

1 研究課題名

LC-MS/MS を用いたステロイド測定項目の追加についての検討

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 阿部正太郎

研究協力者： 保健科学課母子スクリーニング検査係 藤倉かおり 山岸卓弥

3 研究申請年月日

令和元年（2019年）6月5日

4 研究期間

倫理審査委員会承認から令和4年（2022年）3月31日

5 研究の目的・概要

先天性副腎過形成症（CAH）は、コルチゾール等の分泌不全を起こす副腎酵素における常染色体劣性遺伝疾患群の総称であり、各酵素をコードする遺伝子異常による21-水酸化酵素欠損症、3β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症、11β-水酸化酵素欠損症及び17α-水酸化酵素欠損症の4つの酵素欠損症に加え、ミトコンドリア内コレステロール輸送蛋白を原因とするリポイド過形成症、17α-水酸化酵素及び21-水酸化酵素への電子伝達系の異常によるPOR欠損症等が存在する。CAHは1.5万人に一人程度の頻度で発生するが、そのうちの90%程度を21-OHDが占めると考えられている。また、札幌市においては、2014-2018年度で21-OHD患者2名、POR欠損症患者1名の発生を確認している。

当所では、医療機関からの依頼により、マススクリーニング関連疾患が疑われる児等を対象とした検査（依頼検査）を実施している。CAHにおける依頼検査では、最も頻度の高い21-水酸化酵素欠損症（21-OHD）の指標物質である、17-ヒドロキシprogesterone（17-OHP）を含む5種類のステロイド代謝産物（表1）を、高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析計（LC-MS/MS法）により測定している。

一方で、21-OHD以外のCAHの場合、それらの疾患に特異的なステロイド産

表1 現行の測定項目

名前	
17-OHP	17-ヒドロキシprogesterone
4-AD	Δ4-アンドロステンジオン
F	コルチゾール
11-DOF	11-デオキシコルチゾール
21-DOF	21-デオキシコルチゾール

物が異なるため、補助診断法としての現行の測定法の有用性は低い。

そこで、本研究は、21-OHD 以外の疾患の補助診断に有用な可能性がある 7 種のステロイド代謝産物（表 2）を、現行の測定系に追加した全 12 種類のステロイド代謝産物の分析法を構築し、追加項目の血中濃度分布を把握することで、依頼検査の有用性の向上を目的として実施する。

表 2 追加を検討する項目

名前		疑われる疾患
DHEA	デヒドロエピアンドロステロン	3β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症 POR 欠損症
T	テストステロン	11β-水酸化酵素欠損症 17α-水酸化酵素欠損症
Prog	プロゲステロン	17α-水酸化酵素欠損症
Preg	プレグネノロン	3β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症
DOC	11-デオキシコルチコステロン	17α-水酸化酵素欠損症 11β-水酸化酵素欠損症
17-OHPreg	17-ヒドロキシプレグネノロン	3β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素欠損症
B	コルチコステロン	17α-水酸化酵素欠損症

6 研究対象となる検体

札幌市内の母子保健事業「新生児マススクリーニング」において、2018 年度以降に検査を実施し、正常判定であったろ紙血検体のうち、検査申込書(別添資料)において「検査を終えた検体の他の研究等への利用」に関する了承(包括的同意)を得たもののうち、早産児（在胎週数 36 週以前）及び満期産児（37 週以降）それぞれについて、無作為に抽出した 150 検体。

なお、測定の結果、異常が疑われるときは、当該検体について再度測定を行う。異常であることが確認された場合は、本人及び保護者等へ知らせる意義についてコンサルタント医へ相談し、知らせるべきと判断された場合は倫理審査委員会と再度協議し、その取り扱いについて決定するものとする。

7 研究方法

(1) 測定条件の検討

検討対象物質の標準液を調整し、LC-MS/MS 法を用いた分離及び検出条件について検討する。検討後、譲渡血液を用いて検討対象物質を添加したろ紙血を作成し、検出限界及び精度等について評価する。

(2) 正常群における値の測定

「6 研究対象となる検体」に記載の検体について測定し、正常群における数値の把握を行う。

なお、早産児（在胎週数 36 週以前）と満期産児（37 週以降）について、結果に差が生じることが予想されるため、これらの 2 検体群についてそれぞれ測定を行う。

8 新たに収集する試料等

なし

9 既存試料等の利用

(1) 既存試料等の種類

「6 研究対象となる検体」に記載の検体及びこれらにおける、測定結果に影響を及ぼすと考えられる性別、出生体重、出生日、採血日及び在胎週数についての情報。

(2) 匿名化の取扱い及びその方法

本研究では、新生児マススクリーニングにおける氏名等の個人情報 は切り取られ、検体番号のみが付けられ連結可能匿名化されたろ紙血検体を使用する。本研究における測定結果と新生児マススクリーニングにおける 9-(1)に記載のデータを結合したうえで、検体番号を削除し、連結不可能匿名化した後データ解析を行う。

測定結果の結合並びに検体番号の削除及びそのための台帳の管理は、本研究に関与しない者が行う。

(3) インフォームドコンセントの手続き

他の研究等への利用についての包括的同意を得られている検体のみを使用することから、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

