

分担研究課題名：新生児マススクリーニング(NBS)の全国標準化に関する研究
研究分担者： 但馬 剛(国立成育医療研究センター)

タンデムマス・スクリーニング検査の標準化と精度管理

重松 陽介(福井大学医学部小児科・客員教授)

研究要旨：タンデムマス・スクリーニングの精度管理について、NPO法人を通じた外部精度管理、および検査施設の現地調査実施に関与した。検査施設の濾紙血中代謝物測定値には、機器や試薬などの違いを含めた諸種の要因によりバラツキが見られ、外部精度管理検査における分析精度にも施設差が見られた。スクリーニングシステムの向上には、外部精度管理方法の改良や機器・試薬メーカーの支援の質の改善が必要と考えられた。更にこれらの改善を目指す取り組みと共に、二次検査法の導入普及を進めていく予定である。

研究協力者

花井潤師(北海道薬剤師会公衆衛生検査センター技術顧問)
石毛信之(東京都予防医学協会小児スクリーニング科科长補佐)
稲岡一孝(大阪母子医療センター医療技術部特任職員)

A. 研究目的

タンデムマス・スクリーニングを実施している検査施設が、必ずしも日本マススクリーニング学会の検査施設基準を満たしていない現状を踏まえ、見逃しを起こさない、またスクリーニング対象者に無用な不安を惹起しないような良好な精度を保証する体制が望まれる。この体制を実現するために、外部精度管理体制を整備し検査システムの標準化に取り組む必要がある。

B. 研究方法

1. タンデムマス・スクリーニング普及協会が自治体から受託している精度管理事業に対して提言を行うため、外部精度管理に必要な検査用濾紙血の仕様、検査方法、データ収集方法、データ評価方法を検討した。
2. 外部精度管理事業などで明らかになっている検査施設毎の測定データの乖離を最小化

するため、測定法の実態を再評価し、標準化方法を検討した。

3. 見逃しを防止し偽陽性率を低減するための適正なカットオフ値の設定が可能となるように、発見患者データを収集し、検査施設毎のカットオフ値を再評価した。また、偽陽性率を低減させるために新たに追加した指標の再評価を行った。

4. 偽陽性率を低減し、精密検査での的中率を向上させるための二次検査法を開発し、運用方法を検討した。

C. 研究結果

1. 外部精度管理：健常新生児の低濃度、カットオフ濃度、患者での中濃度、患者での高濃度という4濃度の検査濾紙血を精度管理に用いること、日内変動と日間変動を評価するために1日5回で5日間測定を実施することが取り決められた。測定で得られるデータを処理するためのサーバーシステムと統計学的評価法が策定され、検査施設での検体処理および機器分析状況を評価することになった。

2. 標準化に向けた検討結果：前年度までの外部精度管理(1日2回で10日間測定)評価において、測定値のバラツキが大きかった施設の現地調査を実施し、分析方法や機器分析法の習熟不足などを確認することが出来た。また、スクリーニング指標の検査施設での測定値は、

統計学的に容認される範囲を超えてばらついている実態が明らかとなった。この乖離については、使用されている検査キットや検査機器の種類により特徴が見られた。検査施設の分析はキットメーカーや機器メーカーの支援に依存するところが大きく、その支援体制や支援内容について、実態調査が必要と判断された。

3. カットオフ値の適正化：内部精度管理データ及び患者データの収集が行われており、発見患者での指標の最低値とカットオフ値を標準化して比較する試みが行われているが、収集された患者データが必ずしも初回濾紙血での測定値では無いことがあり、明確な比較が出来ていなかった。標準化に向けた取り組み自体は適切であるので、更に初回濾紙血での測定値の収集を進めたうえでカットオフ値を評価することになった。CPT2 欠損症スクリーニングにおいては、正常検体測定値分布の統計値を用いてカットオフ値を設定したので、標準化は出来ているといえる。

VLCAD 欠損症スクリーニングにおける偽陽性率低減のための新指標について、スクリーニング発見患者データで検証したところ、 $C14:1/C14 > 1.0$ という判定法を用いると偽陰性になる症例が存在した(表1)ので、カットオフ値の調整が必要であった。

4. メチルマロン酸血症・ホモシスチン尿症関連疾患に対する二次検査法について、LC カラムの選択やサンプル調製法においてシステムの安定性を向上させる知見が得られたので、普及に向けて取り組む基盤が出来た。

D. 考察

タンデムマス法での濾紙血中代謝物測定値には、機器や試薬などの違いによりバラツキが生じる。ただ、試料調製法や機器調整法を標準化すればバラツキは統計学的に容認できるレベルに収めることが出来ると考えられるので、その方法を関係者が協議して確立する必要がある。また、タンデムマス・スクリーニング検査施設での年間分析検体数はおよそ 4,000~100,000 と幅があり、分析数の少ない施設での分析体制には解決すべき課題が存在する。迅速な分析が行われていなかったり、検査担当者のトレーニングが不十分であったり、検査施設運営者の検査に関する理解が不足していたりといった点である。そのような状況において、検

