

新生児マススクリーニング内分泌疾患検査結果(2021年度)

藤倉かおり 吉永美和 野町祥介
 三上 篤 伊藤 智 石井 玲*1 中村明枝*2

1. 緒 言

札幌市では、1977年4月にフェニルケトン尿症検査を開始して以来¹⁾、順次対象疾患を拡大しながら新生児マススクリーニングを実施してきた²⁻⁴⁾。内分泌疾患の検査は、先天性甲状腺機能低下症(CH)を1978年6月に^{5,6)}、先天性副腎過形成症(CAH)を1982年5月に⁷⁾開始し、現在まで継続して実施している。

今回は、2021年度の1年間に実施した新生児マススクリーニング内分泌疾患の検査結果について報告する。

2. 方 法

CH検査は甲状腺刺激ホルモン(TSH)及び遊離サイロキシシン(FT4)を、CAH検査は17-ヒドロキシプロゲステロン(17-OHP)及び関連4種ステロイド

(21-デオキシコルチゾール(21-DOF)、11-デオキシコルチゾール(11-DOF)、4-アンドロステンジオン(4-AD)、コルチゾール(F))を測定している。

CH検査はエンザプレートNeo-TSH 甲状腺刺激ホルモンキット及びエンザプレートN-FT4 遊離サイロキシシンキット(いずれもシーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社製)を用いた酵素免疫測定法(ELISA法)により実施している。

CAH検査はエンザプレートNeo-17 α -OHP 17-ヒドロキシプロゲステロンキット(同社製)を用いてELISA直接法により一次検査を行い、高値の検体について、高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法(LC-MS/MS法)により5種ステロイドを測定する二次検査を実施している^{8,9)}。

各検査の基準値は表1のとおり。

表1 対象疾患と検査方法

対象疾患	検査法		測定項目	判定基準
先天性甲状腺機能低下症	ELISA		TSH FT4	TSH $\geq 10 \mu\text{U/mL blood}$ 又は FT4 ≥ 4.0 又は FT4 $< 0.9 \text{ ng/dL serum}$ ただし一部出生体重・在胎週数等を考慮して判定する
先天性副腎過形成症	一次検査	ELISA	17-OHP	$\geq 5.5 \text{ ng/mL blood}$
	二次検査	LC-MS/MS	17-OHP 4-AD F 11-DOF 21-DOF	(A) 要精密検査基準 下記のいずれかを満たす ・21-DOF $\geq 2 \text{ ng/mL blood}$ ・17-OHP $\geq 50 \text{ ng/mL blood}$ ・在胎週数37週以上かつ17-OHP $\geq 20 \text{ ng/mL blood}$ (B) 要再採血基準 ・17-OHP $\geq 2.5 \text{ ng/mL blood}$ かつ 11-DOF/17-OHP 比 < 0.2 かつ Ratio I ≥ 0.1 (Ratio I = (17-OHP+4-AD) / F 比)

*1 札幌医科大学附属病院小児科 *2 北海道大学病院小児科

3. 結 果

3-1 検査成績

スクリーニング開始から2021年度までの通算検査成績を表2に、2021年度1年間の検査成績を表3に示した。2021年度はCH検査で23例が要精密検査となった。23例の詳細を表4に示した。CAH検査では要精密検査例はなかった。

3-2 追跡調査

2021年度に申請された小児慢性特定疾病(内分泌疾患)の対象2疾患の申請状況を表5に示した。先天性副腎過形成症として新規に申請のあった3名(表5の*印)について、その詳細を表6に示した。3名のうち1名は、本市スクリーニングを受検したが正常判定となっていた(症例①)。

表2 検査開始から2021年度までの通算検査成績

対象疾患	開始年月	初回検査数	精密検査数	診断の確定した患者数と内訳
先天性甲状腺機能低下症	1978年6月	769,129	983	先天性甲状腺機能低下症 : 301 中枢性甲状腺機能低下症 : 26 その他(新生児バセドウ病等) : 28
先天性副腎過形成症	1982年5月	685,944	155	21 水酸化酵素欠損症 塩喪失型 : 24 単純男性化型 : 5 非古典型 : 2 POR 異常症 : 1

表3 2021年度の検査成績

対象疾患	初回検査数	初回要再採血数(率(%))	要精密検査数	精密検査内訳
先天性甲状腺機能低下症	13,731	103 (0.750)	23	表4参照
先天性副腎過形成症	13,731	1 (0.007)	0	—

