

図 2. ログイン画面



図 3. 解析結果メイン画面

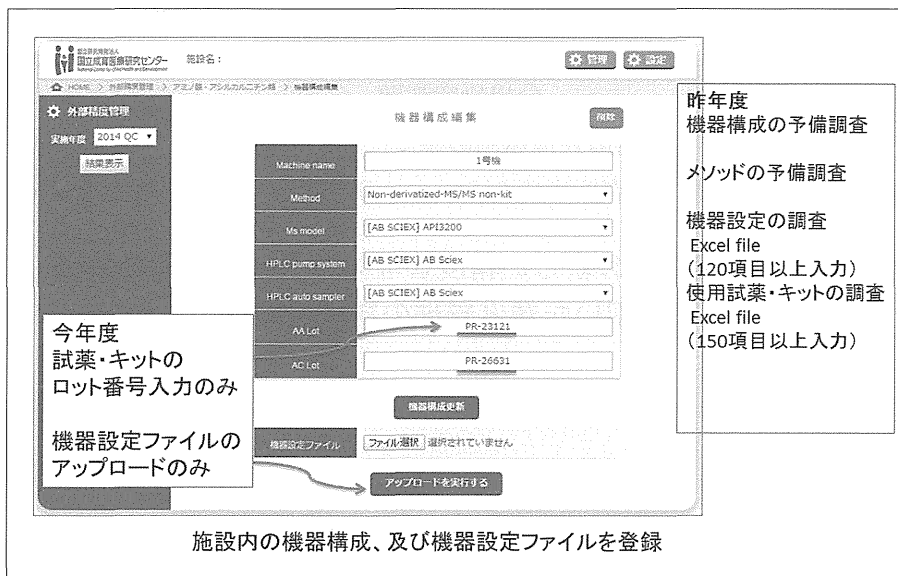


図 4. 機器構成設定画面

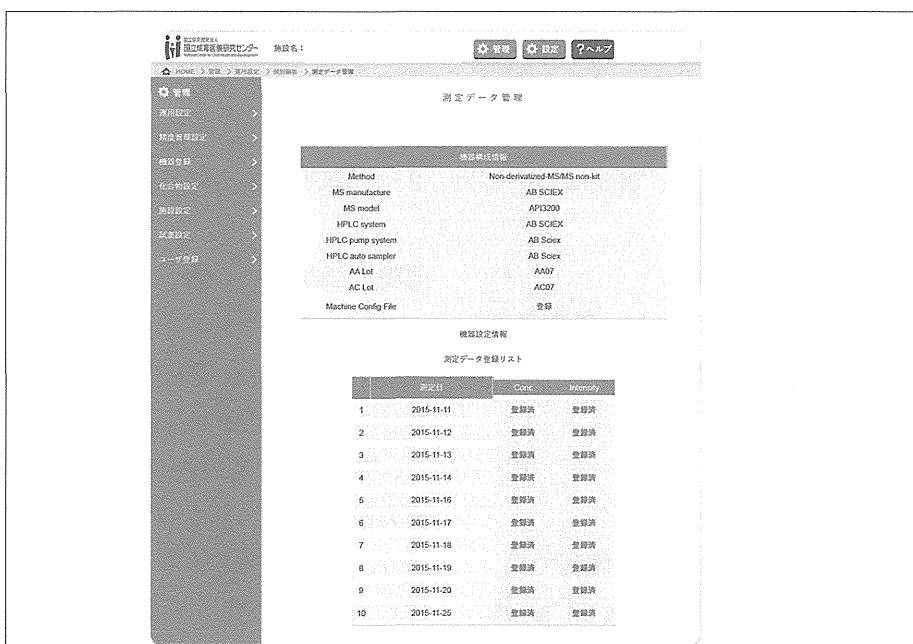


図 5. 機器構成・試薬キットロット・測定結果ファイル登録済み画面

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（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）

平成 26 年度よりの新しい精度管理体制を補完するための
ブラインドを用いた精度管理の持続可能性について

研究協力者 鈴木恵美子（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）

研究要旨

2014 年度から、タンデムマス・スクリーニングに対応した新しい外部精度管理が開始され、その実施回数は旧システムの 4 分の 1 となった。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、新しい体制の補完が可能かまた持続が可能かについて検討した。地域スクリーニングシステムの現状把握を行ったスタディの成果をまとめ、手順書の見直しを行い、BLS を用いた精度管理の持続可能性について検査機関に調査を行った。2015 年度は全国 37 の検査機関のうち 11、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。2015 年度から今まで BLS を 202 検体送付し（異常 97、正常 105）今年度見逃しはない。2014 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た。2015 年度からは、BLS については、2 つの試薬会社から測定の協力を得ている。

研究協力者

渡辺倫子（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）

中島英規（同上）

成時に添加していた、タンデムマス・スクリーニング普及以前の 6 対象疾患を検出するための物質（TSH, 170HP, Gal, Phe, Met, Leu）を、検査機関のカットオフ値を超える濃度に調整した「異常検体」と、無添加の「正常検体」を作製した。それらを、協力医療機関から 1 年に 2 回不定期にその地域に送り、検査機関のカットオフ値を基準として「正常」「異常」の判定を求めた。

この場合、設定した「異常」値は、再採血となることはあっても、直接精査にならない程度となるよう、各地のカットオフ値にあわせて決定した。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。

スタディへの参加は、検査機関の自由意志であり、現行の精度管理とは切り離して実施した。今年度は、TSH がやや高値の検体を作製し、コンサルト医師との連携を強め現場に負担がないよう実施した。

A. 研究目的

2014 年度からの新しい外部精度管理体制では、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、2013 年度までの旧システムでは、年 12 回精度管理検体を送付していたのに対し、PT 検体の送付回数は年 3 回となった。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、また、その持続可能性について検討した。

B. 研究方法

BLS としては、2013 年度までの精度管理検体作

C. 結果

1. 協力体制（表1）

連携が強化されている。協力医療機関は、のべ50施設であり、出生数の少ない4つの自治体では、自治体内の医療機関の1～2割が参加したことになる。

表1. 協力体制

協力体制	
①BLS参加施設数	<ul style="list-style-type: none"> 平成26年度・11(スクリーニングが別施設に委託) (全施設37)(施設の事情により1施設休み) 11施設で22自治体、約36万人スクリーニングを実施
②BLS送付の協力医療機関	<ul style="list-style-type: none"> 50施設(平成27年度) 3つの自治体が、毎年2名の協力医療機関を推薦 出生数の少ない4つの自治体では、採血医療機関の数も少なく、全体の1～2割が参加していることになる。
③コンサルタント医師との連携	<ul style="list-style-type: none"> 協力医療機関の推薦、BLS実施の相談と協力
④連絡協議会など	<ul style="list-style-type: none"> ほとんどで協議会が設置された。