査施設の分析担当者の分析法習熟度を向上させる仕組みについては、例えば業務引き継ぎマニュアルの策定とか、メーカーによる機器講習機会の提供などが必要と考えられる。

E. 結論

検査施設の濾紙血中代謝物測定値には、機器や試薬などの違いを含めた諸種の要因によりバラツキが見られ、分析精度も必ずしも良好とはいえなかった。スクリーニングシステムの向上には、外部精度管理方法の改良や機器や試薬メーカーの支援の質の改善が必要と考えられ、二次検査法の開発普及とともに、更にこれらの点での取り組みが必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 重松陽介、但馬剛：CPT2 欠損症の一次対象疾患化に向けて。日本マススクリーニング学会雑誌。27(3):25-30, 2017.
2. Tajima G, Hara K, Tsumura M, Kagawa R, Okada S, Sakura N, Maruyama S, Noguchi A, Awaya T, Ishige M, Ishige N, Musha I, Ajihara S, Ohtake A, Naito E, Hamada Y, Kono T, Asada T, Sasai H, Fukao T, Fujiki R, Ohara O, Bo R, Yamada K, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Takayanagi M, Hata I, Shigematsu Y, Kobayashi M: Newborn screening for carnitine palmitoyltransferase II deficiency using (C16+C18:1)/C2: Evaluation of additional indices for adequate sensitivity and lower false-positivity. *Mol Genet Metab.* 122(3): 67-75, 2017.
3. Bo R, Yamada K, Kobayashi H, Jamiyan P, Hasegawa Y, Taketani T, Fukuda S, Hata I, Niida Y, Shigematsu Y, Iijima K, Yamaguchi S: Clinical and molecular investigation of 14 Japanese patients with complete TFP deficiency: a comparison with Caucasian cases. *J Hum Genet.* 62(9): 809-814, 2017.
4. 香川 礼子, 原 圭一, 但馬 剛, 重松 陽介, 藤原 紗季, 森岡 千代美, 吉井 千代子: マスクリーニング初回陽性・再採血正常の後に発症したビタミン B12 欠乏症の乳児例。日本マス・スクリーニング学会誌。27(1):63-67, 2017.

2. 学会発表

1. 重松陽介：CPT2 欠損症の一次対象疾患化に向けて．シンポジウム 2：タンデムマススクリーニングの現状と課題．第 44 回日本マススクリーニング学会．秋田市，2017．日本マススクリーニング学会雑誌．27(2)：40，2017．
2. 花井潤師、福士勝、石毛信之、田崎隆二、重松陽介、山口清次：Web 解析システムによる内部精度管理の構築．シンポジウム 2：タンデムマススクリーニングの現状と課題．第 44 回日本マススクリーニング学会．秋田市，2017．日本マススクリーニング学会雑誌．27(2)：41，2017．
3. 石毛信之：鑑別診断のための 2 次検査・特殊検査体制．シンポジウム 2：タンデムマススクリーニングの現状と課題．第 44 回日本マススクリーニング学会．秋田市，2017．日本マススクリーニング学会雑誌．27(2)：43，2017．
3. 湯浅光織、磯崎由宇子、畑郁江、大嶋勇成、重松陽介、原圭一、但馬剛：初回濾紙血での重症度評価が困難であった VLCAD 欠損症の一例．第 44 回日本マススクリーニング学会．秋田市，2017．日本マススクリーニング学会雑誌．27(2)：57，2017．
4. 香川礼子、但馬剛、原圭一、畑郁江、重松陽介、藤原紗季、森岡千代美、吉井千代子．リンパ球 MCAD 活性測定では非患者と判断された C8 高値遷延例の遺伝子型と脂肪酸酸化能試験．第 44 回日本マススクリーニング学会．秋田市，2017．日本マススクリーニング学会雑誌．27(2)：59，2017．

5. 原圭一、但馬剛、津村弥来、香川礼子、岡田賢、佐倉伸夫、畑郁江、重松陽介．CPT-2 欠損症のマススクリーニング：(C16+C18:1) / C2 の有用性の検討．第 44 回日本マススクリーニング学会．秋田市，2017．日本マススクリーニング学会雑誌．27(2)：60，2017．
6. 荒尾正人、山崎太郎、原嶋宏子、高田綾、齋藤一之、重松陽介、原圭一、但馬剛、大竹明．脂肪酸酸化異常症と乳幼児突然死：タンデムマスは予防に役立っているか．第 59 回日本先天代謝異常学会総会．川崎市．2017．日本先天代謝異常学会雑誌．33. 161，2017．

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

表1 VLCAD欠損症患児のスクリーニング初回濾紙血での指標値

| VLCAD欠損症患児 | 初回濾紙血 (カットオフ値) | | | | | VLCAD活性(%) [広島大学] |
|---------------|----------------|------|------------------|------------------|------------------|----------------------|
| | C14:1 (<0.40) | C2 | C14:1/C10 (<1.0) | C14:1/C12 (<1.0) | C14:1/C14 (<1.0) | |
| 症例1 (検査施設測定値) | 0.40 | 16.7 | 2.67 | 1.25 | 1.18 | 5 |
| (福井大学測定値) | 0.46 | 15.6 | 5.11 | 1.39 | 0.98 | |
| 症例2 (検査施設測定値) | 0.39 | 8.8 | 3.25 | 1.50 | 1.63 | 24 |
| 症例3 (検査施設測定値) | 0.74 | 14.1 | 3.52 | 1.85 | 1.85 | 13 |
| 症例4 (検査施設測定値) | 1.81 | 16.2 | 12.93 | 4.11 | 1.87 | 21 |
| 症例5 (福井大学測定値) | 4.57 | 12.4 | 13.44 | 6.35 | 1.07 | 11 |