

先天性副腎過形成症スクリーニングの外部標準検体を用いた精度管理の研究
(分担研究：マス・スクリーニングの精度管理に関する研究)

成瀬 浩、渡辺倫子、鈴木恵美子、橋本延代、夏井裕子、五十嵐優子

【要約】先天性副腎過形成症(CAH)スクリーニング開始時より、17-OHP抗体の差異に基づく新生児検体測定値の差、標準物質が異なる点、試薬のロット差、各検査機関の手技的差などが問題になり、精度管理の早期開始が要望されている。このため、1、どの様な形の精度管理が適切か 2、どの様な外部標準検体が適切か 3、各社キット毎のカットオフ値が異なる現状で、どの様な濃度の外部標準検体の送付が適切か などについての研究を行った。我々は、現行の精度管理同様、カットオフ値よりやや高い値の検体を送付し、それが正しく見いだせるか否かを検査する方法を採用した。また、17-OHP抗体は、新生児血液中の他の物質と交差反応を示すことから、外部標準検体には、17-OHP以外に新生児血液に存在し、抗体と交差する物質が必要という結論になった。検討の結果、17 α -hydroxypregnenolone-3-sulfateの添加が効果的であった。このような検体を、従来の外部標準検体10枚に含め、協力を依頼した施設に送付したところ、送付した異常検体は全て拾い上げられた。現時点では、この様な方式の精度管理が可能ではないかと考えている。

見出し語：先天性副腎過形成症スクリーニング、精度管理、外部標準検体、交差反応

【緒言】今回、CAHスクリーニングの外部標準検体を用いた精度管理の基礎的研究を開始し、各スクリーニング施設の協力を得て、検討を行ったので報告する。

【方法と結果】今回、精度管理の研究として検討した内容を表Iに示した。まず、どの様な形の精度管理が適切かと言う問題であるが、我々は、現行の精度管理同様、外部標準検体を用いることとし、カットオフよりやや高い値の検体を送付し、それが正しく見いだせる

かどうかを見る形式が良いのではないかと考えた。既に、菊地らは、17-OHPを低濃度から高濃度まで含む5種類の濃度の乾燥血液濾紙検体を、スクリーニング施設に送付し、その測定値を回答してもらう方式で精度管理を実

表I 先天性副腎過形成症スクリーニングの外部標準検体を用いた精度管理の研究

- | |
|--|
| 1 どの様な形の精度管理が適切か |
| 2 どの様な外部標準検体が適切か |
| 3 各社キット毎のカットオフ値が異なる現状でどの様な濃度の外部標準検体の送付が適切か |

施しており、測定の正確度及びスタンダードの良否の把握のため、有効な方法と思われる。しかし、患児の発見もれを防ぐ目的を主とし、しかも精度管理を受ける側の負担を重くしない事を考え現行の精度管理と同様の形が良いと判断した。

次にどの様な外部標準検体が適当かと言う点であるが、成人血液に17-OHPのみ添加して外部標準検体を作製した場合、新生児検体とはかなり異なる反応が得られる。これは、各社キットの17-OHP抗体の特異性の差によるもので、新生児血液には、17-OHP抗体と交差する物質が存在するためと考えられる。したがって、成人血液を使用する場合、これらの交差物質を何か加える必要があると考えられた。

そこで、各社17-OHP抗体の交差反応性について検討を行った。検討したのは、5種のステロイド (Progesteron(P)、17 α -hydroxypregnenolone(17-OH Δ^5 P)、11-deoxycortisol(S)、21-deoxycortisol(21-DOF)、17 α -hydroxypregnenolone-3-sulfate (17-OH Δ^5 P-S)) であり、成人血液(Ht55%)に各ステロイドを100、500、1000 ng/ml添加し、血液濾紙検体を作製した。次に、各社キットを用いて、キット中の17-OHPスタンダードから上記ステロイドの各濃度が、どの程度17-OHPとして読み取れるかをみた。表IIには、前述の方法で得た各ステロイドの17-OHP測定への影響についてまとめた。使用した試薬キットは、A社(3位)、A社(7位)、B社(7位)であり、影響率とは、血液に添加されたステロイドが17-OHPとして測定された量を、添加したステロイド濃度で割り、100%表示したものである。なお、内在性の17-OHPは、あらかじめ測定し差し引いてある。水溶性の17-OH Δ^5 P-Sに対して、A・B

