

人を対象とする医学研究にかかるとる研究計画書

1 研究課題名

LC-MS/MS によるろ紙血及び尿中総ホモシステインの測定

2 研究担当者

研究責任者： 保健科学課母子スクリーニング検査係

吉永美和

研究協力者： 保健科学課母子スクリーニング検査係

手塚美智子、石川貴雄

3 研究申請年月日

平成 30 年 9 月 5 日

4 研究期間

倫理審査委員会承認時から平成 32 年 3 月 31 日まで

5 研究の背景・目的

札幌市では、新生児マススクリーニングで要精密検査となった児及びマススクリーニング関連疾患が疑われる児を対象として、マススクリーニング関連疾患依頼検査（以下「依頼検査」という。）を行っている。

依頼検査では、新生児マススクリーニングの検査所見において、ホモシチン尿症及びメチルマロン酸血症が疑われる場合、また、臨床所見から関連疾患を疑う場合、ろ紙血検体及び尿検体を用いて、総ホモシステインを測定することにより、疑い疾患の絞り込み等に有用なデータを医療機関に提供している。

現在、総ホモシステイン検査は高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により行っている。しかし、予算的制約により機器更新が難しいことから、測定機器の老朽化が問題となる。

そこで、本研究では、HPLC から、新生児マススクリーニング代謝異常症検査に使用している測定機器（タンデム質量分析計（LC-MS/MS-8050（島津））へ、総ホモシステインの測定系の移行を行うことを検討したい。

6 研究の対象

- (1) 依頼検査の依頼があったろ紙血検体のうち、依頼項目に総ホモシステインが含まれており、HPLC による測定済の検体 65 件程度。
- (2) 2017 年度に受付された新生児マススクリーニングのろ紙血検体のうち、採血時日齢 4～

6 で、検査結果が正常判定であった 200 件程度。

- (3) 依頼検査の依頼があった尿検体のうち、依頼項目に総ホモシステインが含まれており、HPLC による測定済の検体 65 件程度。
- (4) 依頼検査の依頼があった尿検体のうち、採尿時年齢が 1 歳未満で典型的な代謝異常症の可能性が示唆されなかった検体 100 件程度。

7 研究の方法

札幌市衛生研究所が保有するタンデム質量分析計(LC-MS/MS-8050)及び NexeraX2 システムを用い、フローインジェクション法(カラムを用いた試料分離を行わず、複数の試料のサンプリングと分析を短時間で連続して行う分析法)で総ホモシステイン測定の検討を以下のとおり行う。フローインジェクション法での分析が難しい場合は、分離カラムとして、アミノ酸専用カラム(Intrada AminoAcid)、逆相カラム(Scherzo SW-C18)を用い検討を行う。

(1) 溶液での検討

ホモシステイン溶液を用いて、フローインジェクション法での測定条件を検討する。

(2) ろ紙血検体での検討

- ① ホモシステインが添加されている CDC 内部精度管理ろ紙血検体を用いて、ろ紙血検体の前処理方法、測定条件について検討を行う。
- ② ①の検体を分析し、アッセイ内及びアッセイ間変動係数を算出し、本法の精度を評価する。
- ③ 6(1)の検体を分析し、現行法とのデータ比較を行う。
- ④ 6(2)の検体を分析し、健常新生児の測定データを収集する。

(3) 尿検体での検討(尿検体のデータは、クレアチニン補正值で評価する。)

- ① 6(3)の検体を用いて、前処理方法、測定条件について検討を行う。
- ② 6(3)の検体を分析し、現行法とのデータ比較を行う。
- ③ 6(4)の検体を分析し、尿中総ホモシステインの測定データを収集する。

8 新たに収集する資料等

なし

9 既存資料等の利用

(1) 既存資料等の種類

- ① 6(1)の依頼検査ろ紙血検体、測定済の総ホモシステイン検査結果、採血日
- ② 6(2)の新生児マススクリーニングろ紙血検体、採血日
- ③ 6(3)の依頼検査尿検体、測定済の総ホモシステイン及びクレアチニン検査結果、採尿日

④ 6(4)の依頼検査尿検体、測定済のクレアチニン検査結果、採尿日

(2) 匿名化の取扱い及びその方法

① 依頼検査ろ紙血検体 (6(1)の検体)

氏名等の個人情報が切り取られ、検体番号のみが付けられた状態のろ紙血検体を使用する。測定後、本研究における測定結果と採血日データ及び HPLC での測定結果を結合し、検体番号を削除し、連結不可能匿名化した上でデータ解析を行う。ただし、これらの結合、検体番号の削除及びそのための台帳の管理は本研究に關与しない者が行う。

② 新生児マススクリーニングろ紙血検体 (6(2)の検体)

氏名等の個人情報が切り取られ、検体番号のみが付けられた状態のろ紙血検体を使用する。測定後、本研究における測定結果と採血日データを結合し、検体番号を削除し、連結不可能匿名化した上で統計的な正常値としてのみ使用する。ただし、これらの結合、検体番号の削除及びそのための台帳の管理は本研究に關与しない者が行う。

③ 依頼検査尿検体 (6(3)の検体)

氏名等の個人情報が削除され、検体番号のみが付けられた状態の尿検体を使用する。測定後、本研究における測定結果と採尿日データ、クレアチニン測定結果及び HPLC での測定結果を結合したうえで検体番号を削除し、連結不可能匿名化した上でデータ解析を行う。ただしこれらの結合、検体番号の削除及びそのための台帳の管理は本研究に關与しない者が行う。

④ 依頼検査尿検体 (6(4)の検体)

氏名等の個人情報が削除され、検体番号のみが付けられた状態の尿検体を使用する。測定後、本研究における測定結果と採尿日データ及びクレアチニン測定結果を結合したうえで検体番号を削除し、連結不可能匿名化した上で統計的な測定データとしてのみ使用する。ただしこれらの結合、検体番号の削除及びそのための台帳の管理は本研究に關与しない者が行う。

(3) インフォームドコンセントの手続き

① 依頼検査ろ紙血検体及び尿検体

依頼検査承諾書（別添資料）で「検査終了後の検体の利用について」に関して了承が得られているものを対象としており、本研究のための新たなインフォームドコンセントは取得しない。

② 新生児マススクリーニングろ紙血検体

新生児マススクリーニング申込書（別添資料）で「新生児マススクリーニングを終えた血液検体の他の研究等への利用について」に関して了承が得られているものを対象と

しており、本研究のための新たなインフォームドコンセントは取得しない。

10 予測される成果

本研究を行うことにより、総ホモシステインについて、今後も安定的な測定を行うことが可能となる。

11 研究を実施した場合の不利益

本研究では不利益はない。

12 費用負担

本研究を実施するにあたり、新たに発生する費用負担はない。

13 利益相反に係る申告

以下のとおり申告する。

ア 企業・団体からの収入の有無：無し

イ 株式・新株予約権等の取得・保有・売却、出資の有無：無し

ウ 融資、保証の有無：無し

エ 産学官連携活動の有無、種類、金額：無し

オ 産学官連携相手先との関係（株式（公開・未公開を問わない。）、出資金、ストックオプション、受益権等）の有無、種類、数量：無し

カ 無償での機材・役務・物品・試料等の提供の有無、種類、数量：無し

キ 企業・団体の役員等への就任の有無：無し

ク 企業・団体への兼業の有無：無し

14 研究成果の取扱い

本研究の成果は、札幌市衛生研究所年報などで発表する予定である。