21-OHD 以外の疾患の診断補助に有用な可能性があるステロイド代謝産物について、依頼検査の受け入れ態勢を整え、血中濃度分布における正常範囲を把握しておくことで、診断確定の補助となる可能性が高まる。特に、年間数件程度の実績がある、外性器異常等の症状がある児等において、疾患の可能性の除外及び追求の両側面において有用である。また、診断を確定することにより、副腎不全の発症、外性器異常、性腺機能異常、血圧異常等合併リスクの把握が可能になることに加え、補充療法等の要否を早期に検討することができ、生命予後の改善及び QOL の維持につながる可能性がある。

さらに、一括で測定する方法を構築することにより、現行の測定項目と同時に行うことができるため、精度管理の面で有利となる。

11 費用負担

研究対象者の費用負担はない。

研究に必要な経費については、衛生研究所の事業費(スクリーニング検査費)から負担する。

12 研究を実施した場合の不利益

本研究では不利益は生じない。

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

研究成果については、札幌市衛生研究所年報、学会等での学術的な発表、学術論文などで発表する予定である。

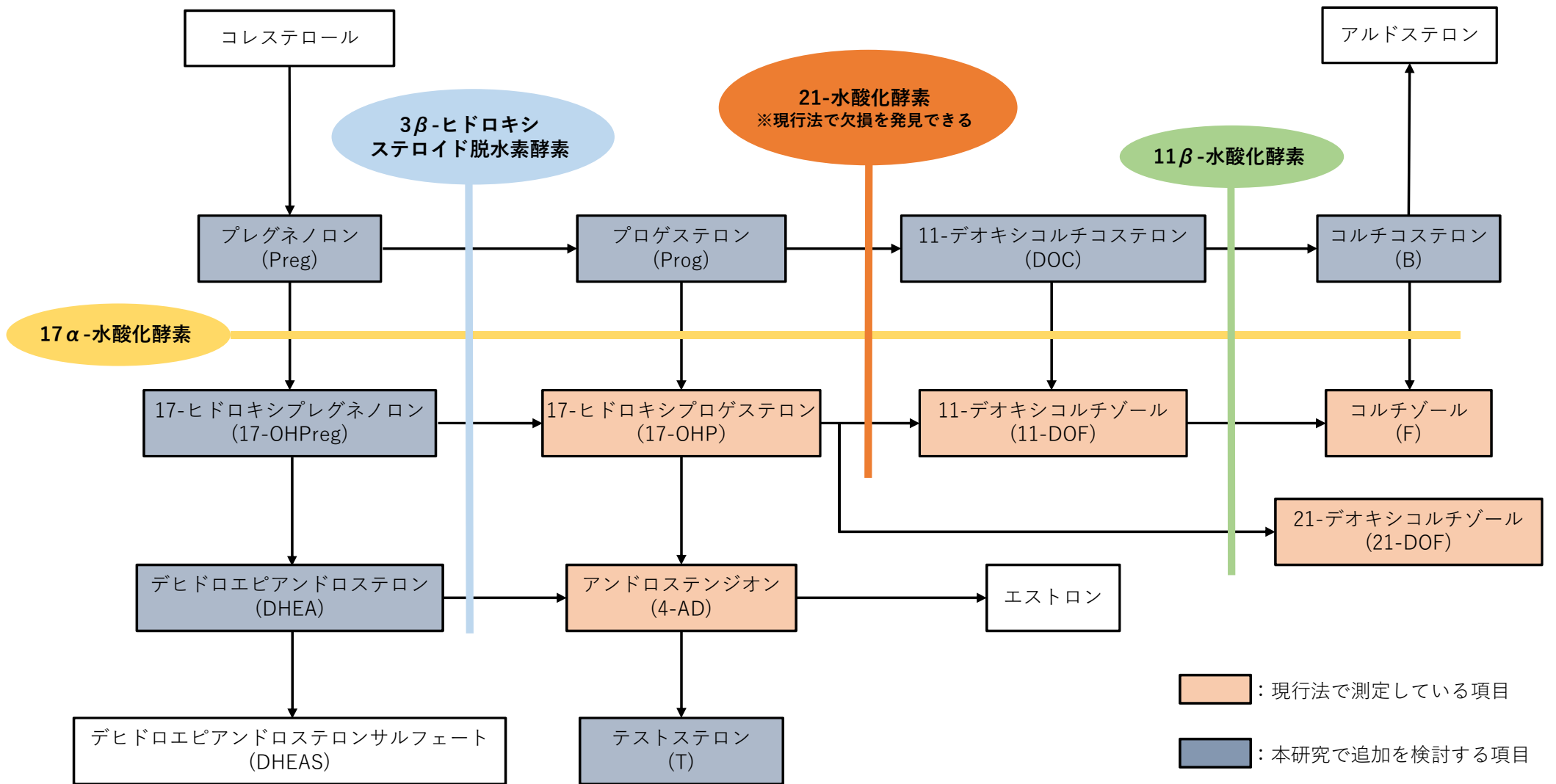


図 ステロイド合成経路図