

表1. タンデムマス・スクリーニング実施成績 (2012年度～2013年度)

年度	検査施設数*	検査数**	発見患者数***	頻度
2012	17	484,000	45	1/10,800
2013	34	853,911	84	1/10,200
計		1,337,911	129	1/10,400
一次対象疾患(16疾患)のみ			105	1/12,800

*: 回答があった検査施設数 **: 回答があった施設の検査数の合計 ***: 診断が確定した患者数(経過観察等は含まない)

表2. 発見された患者数とその発生頻度ならびに偽陽性数

アミノ酸代謝異常症	発見患者数 (偽陽性数)						発見頻度 (2012+2013)	有機酸代謝異常症	発見患者数 (偽陽性数)						発見頻度 (2012+2013)
	2012		2013		2012+2013				2012		2013		2012+2013		
PKU	8	(7)	19	(6)	27	(13)	1/49,600	PA	9	(11)	14	(13)	23	(24)	1/58,200
MSUD	0	(3)	4	(3)	4	(6)	1/334,500	MMA	3	(11)	5	(13)	8	(24)	1/167,300
HCU	1	(3)	1	(2)	2	(5)	1/669,000	IVA	0	(5)	1	(11)	1	(16)	1/1,338,000
Cit1	0	(3)	2	(12)	2	(15)	1/669,000	MCD	0	(11)	1	(41)	1	(52)	1/1,338,000
Citrin	4	(3)	7	(12)	11	(15)	1/121,700	MCC	2	(11)	4	(41)	6	(52)	1/223,000
ASA	0	(0)	1	(0)	1	(0)	1/1,338,000	GA1	0	(5)	3	(4)	3	(9)	1/446,000
Tyr1	0	(0)	0	(1)	0	(1)	-	計	14	(32)	28	(69)	42	(101)	1/31,900
計	13	(16)	34	(24)	47	(40)	1/28,500								

脂肪酸代謝異常症	発見患者数 (偽陽性数)						発見頻度 (2012+2013)
	2012		2013		2012+2013		
MCADD	9	(2)	5	(9)	14	(11)	1/95,600
VLCADD	3	(9)	5	(33)	8	(42)	1/167,300
TFP	2	(0)	0	(0)	2	(0)	1/669,000
CPT1	0	(3)	3	(13)	3	(16)	1/446,000
CPT2	1	(2)	5	(9)	6	(11)	1/223,000
CTD	1	(3)	2	(26)	3	(29)	1/446,000
GA2	1	(1)	0	(5)	1	(6)	-
計	17	(20)	20	(95)	37	(115)	1/36,200

その他			
3MGCA1	1	0	1
PCD	0	1	1
HSD10	0	1	1

PKU: フェニルケトン尿症, MSUD:メープルシロップ尿症, HCU: ホモシスチン尿症, Cit1: シトルリン血症1型, Citrin: シトルリン欠損症, ASA: アルギニノコハク酸尿症, Tyr1: チロジン血症1型, PA: プロピオン酸血症, MMA: メチルマロン酸血症, IVA: イソ吉草酸血症, MCD: 複合カルボキシラーゼ欠損症, MCC: メチルクロトニルグリシン尿症, GA1: グルタル酸血症1型, MCADD: 中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症, VLCADD: 極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症, TFP: 三頭酵素欠損症, CPT1: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ1欠損症, CPT2: カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ2欠損症, CTD: カルニチントランスポーター欠損症, GA2: グルタル酸血症2型, 3MGCA1: 3メチルグルタコン酸尿症ヒドラターゼ欠損症, PCD: ビルビン酸カルボキシラーゼ欠損症, HSD10: 2-メチル-3-ヒドロキシブチリル CoA 脱水素酵素欠損症

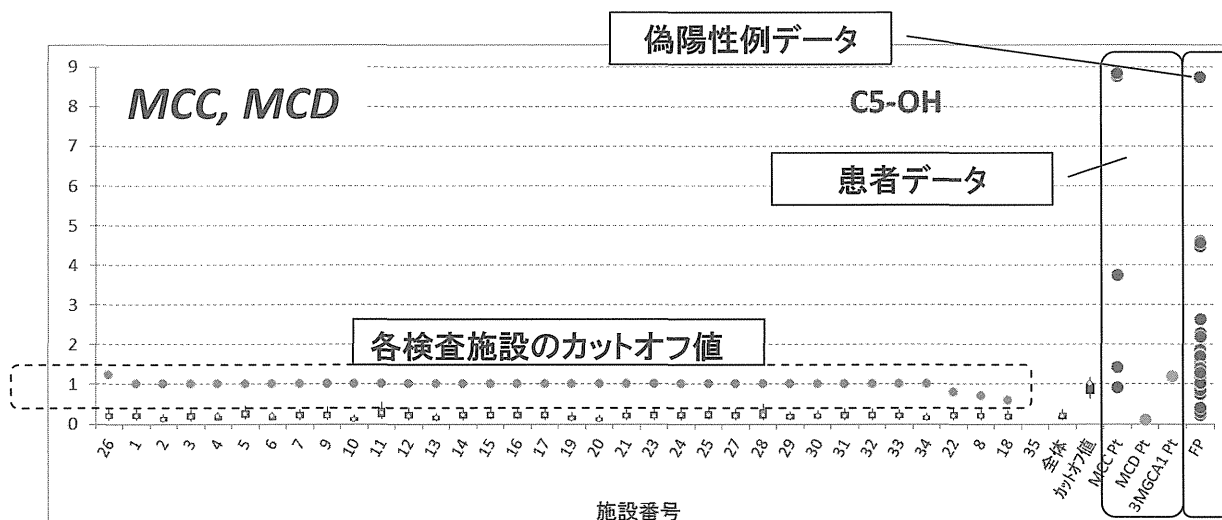
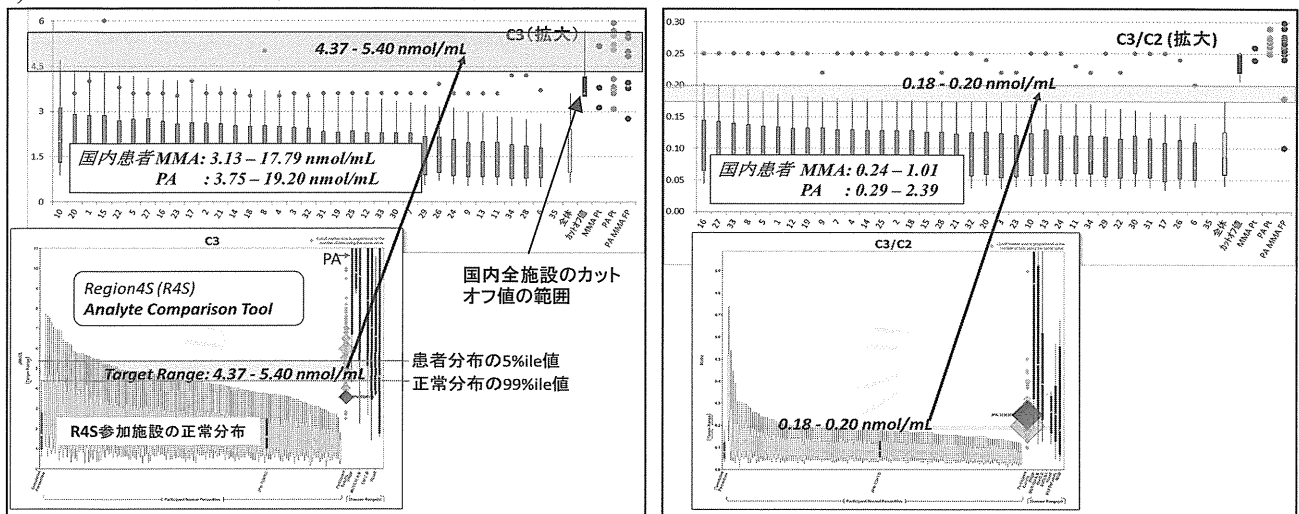