2. 検査精度の確認 BLSの送付（図1）

2005年9月から今までに202検体のBLS（異常97、正常105）を送付した。

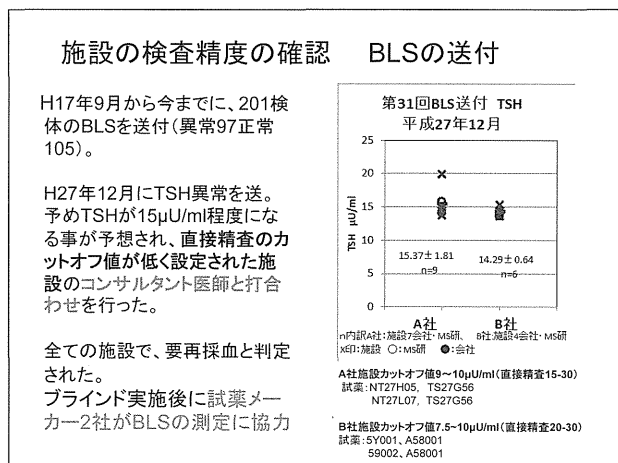


図1 施設の検査精度の確認

今年度は、TSHを添加したBLSを送付した。予めTSH測定値が15 μ U/ml程度になる事が予想され、直接精査のカットオフ値が低く設定された検査機関のコンサルタント医師と相談し、直接精査の相談があった場合にその場でBLSと告げて対応するようにした。検査機関11において、すべて

要再採血と判定された。今回の検体では、試薬間の測定値差は見られなかった。2015年度からは、2つの試薬会社も測定し情報を共有することになった。

3. 検体受領から結果報告までの日数

検査機関での報告までの日数が7日までの割合は、BLS異常検体が90%、BLS正常検体が61%、外部精度管理は、97%であった。

4. パイロットスタディ参加協力者の意見（表2）

ブラインド開始の説明時、結果報告時等に聞き取りした。関連機関での意識の高まりがある。

表2. 参加協力者の意見

パイロットスタディ参加 コンサルタント医師 自治体のご意見	
自治体	<p>①仮にブラインドで問題があった場合、実際の新生児に同様な過誤が起こらないようにシステムを再構築するために参加します。</p> <p>②協力医療機関の推薦は、自治体が行うので、自治体宛の報告書を提出願います。</p> <p>③施設がブラインドに参加するのは問題ないが、パイロットスタディの期間は、自治体宛の報告書は不要です。</p>
コンサルタント医師・協力医療機関	<p>①しばらくは、私が、協力医療機関を推薦します。自治体へは、時期を見て相談します。</p> <p>②私の属する自治体では、検査を他の自治体に在る検査施設に委託したので、その検査施設に対するパイロットスタディへの協力を希望します。</p> <p>③非常に興味があります。</p>

5. パイロットスタディの成果概要（図2）

現在までのパイロットスタディ実施の概要をまとめた。検査機関の検査精度を評価し、地域のスクリーニングシステムの現状を把握した。検査機関がコンサルタント医師や自治体と共に、システムの改善・整備を行う場合BLSの結果を用いて行う場合があった。また、問題が発生した場合には、MS研からの情報提供アドバイスが有効であった。

6. 手順書と実際の流れ図の改正（図3、表3）

今後も問題なくBLS送付が継続できるよう、手順書の改正案を作成した。スタディへの参加は、検査機関の自由意思によるものであるが、コンサ

ルタント医師の協力が得られること、連絡協議会・自治体の協力が得られることが望ましいと付加した。

7. BLS を用いた精度管理の可能性の調査 (図 4)

BLS を用いた精度管理の可能性の調査の結果は、集計中である。

記載された意見の一部は次のようであった：現行の精度管理で十分、有効と考えるが一度登録したデータを削除するということがミス誘因にならないか、医療機関で混乱が生じないか、自治体等の了解が得られないのでは。

BLS 参加自体の検討をしたことがない施設もあった。

D. 考察

2005 年 9 月から 2015 年度まで BLS として送付した検体の、検査機関での正常・異常の判定、測定値、結果報告までの日数等の情報を収集し、評価を行い、その結果を、毎回、検査機関、協力医療機関、報告を要求した自治体に報告した。その結果は、連絡協議会においても報告される地域が多く、精度管理の 1 つの方法として認識、活用されており、PT 検体送付による現行の精度管理の補完としての価値が認められた。

参加した 11 の検査機関では、合計 22 自治体、その地域での年間出生数 36 万人の検査を行っており、出生数では日本の新生児マススクリーニングの約 3 分の 1 がカバーされていた。

BLS 研究参加後、コンサルタント医師、連絡協議会、自治体との連携が深まっているが、特徴的なのは、出生数の少ない 4 つの自治体においては、自治体内の医療機関の 1 から 2 割がスタディの趣旨に賛同し参加して下さっていることである。検査機関が、バイアスのない状態での自施設の検査精度の評価をもとめて参加したスタディにより、地域のスクリーニング体制の整備に貢献したと考えられる。

精度良く、しかも安全で負担の少ない形でブラインドを実施するため、手順書と実際の流れ図を

改正してきた。スタディへの参加は、検査機関の自由意思によるものであるが、コンサルタント医師の協力が得られること、連絡協議会・自治体の協力が得られることが望ましいと付加した。

TSH のカットオフ値は、検査機関毎に異なっており（再採血 7.5~12 μ U/ml、直接精査 15~50 μ U/ml）、また、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おり、標準化が求められている。この状況で、全施設に対して、再採血にはなるが直接精査にならない検体を作製するのは非常に難しい。そのため、コンサルタント医師と打ち合わせを行い、仮に検査施設から直接精査についての相談があった場合、混乱が起これないように対応頂くことにした。

2013 年度までの旧来の精度管理では、検査キットを含めた品質管理も行われており、市場の試薬の動向を把握する上で重要であったが、現在は行われていない。2015 年度からは、BLS に限り 2 つの試薬会社との間に協力体制を再開させ、情報共有することになった。

BLS を用いた外部精度管理が、PT 検体送付による現行の精度管理を補完する方法として継続可能か判断するために、現在検査機関にむけて、BLS の継続の可能性についての調査協力を依頼し、集計中である。

一部回答には、現行の精度管理で十分という意見があり、ブラインドは有効と考えるが登録済みデータの削除がミスの誘因にならないか、医療機関で混乱が生じないか、自治体等の了解が得られないのではとの懸念がもたれていた。BLS による精度管理に参加するかどうか、未検討の施設もあった。

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り、現行の精度管理の補完が可能であると考えられる。しかし、自治体や検査機関のシステムの違いにより一斉に進めることは困難である。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り、地域のスクリーニング関連機関をより結び付けることが可能なシステムとして、ブラインドを用いた精度管理を提案した。

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

- 1) 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 鈴木恵美子、渡辺倫子、相崎潤子、小澤仁子、中島英規、松原洋一、原田正平第 42 回日本マススクリーニング学会学術集会 東京 2015 年 8 月 21～22 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

本研究は、現行の外部精度管理とは、全く切り離して行い、アミノ酸・糖代謝異常の4疾患と内分泌の2疾患について実施しています。外部精度管理検体と認識されないブラインドサンプル(Bind Sample,BLS)を用いて検査精度を評価し、さらに、地域のスクリーニングシステムの現状を把握しています。現在は、各地域のスクリーニングシステムが異なり、全国的導入が難しいことが分かったため、検査施設が希望する場面に実施しています。BLS導入に向けてシステムを再点検することで、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る事を目的としています。医療現場で行われている「ヒヤリハット」のように事例の集積を行い原因を究明し、再び事故の要因とならないように警告事例として取り上げ、重大事故を未然に防ぐとするものです。ミスがあった場合にも、個々のミスとしては取り上げない方針で行います。仮にブラインドで問題があった場合、検査施設、コンサルタント医師、自治体、連絡協議会が協力し、実際の新生児に対して過誤が起こらないシステムが再構築できることが望まれます。