社の7位抗体使用のキットで影響は少なく、A社3位ではより強く影響が見られた。表IIIには、抽出法での影響率を示した。また、この実験の他に、ステロイド除去血液に各ステロイドを添加して血液濾紙を作製し、17-OHPと各ステロイドの標準曲線の B/B₀の50%濃度値より交差率を求めた。直接法での影響率は、この交差率とほぼ同様な傾向であった。

これらの検討より、新生児血液中に一定以

表II 各ステロイドの17-OHP測定への影響について (直接法)

	影響率(%)		
	A社(3位)	A社(7位)	B社(7位)
1.P			
100ng/ml	2.6	10.9	11.3
500 //	2.1	10.0	13.1
1000 //	1.7	9.0	11.2
2.17-OH Δ^5 P			
100ng/ml	7.4	1.6	1.6
500 //	4.9	0.8	0.7
1000 //	4.7	0.9	1.3
3.S			
100ng/ml	3.6	4.4	1.3
500 //	1.7	2.9	0.6
1000 //	1.2	2.8	0.6
4.21-DOF			
100ng/ml	3.7	1.6	1.1
500 //	2.6	0.6	0.9
1000 //	2.4	0.8	1.2
5.17-OH Δ^5 P-S			
100ng/ml	9.8	0.3	0.2
500 //	8.0	0.3	0.2
1000 //	6.6	0.2	0.3

表III 各ステロイドの17-OHP測定への影響について (抽出法)

	影響率(%)		
	A社(3位)	A社(7位)	B社(7位)
1.P			
100ng/ml	2.2	9.0	9.9
500 //	1.7	7.8	12.0
1000 //	1.4	8.4	10.1
2.17-OH Δ^5 P			
100ng/ml	6.3	0.8	2.0
500 //	5.5	0.7	0.8
1000 //	5.9	0.7	0.8
3.S			
100ng/ml	3.2	4.6	1.4
500 //	1.4	1.8	0.4
1000 //	1.2	1.0	0.5
4.21-DOF			
100ng/ml	2.5	1.2	0.6
500 //	1.6	0.2	0.2
1000 //	1.8	0.2	0.7
5.17-OH Δ^5 P-S			
100ng/ml	N.D	N.D	N.D
500 //	N.D	N.D	N.D
1000 //	N.D	0.1	N.D

影響率 = 各ステロイド濃度で17-OHPと測定された量 (ng/ml) / ステロイド濃度 (ng/ml) × 100%

上存在し、17-OHP抗体との交差性があり、抽出操作により影響が除かれる17-OH Δ^5 P-Sを血液に添加して検体を使用するのが適当であり、濃度は、100ng/mlが良いと考えられた。

以上の結果をもとに、検体を作製して全スクリーニング施設に送付し測定をしてもらい、外部標準検体としてどの程度の濃度が適切であるかを検討した(表IV)。第1回目は17-OHPを6ng/ml、8ng/ml添加し、さらに、それぞれに17-OH Δ^5 P-S 100ng/mlを加えた。49施設よりの測定結果が得られ、これをみると8ng/mlの検体でも、A社直接法で測定した施設の30%が、その施設のカットオフ値より低くなることわかったために、濃度を変えて再度検体を作製した。

第2回目は、17-OHPを10ng/ml、15ng/ml添加しそれぞれに17-OH Δ^5 P-S 100ng/mlを加え検体を作製した。51施設からの測定結果が得られ、送付した検体は、2施設を除き各施設で設定しているカットオフ値より高く測定された。

