

分担研究課題名：精度管理体制の構築

研究分担者：但馬 剛（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・室長）

定量 PCR 法による新生児スクリーニングの精度管理体制の構築（第 2 報）

研究協力者：石毛 信之（東京都予防医学協会母子保健検査部・部長）

研究要旨

白血球除去血液への TREC/KREC/SMN1/内在性 DNA プラスミドの添加によって定量 PCR 法の外部精度管理用ろ紙血を作成し、こども家庭庁による 2024 年度の実証事業の実施とともに、日本マスキリーニング学会の新規拡大新生児スクリーニング精度管理委員会を実施団体として外部精度管理を 2 回実施した。同委員会の想定判定外の報告が 2 件あったが、それ以外は適正に判定されており検査精度は良好と考えられた。しかし、本検査の再委託検査施設を中心に報告書提出までに 8 日以上要する施設が散見されたため、2025 年度にはその改善を求めている方針とした。

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）
富士 勝（株式会社札幌イムノ・ダイアグノスティック・ラボラトリー・顧問）

また、高齢者血液+各プラスミド添加血液を白血球除去血液で 10 倍/100 倍/1,000 倍/10,000 倍 に希釈した血液（6 段階の）をスポットした DBS を作成して EQC-精度試験（EQC-QC）用検体とした。

A. 研究目的

原発性免疫不全症（PID: 重症複合免疫不全症（SCID）、B 細胞欠損症（BCD））と脊髄性筋萎縮症（SMA）の定量 PCR 法による新生児スクリーニングについて、外部精度管理（EQC）用ろ紙血（EQC-DBS）を作製する。これを用いて、令和 6 年度こども家庭庁 SCID/SMA スクリーニング実証事業の外部精度管理を実施することにより、検査精度を確保するための精度管理体制を確立する。

B. 研究方法

1) EQC-DBS の作成

令和 5 年度報告書に記載した方法に基づき、EQC-DBS を作成した。日本マスキリーニング学会技術部会 拡大スクリーニング精度管理検討ワーキンググループ・定量 PCR 精度管理検討グループ（WG）メンバーの 9 施設によって試験測定を行い、使用可能か検証した。

2) EQC 実施体制の確立

日本マスキリーニング学会の専門委員会である新規拡大新生児スクリーニング精度管理委員会（nE-NBS 委員会）を設置して同委員会を実施主体として外部精度管理を実施することとした。

nE-NBS 委員会では、「重症複合免疫不全症、脊髄性筋萎縮症の新生児マスキリーニング検査に係る外部精度管理実施要綱」ならびに「重症複合免疫不全症と脊髄性筋萎縮症の新生児マスキリーニング外部精度管理実施手順」を定めた。

3) EQC-技能試験（EQC-PT）の実施

実施要綱ならびに実施手順にしたがって 2024 年 11 月に第 1 回、2025 年 2 月に第 2 回 PT 試験を実施した。実証事業では本 EQC を受けることを義務化している。本 EQC は、実証事業参加自治体のほか、実証事業には参加してい

ない検査施設（独自契約施設）も参加した。EQC参加契約は日本マススクリーニング学会と結び、実施主体はnE-NBS委員会とした。

2024年度の評価項目は、「検体の判定が想定判定と一致するかどうか」のみであり、検体到着から結果報告までの期限については含まれていない。これは、定量PCR検査を他者に再委託している検査施設があるためで、報告期限は「原則7日間（検体到着日をゼロ日）とするが、10日間まで考慮する」とした。

4) EQC-精度試験（EQC-QC）の実施

WGメンバーの9施設において、2025年1月にEQC-QCを実施した。

（倫理面への配慮）

該当なし

C. 研究結果

1) EQC-DBS 作成

第1回PT試験直前のWGによる試験測定で、ひとつの試薬メーカーキットでSMNIが増幅されない現象が生じた。そのため、ベースとなる血液を高年齢血液に変更してEQC-DBSを作成した。

2) EQC-PT の結果

第1回、第2回PT試験の参加検査施設数は、それぞれ27施設（実証事業委託施設20／独自契約施設7）、29施設（同22／7）であった。測定結果は2施設を除いて適正と評価された。判定に疑義がある2施設は実証事業委託施設と独自契約施設で各1施設であった。その内容は、前者では測定報告用のExcelファイルに事務的な誤入力（入力は「TREC陰性」→正しくは「不備検体」）であり、後者では想定判定と異なる判定（入力は「KREC陰性」→想定判定は「KREC陽性」）であった。該当施設には判定までの経緯の説明を求める確認報告書をnE-NBS委員会から送付し、内容を同委員会で確認後に受理した。なおこれらの施設で疑義がある報告となったのは2回のEQC-PTのうちの1回のみであり、他方では適正な結果と評価された。