表4 2021年度先天性甲状腺機能低下症検査の要精密検査例

精密検査理由	人数	診断
TSH 高値 かつ FT4 低値	4	原発性甲状腺機能低下症 : 3 ※ 中枢性甲状腺機能低下症 : 1
TSH 高値	11	原発性甲状腺機能低下症 : 7 乳児一過性高 TSH 血症 : 4
TSH 高値 かつ FT4 高値	1	異常無し (異好性抗体による偽陽性の可能性) : 1
FT4 低値	5	原発性甲状腺機能低下症 : 1 中枢性甲状腺機能低下症 : 1 中隔視神経形成異常症 : 1 異常無し : 2
FT4 高値	2	甲状腺ホルモン不応症 : 1 異常無し : 1

※3名中2名は双胎の同胞

表 5 新生児マススクリーニング対象疾患の小児慢性特定疾病申請状況

疾患名	分類	札幌市での新生児マススクリーニング受検の有無			計
		受検有		札幌市で受検していない	
		要精密検査判定	正常判定		
先天性甲状腺機能低下症	新規	0	0	0	70
	転入	0	0	0	
	継続・再開	24	22	24	
先天性副腎過形成症	新規	2*	1*	0	9
	転入	0	0	0	
	継続・再開	5	0	1	

表 6 先天性副腎過形成症の新規申請者 3 症例の詳細(表 5 の*)

症例	マススクリーニング* 受検年度 在胎週数 出生体重	マススクリーニング結果									経過等	
		日齢	ELISA 法	LC-MS/MS 法								判定
			17-OHP	17-OHP	F	4-AD	11-DOF	21-DOF	11/17 比 ※	Ratio I		
①	2016 年度 39w 3,790 g	5	4.8	一次検査で 17-OHP<5.5 のため、LC-MS/MS による二次検査は実施せずに正常判定。							正常	非古典型 5 歳児健診で思春期早発症が疑われて精査となり発見
②	2019 年度 40w 2,946g	3	52.1	19.4	22.5	2.4	1.2	12.4	0.061	0.97	要精査	塩喪失型 外陰部形成術予定(2021.5.10 現在)
		8	1.4	0.5	102.7	<0.3	<1.0	<2.0	-	0.01	フォロー中	
③	2019 年度 39w 2,000g	0	>100	64.8	91.2	15.8	1.6	73.5	0.024	0.88	要精査	塩喪失型 2021 年 2 月に外陰部形成術実施
		5	6.9	3.0	2.5	0.7	<1.0	7.9	-	1.49	フォロー中	

※11/17 比:11-DOF/17-OHP 比
(ELISA 法及び LC-MS/MS 法測定値の単位 : ng/mL in blood)

表 7 症例①のマススクリーニング検体を用いた検証

症例	採血日	測定日	ELISA 法	LC-MS/MS 法						
			17-OHP	17-OHP	F	4-AD	11-DOF	21-DOF	11/17 比	Ratio I
①	2016/10/19 (日齢 5)	2016/10/25 (マススクリーニング時)	4.8	-	-	-	-	-	-	-
		2021/12/1 (CAH 診断後の再測定)	5.2	1.0	7.7	<0.3	<1.0	<2.0	-	0.14

3-3 CAH マスクリーニングで陰性であった CAH 患者について (症例①)

新生児マススクリーニング実施要綱の規定により、検査後の研究等への使用の承諾が得られた検体は検査後 10 年間保存することとなっており、症例①の日齢 5 における検体は、疾患が発見された 2021 年度の時点で冷凍保存されていた。マススクリーニングを実施した 2016 年当時の結果判定に問

題が無かったかを検証するため、この検体を用いて、ELISA 法による 17-OHP の再測定と LC-MS/MS によるステロイド測定を実施したところ、表 7 の通り正常判定となる値であった。

4. 考 察

4-1 CH 検査について

2021 年度の再採血率は 0.75%、精密検査率は

0.17%であり、2020年度(0.77%、0.21%)に比べて特に変化は無かった。

要精密検査例23名のうち、11名が原発性CH、2名が中枢性CHの診断であった。なお、CHの病型診断は神経細胞の発達が完了する3歳以降に行うことが推奨されている¹⁰⁾ため、これらの児における最終的な確定患者数は本稿で述べた結果から変動する可能性がある。

原発性CHの診断であった11名のうち2名は、在胎28週で出生した一卵性双胎で、日齢12での初回検査では正常判定であったが、低出生体重であるために行われた2回目検査(日齢75)においてTSHが上昇し、要精密検査判定となった。出生時より総合周産期母子医療センターに入院し治療を受けており、その後の発達は特に問題なく経過している。

CH検査は、甲状腺自体の障害により甲状腺ホルモンの産生低下が起こる原発性CHを対象疾患としており、全国的にTSH単独測定によるスクリーニングが一般的であるが¹⁰⁾、本市ではTSH単独測定では発見できない症例を発見することを目的に、FT4も全例測定している。今回、TSHが基準範囲内だがFT4が基準範囲外であったことにより7名が要精密検査判定となり、そのうち4名がそれぞれ原発性CH、中枢性CH、中隔視神経形成異常症及び甲状腺ホルモン不応症と診断された。中枢性CHと中隔視神経形成異常症の児については、当所から検査結果を連絡した際には既に治療が開始されていたが、原発性CHと甲状腺ホルモン不応症の児は、マススクリーニングにより早期に治療を開始することが出来た症例であり、FT4全例測定の意義を示すものとなった。

