

分担研究課題

マスキ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)

研究要旨

タンデムマス・スクリーニングが全国の自治体で事業化されて間もない状況であり、検査施設の検査精度はまだ充分ではない。日本マスキング学会技術部会が開発した「内部精度管理ツール」を用いて行われた調査では、カットオフ値の設定が適切でなく再採血率の高い検査施設もみられた。スクリーニングで発見された患者調査においては、患者情報が不十分であるため適切なカットオフ値の検討に利用出来ない事例もみられた。本研究で新たなスクリーニング指標が追加でき、再採血率を最小化し診断精度を高めるための二次検査法も開発できた。さらに倫理面に配慮した患者情報の収集に取り組み、検査施設から収集したデータと対応させてカットオフ値を再検討し、二次検査法の導入を進めていくことで、全国の検査施設においてスクリーニング精度を保証していくことが可能であると考えられた。

研究協力者

中島英規 (国立成育医療研究センター・研究員)

花井潤師 (札幌市衛生研究所・課長)

石毛信之 (東京都予防医学協会・主査)

福士 勝 (札幌 IDL・所長)

田崎隆二 (化学及血清療法研究所・検査係長)

畑 郁江 (福井大学医学部小児科・講師)

る情報を収集する一方、それらの検査施設で有効利用出来るスクリーニング精度保証技術を開発することを目的とした。

B . 研究方法

研究協力者と以下の点について調査、及び分析法の開発を行った。調査にあたっては、可能な限り発見患者の個人情報収集しないように配慮した。

1) 査施設の分析方法と検査値、及びスクリーニング精度の調査

花井らの報告書「平成 25 年度タンデムマス検査実施状況調査報告について - 内部精度管理の充実に向けた取組み - 」に詳述

2) 検査施設のスクリーニング実績とカットオフ値に関連づけた発見患者データの調査

石毛らの報告書「タンデムマス・スクリーニング発見患者調査について」に詳述

3) 新しいスクリーニング指標の開発 (重松担当)
これまでのスクリーニング指標では発見が困難であった患者のデータを基に、適切なスクリー

A . 研究目的

タンデム型質量分析を用いた拡大新生児マスキング (TMS スクリーニング) が全国の自治体事業として実施される一方で、新規参入検査施設の分析技術や対象疾患を理解した対応については、試験研究を担った先行検査施設や日本マスキング学会技術者部会 (学会技術者部会と略) からの支援が必要な状況である。特に検査精度の保証に関して、学会技術者部会や成育医療研究センター・マスキング研究室 (成育 MS 研) が中心となって取り組みが続けられている。研究分担者は、これらの組織の協力を得て、全国の検査施設の分析技術や精度管理に関す

ニング指標を開発し、有用性をシミュレーションした。

4) LC-MS/MS 法による二次検査法の開発(中島、重松担当)

偽陽性率の高い対象疾患を対象に、初回濾紙血を用いることにより対象疾患の化学診断情報が得られる二次検査法として、新開発の LC カラムを用いて分析条件を検討し、患者検体を用いて有用性を確認した。

C. 研究結果

1) 検査施設の分析方法と検査値、及びスクリーニング精度の調査

学会技術者部会が中心となって開発した「内部精度管理ツール」を用いて全国の 41 検査施設のうち 34 施設からデータを回収した。結果の詳細は該当報告書を参照されたい。重要な点としては、“いくつかの指標において、カットオフ値の設定が適正でない施設やばらつきの多い施設が複数存在”していたこと、“再採血率や総精査率が高い施設が散見”されたことであり、当該報告書では“適性”と記述されている平均的な再採血率も“家族の不安”を最小にするという点では不当に高率であった。

2) 検査施設のスクリーニング実績とカットオフ値に関連づけた発見患者データの調査

全国の 41 検査施設のうち 34 施設からデータを回収した。2012 年度と 2013 年度に 1,337,911 名の新生児を検査して 129 例の患者が発見されていた。ただ、確定診断の根拠については確実性が不足している施設もあった。患者や偽陽性例の初回濾紙血分析データを用いたカットオフ値の検討も行われたが、必ずしも適切なカットオフ値となっていない場合がみられた。

3) 新しいスクリーニング指標の開発

カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT-2) 欠損症

厚生労働省母子保健課長通知(雇児母発 0331 第 1 号「先天性代謝異常の新しい検査法(タンデ

ムマス法)について)」で 1 次対象疾患に含められなかった CPT-2 欠損症の乳幼児期突然死例が無視出来ない程度に学会などで報告されている。また、スクリーニング指標が適切でなかったため偽陰性となり後に急性脳症で急性発症した患者も経験した。これらのデータを収集し、偽陽性率を勘案した上で適切なスクリーニング指標として、(C16+C18:1)/C2 を開発し、福井大学の分析値を用いたカットオフ値も設定した。広島県でのスクリーニングでこの指標の精度が検証された³⁾。

メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症

ビタミン B12 反応型メチルマロン酸の見逃し例や B12 欠乏症例のデータを収集し、濾紙血中メチルマロン酸・3 ヒドロキシプロピオン酸濃度測定と組み合わせたスクリーニング指標とカットオフ値を開発した。軽症例を見逃さないためにはプロピオニルカルニチン(C3)のカットオフ値を出来るだけ低くし、また二次性カルニチン欠乏状態などによる C3 の低下をカバーするためにアセチルカルニチン(C2)との比 C3/C2 のカットオフ値も活用する必要があることが判明した。また、ホモシスチン尿症を伴う B12 反応型メチルマロン酸血症については、C3/メチオニン比が鋭敏な指標となることを示した⁵⁾。

4) LC-MS/MS 法による二次検査法の開発

分析方法と分析対象物の詳細については、研究協力者中島の報告書を参照されたい。患者検体を含む分析により、以下の対象疾患について LC-MS/MS 法による二次検査法を確立出来た。

メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症(図 1)

分析サンプル調整条件の検討を行い、GC/MS 法と同等の高い精度で濾紙血サンプル分析が可能であることを確認した。

グルタル酸血症 型(GA-1)(図 2)

新生児期の 3-ヒドロキシグルタル酸とグルタル酸の濃度を同時に高感度で測定出来る分析条件を決定した。患者の化学診断が可能であった。

メープルシロップ尿症(図 3)

アロイソロイシンを精度よく定量出来た。患者の化学診断が可能であった。

イソ吉草酸血症（図4）

抗生剤投与で増加するピバロイルカルニチンとイソバレリツカルニチンなどの異性体との分別定量が可能であった。

D. 考察

学会技術者部会が中心となって取り組んだ今回の調査により、全国の検査施設の検査体制には不十分な点が多々あることが判明した。これまで指摘されてきたとおり、使用されている分析機器や試薬、サンプル調製法が各施設で同一でないこともあり、施設毎に分析値がばらつくという現実がある。また、それぞれの施設の分析担当者が学会技術者部会主導の十分な研修とトレーニングを経て、本スクリーニング事業が開始されたわけではないという事情もある。

このような状況においては、権威ある精度保証機関が、調査情報を共有しつつ教育的な取り組みを行う必要があると考えられる。

この点で、学会技術者部会が開発した「内部精度管理ツール」は各検査施設での内部精度管理ツールとしても極めて有用である。今後とも全国全ての検査施設で使用され、また、精度管理センターとしての育成 MS 研での管理ツールとしても有効活用されるべきである。

また、各検査施設で採用されているスクリーニング指標とカットオフ値については、上記ツールでのデータを基礎とし、患者データの更なる収集を進め、適切で精度の高いものとする必要がある。また、患者の重症度によっても指標値の値が変化し、軽症型患者ではカットオフ値に近い値をとるのが一般的である。このため、患者の確定診断に関する情報が必要であるが、検査施設への情報収集だけではこのような情報を得るのは困難である。このように、倫理面での配慮を行いながら、患者情報を収集する研究体制にする必要性も明らかとなったので、次年度の研究に活かしたい。

今回の調査の回収率が必ずしも十分ではなかった一方、検査施設の担当者に積極的に検査の質

の向上へ取り組もうとする姿勢の感じられる調査でもあった。今回開発した新たなスクリーニング指標や二次検査法をこのような検査施設に導入してもらえる体制作りも必要であると考えられた。

E. 結論

TMS スクリーニングが全国の自治体で事業化されたばかりの状況では、いまだ検査体制や精度に不十分な点が多々ある。学会技術者部会やマススクリーニング研究室を中心とした調査及び支援活動を行うことによってスクリーニング精度を保証していくことが必要であり、本研究事業では倫理面に配慮して患者データを収集し患者データに基づいたスクリーニング指標やカットオフ値の開発を更に深化させていくことも重要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 重松陽介：血清および尿のアシルカルニチン分析．小児内科．46(4)；506-509，2014．
- 2) Hayashi H, Tokuriki S, Okuno T, Shigematsu Y, Yasushi A, Matsuyama G, Sawada K, Ohshima Y：Biotin and carnitine deficiency due to hypoallergenic formula nutrition in infants with milk allergy. *Pediatr Int.* 56(2)；286-288，2014．
- 3) 原圭一、但馬剛、小野浩明、津村弥来、岡田賢、佐倉伸夫、畑郁江、重松陽介：CPT II 欠損症の新生児スクリーニング．見逃し例経験後の指標変更の影響．*日本マス・スクリーニング学会誌*．24(3)；261-266，2014．
- 4) 林泰平、岩井和之、津田英夫、重松陽介：母親の慢性萎縮性胃炎が原因となったビタミン B12 欠