図1 正常値分布調査の集計チャートにプロットした患者および偽陽性例データ (例: MCC, MCD)

a) プロピオン酸血症/メチルマロン酸血症 :



b) 極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症 :

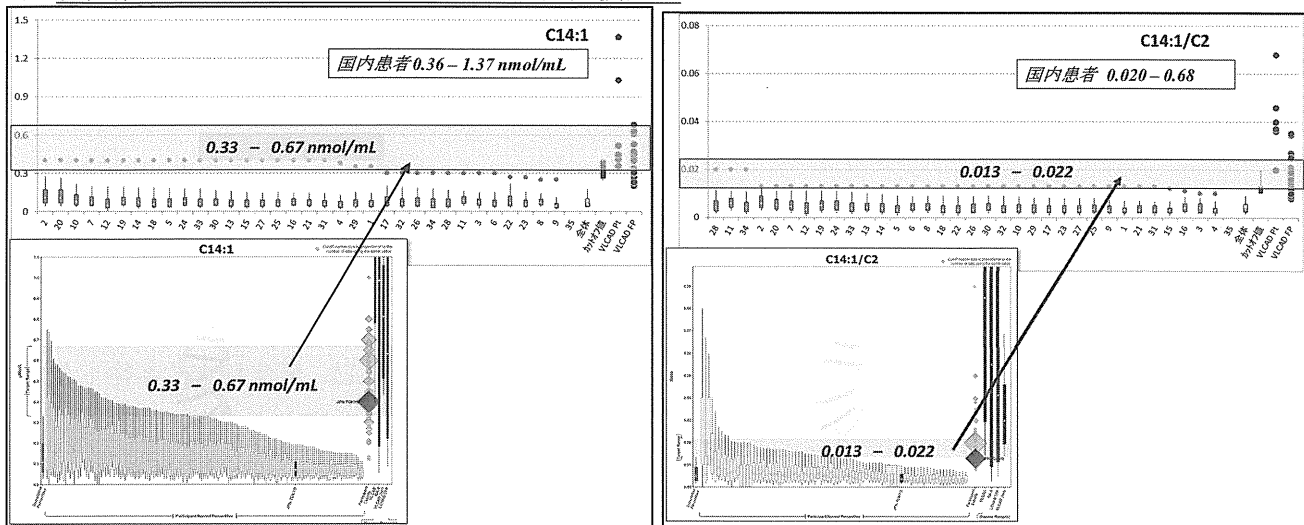


図 2 Region 4S との比較

- a) PA/MMA : 国内 PA 患者では C3 欧米よりも低値の群が存在している。C3, C3/C2 とともに国内施設のカットオフ値は R4S の Target Range とは異なっている。
- b) VLCADD: 国内 VLCADD 患者の C14:1 は欧米の患者よりも低値の症例が多く認められる。C14:1、C14:1/C2 比とともにカットオフ値は R4S の Target Range の下限に相当している。

分担研究課題

マスキリング検査精度向上に関する研究

研究分担者 重松陽介（福井大学医学部 教授）

新生児マスキリングの標準化 -海外の動向と我が国の現状-

研究要旨

新生児マスキリング（NBS）の検査施設、精度保証システム、NBSシステムの評価および検査法などの標準化に関する海外の動向とわが国の現状を調査し、今後のNBSの検査精度の向上に必要な事項を検討した。わが国の課題として、検査施設では一定レベル以上の質の確保、NBSシステムの評価では実施主体の明確化、タンデムマス・スクリーニング検査法の標準化では標準濾紙血液による施設間差の低減とRegion 4 Storkプロジェクトの手法を用いた検査精度の向上などが明らかになった。

研究協力者

福士 勝（札幌 IDL・所長）
石毛信之（東京都予防医学協会・主査）
田崎隆二（化学及血清療法研究所・検査総轄）
花井潤師（札幌市衛生研究所・課長）

A. 研究目的

検査施設、精度保証システム、スクリーニングシステムの評価方法、検査法の標準化における海外の動向とわが国の現状を調査することにより、新生児マスキリング（NBS）検査施設の精度向上のための方策を検討する。

B. 研究方法

欧米における検査施設基準、精度保証システム、NBS システムの評価方法、検査法の標準化の動向を国際学会報告や関連ホームページから収集するとともに、わが国の現状はNBS 検査施設へアンケート調査により行った。タンデムマス・スクリーニング（TMS スクリーニング）検査の標準化の検討では標準濾紙血液を作成し、協力が得られた検査施設のデータからその有効性を検討した。

C. 研究結果

1) 新生児マスキリング検査施設

アメリカでは Clinical Laboratory Improvement Amendments:1988（CLIA；臨床検査改善修正条項）が規定する基準をクリアした認証検査施設のみがNBSを実施できる。ヨーロッパの検査施設も国内法令に基づき ISO15189；2012（Medical laboratories - Requirements for quality and competence；臨床検査室 - 品質と能力に関する要求事項）をクリアし認証されることが必須となっている。一方、わが国では一般的な検査が実施できる検査施設であればどこでも検査受託が可能な状況にあり、自治体によっては年度ごとに一般競争入札が行われて検査受託施設が年度ごとに変更されている。臨床検査技師等に関する法律により規定されている通常の臨床検査受託に必須な登録衛生検査所の認定を受けている施設は43%であった。また、日本マスキリング学会のガイドライン；NBS 検査施設基準・TMS スクリーニング検査施設基準があるものの法的な規制ではないため検査受託施設が基準をどの程度クリアしているは不明である。

2) スクリーニングシステムの機能評価

検査受託施設における NBS システムの評価と改善には、採血（日齢、適切な濾紙採血状況）、検体送付（採血から検体送付・検査機関受付までの所要日数）、検査（検査法の感度・特異度、陽性・陰性的中率等）、判定・報告（検体受付から判定報告までの所要日数）、精査受診（スクリーニング陽性判定から受診までの所要日数）、診断・治療（診断日齢、治療開始日齢）、長期フォローアップ（患者の予後）に関連するデータの収集と解析が必須である。アメリカでは Program Evaluation and Assessment Scheme (PEAS) 及び Newborn Screening Technical assistance and Evaluation Program (NewSTEPS) により州レベルのデータを全国レベルで評価できるシステムが ” Newborn Screening Saves Lives Act of 2008 ” (Newborn Screening Saves Lives Reauthorization Act of 2014 に改定) に基づき連邦政府の支援を受けて行われている。我が国ではシステムティックなデータ収集・解析を行っている自治体は極めて少ない。日本マス・スクリーニング学会技術部会が検査機関を対象として調査を行っているがボランティアのため全施設の協力が得られないという課題もある。

3) 検査法 -標準濾紙血液-

国際新生児スクリーニング学会は検査施設間測定値のハーモナイゼーションを図るため、NBS 対象疾患の濾紙血液リファレンス検体を作成して各国の外部精度管理機関や試薬メーカーへ提供しており、NBS 検査では標準濾紙血液を用いることが標準となっている。また、Region 4 Stork (R4S) プロジェクトに参加する TMS スクリーニング検査施設でも標準溶液または濾紙血液キャリブレーターを使用する施設が 50% 以上となっている。標準濾紙血液の有用性を検討した結果、標準物質を含む濾紙血液で作成した検量線から求めた測定値は従来法の安定同位体標識物質濃度から求めた測定値よりも新生児検体の中央値や 90 パーセンタイル値の施設間変動を低減できることが確認できた(図 1)。