一方で、今回、TSHが高値かつFT4も高値という、内分泌学的に説明のつかない検査結果により要精密検査判定とした症例については、医療機関の血清による検査では異常は認められなかったことから、当所のELISA法での測定系に干渉する異好性抗体が児の血中に存在することが示唆された。

異好性抗体による影響を除去するために、ろ紙血からの抽出液にブロッキング剤を添加したうえでELISA法での測定を試してみたものの、やはりTSH、FT4ともに高値を示したため、異好性抗体存在の証明には至らなかった。TSHの異好性抗体により新生児マススクリーニングで陽性となった症例は過去に報告があるが¹¹⁾、TSHとFT4の両方が同時に影響を受けて高値を示した症例は新生児においては報告されておらず、非常に珍しい症例と思われた¹²⁾。

4-2 CAH検査について

CAH検査では、ELISA法による一次検査において17-OHPが高値であったものについて、ELISA抽出法により真値を確認する二次検査が全国的に実施されているが、17-OHPに構造が類似する夾雑物質による交差反応や、低出生体重児ではストレス性の17-OHP高値による偽陽性が多いことが課題となっている。NPO法人タンデムマス普及協会が毎年実施している新生児マススクリーニング実施状況調査では、2020年度のCAH検査の再採血率の全国平均は0.73%と高い割合で報告されている¹³⁾。

本市では、これらの偽陽性を減らし、陽性適中率を改善することを目的として、LC-MS/MS法により17-OHPに加え関連ステロイド4種を同時測定し、これらステロイドの濃度及び濃度比から総合的に判断する検査法を開発し、全国に先駆けて2011年度から二次検査法として運用を開始した^{8,9)}。その結果として本市のCAH検査では、2021年度の再採血率が0.01%であり、過去5年間(2016-2020年度)の推移をみても0.02~0.11%と明らかに低く抑えられており、LC-MS/MS法によるステロイド測定の運用により再採血率を大きく低減できている。この実績をふまえ、2018年の厚生労働省子ども家庭局母子保健課長通知において、CAHのスクリーニング方法として「免疫科学的測定法又はタンデムマス法」と初めてタンデムマス法(LC-MS/MS法)が併記された¹⁴⁾。さらに、21水酸化酵素欠損症の

診断・治療のガイドライン 2021 年改訂版¹⁵⁾においても、その実施が推奨されるようになったこともあり、現在は全国 35 施設中、当所を含む 10 施設において本法が導入されている。偽陽性率が減ることで保護者や医療機関の負担を軽減できることから、本法が今後さらに普及していくことを期待したい。

4-3 CAH マスクリーニングで陰性であった CAH 患者について

2021 年度に小児慢性特定疾病(内分泌疾患)の申請のあった CAH 症例①は、2016 年度のマスクリーニングにおいて、ELISA 法による一次検査で 17-OHP が基準値に満たなかったため正常判定となっていた。5 歳児健診で思春期早発症が疑われたため小児科を受診し、最終的に CAH の診断となった¹⁶⁾。冷凍保存されていた当時のマスクリーニング検体を用いて、ELISA 法による 17-OHP の再測定と LC-MS/MS によるステロイド測定を実施したところ、ELISA 法では 17-OHP が 5.2 ng/mL blood(当時の測定値は 4.8)であり、二次検査が必要かどうかを判定するカットオフ値である 5.5 に近いレベルであったものの、LC-MS/MS においては 17-OHP が 1.0 ng/mL blood となり、カットオフ値である 2.5 よりも明らかに低いレベルであったため、当所が設定している判定基準では当該患者を見つけることは不可能であったと確認できた。

当該患者の CAH の病型は非古典型であり、本来はスクリーニングの対象にはされていないが¹⁵⁾、これまでもスクリーニングによって一定の割合の非古典型症例が発見されている¹⁷⁾。精度の高い LC-MS/MS 法の導入により、判定基準の設定によっては、より多くの非古典型 CAH を発見できる可能性があるが、新生児期から小児期にかけて原則無症状であり、多くは小児期での治療が不要である非古典型 CAH をマスクリーニングで発見することの社会的、倫理的整合性については議論が必要と指摘されているところであり¹⁸⁾、当所においても今後

の状況を注視していきたい。

5. 結 語

2021 年度の CH 検査において、23 名が要精密検査となり、そのうち 11 名が原発性 CH、2 名が中枢性 CH、1 名が甲状腺ホルモン不応症、1 名が中隔視神経形成異常症と診断され、早期に治療が開始された。本市が従来全例に対して FT4 検査を実施していることで、原発性 CH のみならず、中枢性 CH など様々な症例に対して、早期に治療を開始する適切な機会を提供できている。