乏症の乳児例．日本小児科学会雑誌．(印刷中)

5) 重松陽介，畑 郁江，林 泰平，小野浩明，但馬 剛：二次検査法と組み合わせる実施するメチルマロン酸血症・プロピオン酸血症のタンデムマス・スクリーニング指標の検討．日本マス・スクリーニング学会誌．24(1);49-56，2014．

6) 畑 郁江，重松陽介：新生児期に特徴的なけいれん性疾患．先天代謝異常症．小児科．55(8);1175-1182，2014．

7) 重松陽介，畑 郁江：ピンポイント小児医療 タンデムマス・スクリーニングの二次検査 血清および尿のアシルカルニチン分析．小児内科．46(4);506-509，2014．

8) 小野浩明，但馬 剛，重松陽介，畑 郁江，原圭一，佐倉伸夫，吉井千代子，森岡千代美，阪本直美：新生児タンデムマス・スクリーニングで陽性とならず、1歳時ノロウイルス感染を契機に発症したビタミンB12反応性メチルマロン酸血症の1例．日本マス・スクリーニング学会誌．24(1);43-47，2014．

9) 西山将広，田中 司，藤田杏子，丸山あずさ，永瀬裕朗，竹田洋樹，上谷良行，重松陽介：ピボキシル基含有抗菌薬3日間投与によるカルニチン欠乏が関与した急性脳症の1例．日本小児科学会雑誌．118(5);812-818，2014．

2．学会発表

1) 稲岡一考，藤田 宏，中村しのぶ，竹島清美，笠原敏喜，竹内 真，和田芳直，小椋哲雄，藤峰慶徳，関根和人，原田正平，重松陽介：LC/MS/MSを用いた先天性副腎過形成症スクリーニングの確認検査．第39回医用マススペクトル学会．千葉市．2014.10．

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．タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの現状と課題 タンデムマススクリーニングにおけるsecond tier testの開発．第39回医用マススペクトル学会．千葉市．2014.10．

3) 重松陽介，畑郁江：タンデムマスを導入した新生児マススクリーニングの現状と課題 タンデムマス・スクリーニングの診断精度の向上．第39回医用マススペクトル学会．千葉市．2014.10．

4) 重松陽介：小児の疾患とカルニチン．第51回日本小児アレルギー学会．四日市市．2014.11．

5) 田代恭子，石井宏美，木下幸恵，鈴谷由吏，柳内千尋，井上かおり，稲場美佐，青木久美子，但馬 剛，依藤 亨，重松陽介，猪口 隆洋，松石豊次郎，渡邊順子．当施設で診断した軽症型プロピオン酸血症7症例の検討．第41回日本マス・スクリーニング学会．広島市．2014.8．

6) 畑 郁江，西島節子，石上 毅，但馬 剛，重松陽介：タンデムマス・スクリーニングで発見されたイソ吉草酸血症女児の臨床経過．第41回日本マス・スクリーニング学会．広島市．2014.8．

7) 中島英規，前田堂子，鈴木恵美子，渡辺倫子，小須賀基通，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．広島市．2014.8．

8) 重松陽介，畑 郁江：アシルカルニチンプロフィールを参照した脂肪酸酸化異常症スクリーニング陽性判定の重要性．第41回日本マス・スクリーニング学会．広島市．2014.8．

9) 但馬 剛，津村弥来，香川礼子，岡田 賢，原圭一，松本裕子，栴田紗季，森岡千代美，吉井千代子，佐倉伸夫，畑 郁江，重松 陽介：タンデムマス新生児スクリーニング in 広島 自治体事業化後の現状．第41回日本マス・スクリーニング学会．広島市．2014.8．

10) 藤澤大輔，中村公俊，三淵浩，大浦敏博，重松陽介，依藤亨，笠原群生，堀川玲子，遠藤文夫：日本における有機酸血症の臨床的特徴と管理の現状．第117回日本小児科学会学術集会．名古屋市．2014.4．

11) 重松陽介：タンデムマス・スクリーニング全国導入の現状と早期診断・治療への期待．第56回日本先天代謝異常学会．仙台市．2014.11．

12) 石毛信之、渡辺和宏、長谷川智美、世良保美、石毛美夏、大和田操、北川照男：東京都の Tandem マス・スクリーニングにおけるイソ吉草酸家偽陽性例について .第 56 回日本先天代謝異常学会 . 仙台市 . 2014.11.