4) R4S プロジェクト

R4S プロジェクトは TMS スクリーニングの大規模データベースを利用してデザインされた Post Analytical Interpretive Tools を用いることにより偽陽性率の低減と陽性的中率の改善を図ることが可能な、検査精度の向上のために構築されたシステムである。海外のタンデムマス・スクリーニングでは精度向上に有用な R4S プロジェクトの Post Analytical Interpretive Tools による解析が行われ偽陽性率の低減、患者、保因者、偽陽性の鑑別などの有効性が報告されている。我が国でも一部の検査機関が R4S に参加しているが、すべての検査施設が参加してアクティブなユーザーとなるには英語へのリテラシーの課題がある。さらに、採血は海外では生後 24 時間から 72 時間以内がほとんどであり、我が国の 96 時間から 144 時間採血と異なっていたため測定データの乖離も指摘されている。

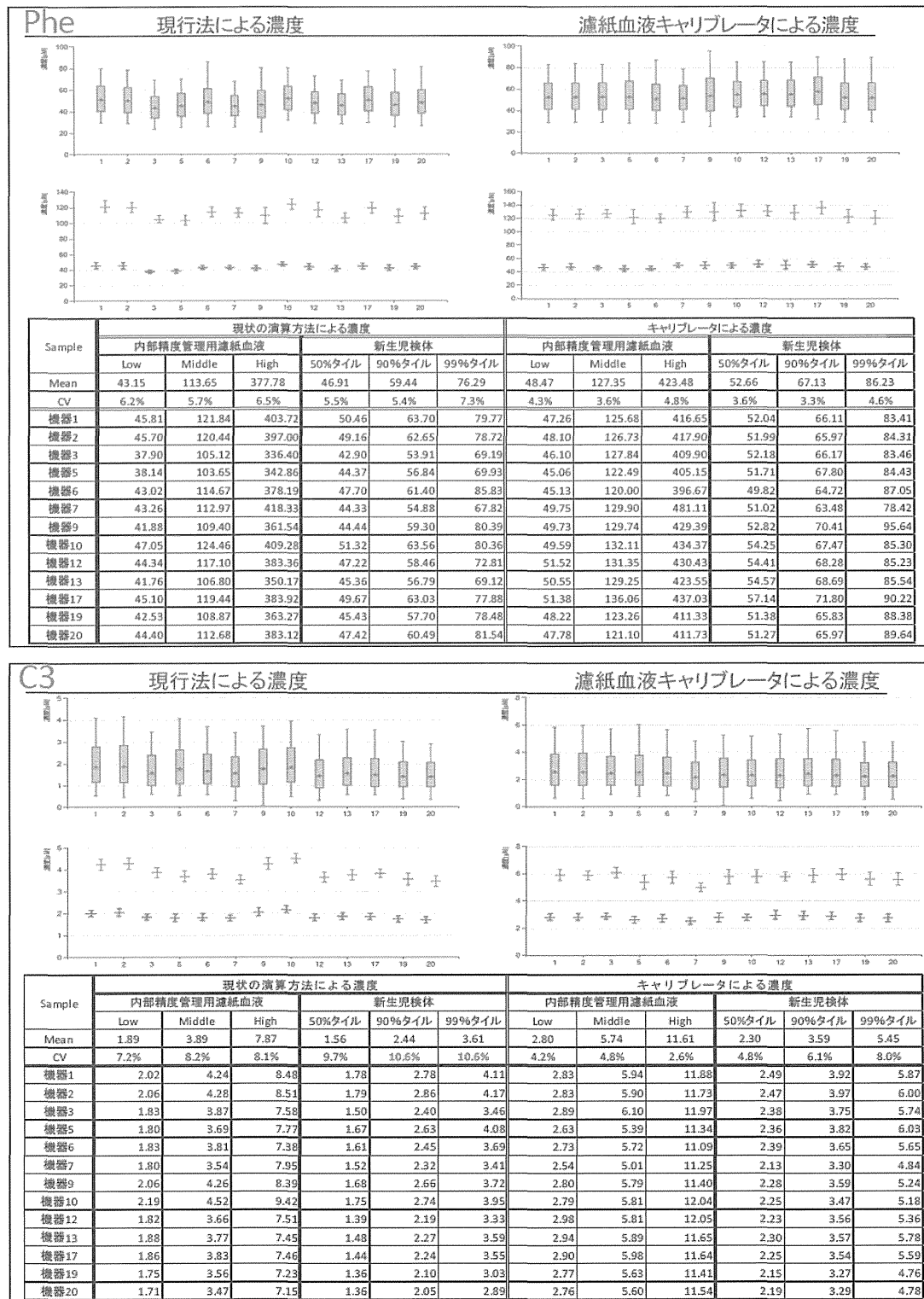
D. 考察

わが国でも全ての検査施設が NBS に要求される検査施設基準や検査実施基準をクリアし、外部機関による検証と認定を受けた検査施設が検査を受託できる体制を構築することで、全国どこで生まれても同じレベルの精度の高いスクリーニングを受けることが可能となる。

NBS システムの改善に必須となる採血から検査、報告、精査診断、長期フォローアップまで評価が適切に行われていない自治体が多いことから、自治体の実施すべきことを明確化し、そのデータの収集・解析方法と有効的な活用方法を示す必要がある。

TMS スクリーニングでは、測定値の検査施設間差の低減に標準濾紙血液を使用する測定法が有効であり、Region 4 S プロジェクトの手法を用いることにより検査結果の判定精度の向上が可能であることから、今後のさらなる検討が必要と考えられた。

図1 タンデムマス・スクリーニングにおける標準濾紙血液による測定値の施設間変動の低減



E. 結論

- 1) わが国のNBS検査施設基準を国際標準レベルと同等にするべきである。
- 2) NBSシステムの改善のため、自治体の実施すべきことを明確化し、データ収集・解析方法と適切な活用方法を標準化すべきである。

3) TMSスクリーニングでは検査精度の向上のため、標準濾紙血液を使用する測定法とR4SのPost Analytical Interpretive Toolsを用いて判定精度の向上が可能であり、日本版R4Sプログラムを構築して検査施設レベルでルーチン検査に利用できるようにすることが今後の課題である。

Ⅱ. 分担研究報告

3. 外部精度管理体制の確立に関する研究

分担研究者 原田正平（国立成育医療研究センター研究所
マスキング研究室長）

分担研究課題

外部精度管理体制の確立に関する研究

研究分担者 原田正平（独立行政法人国立成育医療研究センター
研究所マススクリーニング研究室長）

研究要旨

平成 26 年度中にタンデムマスを導入した新生児スクリーニング（TMS スクリーニング）が全国で実施されることとなったため、TMS を含んだ新しい新生児マススクリーニング精度管理体制の確立を図った。日本マススクリーニング学会精度管理システム委員会及び同学会技術部会とも連携して、平成 26 年度は技能試験（Proficiency testing:PT）検体 3 回、精度試験（Quality control:QC）検体 1 回を送付する体制を確立し、実行可能であった。従来と同じ仕組みである PT 検体の測定、判断において、記入の誤りによる見逃し、事務的な誤りが平成 25 年度以前に比し多発した。新しい手順の確認がおろそかになったものと考えられ、精度管理の重要性が改めて示された。QC 検体による精度管理は、仕組みとして問題なく実行されることが実証された。検査精度の評価を行い、平成 27 年度以降の改善につなげる予定である。

研究協力者

中島英規（独立行政法人国立成育医療研究センター
研究所マススクリーニング研究室・研究員）
鈴木恵美子（同上・非常勤研究員）
渡辺倫子（同上・非常勤研究員）

A. 研究目的

我が国の新生児マススクリーニング（以下、NBS）の精度管理は、昭和 52 年（1977 年）の先天代謝異常症 5 疾患の全国スクリーニング実施と同時に、当時の厚生省母子衛生課の支援を受けて公的なシステムとして開始された。開始当時は、Bacterial inhibition assay（BIA 法）という半定量法による NBS であり、現在の臨床検査等における精度管理が求める「測定精度」を問うものではなく、対象疾患患児の検体に相当する異常検体（カットオフ値を超えた測定対象物質濃度の検体）を、多くの正常検体の中から適切に検出できるかという方式が考案され、実施された。

