイロットスタディ実施手順書（案）を作成し施設に意見を問い、平成20年度は協力産科採血機関も含めた「パイロットスタディ実

施計画書（案）」を作成した。

D. 考察

1. 平成17年度に本研究を開始したが、その実績が認められ、平成20年度に初めて自治体の積極的な支援を得た施設が1箇所加わった。
2. 自治体によるシステム整備が求められる状況もあるが、施設側からの自主的・積極的な働きかけが重要。連絡協議会設立に向け活動を始めた施設もあり、システム整備への意識の高まりがある。
3. 本研究により、現状を把握し、問題があればシステム全体の見直しにつなげる。ミスがあった場合「ヒヤリハット」のように原因を究明し警告事例にまとめ、重大事故の未然防止をはかる。
4. その地域のスクリーニングシステム全体を改めて見直すことにつながるブラインドサンプル導入は、施設の検査精度を保証する有効な方法と考えられる。

E. 結論

本研究の実施は、各自治体及び検査施設の現行スクリーニングシステムの実情確認をも含み、検査施設が質の高い精度管理を要望し、また、積極的に関係機関と連携を築く契機となっている。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

口頭

スクリーニング外部精度管理システムへのブラインドサンプル導入の進展

鈴木恵美子、渡辺倫子、前田昌子、成瀬 浩、望月孝一、山上祐次、安片恭子、田崎隆二、九曜雅子、園山京子、吉井千代子、安部真理子、中村多加良、平原史樹、原田正平、加藤忠明、松井 陽
第35回日本マス・スクリーニング学会 松江
2008.8.29～30、日本マススクリーニング学会誌
抄録号 2008 Vol.18 No.2 p65(162)

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表1 パイロットスタディ実施計画書(案)

ブラインドサンプル導入 パイロットスタディ実施の流れ(時系列 案)

2008.8.28

| | 確認事項 | 当センター | 検査施設 | 産科・採血機関 | 連絡協議会・コンサルタント医師・自治体 | 宅配業者 |
|---------------------------|---|---|---|---|------------------------------------|--------------|
| 開始準備 | | ・参加の意思確認と実施可能かの打ち合わせ。 ・ブラインド実施全体の流れの説明 ・自治体仕様様の連絡、産科採血機関から提出されるべき書類等の確認 | ・参加の意思確認と実施可能かの打ち合わせ。 ・ブラインド実施全体の流れの説明 ・自治体仕様様の連絡、産科採血機関から提出されるべき書類等の確認 | | | |
| | | ・ブラインド実施全体の説明 ・協力産婦人科・採血機関等の紹介を受ける | | | ・ブラインド実施全体の説明受 ・協力産婦人科・採血機関等の紹介 | |
| | | ・ブラインド実施についての説明 ・連絡責任者の確認 ・ブラインド実施一式資料持参か送付、後電話にて説明 | | ・ブラインド実施についての説明 ・連絡責任者の確認 ・ブラインド実施一式資料持参か送付、後電話にて説明 | | |
| | | 翌月以降ブラインド開始についての連絡 | 翌月以降ブラインド開始についての連絡受 | | | |
| ブラインド開始の前月 | | ・翌月に実施するブラインドについて打ち合わせ ・病院No入りの採血用連絡紙の入手(標準タイプの場合は不要) | | ・翌月に実施するブラインドについて打ち合わせ ・病院No入りの採血用連絡紙を使用の場合は、送付 | | |
| 月始め ブラインド開始 | | ・ブラインドサンプルの作製と測定 ・書類の準備 | | | | |
| | 採血機関での混乱回避のため、採血機関にブラインドが正常・異常かを明示 | ・ブラインドサンプルと書類一式の送付(冷凍宅配便) | | ・ブラインドサンプル受領(送り状1枚、ブラインドサンプル1-2枚、説明書と記入サンプル4枚、検査施設受領報告用紙1枚と封筒、センター宛報告用紙1枚と封筒、サンプル受領・送付連絡用FAX用紙1枚、保冷剤) | | |
| | | ・宅配便整理番号による配達状況把握 ・予定通りでなければ電話にて問合せ | | | | ネットによる配達状況提供 |
| | ブラインドサンプルが採血機関に届き、検査施設に送られたか確認 | ・ブラインドサンプル受領日、発送予定日あるいは発送済み連絡用FAXの回収 ・FAX連絡なければ問合せ | | ・ブラインドサンプル受領日、発送予定日あるいは連絡用FAXをセンターに送る | | |
| 月始～中頃 検査施設にブラインドサンプル送付 | | | ・ブラインドと認識せずにサンプル受領し、検査 | ・産婦人科小児科等の採血機関がブラインドサンプル送付 | | |
| | 医師が「それはブラインドです」と伝えただけ、書類を送ったか確認 | | ・電話による結果報告(再採血の場合) ・結果報告を送る(正常、再採血) | ・電話による結果報告の場合、電話にて「それはブラインドサンプルです」と答える。 ・結果報告書を受ける | | |
| | | ・「それはブラインドサンプルです」の用紙を受ける ・必要があれば登録削除などを行う | ・「それはブラインドサンプルです」の用紙を施設へ送付 | | | |
| 月末 | ・28日頃までに当センターに書類が届かない場合、採血機関と検査機関に問い合わせ | ・「それはブラインドサンプルです」の用紙(コピー)と「ブラインドサンプル導入の検討」報告用紙を受領 | | ・「それはブラインドサンプルです」の用紙(コピー)と「ブラインドサンプル導入の検討」報告用紙をセンターに送付 | | |
| | ・月末迄にブラインドサンプルの削除を確定を行う | ブラインドサンプルの登録の削除の確認をする | ブラインドサンプルの登録の削除の確認をする | | | |
| | | 測定結果の詳細、その他についてのアンケート収集(メール) | 測定結果の詳細、その他についてのアンケート回答(メール) | | | |
| 翌月 | | ブラインドの検討報告書を施設と産科へ送付 | ブラインドの検討報告書受領 | ブラインドの検討報告書受領 | | |
| 年度末 | | ・パイロットスタディの参加形態により、必要に応じて報告書作成 ・まだ出していない | ・連絡協議会が参加の場合、検査施設が協議会に結果報告 | ・連絡協議会が参加の場合、検査施設から結果報告 ・自治体としてパイロットに参加の場合要求により当センターから報告 | | |