13) 中島英規、原田正平、石毛信之、穴澤昭、小須賀基通、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 . 仙台市 . 2014.11.

14) 原圭一、但馬剛、小野浩明、岡田賢、佐倉伸夫、畑郁江、重松陽介：日本人初と考えられるメチルマロン酸血症 cbID 型の 1 歳男児 . 第 56 回日本先天代謝異常学会 . 仙台市 . 2014.11.

H . 知的財産権の出願・登録状況

- 1 . 特許取得 なし
- 2 . 実用新案登録 なし
- 3 . その他 なし

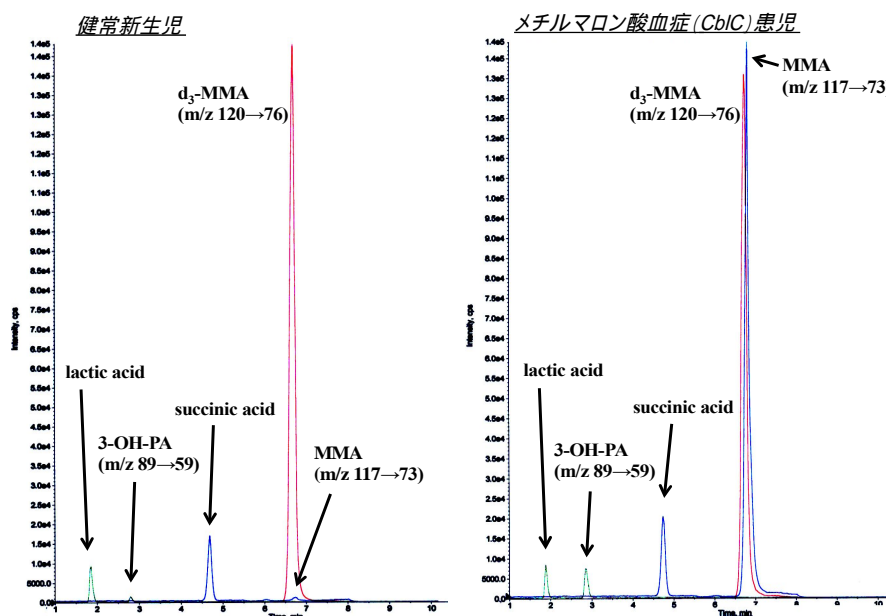


図1 LC-MS/MS (MRM) による濾紙血メチルマロン酸(MMA)と3-ヒドロキシプロピオン酸(3-OH-PA)の測定

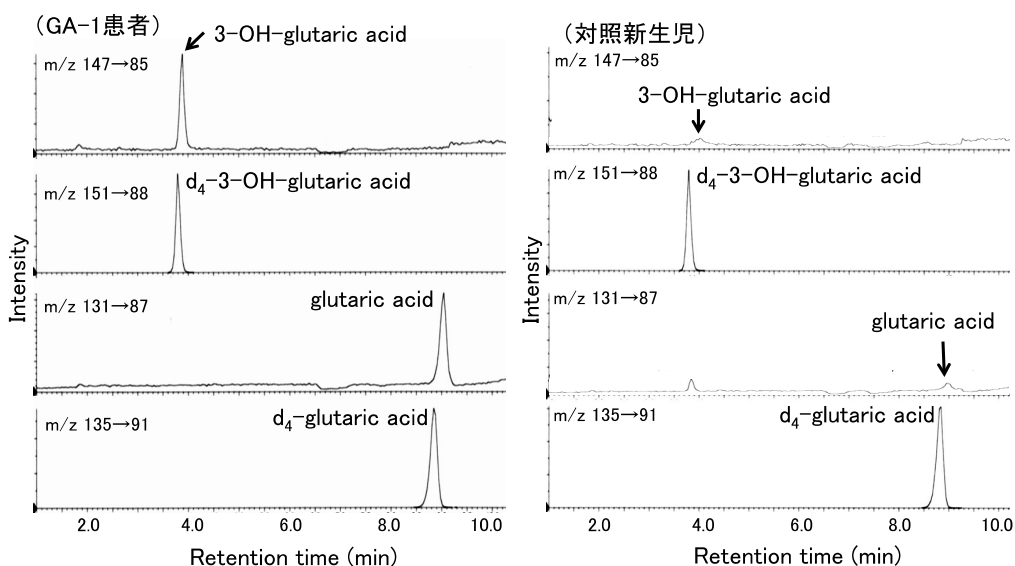


図2 GA-1患者のLC-MS/MS (MRM分析)による化学診断(濾紙血)