その後、NBS 対象疾患に先天性甲状腺機能低下

症、先天性副腎過形成が加えられ、それぞれの測定対象物質の測定法が Enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA 法）と高感度化されても、精度管理の原理は同様であった。

この間、精度管理業務は、日本公衆衛生協会を窓口とする体制から始まり、幾度かの変遷を経た後、平成 16 年度からは再び窓口が同協会となり、平成 19 年度からは実務が、国立成育医療センター（現在は国立成育医療研究センター）内で行われてきた。

精度管理業務の経費負担は、当初の厚生省補助金（研究費）から実施母体である都道府県・指定都市の事業費及び国庫補助金となり、平成 16 年度以降は都道府県・指定都市の単独事業となって平成 25 年度に至った。

この間、新しい NBS として、タンデムマス・スクリーニング（以下、TMS）が平成 23 年度以降急速に全国展開されたことから、TMS の精度管理を含んだ新しい精度管理体制の確立が求められ、平成 26 年度以降、NPO 法人タンデムマス・スクリーニング普及協会（以下、TMS 普及協会）が窓口と

なった体制が開始された。

TMS では、測定に使用されるタンデム質量分析装置（以下、TMS 装置）、内部標準試薬がそれぞれ複数あるなど、従来の「対象疾患患児の検体に相当する異常検体（カットオフ値を超えた測定対象物質濃度の検体）を、多くの正常検体の中から適切に検出できるかという方式」だけでは、適切な精度管理が行えないと考えられたことから、海外で主流となっている「測定精度」もあわせて行う体制の確立を目的として研究を行った。

B. 研究方法

1) 精度管理方法

精度管理の実務は、独立行政法人国立成育医療研究センター研究所マスキリング研究室（以下、MS 研）が行うこととした。

日本マスキリング学会精度管理システム委員会及び同学会技術部会（以下、委員会等）の専門家と協議を行い、従来の「対象疾患患児の検体に相当する異常検体（カットオフ値を超えた測定対象物質濃度の検体）を、多くの正常検体の中から適切に検出できるかという方式」を技能試験（Proficiency testing: PT）、TMS の「測定精度」を問う方式を精度試験（Quality control: QC）とし、両者による新しい精度管理体制の確立を図ることとした。

2) PT 検体

PT 検体は、TMS 以外の対象疾患である先天性甲状腺機能低下症、先天性副腎過形成症及びガラクトース血症については、それぞれ甲状腺刺激ホルモン（TSH）、 17α 水酸化プロゲステロン（ 17α -OHP）、ガラクトースを含んだ血液を新生児マスキリング用の新型ろ紙（バーコード付き）に滴下して作成した。物質濃度は、各マスキリング指定検査機関で用いられているカットオフ値をやや超える濃度とした。

TMS 対象疾患に対する PT 検体は、対象疾患の発見頻度や物質の安定性、購入価格などから、平成

26 年度は C3、C5、C8、C5-OH、C5-DC、C14:1 とした。

対象物質を添加しない血液を新型ろ紙に滴下し、正常検体とした。

平成 26 年 6 月、9 月、27 年 2 月に全国 38 指定検査機関に正常・異常検体 10 枚 1 組として、一般新生児検体が採血医療機関から指定検査機関に送付されるのと同様な条件で、指定検査機関に対し送付した。

指定検査機関は、PT 検体受領後、一般新生児ろ紙血の測定と同時に、当該測定項目に適切な測定方法により各濃度をすみやかに測定し、それぞれの指定検査機関で定めたカットオフ値により「正常・異常」判定を行い、原則として PT 検体受領後 7 日以内に、測定結果、判定結果とともに検体受領日、測定開始日、最終判定日、返送日を、電子メールへのファイル添付等により、MS 研に報告するよう依頼した。

3) QC 検体

QC 検体は、対象疾患の検出に必要なアミノ酸、フリーカルニチン及びアシルカルニチン（以下、アミノ酸等）を含んだ溶液を、各化合物が十分低値となるよう洗浄等の前処置を行った保存血液（以下、無添加血液）に規定の濃度となるように添加、混和して、新型ろ紙に滴下し作成した。

規定の濃度は、委員会等との協議により、一般新生児、カットオフ値、対象疾患患児の血中濃度を参考として、低・中・高濃度をそれぞれの化合物について決定し、無添加血液とあわせて 4 濃度とした。

外部精度管理実施に必要なスポット数の QC 検体（4 濃度 1 組）を平成 27 年 1 月、冷凍状態が担保された輸送手段で指定検査機関に送付した。指定検査機関には、QC 検体受領後、ルーチンの TMS 検査に追加して同じ条件で測定する、一般新生児ろ紙血の前後に配置した二重測定とし、1 日 1 回測定で連続した 10 日間行うことを依頼した。

測定対象項目がアミノ酸 10 種類、アシルカルニチン 21 種類となり、その 4 濃度、計 20 測定分

(濃度データとして1施設2,480件)となるため、TMS 装置内蔵されたデータ出力機能を活用し、一定の様式に従った電子ファイルとして MS 研に送付を依頼した。

MS 研で新規開発した統計解析プログラムで集計、分析を行うこととした。

(倫理面への配慮)

本研究に用いた血液については、「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」に基づく公募において承認を受け、日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センターから譲渡(平成 27 年度からは購入)された血液材料を用いていることから、倫理面への配慮に問題はない。

また、一般新生児、対象疾患患児等の個人情報は取得していない。

C. 研究結果

1) PT 検体

(1) 返送日数

平成 26 年 6 月時は、返送日の記入を求めなかったため、検体受領後 7 日以内の返送が評価できなかった。そこで 9 月以降の検体については、最終判定日、返送日の記入を求めたところ、図 1 に示すごとく、大部分の検査機関が 7 日以内に返送可能であった。

検査機関内で決裁を要したり、検査回数が週に 2 回などの場合、返送に 8 日以上要した。

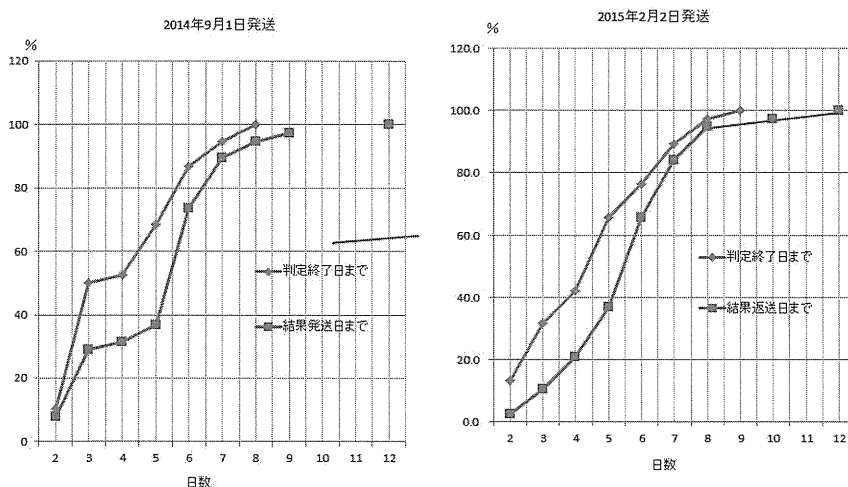


図1 PT検体受領からの日数

(2) 測定の誤りによる見逃し

測定の誤りによる見逃しはなかった。

(3) 記入の誤りによる見逃し

6 月 PT 検体において、フェニルアラニンの異常値は測定されていたにも関わらず、測定者 2 名のダブルチェックにもかかわらず、異常値として報告されなかった 1 機関があった。