検体受領から結果報告までの期限については、多くの施設で7日以内という原則が遵

守されていたが、EQC-PT開始前の懸念の通り、定量PCR検査を再委託している検査施設を中心に8日～10日を要している施設があった。その状況を表1に示した。報告までに日数を要した原因は様々で、検査再委託施設では、産科医療機関から受領した検体を受領当日に発送する施設もあれば、週に2回や週1回の施設もあり、発送するまでに6日を要している例もあった。再委託施設では平均経過日数は9日間（8-10日間）で、自施設で7日以内に検査する施設の平均経過日数5日に比べて3～5日程度、結果報告が遅れていた。一方、再委託施設以外にも検査開始まで、もしくは最終判定からMS研への報告までに1週間近く要した施設もあり、業務フローの見直しが必要と思われた。

これら8日以上の日数が経過した11施設については、年間報告書において報告日数短縮のための改善を検討いただくことを求めた。

実施報告書は、それぞれ2024年12月、2025年4月にこども家庭庁母子保健課、自治体、そして検査施設宛に送付した。実証事業委託施設と独自契約施設の年間報告書を図に示した。

3) EQC-QC の結果

EQC検討当初から作製されていた、白血球除去血液をベースとした血液が、QC検体に最も適正であった。

TREC/KRECは、10,000倍希釈血液ですべての検査キット・検査施設で陽性（カットオフ値未満）となったが、1,000倍希釈血液では正常判定となってしまう場合も各社キットでみられた。

SMNIは、すべての検査キットで1,000倍希釈血液までが陽性となった。

内在性DNAについては、TREC/KREC/SMNIを「陽性」または「正常」と評価することが可能な検体を作製するには、10倍希釈または希釈無し血液の濃度が必要であった。

D. 考察

想定外の判定となった結果報告が2検査施設で認められたが、それ以外の検査施設では陽性検体・正常検体は想定と相違なく判定されたことから、国内の検査施設の検査精度は

適正と評価できると考えられた。

2024年度のEQC-PT実施直前の試験測定でSMN1が一部測定不可となった詳細な原因は不明であるが、同一メーカーのロット間差が原因のひとつと推定されている。2024年3月から6月までのWGによる試験測定ではそのような現象は観察されなかった。この点は2025年度のEQC-DBS作成に際しても留意し、慎重に準備を進めることとした。また、ベースとなる血液に添加するプラスミド(TREC/KREC/SMN1/内在性DNA)の添加量については、一般検体よりも「濃すぎる」すなわち、「コピー数が極めて多い」または「Ct・Cq値が低値」となっていた。このため、プラスミド添加量を正常新生児検体分布の中央値レベルとすることを検討しているが、国内で使用されているキットでは測定結果(コピー数またはCt・Cq値)に差が認められることから、正常検体が陽性と判定されない共通レベルのプラスミド添加量とする検討を進めている。

報告日数の短縮については、現状のままでは改善する可能性は低いと考えられた。そこで、nE-NBS委員会では、2025年度のEQC-PTからは評価項目に加え、その提出期限は公費20疾患のEQC-PTと同様7日間にするものとした。報告までに8日以上要した施設には、確認報告書の提出を求めた上で、状況改善のための協議が必要と考えている。検体受領後から報告までの各段階に要する日数の短縮化に加え、本検査を外部委託している施設の中には検体転送の頻度の改善も求めたい。

第2回EQC-PTでは、実証事業参加自治体から検査委託を受けている全検査施設が参加

したが、独自契約施設では参加費用の捻出などの都合による不参加施設もあった。2025年度のEQCでは、PID・SMAの定量PCR検査を実施している全検査施設が参加するように働きかけたい。

E. 結論

定量PCR法によるSCIDとSMAの新生児スクリーニングの外部精度管理用PT-DBSを作成した。多くの自治体・検査施設が参加し、EQCを実施し、良好な成績を得た。また、報告書提出は7日以内を目標として、2025年度には改善を求めていく方針とした。

F. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表
 - 1) 石毛信之，吉田真一郎．拡大新生児スクリーニングにおける適切な外部精度管理のあり方．第 51 回日本マススクリーニング学会学術集会，シンポジウム 1：新生児スクリーニングの標準化と精度管理，熊本市，2024. 8. 23-24
 - 2) 花井潤師，石毛信之，福士勝．定量 PCR 検査のための外部精度管理．第 51 回日本マススクリーニング学会学術集会，シンポジウム 1：新生児スクリーニングの標準化と精度管理，熊本市，2024. 8. 23-24