1. 連携体制について

平成27年度のBLS参加施設は11(全施設37)であり、この11施設で22自治体の約36万人のスクリーニングを実施している。パイロットスタディの実施により、関連機関との連携が強まった。
①3つの自治体が、毎年協体制にある。2つの自治体は、自治体として参加しており、自治体からの要求により、MS研から結果報告を提出した。 ②ほとんどの自治体に、連絡協議会が設置されており、施設は、定期的にブラインドの報告をする、あるいは、聞ければ報告をした。 ③多くの施設は、コンサルタント医との連携が強い、実施にあり、MS研も、各コンサルタント医との連携を強め協力を得た。検査を、他県の検査施設に委託した自治体に属するコンサルタント医から、他県の施設に対するパイロットスタディへの協力の申し出があった。 ④BLS送付を行う協力医療機関は、累計50施設である。出生数の少ない4つの自治体では、採血医療機関の数も少ないため、自治体内の1〜2割程度の医療機関が協力したことになる。 ⑤ブラインド実施のために施設自らが、システム整備を開始した。未整備であった連絡協議会等の設置を働きかける、再開を働きかける、傍聴の許可を獲得した等である。

2. BLSの送付

平成17年から平成27年までに、201検体のBLSを送付した(異常96、正常105)。異常検体の内訳は、Phe3~4mg/dl 27検体、Met.1.5~3mg/dl 6検体、Leu4mg/dl 7検体、Gal3~8mg/dl 15検体、TSH11~16 μU/ml 30検体、17OHP5ng/ml 11検体である。バイアスのかからない状態で、検査施設の検査精度の確認が可能であった。
判定ミスの発生とその改善 判定ミスがあったのは、メソリー法による1件のみである。後に、施設とMS研にて、再測定を行い、双方で問題なく検出された。原因は、ダブルチェックの平準と検体採取箇所の不確実と推測された。施設にコンサルタント医とともに、MS研から、提示された改善策を実行し、その後、問題は生じなかった。

3. 採血の問題

MS研で作製したBLSを協力医療機関が、他の新生児検体と一緒に、検査施設に送ったが、いつもの採血状態と異なっていたため、検査担当者がBLSではないかと疑問視した。ブラインドの実施が、適切な採血法の標準化に取り組む一因となった。ブラインドに参加している他の施設でも、採血法の基盤化について、自治体と協議を開始した。
発端 当該協力医療機関は、普段、採血量不足の検体が多いとされる病院であり、今回、1日直産1cmで4滴検体がラップされた検体が検査室に届いたので、疑問視した。
施設の対応 当該協力医療機関に、以前、施設から、採血についてのお問い合わせが改善されていたが、採血状態が悪い場合は、その都度、電話連絡や説明書の送付を行っていたが、さらに、標準的な採血法のビデオを作成し、ホームページに掲載した。自治体内の医療機関に対し、正しい検査結果を得るためには、検査段階だけでなく適正な採血をして頂く必要がある事を理解頂くこととし、専用安全換機付きラップシートについても案内した。自治体と共にパイロットスタディに参加しているため、情報を共有した。
検体 クワンダムスクリーニング開始時に、自治体は、限内のすべての分娩施設に採血についての注意書を送付し、適正な採血の重要性について再確認した。

MS研による全体調査の結果等

採血量不足による再採血をしたかどうか調査したところ(平成21年3月、45施設)、採血量不足で再採血を実施した施設は36(80%)、採血量不足の検体なしの施設は8(18%)、未回答1施設(2%)であった。検体数の記載があった31施設での再採血率は0.01~0.08%(平均0.03%、平成20年度の再採血数250人/検査数82万人)であった。

4. 検体受領から結果報告までの日数

検査施設において、検体を受領してから結果報告までにかかる日数について、現状把握を可能にした。外部精度管理検体とBLSについて比較した。	
平成20年度 平成27年度(平均)	平成20年度の外部精度管理検体の結果報告日の最頻値は18日(47施設)。平成19年から平成20年度までに送付したBLSの最頻値は5日であった(10施設)。 平成27年度外部精度管理検体(PH検体)2回送付分のまとめでは、7日までに97%の施設からの報告があった(30施設)。平成19年から平成27年までに送付したBLS異常検体(98検体)では、7日までに90%、正常検体(105検体)では、7日までに61%の施設から報告があった。最頻値は、PH検体が6日、BLS異常検体が2~3日、BLS正常検体が7日であった。
	外部精度管理検体とBLSでは、差がある。

5. TSH測定値の乖離

TSHの測定では、2社の試薬で測定値の乖離がみられた。スタディに参加した施設の再採血依頼のカットオフ値が異なり(A社9~10 μU/ml、B社7.5~10 μU/ml)また、直接検査のカットオフ値が低値から分布することから(15~30 μU/ml)、再採血になる検体を作成することが、難しかった。再採血依頼時のカットオフ値の全国のおよぼは、7.5~12 μU/mlであり、直接検査は、15~50 μU/mlである。	
平成26年度送付TSH検体	A社試薬を使用した7施設の測定値11.38±1.75(MS研13.80) μU/ml、B社試薬を使用した3施設の測定値7.07±0.49(MS研10.23、保管分の再測定9.38、施設からの定基準測定7.83) μU/ml、A社試薬使用の施設では、カットオフ異常判定され再採血依頼となった。B社試薬使用の施設では、カットオフ値以下と判定され正常となった。判定の誤りはなかった。MS研での、BLS送付前とその後の測定値に差の見られた原因は、特定できなかった。
平成27年度送付TSH検体	A社試薬を使用した7施設の測定値15.49±2.01(MS研15.87) μU/ml、B社試薬を使用した3施設の測定値14.49±0.87(MS研14.33) μU/mlであった。すべての施設でカットオフ値以下と判定され、再採血となった。判定の誤りはなかった。 2社の試薬で測定値の乖離がみられ、またカットオフ値も異なるため、全ての施設で、再採血であるが直接検査にならない検体を作成することは難しい。しかし、 ①標準化のためには、検体は1濃度にする ②すべての施設のカットオフ値を超える濃度にする ③直接検査の可能性のある場合、予めコンサルタント医師に相談し、精密検査依頼にならないようにする ④ブラインド実施後に、試薬会社での検体測定協力を得る(1427年開始実施中)など、協力者への負担を減らし共に安全面の整備、また測定値乖離等についての検討協力体制作りを行った。

6. 再採血の連絡を電話で行うときの問題

Pho高値検体(BLS)と17-OHP高値検体(新生児)の再採血依頼を、検査施設から病院担当者に連絡したが、電話の内容が担当医に伝わらなかった。担当医は、後日再送された報告書にて確認した。
未熟児に対する再採血依頼が多い病院であったため、受け取りの誤りの可能性が考えられた。新生児で、精密検査依頼があった場合には、直ぐに担当医に伝えられ、問題がなかったことを確認した。連絡が正確・迅速に進むよう、連絡体制の再度の確認を、検査施設と担当医にお願いした。