同じく 6 月 PT 検体において、添加物質以外の

アミノ酸が当該施設のカットオフ値に近かったため、明らかな異常値を示した添加物質を報告しなかった 1 機関があった。

9 月 PT 検体では、アシルカルニチンの異常値を認識したにも関わらず、報告対象ではないと誤解して報告しなかった 1 機関があった。

(4) 事務的な誤り

正常検体の判定を報告用紙に「正常」と記入し

ない機関が、6月は10機関（20検体）、9月は2機関（3検体）、27年2月は2機関（4検体）あった。

2) QC 検体

測定結果返送にあたり、TMS 装置からの出力方法の習得、QC 試験検体の測定と出力を平成 26 年 12 月に行い、全指定検査機関で対応可能なことを確認した。

平成 27 年 1 月に本番用の QC 検体を、全指定検査機関に送付し、2 月末までに結果の返送を受けた。現在、統計解析プログラムで集計、分析中である。

D. 考察

平成 26 年 10 月に沖縄県で開始となったことで、TMS が全国で実施されることとなった。そのため、平成 26 年度より、TMS を含んだ新しい新生児マススクリーニング精度管理体制の確立を図った。

平成 25 年度までは、日本公衆衛生協会が窓口となり、精度管理業務は昭和 52 年以来、「対象疾患患児の検体に相当する異常検体（カットオフ値を超えた測定対象物質濃度の検体）を、多くの正常検体の中から適切に検出できるかという方式」だけで行われてきたが、TMS では機器や試薬が統一されていないため、「検査精度」も問うことが求められた。

日本マススクリーニング学会精度管理システム委員会及び同学会技術部会とも連携して、平成 26 年度は PT 検体 3 回、QC 検体 1 回を送付する体制を確立し、実行可能であった。

従来と同じ仕組みである PT 検体の測定、判断において、記入の誤りによる見逃し、事務的な誤りが平成 25 年度以前に比し多発した。

長年、精度管理への対応そのものが習慣的に行われ、新しい手順の確認がおろそかになったものと考えられ、精度管理の重要性が改めて示された。

新しい TMS に対する QC 検体による精度管理は、仕組みとして問題なく実行されることが実証さ

れた。現在、分析中の測定値などの解析により、新しく TMS を始めた機関での検査精度を評価できるものと期待される。

E. 結論

平成 26 年度からの TMS 全国実施に対応した、新しい精度管理体制を構築し、年に PT 検体 3 回、QC 検体 1 回送付が可能であることが実証された。

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) 小澤仁子、他；乾燥濾紙血液中の GAL および G1P への保存温度の影響に関する検討. 第 41 回日本マス・スクリーニング学会学術集会、広島市、平成 26 年 8 月
- 2) 原田正平、他：子どもの健康と環境に関する全国調査（エコチル調査）時に採取された乾燥血液ろ紙（ろ紙血）の品質及び標準的採血手順の周知に関する検討. 同上
- 3) 渡辺倫子、他：新しい外部精度管理検体による新生児マススクリーニング精度管理の報告. 同上

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究課題

外部精度管理体制の確立に関する研究

研究分担者 原田正平（独立行政法人国立成育医療研究センター
研究所マスキリーニング研究室長）

質量分析装置によるマスキリーニングの精度管理のための
精度試験用検体（QC 検体）作製及び測定後のデータ処理について

研究要旨

本邦における質量分析装置によるマスキリーニング（タンデムマス・スクリーニング：TMS）の精度管理に使用する精度試験用検体（Quality Control：QC 検体）作製のため、日本赤十字社より提供された濃厚赤血球、凍結血漿中のアミノ酸、アシルカルニチン量を低減する技術を構築した。処理後の赤血球および血漿に、測定対象のアミノ酸、アシルカルニチンを添加して、Base（無添加）、Low、Mid、Highの4濃度の乾燥ろ紙血を作成し、QC検体とした。全国の指定検査機関に対して、平成26年12月に練習用のQC検体、27年1月に本番用のQC検体を配布し測定を依頼した。

QC検体配布に先行して、多数の測定項目に伴う入力項目の省力化を図るため、どのメーカーの質量分析装置データ解析ソフトウェアにも共通して用意されている、csv形式ファイル出力機能を用いたデータエクスポートの仕組みを構築した。この仕組みを利用し、アシルカルニチン及びその内部標準物質を含む測定項目の、三連四重極型質量分析装置による測定強度と濃度計算値提出を依頼したところ、27年1月20日時点で、全国38検査機関のうち36機関から指定の様式で回答が得られた。今後、本番用QC検体の測定値の評価のため、分布、平均値との差や日内・日間変動といった併行精度・室内精度等を評価プログラムにより分析し、各施設に対して情報提供する予定である。また来年度は、国立成育医療研究センター情報管理部と共同で、Web baseのID・パスワードで管理された、セキュリティの高いデータ受領・精度管理情報提供サーバーの構築を進める予定である。

研究協力者

中島英規（国立成育医療研究センター研究所マスキリーニング研究室・研究員）

渡辺倫子（同上）

鈴木恵美子（同上）

常値検体の見逃しがないかに主眼点が置かれてきた。近年、質量分析装置によるマスキリーニング（TMS）が開始され、従来の外部精度管理の方式に加えて、精度試験用検体（Quality Control：QC 検体）を用いた、検査機関間の項目（測定対象化合物）ごとの測定値の分布、一機関における併行精度・室内精度等の評価が求められつつある。これまでは、米国疾病予防管理センター（Centers for Disease Control and Prevention：CDC）による外部精度管理システム

A. 研究目的

これまで本邦における新生児マスキリーニングの外部精度管理では、患者検体に相当する異

が、米国以外の検査機関により費用負担なく利用されてきた。日本国内の複数の検査機関も利用してきた経緯があるが、日本の検査機関全てが利用するとした場合、米国の連邦政府予算で行われているシステムであることに問題が生じる。

さらに、英語のインターフェースが難しいことに加え、情報提供が CDC から一方的に行われるため、検査機関の希望する情報が得られない、個々の検査機関の問題点が指導されない等の難点がある。更に TMS では測定対象化合物が多いことから、CDC への回答用紙の入力箇所が数百カ所に上り、入力に 1 日以上もかかってしまう事例があるなど、限られた人員で日常業務を行っている日本の検査機関担当者にとっては、継続的な参加が困難なシステムといえる。

そこで本研究では、日本独自の精度試験用検体 (Quality Control : QC 検体) の作製を行うと同時に、QC 検体測定後のデータ処理の迅速化、簡素化を図るため、日本で用いられている質量分析装置メーカーの、データ解析ソフトウェアに共通するファイル出力機能を用いた、csv 形式のデータ提出によるデータ入力の手間の低減と、将来的な Web 上のデータ授受システムへの対応の可否を検討した。

B. 研究方法

1) 血漿・血球処理法

QC 検体作成に用いる血液には、各測定対象化合物が様々な濃度で含まれているため、血漿については、チャコールカラム等による処理によって、各種の低分子化合物含量を低減させた。血球については、生理食塩水あるいはリン酸緩衝液含有生理食塩水で洗浄操作を繰り返し行い、アミノ酸、アシルカルニチン含有量を低減させた。

前処理後の血漿、血球を用いて Base (無添加) の QC 検体用血液を作製し、それにアミノ酸・アシルカルニチンを高濃度で調製したマスター溶液を添加し、ヘマトクリット値が最終的に 55% となるよう調製した上で、採血用ろ紙へ滴下して各

種濃度の QC 検体とした。

添加するアミノ酸・アシルカルニチンマスター溶液の濃度を変えることで、乾燥ろ紙血中のアミノ酸・アシルカルニチン濃度が、最終的に Low、Mid、High の 3 段階となるよう調製した。

