

学位論文審査の結果の要旨

| | | | |
|--|-------|---|-------|
| 審査区分 課・  | 第382号 | 氏名 | 島田 祐美 |
| 審査委員会委員 | 主査氏名 | 伊東 弘樹  | |
| | 副査氏名 | 平松 和史  | |
| | 副査氏名 | 油布 邦夫  | |
| 論文題目 | | | |
| Stability of amino acids, free and acyl-carnitine in stored dried blood spots (保存濾紙血中のアミノ酸、遊離・アシルカルニチンの安定性) | | | |
| 論文掲載雑誌名 Pediatrics International | | | |
| 論文要旨 | | | |
| <p>【目的】先天代謝異常症に対するタンデムマス分析を導入した新生児スクリーニングは多くの先進国で実施されている公衆衛生事業であり、スクリーニング陽性時には迅速かつ効果的な治療が重要となる。一方、新生児スクリーニング実施後に保存されている濾紙血中のアシルカルニチンとアミノ酸の長期的な安定性についての生化学的な情報は少なく、保存濾紙血を用いた後方視的な解析は限られている。そこで申請者は、新生児スクリーニング後に冷蔵保存された濾紙血中のアミノ酸、遊離・アシルカルニチンの安定性について検討した。【方法】新生児スクリーニング後に冷蔵(5℃)保存されていた健常新生児198検体の乾燥濾紙血を1、3、6か月、1、2年後に再度タンデムマス分析を行い、項目ごとに作成した散布図より近似式と相関係数を求め、相関性の有無とその特性について前方視的に確認した。また、新生児スクリーニング後に4年間冷蔵保存されていた健常新生児90検体の乾燥濾紙血を再度タンデムマス分析し、後方視的に検討した。【結果】前方視的検討の結果、アミノ酸ではプロリン(Pro)、チロシン(Tyr)は変化なく相関を保持した。アラニン(Ala)、アルギニン(Arg)、フェニルアラニン(Phe)は相関を保持していたが徐々に減少した。遊離・アシルカルニチンでは相関を保持していたC0は経時的に増加し、C3、C5、C10、C14、C16、C18、C18:1はほぼ変化しないか、やや減少した。C3/C2、C0/(C16+C18)、C14/C3も相関性を保持し、やや増加した。また、後方視的検討の結果、アミノ酸ではAla、Arg、ロイシン、オルニチン、Phe、Pro、Tyr、バリンが相関性を保持していた。遊離・アシルカルニチンではC0、C5OH、C10、C12、C14、C14:1、C16、C18、C18:1、C0/(C16+C18)は相関を保持していた。【考察】新生児スクリーニング後に4年間冷蔵保存された乾燥濾紙血は、アミノ酸代謝異常症の中で、プロリン血症、チロシン血症、アルギニン血症、フェニルケトン尿症を診断できる可能性がある。有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症のうち全身性カルニチン欠乏症、イソ吉草酸血症、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ1(CPT1)欠損症、メチルマロン酸血症とプロピオン酸血症、カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ(CACT)欠損症も後方視的に推測可能である。しかし相関性は保持されていても経時的にC2値は減少し、C0値は増加するため偽陰性と判断する可能性があり、その評価は慎重に行う必要がある。なお、カビによる汚染の可能性もあったため、後方視的に解析可能な濾紙検体の可否ならびに保存条件について、多施設での検討が必要と考えられる。</p> <p>本研究は、新生児スクリーニングと保存濾紙血を用いた遺伝学的検査を組み合わせることで、先天代謝異常症の診断を行うことが可能であり、家族に遺伝カウンセリングを通して正確な情報提供の実施が期待できる。そのため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p> | | | |

~~最終試験~~

の結果の要旨

学力の確認

| | | | |
|---------------|-------|-------------|-------|
| 審査区分 課・(論) | 第382号 | 氏名 | 島田 祐美 |
| 審査委員会委員 | 主査氏名 | 伊東 丞樹 (伊東印) | |
| | 副査氏名 | 平松 和史 (平松印) | |
| | 副査氏名 | 油布 邦夫 (油布印) | |