図 2 パイロットスタディの成果概要

新生児マススクリーニング精度管理体制を補完するブラインドサンプルを用いた外部精度管理
パイロットスタディ手順書(案)

外部精度管理と認識されない方法を用いて、施設の検査精度を保証すると共に、現行のスクリーニングシステムの実情を把握し、問題点を検討し改善に寄与することを目的としています。現在は、厚生労働科学研究として行い、現行の外部精度管理とは、全く切り離して行い、アミノ酸・糖代謝異常の4疾患と内分泌の2疾患について実施します。ここでは、パイロットスタディ開始までの流れとパイロットスタディ開始後の実施手順について説明します。

I パイロットスタディ開始まで

- 検査施設としてこの研究の目的・意義をご理解いただくことが大前提となります。パイロットスタディへの参加は強制ではなく、本研究の意義をお認めいただいた上で、自由意思での参加となります。コンサルタント医師の協力が得られることを確認していただき、貴地域での新生児マススクリーニング連絡協議会(連絡協議会)に相当する組織、あるいは自治体に諮る必要があるれば、そこにおきも了解を得ていただき準備を開始します。
- 本研究では、一度検体として登録されたものを、BLSと判明した時点で、登録変更していただく必要があるため、それが可能かどうかシステムの確認が必要となります。場合によっては、施設での登録方法のシステム変更が必要となりますが、本研究の意義をお認め頂き、システム変更が可能であればぜひお願いしたいと考えています。
- 登録の変更が可能なシステムであり、連絡協議会あるいは自治体の協力が得られることになれば、マススクリーニング研究室(MS 研究室)から連絡協議会や自治体に協力依頼の手続きを行います。協力が得られない場合は、コンサルタント医師、その地域の新生児スクリーニング関係の医師や大学関係者(日本マススクリーニング学会員)の協力を得て医療機関を適宜し、BLS 発送の協力依頼を行います。これまでのパイロットスタディでは、検査施設が独自に協力頂く医療機関を探してご依頼いただいた場合もありました。

II パイロットスタディの実施手順

- 貴地域で使用する採血用紙を、MS 研究室に送付願います。(予めPKU-S 標準タイプが独自のものかお教えください)
- MS 研究室で、採血用紙に予め調整した血液を滴下し、協力医療機関に渡します。医師が仮の母氏名・厚生年月日等を記入し、通常の方法にて検査施設に送ります。他の新生児検体と一緒に送られる場合もあります。
 - BLSの1回の送付枚数は1枚、年に2回以下、不定期に実施。
 - 正常検体と軽度異常濃度物質を含む検体(貴施設のカットオフ値以上、直接検査にはならない)の場合がある
 - 含まれる軽度異常濃度物質はPhe, Met, Leu+Ileu+Val, Gal, TSH, 17OHP
 - 1枚の検体には、1つの軽度異常濃度物質を含む
 - 医療機関には、BLSの正常・異常の情報は伝えませんが、コンサルタント医師には、実施内容全体を説明する。
 - BLSは月の初めに送付する
 - MS 研究室から送ったBLSが協力医療機関に到着したが、また、それを検査施設あてに送付したか、MS 研究室が協力医療機関に電話・FAXにて確認する

- 貴施設に届いたときは、BLSとは判りません。一般新生児検体と同様に検査し、医療機関に結果報告を行うようになります。
- 軽度異常濃度物質が含まれた検体が貴施設で「異常」と判定され、再採血要求依頼が行われる場合、電話による連絡であれば、その際に「それは、ブラインドサンプルです」と医師から告知されます。また、郵送で再採血要求依頼や正常結果報告をする場合には、医師から「それはブラインドサンプルです」の書類が貴施設に送付されます(到着した書類は、ファクシミリにてMS 研究室に送付願います)。医師は、貴施設に送付すると同時に、MS 研究室に貴施設からの結果報告書・再採血要求依頼書を送付します。
 - 再採血要求が電話の場合、最初、医師以外が電話口に出ることが通常。BLSであることを検査施設に告げるのは、医師にお願しているのので、返返し医師から検査施設あてに電話が入る。
 - BLSと判明した時点で、貴施設での登録変更する。
 - MS 研究室にて、医師からの書類(結果報告書・再採血要求依頼書等)を受取り次第、下記2点について施設に電話連絡する。
 - ブラインドを実施し、医師からBLSに関する書類を受領したことを報告
 - 貴施設でのBLS登録変更の確認
 - 何かの事情で医師からの報告書類がMS 研究室への到着が遅れたとしても、月末25日過ぎには(集計報告に支障が出ない範囲)貴施設に連絡する。
- MS 研究室から、貴施設と協力医療機関に結果報告書を送付して、1回の試行が終了となります(報告書は翌月に提出、コンサルタント医師にも報告)。詳細項目は以下となります。
 - 正常検体と軽度異常濃度物質を含む検体を正しく判定できたかの判定結果と測定結果
 - BLSの受付から検査・結果送付までの日数
- BLSの結果等の取り扱いについて
 - BLSの結果および実施内容について検討が必要な場合は、MS 研とコンサルタント医師が連携して行います。
 - 結果については、現行の外部精度管理(評価)とは別枠に扱うため、自治体への報告は行いませんが、自治体がいパイロットスタディに参加し、報告の要求があった場合にはこの限りではありません。
 - パイロットスタディ全体の研究結果は、施設名が同定されない形で厚生労働科学研究委員会、同報告書、また関連学会、専門誌などで報告させていただきます。

図 3 パイロットスタディ手順書(案)

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（国立成育医療研究センターマススクリーニング研究室長）

平成 27 年度技能試験の結果と平成 28 年度以降の方向性について

研究協力者 渡辺倫子（国立成育医療研究センターマススクリーニング研究室 研究員）

研究要旨

新生児マススクリーニング（NBS）の平成27年度外部精度管理技能試験を実施した。NBS実施指定検査機関38施設に対し、技能試験用検体（PT検体）を3回送付予定のうち現在までに5月・7月と2回送付した。その結果、PT検体総数760検体のうち、5月に記入の誤り1検体、7月に見逃し1検体があったことから、原因を含めた聞き取り調査を行い、施設のスクリーニングシステムの見直しをお願いした。次に精度管理の一環として、施設で検査した検体数と設定している対象疾患のカットオフ値を調査したところ、出生体重2,000g未満児の2回目採血割合が50%以下の施設が16.2%、不備検体割合が0.5%以上の施設が27.0%あるなどいくつかの問題点が明らかになり、平成28年度以降、現状把握のための調査を行う必要があるものと考えられた。

研究協力者

鈴木恵美子（国立成育医療研究センター・研究員）
中島英規（同上）
志村明子（国立成育医療研究センター・非常勤職員）
品田京子（同上）
前田堂子（同上）
後藤温子（同上）
小澤仁子（同上）
相崎潤子（同上）