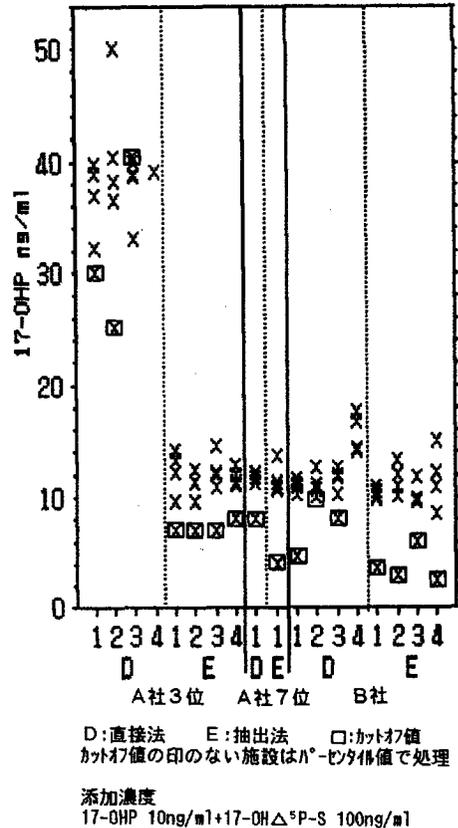
この試験的な検体の測定により、第2回目程度の濃度が良いと思われた。さらに、実際にこれらの濃度の検体を、従来の精度管理の外部標準検体10枚に含めて、精度管理を希望している施設、および協力を依頼した施設9ヶ所に4回送付した。図は、各施設の測定値の分布とカットオフ値を示したものであり、送付した検体は全て異常と判断されている。

表III 試験的に送付した外部標準検体がカットオフ値以下となる施設数

	回数	6ng/ml		8ng/ml		回数	10ng/ml		15ng/ml	
		直	抽	直	抽		直	抽	直	抽
A社-3位	23	11	14	7	4	24	2	0	2	0
A社-7位	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0
B社	25	5	0	4	0	25	0	0	0	0

直…直接法 抽…抽出法

図 測定値の分布と各施設のカットオフ値



【考案】CAHスクリーニングは、1989年1月より開始され、当時より、17-OHP抗体の差異に基づく新生児検体測定値の差、標準物質が統一できない点、試薬のロット差、各検査機関の手技的な差などが問題となり、精度管理の実施が望まれている。また、下澤らによれば、現行のカットオフ値はスクリーニング施設間でさまざまであり、重症例の発見にはほぼ適切だが軽症例については問題が残るとされている。これらの諸問題の解決のための最も効率のよい対策は、実際に即した精度管理の導入であろう。現時点では、今回報告した様な方式で、全国的な精度管理が可能ではないかと考えている。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



【要約】先天性副腎過形成症(CAH)スクリーニング開始時より、17-OHP 抗体の差異に基づく新生児検体測定値の差、標準物質が異なる点、試薬のロット差、各検査機関の手技的差などが問題になり、精度管理の早期開始が要望されている。このため、1.どの様な形の精度管理が適当か 2.どの様な外部標準検体が適当か 3.各社キット毎のカットオフ値が異なる現状で、どの様な濃度の外部標準検体の送付が適当かなどについての研究を行った。我々は、現行の精度管理同様、カットオフ値よりやや高い値の検体を送付し、それが正しく見いだせるか否かを検査する方法を採用した。また、17-OHP 抗体は、新生児血液中の他の物質と交差反応を示すことから、外部標準検体には、17-OHP 以外に新生児血液に存在し、抗体と交差する物質が必要という結論になった。検討の結果、17 - hydroxypregnenolone-3-sulfate の添加が効果的であった。このような検体を、従来の外部標準検体 10 枚に含め、協力を依頼した施設に送付したところ、送付した異常検体は全て拾い上げられた。現時点では、この様な方式の精度管理が可能ではないかと考えている。