CAH 検査では 2021 年度に要精密検査例は無かった。2016 年度に正常判定としていた児が非古典型 CAH 患者であることが判明したが、当時のマスクリーニング検体を用いた検証の結果、当所が設定している判定基準では、この患者を見つけることは不可能であったことを確認した。

6. 文 献

- 1) 熊谷泰光, 前田博之, 林英夫 他: 札幌市における新生児の先天性代謝異常マスクリーニングについて, 札幌市衛生研究所年報, 5, 55-57, 1978
- 2) 山田慶子, 浅野みね子, 佐藤敏雄 他: 札幌市における昭和 53 年度先天性代謝異常マスクリーニング成績について, 札幌市衛生研究所年報, 6, 92-94, 1979
- 3) 野町祥介, 本間かおり, 花井潤師 他: 札幌市におけるタンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングのための体制整備, 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 65-72, 2006
- 4) 野町祥介, 吉永美和, 雨瀧由佳 他: タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングの事業化, 札幌市衛生研究所年報, 38, 31-36, 2011
- 5) 福士勝, 荒井修, 岸信夫 他: 固相法 TSH RIA によるクレチン症マス・スクリーニングの検討, 札幌市衛生研究所年報, 6, 63-69, 1979

- 6) 福士勝, 荒井修, 水嶋好清 他: 札幌市におけるクレチン症マス・スクリーニングについて, 札幌市衛生研究所年報, **10**, 61-64, 1983
- 7) 水嶋好清, 福士勝, 荒井修 他: プレート固相 EIA 法による乾燥濾紙血液中の 17-OHP および Cortisol の測定, 札幌市衛生研究所年報, **12**, 43-50, 1985
- 8) 藤倉かおり, 山岸卓弥, 田上泰子 他: 高速液体クロマトグラフィ-タンデム質量分析計による先天性副腎過形成症スクリーニング二次検査法の検討, 日本マス・スクリーニング学会誌, **23**(1), 85-92, 2013
- 9) 山岸卓弥, 藤倉かおり, 田上泰子 他: 高速液体クロマトグラフィ-タンデム質量分析法を用いた先天性副腎過形成症スクリーニングの判定基準の検討, 日本マススクリーニング学会誌, **26**(1), 43-50, 2016
- 10) 日本小児内分泌学会マススクリーニング委員会, 日本マススクリーニング学会: 先天性甲状腺機能低下症マススクリーニングガイドライン(2021年改訂版), https://www.jsms.gr.jp/download/CH_Guideline_2021_revised_%2010-27.pdf (2023年5月16日閲覧)
- 11) 原田正平, 矢野公一, 山野公明 他: 母体血中に甲状腺刺激ホルモン(TSH)測定系に干渉する物質が存在した軽症クレチン症の1例, 日本マス・スクリーニング学会誌, **9**(3), 75-79, 1999
- 12) 鈴木智晴, 大倉佳子, 林知美 他: 測定干渉により甲状腺刺激ホルモンと遊離サイロキシンが同時に異常高値を示した症例, 臨床検査, **41**, 835-839, 1997
- 13) 新生児スクリーニング実施状況調査 2021年度結果, [https://www.jsms.gr.jp/download/NBS_All_Result_Report%20\(2021%20Result\).pdf](https://www.jsms.gr.jp/download/NBS_All_Result_Report%20(2021%20Result).pdf) (2023年5月16日閲覧)
- 14) 厚生労働省子ども家庭局保健課長通知: 先天性代謝異常等検査の実施について, 2018
- 15) 日本小児内分泌学会(性分化・副腎疾患委員会、マススクリーニング委員会), 日本マススクリーニング学会、日本小児泌尿器科学会 他: 21-水酸化酵素欠損症の診断・治療のガイドライン(2021年改訂版), https://www.jsms.gr.jp/download/CAH_Guideline_2021_revised_10-27.pdf (2023年5月16日閲覧)
- 16) 高橋楓奈, 足立周平, 安藤悠開 他: 新生児マススクリーニング陰性で、幼児期に診断された非古典型 21 水酸化酵素欠損症の女児例, 第 55 回日本小児内分泌学会学術集会抄録集, 278, 2022
- 17) Kashimada K, Ishii T, Nagasaki K et al: Clinical, Biochemical, and genetic feature of non-classical 21-hydroxylase deficiency in Japanese children, *Endocrine Journal*, **62**(3), 277-282, 2015
- 18) 鹿島田健一: 21-水酸化酵素欠損症の新生児マススクリーニングの今後について, 日本マススクリーニング学会誌, **31**(1), 11-19, 2021