いる。新システムとなった 2014 年度は、送付した PT 検体の見逃し、記入の誤りが、2013 年度までの精度管理実績と比較して相対的に増え、施設内での情報共有の不徹底、チェック体制が機能していないことがその原因と考えられ、国立成育医療研究センター・マススクリーニング研究室（以下、MS 研）による助言、指導が施設に対し行われた。本年度は、その助言、指導が施設での体制整備に反映されているかを評価するため、年 3 回の技能試験を実施した。また、施設でのカットオフ値などを調査し、その設定などに問題がないかの評価も行った。

A. 研究目的

2014 度からの新しい新生児マススクリーニング（以下、NBS）外部精度管理として、従来の対象 6 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、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症、先天性副腎過形成）検出のための物質以外に、タンデムマス・スクリーニング（以下、TMS スクリーニング）の対象疾患検出に必要なアミノ酸・アシルカルニチンを添加した外部精度管理用ろ紙血検体を作成、使用して

B. 研究方法

1. タンデムマス・スクリーニング普及協会（以下、TMS 普及協会）が自治体と精度管理業務契約を結び、実務を MS 研で実施する。実務は、TMS 普及協会と MS 研とで協議の上作成された精度管理実施手順書に従って行われる。

2. スクリーニング対象疾患を検出するための物質を含むろ紙血検体および無添加のろ紙血検

体（あわせて PT 検体と称する）を、ランダムに 10 枚組み合わせ、1 年間に 3 回施設へ郵送する。施設では PT 検体と一般新生児検体を一緒に測定し、結果を MS 研に報告する。

3. MS 研では、手順書の評価項目に従い結果の評価を行い、報告書を提出する。

4. 対象疾患に対するカットオフ値と検査検体数・再採血要求検体数等の調査（カットオフ値調査）も行った。対象となった 37 施設中 37 施設から回答が得られたが、1 施設では児の出生時体重や 2 回目採血の有無、不備検体数等の種々のデータのコンピュータ化がなされておらず、解析からは除外した。

（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購入していることから、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 検体の判定結果

1) 2014（平成 26）年度と 2015（平成 27）年度に送付した PT 検体を表 1 に示す。NBS 実施指定検査機関 38 施設に対し、13 種類の異常物質を添加した検体と無添加検体の中から、毎回 1 施設当たり 10 枚を組み合わせ、計 5 回、総 PT 検体数として 1,900 検体を送付した。

表 1. 送付した PT 検体

	平成26年度			平成27年度	
	1	2	3	1	2
1	17-OHP	17-OHP	17-OHP	17-OHP	17-OHP
2	Gal	Gal	Gal	Gal	Gal
3	Phe	Phe	Phe	Phe	Phe
4	TSH	TSH	TSH	TSH	TSH
5	C3		C3	C3	C3
6	C5	C5		C5	
7	C5-OH			C5-OH	C5-OH
8			C5-DC		C5-DC
9		C8			
10			C14:1	C14:1	
11	Cit	Cit			Cit
12		Leu		Leu	
13		Met	Met		Met
無添加	2	1	2	1	1

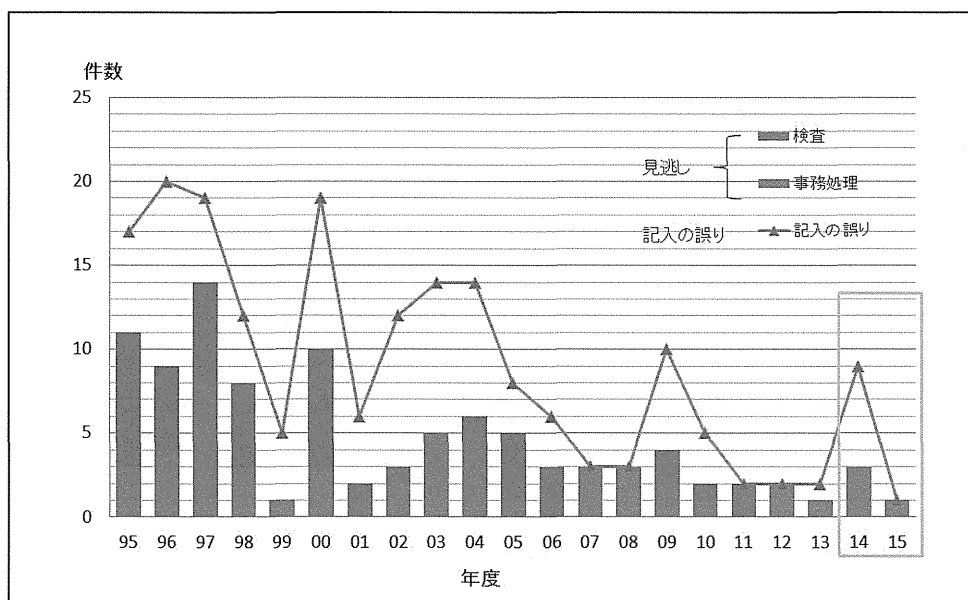


図 1. 外部精度管理検体の見逃しと記入の誤り

2) その結果を図1に示す。2013年度までは年12回の検体送付であったが、2014年度からは年3回に変更した。2013年度までの送付検体数は、施設数が年ごとに異なるが、約45施設として年間5,400検体を送付していた。2014年度はPT検体総数1,140検体と減少したにも関わらず。精度管理システムの変更と測定物質が増え、結果の報告が複雑になったためか、見逃しは過去4年間より多く、記入の誤りは約3倍と増加した。本年度はまだ2回、PT検体総数として760検体の送付であるが、すでに見逃し1検体、記入の誤り1件がある。

3) 見逃しの具体例：C5-OH添加の異常検体の見逃し（2015年7月送付検体）

当該施設では、PT検体専用のエクセルの表にまとめられる。測定値をPC画面に表示させ、そこから拾い上げ、施設作成の「サーベイ結果シート」に手書きで記載するシステムで、エクセル表には、カットオフ値以上の測定値のセルは色づけされる。

送付された10検体の測定値は、設定カットオフ値より高く、全セルが色づけされ、明らかに他の9検体より高い測定値のC5-OH添加検体が異常検体として認識されず正常検体で処理された。

この見逃しの発生により当該施設でのPT検体の処理手順が変更され、従来特別な結果報告システムでPT検体を処理していたものが、新生児検体と同じように報告するシステムに変更された。

4) 記入の誤りの具体例：測定値の未記入（2015年5月送付）

当該施設において、PT検体測定後、その結果を提出する測定結果シートに手書きで記載したが、誤記が多く修正後のシートが見にくいため、電子メールでの返送に切り替え、添付するファイルに入力した。その際に測定値の記入漏れが発生した。入力者と異なる者によるダブルチェックを行ったが、その際にもチェックできなかった。手書きの測定結果シートには正しく記載されており結果の転記（入力）の誤りである。

当該施設では担当者間での内容確認およびダブルチェックの徹底を行うように改善した。

またMS研より送付する「測定結果シート」に「最終確認者」欄を新たに設けた。

5) 結果返送に要する日数

平成26年度は、施設がPT検体を受領後7日以内に結果を返送することを求めた。郵便の場合は投函、メールは送信までの日数を評価対象とした。

平成27年度は返送日数は評価対象外としたが、表2に示すように返送日数が目標の7日以内に改善された。

表2. 返送に8日以上かかった施設数

日数	8	9	10	11	12
H26年度	6	1	1	0	2
H27年度	2	0	0	0	0

2. カットオフ値等調査

2013年度までは精度管理の一環として3カ月毎に実施していた、施設の対象疾患に対するカットオフ値と検査検体数・再採血要求検体数等の調査（カットオフ値調査）を2014年度以降初めて行い、そのまとめを施設に報告した。