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む） 該当案件なし

表1. 検体受領から結果報告まで8日以上経過した施設一覧

検査施設	該当PT 試験回	検体受領日から 結果報告日までの日数 ③+④+⑧	検体受領日 ～再委託先への 転送日 ①	再委託先への 転送日 ～検査日 ②	検体受領日 ～検査日 ①+②=③	検査日 ～最終判定日 ④	最終判定日 ～再委託元への 結果返送日 ⑤	再委託元への 結果返送日 ～結果報告日 ⑥	検査日 ～再委託元への 結果返送日 ④+⑤=⑦	最終判定日 ～ 結果報告日 ⑤+⑥=⑧	再委託施設への 転送タイミング
A	第1回	9			1	1				7	
B (⇒Kに再委託)	第2回	8	0	2	2	4	2	0	6	2	到着日発送
C	第1回	8			0	2				6	
D (⇒他施設に再委託)	第1回	10	0	1	1	2	3	4	5	7	週2回発送
	第2回	9	0	1	1	2	3	3	5	6	
E (⇒他施設に再委託)	第1回	9	5	1	6	2	1	0	3	1	週1回発送
	第2回	10	6	2	8	1	1	0	2	1	
F	第1回	8			1	1				6	
G	第2回	8			0	6				2	
H	第2回	8			6	2				0	
I (⇒Kに再委託)	第2回	8	0	2	2	4	2	0	6	2	翌日午前発送
J*	第2回	8			1	7				0	
K*	第2回	8			2	4				2	

※時系列： 検体受領日→（再委託先への転送日→）検査日→最終判定日→（再委託元への結果返送日→）結果報告日
 *：EQC-PT独自参加施設

a) 実証事業用（母子保健科宛）

令和7年3月31日

こども家庭庁 成育局 母子保健課 御中

**令和6年度 新生児マススクリーニング検査に関する
実証事業に係る外部精度管理 年間総合実施報告書**

一般社団法人日本マススクリーニング学会

1. 精度管理実施機関
新規拡大スクリーニング精度管理委員会

2. PT検体送付月日
令和6年11月11日、令和7年2月3日発送

3. 送付したPT検体とその種類
送付枚数：技能試験用検体 5 検体×2回＝10 検体
 ・TREC/KREC/SMN1のいずれかが陽性かつ内在性DNAが正常：3×2回＝6 検体
 ・TREC/KREC/SMN/内在性DNAのすべてが陰性（正常）：1×2回＝2 検体
 ・TREC/KREC/SMN/内在性DNAのすべてが陽性（不備検体）：1×2回＝2 検体

4. 実施方法
指定検査機関にて、PT検体を一般新生児検体と同様に測定し、「qPCR_PT試験_報告書」へ測定結果を入力し、メール添付で結果を報告。
入力された測定値の集計・解析後、測定値のまとめと評価を行い結果を報告。

5. 検査結果と評価

測定項目	各施設での送付 検体枚数	発送検体 総数	TREC/SMN1 判定結果との 不一致数
TRECが陽性かつ内在性DNAが正常	2	42	0
KRECが陽性かつ内在性DNAが正常	2	42	0
SMN1が陽性かつ内在性DNAが正常	2	42	0
TREC/KREC/SMN/内在性DNAのすべてが陰性（正常）	2	42	0
TREC/KREC/SMN/内在性DNAのすべてが陽性（不備検体）	2	42	1
計	10	210	1

b) 独自参加施設用

令和6年度SCID/SMAに係る
PT検体を用いた技能試験 年間総合 実施報告書

一般社団法人日本マススクリーニング学会

検査機関名

1. 精度管理実施機関
新規拡大スクリーニング精度管理委員会

2. PT検体送付月日
令和6年11月11日、令和7年2月3日発送

3. 送付したPT検体とその種類
送付枚数：技能試験用検体 5 検体×2回＝10 検体
 ・TREC/KREC/SMN1のいずれかが陽性かつ内在性DNAが正常：3×2回＝6 検体
 ・TREC/KREC/SMN/内在性DNAのすべてが陽性（正常）：1×2回＝2 検体
 ・TREC/KREC/SMN/内在性DNAのすべてが陽性（不備検体）：1×2回＝2 検体

4. 実施方法
指定検査機関にて、PT検体を一般新生児検体と同様に測定し、「qPCR_PT試験_報告書」へ測定結果を入力し、メール添付で結果を報告。
入力された測定値の集計・解析後、測定値のまとめと評価を行い結果を報告。

5. 年間総合 検査結果と評価

測定項目	検体枚数	判定結果との 不一致数
TRECが陽性かつ内在性DNAが正常	2	0
KRECが陽性かつ内在性DNAが正常	2	0
SMN1が陽性かつ内在性DNAが正常	2	0
TREC/KREC/SMN/内在性DNAのすべてが陽性（正常）	2	0
TREC/KREC/SMN/内在性DNAのすべてが陽性（不備検体）	2	0
計	10	0

図EQC-PT年間報告書（一部抜粋）