2) データ授受及びデータ処理

(1) データ授受の実証実験

全国の検査機関に対しては、実際の QC 外部精度管理試験を確実に実行するため、本番の外部精度管理に向けて次の 3 段階でファイル出力等の試行を求めた。

①質量分析装置データ処理プログラムによる測定データファイルの出力法習得

②練習用検体受領とその測定及び出力データの返送

③Quality Control [外部精度管理試験実施]

(2) データ処理の効率化

データ処理サーバーの構築を株式会社スタージェンに依頼し、ハードウェアは国立成育医療研究センター情報管理部の管理下の、オペレータールームに設置した。

データ処理システムとして、併行精度、室内精度等の評価を目的とし、散布図および表、 \bar{X} - R 管理図、 Z -スコア等の表示が可能なプログラムを開発し、それが動作するサーバーの構築を行う。

(倫理面への配慮)

本研究においては、患者の個人情報などを取り扱わないため、特段の倫理的配慮は必要としない。

また、本研究で用いた血液材料は、「献血血液の研究開発等での使用に関する指針」に基づく公募において承認を受け、日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センターから譲渡 (来年度からは購入) されたものであり、倫理面で問題ないと判断された。

C. 研究結果

1) 血漿・血球処理法

テスト段階で数十 ml 程度の血漿・濃厚赤血球の処理では、理想的な測定値を示す QC 用乾燥ろ紙血を作成することができた。

しかし、多数検体作製のために、リットルオーダーまでスケールアップしたところ、溶血が起こる等のトラブルが生じた。

2) データ授受及びデータ処理

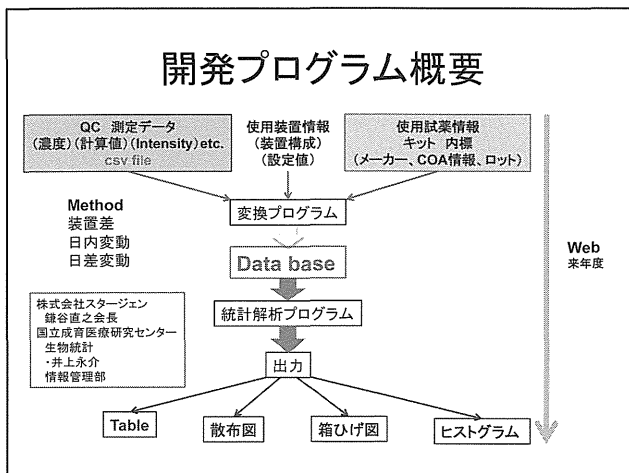
(1) データ授受の実証実験

平成 26 年 11 月 27 日に「①MS 装置データ処理プログラムによる測定データファイルの出力法習得」を検査機関に依頼し(12月10日締め切り)、「②練習用検体受領とその測定及び出力データの返送」については、12月8日に練習用検体を送付、12月26日締め切りとした。

平成 27 年 1 月 20 日時点で、出力データの返送は、全 38 機関中 36 機関が正しい形でのファイルで行うことが可能となった。残りの 2 機関については、質量分析装置およびソフトウェアメーカー側共同でサポート中である。

(2) データ処理の効率化

データ処理サーバー内の動作を図に示した。サーバー内では、検査機関より収集したデータが「変換プログラム」によってデータベースに蓄積され、次いで「統計解析プログラム」によって、散布図および表、 $X-R$ 管理図、 Z -スコア、ヒストグラム等の理解しやすい形式に「出力」される(図)。



各質量分析装置メーカーのソフトウェアより

出力されるファイルはおおよそ同様なレイアウトをとっているが、若干のデザインの相違がある。そのため、データベースへの測定データ取り込みをスムーズに行うため、質量分析装置メーカー各社デザインに対応した変換プログラムを作成した。

変換プログラムをスムーズに動作させるため、このファイル提出に先行して測定項目名略号の統一を各検査施設に依頼したが、施設側の様々な事情により変更・統一は困難であった。そのため、各施設から収集したデータを元に各施設が使用している測定項目略号をデータベースに蓄積させるためのプログラムを構築した。

本プログラムでは、検査施設より受領した csv file を直接読み込む形を目指しているが、各質量分析装置メーカーの csv 出力ファイル形式にデザインの違いが認められた。そこで、この違いに関しても、変換プログラムでうまくデータベースに取り込まれるようにした。

平成 27 年 1 月 20 日時点で、第 2 段階までに各検査施設より提出された csv file は取り込むことはできたが、練習用検体 1 日分の測定結果のみの受領であるため、このプログラムの最終動作確認は、本番として行われる QC 検体 10 日間連続測定結果の取り込みで検証する予定である。

現時点で、データベース上にダミーデータを置いた形で統計解析および出力プログラムをテストしたところ、CDC が提供している散布図や Table は出力できる状態までプログラムは完成した。今年度中には $X-R$ 管理図、 Z -スコア等の表示が可能になるので、検査施設、自治体へはこれらの情報を提供する予定である。

D. 考察

日本赤十字社より無償供与された血液を用いた QC 検体作製は、少量であれば定量性が担保されたが、大量を用いた場合、溶血などが生じた。来年度はより緩徐な条件で処理するなどして、効率よい QC 検体作製の検討を進める。

検査機関からは、質量分析装置データ処理プログラムによる測定データファイルの出力による各測定対象化合物（測定項目）の「濃度計算値（concentration: conc.）」と「シグナル強度（Intensity）」に加え、「装置構成情報」「使用している試薬或いはキットの情報」「質量分析装置の設定情報」などの情報を提供をうけた。

これら付随情報も入手することで、QC データがある施設で異常値を示したり、バラツキが大きかったりなどの問題点があった場合には、異常値の原因を絞ることも可能であると考えている。

E. 結論

平成 26 年度に開始された新しい精度管理体制の中で、QC 検体のデータ処理については、データベースでデータ授受を行うための変換プログラムを含む、データベース用サーバーおよび統計解析サーバーはほぼ構築された。今後指定検査機関とより連携を深めて、解析結果の報告様式に加え、インターフェースがより容易で検査施設担当者を煩わすことのない、Web base のサーバー・プログラムの構築を来年度は行う。

なお、精度管理用検体の作成に使用する添加物質については、トレーサビリティの取れた Certificated Reference Material (CRM) が用意されている物質（アミノ酸等）については、それらを標準物質とする。CRM が用意されていない物質（アシルカルニチン）については、日本薬局方でも認知され、トレーサビリティが取れると保証されている qNMR によって、純度検定された標準物質を用いて値付けし、情報提供する系を構築する予定である。

F. 健康危険情報

該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 中島英規, 前田堂子, 鈴木恵美子, 渡辺倫子, 小須賀基徑, 奥山虎之, 重松陽介, 原田正平: 二次検査応用に向けた LC-MS による疾患マーカー分子分離分析系確立. 第 41 回日本マス・スクリーニング学会学術集会、広島、2014 年 8 月
- 2) 中島英規, 石毛信之, 穴澤昭, 奥山虎之, 藤本純一郎, 重松陽介, 山口清次, 原田正平: タンデムマススクリーニングにおける second tier test の開発. 日本医用マススペクトル学会 第 39 回年会シンポジウム、千葉、2014 年 10 月
- 3) 中島英規, 原田正平, 石毛信之, 穴澤昭, 小須賀基徑, 藤本純一郎, 山口清次, 重松陽介, 奥山虎之: 新生児マススクリーニングにおける LC-MS による二次検査法開発. 第 56 回日本先天代謝異常学会総会/第 12 回アジア先天代謝異常症シンポジウム、宮城、2014 年 11 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

株式会社積水メディカルより本成果の一部を応用した新生児マススクリーニングキット “アミノ酸・アシルカルニチン測定用内部標準液セット” NeoSMAAT™” 2015 年 2 月より上市予定