学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。

1. 先天性代謝異常症は、各種アミノ酸や遊離・アシルカルニチンが上昇あるいは低下のどちらで診断されるのか。またどのくらいの値で異常と判断するのか。
2. 先天性代謝異常症の確定診断の方法にはどのようなものがあるか。
3. 保存濾紙血液から将来的に後ろ向き測定をすることのメリットはどのようなものか。
4. 実際にこの方法で出生時の測定をしたことで役立つ症例があるか。
5. 保存濾紙提供メーカーで、保存条件は決まっているのか。
6. 今回の検討で使用した機器や試薬は、期間中すべて同じものを用いて検討を行ったか。
7. 今回の検討で用いた機器や試薬での検査誤差はどの程度か。
8. 今回の検討で、測定者間の検査誤差はあるのか。
9. 有意な相関とみならず相関係数の決め方は一般にコンセンサスの得られた値か。
10. いくつかのアミノ酸やカルニチンなどで、全体としての相関は保たれているが、個々の検体で見るとどのくらいの割合でほぼ同じ値となっているのか。その割合が低いと、全体として相関があっても検査としては使いにくいのではないか。
11. 実際に異常症とされる各項目の測定値は、相関グラフのどのあたりにプロットされるか。
12. 相関のグラフで項目によって値がばらつくものもあればかなり安定して高い相関を示すものもあるがこの違いは何が原因か。
13. 相関のグラフで項目によって長く保存していると値が小さくなっていくものと逆に大きくなっていくものがあるのはなぜか。
14. 前方視的検討において、3年後のデータの解析を行ったか。
15. 大分県内のSIDS症例と先天性代謝異常症の関連を現在調査しているのか。
16. 将来的に濾紙の性状を工夫するなり、保存方法や採取方法を工夫するとさらに長時間保存しても安定した測定値が得られる可能性があるか。
17. 濾紙に抗真菌剤を塗布するなどの方法は可能であるか。
18. 実際濾紙の性状を工夫するなり、保存方法や採取方法を工夫するということは始められているか。

これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 島田 祐美

論 文 題 目

Stability of amino acids, free and acyl-carnitine in stored dried blood spots

(保存濾紙血中のアミノ酸、遊離・アシルカルニチンの安定性)

要 旨

【緒言】

先天代謝異常症に対するタンデムマス分析を導入した新生児スクリーニングは多くの先進国で実施されている公衆衛生事業である。先天代謝異常症では、新生児スクリーニング陽性時の迅速かつ効果的な介入が特に重要である。一方、新生児スクリーニング実施後に保存されている濾紙血中のアシルカルニチンとアミノ酸の長期的な安定性についての生化学的な情報は少なく、保存濾紙血を用いた後方視的な解析は限られてきた。今回我々は新生児スクリーニング後に冷蔵保存されていた濾紙血中のアミノ酸、遊離・アシルカルニチンの安定性の特徴について検討した。

【研究方法および結果】

(1) 新生児スクリーニング後に冷蔵 (5°C) 保存されていた健常新生児の 198 検体の乾燥濾紙血を 1、3、6 か月、1、2 年後に再度タンデムマス分析を行い、各項目ごとに作成した散布図より近似式と相関係数を求め、相関性の有無とその特性について前方視的に確認した。同様に新生児スクリーニング後に 4 年間冷蔵 (5°C) 保存されていた健常新生児の 90 検体の乾燥濾紙血を再度タンデムマス分析を行い後方視的に検討した。

(2) 2年間の前方視的検討の結果、アミノ酸ではプロリン (Pro)、チロシン (Tyr) は変化なく相関を保持していた。アラニン (Ala)、アルギニン (Arg)、フェニルアラニン (Phe) は相関を保持していたが徐々に減少していた。遊離・アシルカルニチンでは相関を保持していた C0 は経時的に増加し、C3、C5、C10、C14、C16、C18、C18:1 はほぼ変化しないか、やや減少した。C3/C2、C0/ (C16+C18)、C14/C3 も相関性を保持し、やや増加した。

(3) 4年間の後方視的検討の結果、アラニン (Ala) の測定値が著しく低い検体が 12 検体あり、それらは他の項目においても低値を示しておりすべての解析から除外した。78 検体による 4 年間の後方視的検討では、アミノ酸では Ala、Arg、ロイシン(Leu)、オルニチン(Orn)、Phe、Pro、Tyr、バリン (Val) が相関性を保持していた。遊離・アシルカルニチンでは C0、C5OH、C10、C12、C14、C14:1、C16、C18、C18:1、C0/ (C16+C18) は相関を保持していた。

【考察および結語】

新生児スクリーニング後に 4 年間冷蔵保存されていた乾燥濾紙血は、適切な補正式を用いることによってアミノ酸代謝異常症の中で、プロリン血症 (Pro)、チロシン血症 (Tyr)、アルギニン血症 (Arg)、フェニルケトン尿症 (Phe) を診断できる可能性がある。有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症のうち全身性カルニチン欠乏症 (C0)、イソ吉草酸血症 (C5)、カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 1 (CPT1) 欠損症 [C0/(C16+C18)]、メチルマロン酸血症とプロピオン酸血症 (C3 かつ C3/C2)、カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ (CACT) 欠損症 (C16 かつ [(C16+C18:1)/C2]) も後方視的に推測可能である。しかし相関性は保持されていても経時的に C2 値は減少し、C0 値は増加するため偽陰性と判断する可能性があり、その評価は慎重に行う必要がある。

ただし、冷蔵室での保管中の濾紙血がカビにより汚染された可能性があり、後方視的に解析可能な濾紙検体であるか評価する指標の検討や保存条件の異なる多施設での検討が今後必要と考えられる。

将来的に保存濾紙血を用いた遺伝学的検査を組み合わせることで、遺伝性疾患である先天代謝異常症の診断を確実に行うことが可能であり、家族に遺伝カウンセリングを通して正確な情報を提供できることが期待できる。