2015年度は、①出生体重2,000g未満の2回目以降の採血検体数、②不備検体数も調査した。その結果、①が全国平均87%のところ、50%以下は37施設中6施設、②の全国平均が0.3%のところ、0.5%以上は10施設であった。

D. 考察

2014年度からTMSの対象疾患も含めたNBS外部精度管理が始まり2年目を迎えた。PT検体を用いた技能試験では、2013年度までの12回送付が、2014年度は3回と減少したにも関わらず見逃し3検体・記入の誤り9件と前4年間より多かった。2015年度もすでに見逃し1検体・記入の誤り1件がある。

これは従来の報告に正常・陽性の判断が加わったこと、測定項目が多くなり「測定結果シート」

に記入しチェックする項目が増えたことが要因と考えられる。

ミスのあった施設へ聞き取り調査を行い原因の確認をしたが、検体を測定することには問題はないが、共通していることは①施設内の情報共有の不徹底、②チェック体制の不備、③責任の所在の不明確という、人為的な問題によるミスであった。

2014年度問題のあった施設では改善がされ、2015年度の結果は良好である。

「PT 検体の処理に問題はあったが、実際のマスキングでは問題ない(はず)という認識」が、当該施設担当者への聞き取り調査の際に見え隠れしていたが、改めて外部精度管理の評価を真摯に受け止めるべきと考える。

PT 検体を作製するにあたり、添加する物質ごとに、指定検査機関で「陽性」と判定される濃度、すなわちカットオフ値を参考にする必要があるため、2015年度新たにカットオフ値等調査を行った。カットオフ値等調査は、2013年度までは精度管理の一環として3カ月毎に実施し、施設の対象疾患に対するカットオフ値と検査検体数・再採血要求検体数等を調査していた。

2015年度は、2013年度までも調査していなかった、出生体重2,000g未満の2回目の採血検体の受付数、不備検体の受付数も調査した。

先天性代謝異常等検査における未熟児の採血については、1987年3月9日に。当時の厚生省児童家庭局母子衛生課長より「2,000g以下の低出生体重児は、原則的には生後5～7日で採血し、さらに生後1か月か体重が2,500gに達した時期かのうちどちらか早い時点で再採血することが望ましい。」と通知されている。その理由は、先天性代謝異常症については、哺乳不良による蓄積物質の低値による偽陰性を避ける、あるいは視床下部-下垂体-甲状腺系の未熟性による先天性甲状腺機能低下症の偽陰性を避けるなどを目的としているにも関わらず、今回の調査結果では、50%以下が37施設中6施設(16.2%)あったこ

とから、調査の意図が正しく理解されていなかった可能性も含め、現状把握のための再調査の必要があると思われる。

不備検体率も同様に、採血量不足があれば偽陰性の原因となり、過剰に添加されていれば偽陽性の原因となるなど、全体の精度管理において重要な項目であるが、全国平均0.3%に対し、0.5%以上が10施設(27.0%)もあったことは、それら施設での偽陰性、偽陽性数増加の有無も含め、さらなる調査が必要である。

E. 結論

新生児マスキング外部精度管理で、新しいシステムでのPT 検体を用いた技能試験を実施したところ、測定以外の過程での、人為的な誤りが複数の施設で認められた。PT 検体処理にもなうミスは、一般新生児検体の処理でも起こりうるという認識で、①施設内の情報共有の不徹底、②チェック体制の不備、③責任の所在の不明確が日常業務でも生じていないかの再点検が求められる。

F. 健康危険情報

該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

該当無し。

2. 学会発表

1) 渡辺倫子、他；平成26年度新生児マスキング精度管理(技能試験)の報告 第42回日本マスキング学会学術集会、東京、平成27年8月

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し。

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は疾病の発症予防にとって極めて有用であり、対象疾患を拡大することによって更なる小児の健康増進と医療費削減に寄与することが期待される。本分担研究では、遺伝子解析による新生児マススクリーニングの可能性について検討をおこなった。次世代遺伝子解析装置によるマススクリーニングは、技術的課題、コスト、対象疾患の選定、偶発的所見などの点において現時点では時期尚早と考えられた。一方、すでに諸外国で実施されている先天性免疫不全症については早急にわが国でも検討を開始すべきであると考えられる。

研究協力者

小島勢二（名古屋大学大学院医学系研究科・教授）
今井耕輔（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・准教授）
小野寺雅史（国立成育医療研究センター・部長）

また、研究協力者らによってすでに諸外国で実施されている先天性免疫不全症の NBS についてパイロットスタディを実施した。

（倫理面への配慮）

本研究は、研究協力者が所属する各施設の倫理委員会の承認を得て実施された。

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（以下、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るバイオアッセイ法から始まった NBS は、アミノ酸やホルモンの定量、さらに 1990 年代に導入されたタンデムマススペクトロメトリを用いたアミノ酸とアシルカルニチンの網羅的分析により、対象疾患の数が大きく増加した。このことによって、多くの先天性疾患の発症を未然に防止することができるようになった。

本分担研究では、今後の NBS の拡大を目的として、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した。

B. 研究方法

国内外の遺伝子解析法による NBS 法、特に網羅的遺伝子解析法によるものについて情報収集し分析を行った。

C. 研究結果

1. 次世代遺伝子解析装置によるマススクリーニングについて

次世代シーケンサーは、個々人のゲノムを網羅的にシーケンスするもので、原理的にはほぼあらゆる遺伝性疾患の検出が可能である。技術的には、ゲノム全体をシーケンスする whole genome sequencing (WGS)、タンパク翻訳領域をコードするエキソン部分のみについてシーケンスする whole exome sequencing (WES)、標的とする一群の疾患群の遺伝子部分のみをシーケンスする targeted re-sequencing の 3 種類に分類することができる。いずれも数多くの遺伝性疾患を網羅的に一斉にスクリーニングすることが可能である。

1) 諸外国における現状

WGS あるいは WES を用いた新生児集団の遺伝子解析については、すでに研究的な検討が始められている。米国 NIH では、2013 年より Genomic

Sequencing and Newborn Screening Disorders programのもとに、4つの研究医療機関に5年で2500万ドルの研究費を交付し、倫理面を含めた検討が開始されている。

民間企業においても、例えば米国 G2P 社では、BabySeq Project としてゲノムシーケンスを基盤とする新生児疾病スクリーニングの研究を発表している。また、同じく米国 Inova Translational Medicine Institute では、バージニア州において5,000家族、20,000ゲノムのWGS解析を開始したと報告しており、この中には妊娠中から追跡した新生児も含まれている。

2) 網羅的遺伝子解析の課題

①費用

現在のところ、1検体あたり十〜数十万円のコストを要する。数多くの疾患を一斉に解析することが可能なため、1疾患当たりの費用は数百円程度に抑えることができるが、総額としては現行のマススクリーニング事業をはるかに超える金額となり、現行制度にそのまま組み込むことは難しい。これが最大の課題である。