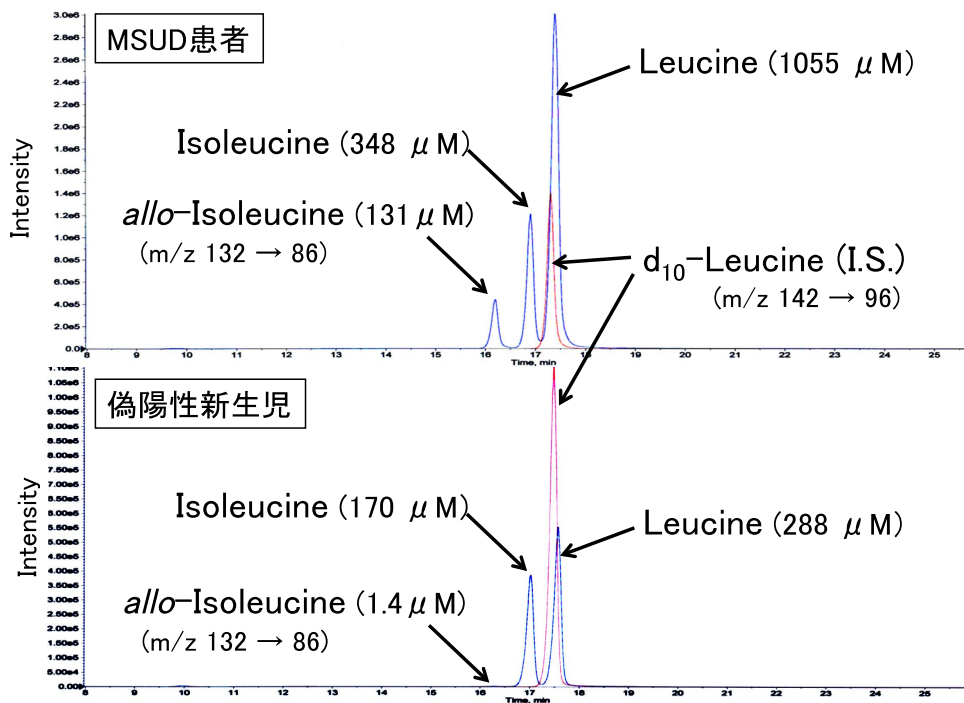


図3: MSUD患者のLC-MS/MS (MRM分析)による化学診断(濾紙血)

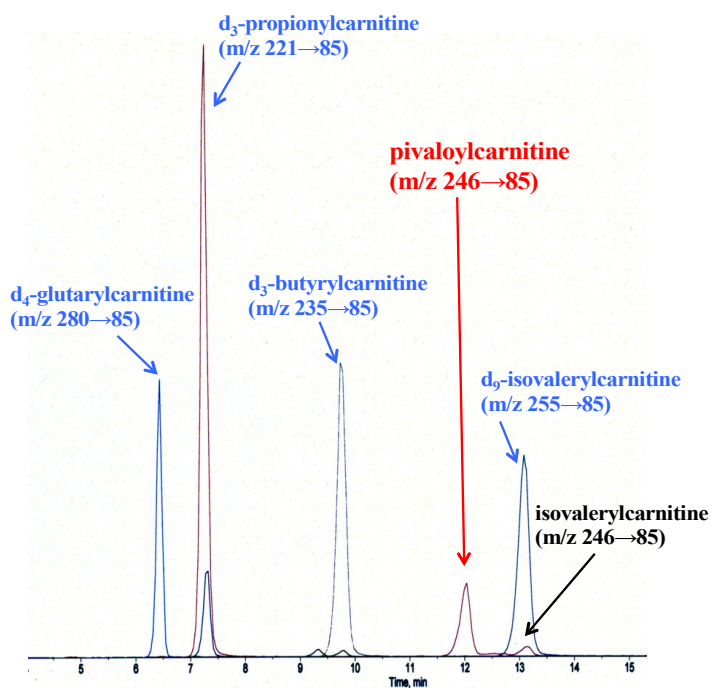


図4: LC-MS/MS (MRM分析) による抗生剤投与新生児濾紙血アシルカルニチン測定