分担研究課題

外部精度管理体制の確立に関する研究

研究分担者 原田正平 (独立行政法人国立成育医療研究センター
研究所マスキリーニング研究室長)

新しい外部精度管理のためのブラインド検体導入とその問題点

研究要旨

平成 26 年度からの、タンデムマス・スクリーニングに対応した、技能試験用検体 (Proficiency Test 検体: PT 検体) を用いた精度試験が年 3 回の実施予定となり、従来の外部精度管理検体送付回数の 4 分の 1 となることから、ブラインドサンプル (Blind Sample、BLS) を用いた外部精度管理を加えることで、送付回数の減少を補うことができるかについて検討を行った。平成 26 年度は全国 37 の検査機関のうち 10、自治体 3、連絡協議会他 2 及び地域医療機関と協力して検討を行った。平成 17 年度から今まで BLS を 180 検体送付し (異常 86、正常 94) 見逃しは平成 19 年度 1 件のみであるが、測定値の乖離、結果報告日までの日数、再採血時の電話連絡時の問題、採血についての問題点が見られた。また平成 26 年度に送付した TSH 含有 BLS の測定結果で、2 種類の検査試薬間に乖離が見られ、試薬の品質管理体制の再構築の必要性も示唆された。

研究協力者

鈴木恵美子、渡辺倫子、中島英規
(国立成育医療研究センター)

加えることで、送付回数の減少を補うことができるかについて検討を行った。

B. 研究方法

A. 研究目的

平成 26 年度に全ての自治体において、タンデムマス・スクリーニング (TMS) が導入されることになり、「新生児マススクリーニング事業の新しい精度管理体制」が構築され、従来の 6 疾患を対象とした外部精度管理システム (旧システム) とほぼ同様の仕組みで、19 疾患を対象とした技能試験用検体 (Proficiency Test 検体: PT 検体) を用いた精度試験が開始された。旧システムでは、外部精度管理検体は毎月 1 回、合計年 12 回送られていたのに対し、PT 検体は年 3 回送付することが予定されたことから、ブラインドサンプル (Blind Sample、BLS) を用いた外部精度管理を

一般新生児検体に似せて作製した血液ろ紙 (日本赤十字社からの血液供与により当施設で作製) に仮の母氏名等を記入して、BLS とした。BLS は従来の 6 疾患を検出するための、TSH、170HP、ガラクトース、フェニルアラニン、メチオニン、イソロイシンから 1 種類、対象指定検査施設のカットオフ値を超える濃度に調整して添加した「異常検体」と、無添加の「正常検体」を作製した。

この BLS を、協力医療機関から 1 年に 2 回不定期に、その地域の指定検査機関に送り、その施設のカットオフ値を基準として、「正常」「異常」判定を求めた。

それに加えて、測定値、結果報告までの日数、

検査機関と関係機関との連携状況の聞き取り等により、実際のスクリーニング状況の把握の参考とした。

C. 結果

1) 協力体制

平成 26 年度は、37 検査機関中 10 機関が自主的に参加した。TMS の開始に伴い、自治体が検査を別の検査機関に委託したため、平成 24 年度と比べ 3 機関減となった。逆に BLS 参加検査機関に新たに 1 自治体から委託があった。

地域の協力医療機関は 42 (医師 41 名) であった。自治体 3 か所と連絡協議会等 2 か所は自ら医療機関を選定し更新していた。

TMS 開始に伴い連絡協議会等が設置され、自治体や協議会の直接的関与が無い場合でも、実施結果を報告していた。BLS 参加の 10 検査機関で合計 21 自治体分、年間約 30 万人のスクリーニングを実施したことになる (表 1)。

2) 送付した BLS

平成 17 年 9 月から今までに 180 検体の BLS (異常 86、正常 94) を送付した。判定の誤りはなかった。

3) 第 29 回 BLS 検体送付結果 (図 1)

平成 26 年 7 月に TSH を加えた BLS を送付したところ、A 社試薬を用いた 7 検査機関では、異常と判定された。

一方、B 社試薬を用いた 3 検査機関では、検査機関のカットオフ値以下となる事態が生じたため、確認のため返送された BLS を当施設 (MS 研) で保管の BLS と共に測定した。

その結果、測定値が各検査機関で設定したカットオフ値より低値であったため、判定通り「異常なし」とした。3 検査機関に BLS を送付頂いた医療機関と検査機関には「正常という回答が正しい」旨を当方から電話で行い、判定の間違ひでは無いことを伝えた。その後、当方にて対応に多く

の時間を要し、文章による報告書提出が遅延した。

4) 検体受領から結果報告までの日数

BLS 異常検体においては、67%の検査機関から 5 日までに報告があった。外部精度管理検体では、5 日で 38%、7 日で 73%から報告があり、現行法と BLS では、差がみられた (図 2)。

5) 再採血の電話連絡時の問題

自治体との契約で、医療機関への再採血依頼を電話と書面にて行うことになっていた検査機関において、電話の内容が担当医に伝わらず、電話口で「それはブラインド」という説明がなされなかった。後日郵送された書類で、担当医が電話連絡が伝わらなかったことを確認した。医療機関は未熟児に対する再採血依頼の多い病院であった。

6) 採血の標準化への取り組み

届いた検体の採血状態が医療機関と異なっており、検査機関では BLS ではないかと疑った。

①A 県の場合 検査機関は、採血の標準化のため病院に採血の説明を行うと共に、正しい採血の方法の動画をホームページに掲載した。自治体は平成 26 年 2、3 月に全分娩施設に対して正しい採血のパンフレットを送付した。

②B 県の場合 検査機関は、病院に採血の説明をしたが、まだ十分な効果が得られていない。他病院で、採血の標準化のために、踵専用安全機能付きランセットを採用したところがあった。

D. 考察

参加可能な 10 検査機関施設では、合計 21 自治体 (30 万人) の検査を行っており、次回は、11 施設合計 22 自治体 (36 万人) の予定である。自治体、連絡協議会、コンサルタント医との連携が深まってきている。

TSH のカットオフ値は、検査機関毎に異なっており (7.5~12 μ U/ml)、外部精度管理の結果では、測定値のばらつきや、使用試薬により測定値

に乖離が見られること、試薬のロット差の存在が知られている。

第 29 回 BLS において、当施設での BLS 送付前とその後の測定値に差が見られた原因については、送付前に使用したロットと同じものが無く、新しいロットになったため、ロット差か測定間差によるものか特定できなかった。

平成 25 年度まで実施した試薬の品質管理を、新しい精度管理体制に組み入れることができないため、現在休止状態であるが、市場の試薬の動きを把握することは重要であり、試薬会社との連携を改めて検討中である。

BLS 送付にあたり、確実に異常になる検体を作製し、BLS を安全確実にを行うため実施要項の整備が必要である。

文書による報告が遅延した医療機関には、電話及び文書の説明報告を行うことで、誤解が生じないように努めた。

検体受付から結果報告までの日数は、外部精度管理の結果と BLS では差が見られた。平成 25 年度と比較すると平成 26 年度は改善されている。

再採血時の電話連絡が担当医に伝わらないことがある点については、再採血依頼が頻繁にある病院では、受け取る側の慣れの問題も考えられる。精密検査では、すぐに伝達されていたことを確認したが、連絡体制の確認を担当医と検査機関に依頼した。定期的な点検が必要である。

BLS の実施のために、検査機関は、自治体、連絡協議会、コンサルタント医師と連携を強化してきた。BLS 実施により明らかになった採血状態の改善のために、関係機関での連携が見られる。

E. 結論

外部精度管理としての BLS 導入は、精度が高く

効果的な方法の 1 つとして有用性が明かである。全国実施が最終目的であるが、自治体や検査機関のシステム整備、TMS スクリーニングの新しい精度管理システムが整備されるまではパイロットスタディにより、地域のシステムの再点検を実施し、現行の精度管理では把握できない問題点を明らかにし、スクリーニングの質的向上を継続的に図ってゆく。多くの検査機関、自治体の参加を期待したい。

謝辞

これまでに、ご協力頂いた検査施設の皆様、協力医療機関の先生方、医療機関の推薦・紹介をして頂いた先生方に感謝致します。

検査施設:

愛知県健康づくり振興事業団、秋田県健康環境センター、石川県予防医学協会、岩手県予防医学協会、大分市医師会立アルメイダ病院、化学及血清療法研究所、神奈川県予防医学協会、岐阜県公衆衛生検査センター、埼玉県立小児医療センター、さいたま市健康科学研究センター、島根県立中央病院、ちば県民保健予防財団、富山県衛生研究所、広島市医師会臨床検査センター、福島県保健衛生協会（現在は10施設にて実施）

協力医療機関:

42医療機関41名の先生方(ブラインドで実施のためお名前掲載は控えました)

医療機関の推薦と紹介:

猪股弘明先生、石原 理先生、小林 高先生、佐倉伸夫先生、山口清次先生（現在、協力医療機関の所属になっている先生のお名前掲載は控えました）

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

新しい外部精度管理システム（新システム）へのブラインド導入の検討 鈴木恵美子、渡辺倫子、中島英規、原田正平、第 41 回日本マス・スクリーニング学会学術集会 広島 平成 26 年 8 月 22～23 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 協力体制

体制 検査施設数10(全施設37)、自治体数21、年間出生時数30万人、協力医療機関42

検査施設	自治体数	新生児出生数/年	報告書提出先		協力医療機関の推薦者	その他
			検査施設&医療機関	自治体		
1	1	1万>	その都度		その他	次年度から、県の検討会と連携
2	1	1万>	その都度	2回/年	自治体	医療機関の採血状態不良。検査施設が標準的採血法ビデオを作成。自治体がタナテム開始前に医療機関に採血の手順書を送付
3	1	1万>	その都度		自治体	協議会にて報告
4	1	2万>	その都度	1回/年	自治体	協議会にて報告
5	2	2万>	その都度		産婦人科医会	協議会にて報告。自治体宛文書の要求は無
6	2	4万>	その都度		その他	協議会にて報告
7	3	4万>	その都度		その他	検査施設の判断で実施中。スクリーニング事業ではないため、協議会での報告は無
8	2	7万>	その都度		連絡協議会	協議会にて報告
9	2	7万>	その都度		その他	自治体、県の精度管理委員会と連携。委員会にて報告
10	6	7万>	その都度		その他	2つの自治体から、申込書兼同意書の使用の承諾を得て実施。

30万人

H25年度までにBLS参加施設が3施設減。自治体のスクリーニングが別施設に委託、1自治体はBLS実施施設に委託された。その他2施設が施設の事情にて休止中

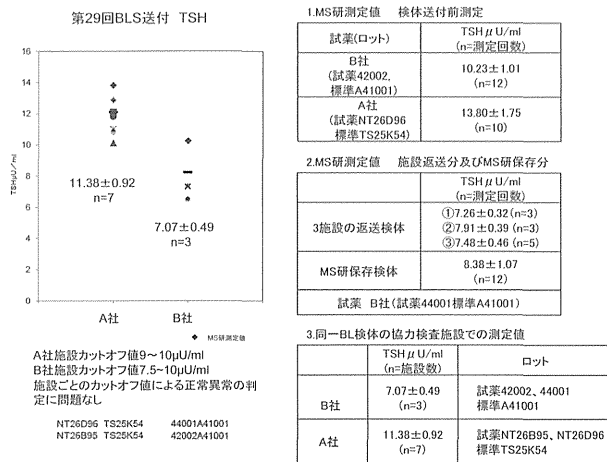


図 1. 第 29 回 BLS 送付 TSH

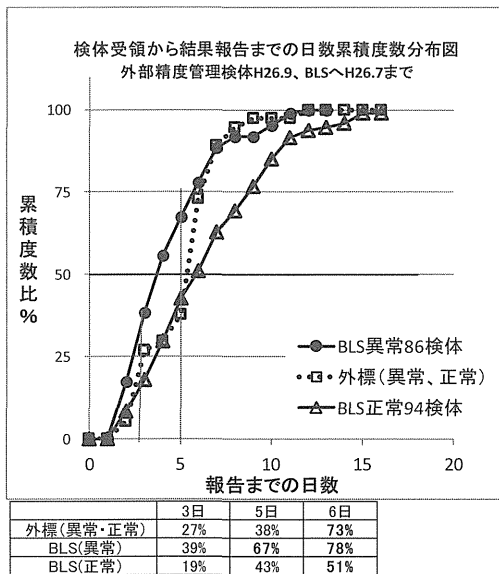


図 2. 検体受領から結果報告までの日数

Ⅱ. 分担研究報告

4. 次世代のマススクリーニングの在り方に関する研究

分担研究者 松原洋一（国立成育医療研究センター研究所長）

分担研究課題

次世代のマススクリーニングの在り方に関する研究

研究分担者 松原洋一（国立成育医療研究センター 研究所長）

研究要旨

新生児マススクリーニングの対象疾患の拡大にあたり、遺伝子解析および次世代遺伝子解析装置を用いたスクリーニングについて検討を行った。今後の課題は、対象疾患の選定、手法、精度、費用、検出感度／陽性率、倫理的諸問題、遺伝カウンセリングなどと考えられる。

研究協力者

呉 繁夫（東北大学大学院医学系研究科・教授）

（倫理面への配慮）

本研究は、実際に患者情報を扱ったり、新たな遺伝子解析を実施しないため、特段の倫理面への配慮は不要と考えられた。

A. 研究目的

時代とともに開発される新しい技術を取り入れ、小児の障害予防の対象疾患を拡大していくことは、新生児マススクリーニング（NBS）に課せられた重要な使命の一つである。1960 年代に枯草菌を用いたフェニルケトン尿症のスクリーニングから始まった NBS は、その後甲状腺機能低下症、メープルシロップ尿症、ガラクトース血症などにも応用されるようになった。1990 年代に導入されたタンデムマススペクトロメトリー（TMS）は、各種のアミノ酸とアシルカルニチンを網羅的に分析することによりスクリーニング対象疾患の数を一気に拡大することになった。このことによって、多くの脂肪酸代謝異常症や有機酸代謝異常症の発症を未然に防止することができるようになった。

本分担研究は、近年技術革新が著しい遺伝子解析の手法を中心に、NBS への応用の可能性を検討することが目的である。

B. 研究方法

国内外の新しいマススクリーニング法や網羅的遺伝子解析法に関する情報、また検討すべき新しい対象疾患についての情報を、文献、関連研究者および関連学会を通じて収集し、分析を行った。

C. 研究結果

1) 新生児マススクリーニング対象疾患の満たすべき要件と制約

研究代表者の山口清次によれば、マススクリーニング対象疾患の満たすべき要件は以下のとおりである（参考文献：厚生労働科学研究（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）「タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究」研究班作成、新しい新生児マススクリーニング：タンデムマス Q&A 2012、平成 24 年 3 月発行）。

- ①発症する前に見つかる病気
- ②放置すると重大な障害を起こす病気
- ③治療法のある病気
- ④赤ちゃんに負担にならない検査
- ⑤精度の高い検査
- ⑥安価な検査費用
- ⑦好ましい費用対効果
- ⑧発見された時の適切な医療機関

上記のうち、技術革新とともに変化する⑤、⑥、⑦をひとまず除外して考えると、①～④および⑧の要件を満たす疾患は、現行の先天性代謝異常症や内分泌疾患に限らず多くの遺伝性疾患が該当