②技術的課題

研究機器として開発されてきたため、マススクリーニングのプラットフォームには対応していない。しかしながら、各ステップの自動化・機械化が進んできており、マススクリーニングに適したシステムを組むことは十分可能と考えられる。

遺伝子解析というこれまでのスクリーニング法と全く異なる技術の導入は、担当者の教育・研修を含めた新たな課題に対処する必要がある。

③感度、特異度

現段階の技術では、遺伝子解析によってすべての患者を同定することはできない。また、病的変異のデータベースが未整備なため、遺伝子配列変化があっても、しばしばその判定をすることが困難である (VUS:variant of unknown significance)。これらの制約を理解したうえでスクリーニングを行う必要がある。

④対象疾患の選定

病因遺伝子が明らかにされている疾患すべて

を対象とすることが可能であるが、NBSとしてふさわしいかどうかを慎重に評価する必要がある。各疾患の専門家を交えた慎重な議論が必要である。

⑤偶発的所見

網羅的解析によって、本来目的としない疾患までも検出することの是非が議論されている。このことについては、米国の臨床遺伝専門医学会である American College of Medical Genetics による提言 (ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing, *Genetics in Medicine*, 2013) をもとにしばしば議論がなされている。しかしながら、NBSとしての応用を考えると、ソフトウェア的に対象疾患のみを検出するプログラムを用いれば解決が可能であり、必ずしも障壁となるものではないと考えられる。

⑥倫理的課題

既存の対象疾患と質的に異なるものではない。

2. 遺伝子解析を用いた原発性免疫不全症の新生児スクリーニング

本項目については、研究協力者3名によって詳細な検討が行われており、そちらを参照されたい。

すでに米国をはじめとする諸外国では、TREC測定によって重症複合型免疫不全症を引き起こすT細胞欠損症のスクリーニングが実施されている。TREC (T-cell receptor excision circle)は、T細胞受容体再構成の副産物として生じる環状のDNAで、細胞増殖の際に複製されないため胸腺からの成熟T細胞産生量を推測するためのマーカーとなっている。発見された患者には、造血幹細胞移植、遺伝子治療による治療が実施されている

同様に、B細胞新生能のマーカーKREC (kappa-deleting recombination excision circles)の測定によるB細胞欠損症のスクリーニングも計画されている。B細胞レセプターの κ 鎖から生成される環状DNAである。患者に対して、定期的なガンマグロブリン補充療法による治療が可能である。

これらの遺伝子検査は、塩基配列の変化を検出するものではなく、免疫関連細胞が作られる過程で生じる「特定の遺伝子産物の定量」である。この点が、ほかの遺伝子検査と大きく異なる点である。スクリーニングに当たっては、定量とカットオフ値の設定が最も重要な要素であり、代謝産物やホルモンを測定する現行のNBSと親和性が高い。この点で実務上も比較的容易に導入することが可能と考えられる。研究協力者3名によるそれぞれの研究でも、実用段階にあることが示されている。

D. 考察

次世代遺伝子解析法を用いたNBS法を1st tierとして用いるには、特にコスト面で現段階での実用化は困難である。しかしながら、近い将来予想される低コスト化が実現すれば、十分導入が可能と考えられる。その際、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が今後の検討課題である。2nd tierとしての次世代遺伝子解析はすでに一部で試行されており、今後は次世代シーケンサーによる疾患パネルの一斉解析に移行していくと考えられる。

E. 結論

次世代遺伝子解析をNBSに導入するに当たり、現時点ではいくつかの課題が存在する。将来的にはその導入によって対象疾患を飛躍的に拡大させていくものと予測される。

先天性免疫不全症のスクリーニングはわが国においても試行すべき段階にあると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Katoh-Fukui Y, Igarashi M, Nagasaki K, Horikawa R, Nagai T, Tsuchiya T, Suzuki E, Miyado M, Hata K, Nakabayashi K, Hayashi K, Matsubara Y, Baba T, Morohashi K, Igarashi A, Ogata T, Takada S, Fukami M. Testicular dysgenesis/regression without campomelic dysplasia in patients carrying missense mutations and upstream deletion of SOX9. *Mol Genet Genomic Med.* 3(6):550-7, 2015
- 2) Fujiwara I, Murakami Y, Niihori T, Kannno J, Hakoda A, Sakamoto O, Okamoto N, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Kinoshita K, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y. Mutations in *PIGL* in a patient with Mabry syndrome. *Am J Med Genet A* 167A(4):777-85, 2015.
- 3) Moriya M, Inoue SI, Miyagawa-Tomita S, Nakashima Y, Oba D, Niihori T, Hashi M, Ohnishi H, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y. Adult mice expressing a Braf Q241R mutation on an ICR/CD-1 background exhibit a cardio-facio-cutaneous syndrome phenotype. *Hum Mol Genet.* 24(25):7349-60, 2015
- 4) Niihori T, Ouchi-Uchiyama M, Sasahara Y, Kaneko T, Hashii Y, Irie M, Sato A, Saito-Nanjo Y, Funayama R, Nagashima T, Inoue S, Nakayama K, Ozono K, Kure S, Matsubara Y, Imaizumi M, Aoki Y. Mutations in *MECOM*, encoding oncoprotein *EVI1*, cause radioulnar synostosis with amegakaryocytic thrombocytopenia. *Am J Hum Genet.* 97(6):848-54, 2015
- 5) Komatsuzaki S, Ogawa E, Shimosawa N, Sakamoto O, Haginoya K, Uematsu M, Hasegawa Y, Matsubara Y, Ohura T. First Japanese case of Zellweger syndrome with a mutation in *PEX14*. *Pediatr Int.* 57(6):1189-92, 2015.
- 6) Yaoita M, Niihori T, Mizuno S, Okamoto N, Hayashi S, Watanabe A, Yokozawa M,

Suzumura H, Nakahara A, Nakano Y, Hokosaki T, Ohmori A, Sawada H, Migita O, Mima A, Lapunzina P, Santos-Simarro F, García-Miñaur S, Ogata T, Kawame H, Kurosawa K, Ohashi H, Inoue S, Matsubara Y, Kure S, Aoki Y. Spectrum of mutations and genotype-phenotype analysis in Noonan syndrome patients with RIT1 mutations. *Hum*

Genet. 135(2):209-22, 2016

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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）

重要複合免疫不全症に対する新生児スクリーニング法の開発

研究協力者 小野寺雅史（国立成育医療研究センター成育遺伝研究部）

研究要旨

原発性免疫不全症は、免疫系の異常により生下時より病原体に対して易感染性を示す疾患群であり、特に重症複合免疫不全症 (SCID) は根治的治療である造血幹細胞移植を行なわないと、生後 1 歳までに死亡する重篤な疾患である。このため重症感染症罹患前の診断は、患者の生命予後を大きく改善することから、発症前あるいは早期診断法の確立は急務であり、これに対し胸腺での未熟 T 細胞新生時に生ずる TREC をろ紙血を用いて測定する新生児マススクリーニング (NBS) が欧米を中心に精力的に進められている。本研究では、原発性免疫不全症患者の早期診断を可能にする NBS の本邦での導入を検討するために、国立成育医療センターで出生した新生児 303 例を対象に TREC による NBS の試験研究を行った。その結果、擬陽性率は 0.3% 程度であった。さらに減らす必要がある。TREC 低値の新生児は、実際に一過性のリンパ球減少症を呈しており、TREC のよる T 細胞数の評価は正しいものと思われる。今後はセンター外からの検体の受け入れ、本スクリーニングの有用性を明らかにしてゆきたい。

A. 研究目的

小児難治性疾患である重症複合免疫不全症 (severe combined immunodeficiency: SCID) は、T 細胞の分化障害を根幹とし、これに伴って B 細胞や NK 細胞の異常が出現する。このため、患者は生下時より重度のウイルスや細菌、真菌感染症に罹患し、迅速な確定診断と造血幹細胞移植が施行されない場合は患者は死に至る。さらに、感染予防としての BCG やロタワクチン接種は、逆に患児に重篤なワクチン感染症を引き起こすことがあり、早期の診断法の確立が求められる。

現在、SCID の早期診断法として PCR による TREC (T-cell receptor excision circles) 測定が行われているが、この TREC は T 細胞がその膜表面上に T 細胞受容体 (T cell receptor: TCR) を発現させるため TCR の可変領域である variable region (V)、diversity region (D)、Joining (J) 遺伝子の再構成を行う際に出現する環状 DNA のこ

とで、その存在は胸腺中の T 細胞新生を示している。すなわち、SCID 患者では T 細胞の新生が起らず TREC は検出できない。実際、この TREC 測定による新生児マススクリーニング (以下、NBS) が米国ウィスコンシン州で行われ、20 万人の新生児のうち 5 名の SCID 患者を診断したと報告されている (J Allergy Clin Immunol. 124: 522-527, 2009)。このように、欧米では SCID に対する NBS の導入が積極的に進められているが、本邦では診断法としては利用されているが、NBS としては行われていない。そこで、本研究では、原発性免疫不全症患者の早期診断を可能にする NBS の本邦での導入を検討するために、その系の確からしさを含め、当センター病院において TREC による NBS の導入を試みた。

B. 研究方法

ろ紙血からのサンプル調整と PCR に関しては、

dry blood spot (DBS) より 3.2mm のろ紙 (約 3 μ l 程度の血液) を採取し、そこから Purification kit (QIAGEN) を用いて DNA を回収した。得られた溶液の 20 μ l を用い PCR に TREC を増幅した。なお、内部コントロールとして β アクチンを用い、検量線を作成して TREC の値を決定した。

対象は、2015 年 3 月～11 月 (9 ヶ月) の期間に国立成育医療センターで出生した児である。

331 名に対して試験研究の説明をし、同意の得られた 303 名 (説明したうち 91.5% が同意) を検査した。

(倫理面への配慮)

これら一連の実験については施設内の倫理審査委員会の承認を受けている。また、得られたデータの管理に関しては連結可能匿名化し、個人情報保護法を遵守して行っている。なお当該新生児スクリーニングに関する実施計画書と説明パンフレットを作成し、当センター内に倫理委員会に実施に関する承認を求め、センター内の実施に関しては 2014 年 2 月 12 日、センター外からの検体の解析及び解析に関する外部委託に関しては改訂版を提出し、2015 年 10 月 8 日に承認された。

C. 研究結果

1. スクリーニングの結果

実施検体数は 303 検体で、うち陽性数 : 2 検体 (0.6%) であった。この 2 例は、リンパ球減少が 1 例、技術的エラーが 1 例あった。結果として SCID 患者は発見されなかった (0 名)。

結果の送付日時は、生後 23.7 \pm 5.3 日であった。検査できなかったケースは 28 名あったが、その理由は、時間がない (授乳中、体調不良等) というもので、検査を拒否したケースはなかった。

2. 陽性検体のフォロー

1 例 (A023) が、2 回の検査で TREC 5、25 と低値を示し (50 が cut off 値)、生後 1 ヶ月後の当センター免疫科を受診した。それまで、特に感染症を認めない。再検の結果 (生後 1 か月)、TREC

は 339 と正常値を示し、リンパ球数は 2,700 と正常範囲であった。

一方、生下時のリンパ球数は 900 と低値を示した事からスクリーニングの TREC 低値はリンパ球減少症が原因と判断し、最終的には一過性リンパ球減少症と診断した。

表 1. 陽性を示した症例 (A0023) の TREC (新生児期 2 回)

	Actin コピー/ μ l	TREC コピー/ μ l
正常コントロール	29800	377
陽性コントロール	48966	ND
A0023 1回目	87000	5
A0023 2回目	75677	25

表 2. 陽性を示した症例 (A0023) の TREC (生後 1 か月時再検)

	Actin コピー/ μ l	TREC コピー/ μ l
正常コントロール	16100	326
陽性コントロール	27133	ND
A0023	22367	339

D. 考察

T 細胞受容体 (TCR) の α 鎖の可変領域は variable region (V) と joining region (J) の二領域から構成され、また、同一遺伝子上に TCR・鎖があり、TCR・鎖の再構成の際にこの配列が環状 DNA (signal joint TREC : sjTREC) として切り出される。このため、TREC は以前より SCID を疑う症例の診断において利用され、現在では欧米を中心に幅広く導入され、多くの SCID 患者が発症前に診断されている。

今回、我々はこれら TREC による NBS を当センターへの導入を試みた。これまでのところ当センターで出生した 331 名の新生児に対し NBS の説明を行い、同意された 303 検体に対して TREC 測定を行った。その結果、2 検体の陽性があり、実際、1 名は false positive であった (約 0.3%)。この値を全国レベルに当てはめると日本では年間 100 万人の新生児が出生することから 3,000

検体に擬陽性が出現することになり、決して低いとは言えない数値である。このため、現在、精度管理として複数のキットの精度を、side by sideで検証しており、可能な限りこの false positive を減らすことでスクリーニングを維持して行くことが重要であると考えている。

一方、陽性であった1検体は実際にリンパ球の減少を反映していた。確かに、この新生児は一過性のリンパ球減少症ではあったが、新生児期にウイルス感染症の罹患率が高いことを考えると、これら TREC 値が低い新生児を早期に観察することは新生児期の重篤な感染症予防に繋がる可能性はある。

今後は、センター内の検体のみではなく、外部の施設からも検体を受け入れ、また、マススクリーニングを想定した解析の外部委託を目指し、実際の検体の流れや情報の保持を調査し、TREC の全国マススクリーニング導入に向けたパイロットスタディとしての本研究を継続して行っていく。

E. 結論

成育医療研究センター内で出産した新生児の

TREC によるスクリーニングを開始した。擬陽性率は 0.3%程度であり、この値はより小さなものにする必要があると思われた。

一方、TREC 低値の新生児は、実際に一過性のリンパ球減少症を呈しており、TREC のよる T 細胞数の評価は正しいものと思われた。今後はセンター外からの検体の受け入れ、外部に対して TREC 測定の依頼を行う。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakazawa Y et al: Effects of enzyme replacement therapy on immune function in ADA deficiency patient. *Clin Immunol* 161: 391-393, 2015.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし