

厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
分担研究報告書

病理検査における品質・精度の確保

研究分担者 佐々木 毅 東京大学医学部附属病院 病理部・病理診断科

研究要旨：特に検査分類の「体細胞遺伝子検査」の分類について研究した。従来の臨検法では体細胞遺伝子検査は「病理学的検査」に含まれているが、その一方で新たな検査分類では、高度の技術を要する「遺伝子・染色体関連検査」を別枠にまとめる案も検討されている。今回、preanalytic な検体の管理、ハンドリングの観点も含め、「体細胞遺伝子検査」の分類法の検討を行った。結果は、特に病理検体を用いた体細胞遺伝子検査では、腫瘍細胞比率や採取部位などが重要となり、同じ腫瘍でも採取部位によってはキメラ遺伝子が捕まらないなどの問題が論文等でも指摘されており、病理検体を用いた体細胞遺伝子検査は、別出しにするよりも「病理学的検査」の中に位置づけるべきであるとの結論に至った。体細胞遺伝子検査も含む新たな病理学的検査に関する分類を文末に貼付した。

A. 検体検査の品質・精度管理等について

「病理学的検査」に関する、「衛生検査所」及び「医療機関内における業務委託（プランチラボ）」について、検体検査の品質・精度管理に関する規定（主として省令事項）は、以下のようになっている。

5. 病理学的検査

#13 病理組織検査、#14 細胞検査、#15 免疫組織化学検査

- ・ 既知標本用いて、検査担当者の技能評価（月1回以上）
- ・ 検査の目的に応じて、試薬、固定液及び染色液等が適切に用いられているかの確認（適時）
- ・ 検査依頼書に不明確な点があれば、委託元に問い合わせをするなどの確認（随時）

#16 分子病理学的検査

- ・ 既知標本を用いて、検査担当者の技能評価（月1回以上）
- ・ 検査の目的に応じて、試薬が適正に用いられているかを確認（適時）

#17 体細胞遺伝子検査（血液細胞によらない場合）

- ・ 既知を標本用いて、検査担当者の技能評価（月1回以上）
- ・ 検査の工程毎に検査精度のチェック（毎日）

* #13 #16 に関しては、「医療機関」における品質・精度管理においても、他の微生物，血清学的，血液学的，寄生虫学的，生化学的検査と同レベルの程度で設定するのがよい。

* #17：体細胞遺伝子検査（血液細胞によらない場合）に関して

- a. 「既知を標本用いて，検査担当者の技能評価（月1回以上）」とあるが、この点に関して，とくに NGS（次世代シーケンサー：Next Generation Sequencer）のような多遺伝子検査の場合には遺伝子を調べる上での標品を得るのが難しい可能性がある。
- b. i-Densy のような簡便な操作で行う遺伝子検査機器の場合と NGS や通常のサンガー法による解析の場合では作業工程が大幅に異なり，また難易度も異なるため，同一の基準での運用が難しい可能性がある。個別に対応する必要がある，あるいはキット化されているものとそうでないものは，施設基準や品質・精度管理を別に設ける必要がある。
- c. 特定機能病院のような先進的な検査を担うことが必要な組織では、LDT（自家調製検査法：Laboratory Developed Test）として先進的検査を樹立・実施する必要があるが、そうした探索的な検査の場合にも検査センターのような画一的な検査基準が適応されてしまうと、自由度が無くなり、新たな検査手法が生れなくなってしまう可能性がある。衛生検査所の規定を「基本」とするのはよいが、「医療機関」の場合にはそのままの運用ではなく、新たに加えるべき項目を検討する必要がある。
- d. 医療機関内の場合には、「検査グレード」「臨床研究グレード」の規定が必要と考えられ，検査法の開発途上あるいは探索的な手法等には画一的な検査基準は当てはめないなどの対応が必要と考えられる。

B. 検体検査の質の向上のために追加すべき事項

* 体細胞遺伝子検査（血液細胞によらない場合）に関しては下記のような事項の追加が必要ではないか？

- a. 核酸抽出に関する手技のレベルチェック
- b. 抽出核酸の品質チェック（核酸品質）
- c. 遺伝子解析系（解析パイプライン）の精度、安定性

体細胞遺伝子検査に関しては，病理診断に使用したパラフィン固定ホルマリン検体（Formalin fixed paraffin embedded tissue：以下 FFPE）を使用した検査が必要になることが多い。この場合 FFPE 標本の固定などを含む、pre-analytical process が検体の質を左右する因子として非常に重要にな

ってくる。これに関しては、細かい規定を含む「診療版ガイドライン」を策定し、ゲノム医療実践の現場ではそれを遵守するような試みが必要である。

C. 遺伝子関連検査の質の担保を行うために、新たに設けるべき規定

- a. 標準化された手法を定めた「ガイドライン」が必要
- b. 遺伝子関連検査の「質の担保」には、「人材育成」をさらに積極的に行っていく必要がある。臨床検査技師等、コメディカルの人材育成も必須であると考えられ、「遺伝子関連検査専門臨床検査技師」などの資格制度も検討されるべきであろう。

D. 検査分類について（特に体細胞遺伝子検査について）

- a. 「腫瘍組織の体細胞遺伝子検査」では検査検体の品質管理に、タイムスタンプの概念が導入される可能性が想定されている。また、腫瘍細胞の含有率などが結果に及ぼす影響が極めて大きい。従って、病理組織検査も含めた組織検体の品質管理という点からは、病理学的検査の大分類に留めておくのがよいと考える。
- b. FFPE 標本を用いた体細胞遺伝子変異に関する分析結果が衛生検査所（プランチラボ含む）によって異なっていたとの報告がある。また、FFPE 標本を用いた体細胞遺伝子変異に関する検査の技術の標準化はまだ途上である。現段階では、日本病理学会が策定した「ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程」がよく参照され、技術の標準化・向上を図る段階にある。
- c. 体細胞遺伝子検査に用いられることが多い FFPE 標本は現在、病理学的検査、病理医の管理下にある。検体の固定時間・温度、検体の状態の確認、切り出し部位の確認、腫瘍部の中で遺伝子検査に供する組織片（ブロック）の選択、含まれる腫瘍細胞比率の確認など、現在は病理医が関わる場所がかなり大きいと考える。ISO/TC276 のバイオバンク試料の認証に関しても、クオリティーコントロールの工程がかなり強調されており、病理学的検査から外枠にした場合にはこのクオリティーコントロールの保証が困難となる可能性が高い。
- d. 癌の体細胞遺伝子検査での germline の遺伝子検査は、いまだにパネル検査では問題が多く指摘されている。したがって、癌の体細胞遺伝子検査と生殖細胞系列の遺伝子変異を同じレベルの検査にすることは現在の技術では適切ではないと考えられる。
- e. 今後、リキッドバイオプシーを含めた体細胞遺伝子検査が行われるが、病

理学的体細胞遺伝子検査と併せて評価されるべきであり，血液検体のみの検査では患者の全体像を把握できない可能性がある．

- f. さらに，がんの体細胞遺伝子検査に対する網羅的解析が入ってくると，結果を誰が責任をもってサインアウトすべきなのかの議論が必要になる（患者治療に直接に影響を及ぼすという観点からは医師の「絶対的医行為」に相当する「診断」と考える）．その議論を行ったうえで「遺伝子関連検査」の扱いをどうするか検討すべきである（米国ニューヨークの Memorial Sloan Kettering Cancer Center においては、遺伝子診断報告書のサインアウトは病理医（anatomical pathologist）が行っており，米国内に広がりがつつある）．
- g. 精度管理の観点からは Clinical sequence などを想定すると，体細胞遺伝子検査について，何処までが検査の範疇（pre-analytical, analytical, post-analytical）で，どこからが「diagnosis（診断）」となるのかによって内容が違ってくるが，明確な線引きは難しいと考える．米国 CLIA の遺伝子領域に相当するようなレベルを臨検法に求められれば，明確に出来る可能性はあるが現状では難しいと考える．

以上，「体細胞遺伝子検査は pre-analytical な段階から病理学的検査として分類・管理することが重要」であり，現行の体細胞遺伝子検査を，分子病理学的検査に含め，全体の「検査分類」を以下のように行うことを意見として提出した．

なお，本分類に関しては，日本病理学会 常任理事会，理事会，ゲノム病理診断検討委員会でも了解済であり，日本病理学会学術集会総会でも会員に紹介し，意見を求めた．

検査分類の検査内容について(案)			
別表中欄の分類	検査用機械器具	検査項目の例	基準区分 (高/施設認定)
微生物学検査			
細菌培養同定検査	・ふ卵器 ・顕微鏡	・各種検査材料の細菌顕微鏡検査 ・培養同定検査(真菌、抗酸菌を含む)	
薬剤感受性検査	・高圧蒸気滅菌器	・細菌、酵母様真菌、抗酸菌の薬剤感受性検査	
免疫学的検査			
免疫血清学検査	・自動免疫測定装置又はマイクロプレート用ウォッシャー・リーダー	・感染症免疫学的検査 ・肝炎ウイルス関連検査 ・自己抗体検査 ・血漿蛋白検査	
免疫血液学検査	・恒温槽	・輸血関連検査	
血液学的検査			
血球算定・血液細胞形態検査	・自動血球計数器 ・顕微鏡	・末梢血液一般検査 ・末梢血液像検査	
血栓・止血関連検査	・血液凝固検査装置	・出血時間 ・凝固・線溶検査 ・血小板機能関連検査	
細胞性免疫検査	・フローサイトメーター	・細胞表面マーカー ・LST ・顆粒球機能検査	
病理学的検査			
病理組織検査	・顕微鏡 ・マイクローム	・病理組織標本作製	
免疫組織化学検査	・パラフィン溶融器 ・パラフィン伸展器 ・染色に使用する器具又は装置	・免疫染色病理組織標本作製(ER、PgR、HER2、EGFR、CCR4、ALK融合タプルなどを含む)	
細胞検査	・顕微鏡	・細胞診検査	
分子病理学的検査	・顕微鏡 ・蛍光顕微鏡 ・核酸増幅装置 ・核酸増幅産物検出装置もしくはDNA シークエンサー ・標識核酸検出機器 ・高速冷却遠心器 ・安全キャビネット	・遺伝子標本作製(HER2、ALK融合遺伝子などを含む) ・癌関連遺伝子検査 ・病原体核酸検査(ISH法) ・白血病・悪性リンパ腫関連遺伝子検査 ・Major BCR-ABL1変異解析 ・WT1mRNA ・免疫関連遺伝子再構成 ・EGFR変異解析 ・BRAF V600変異解析 ・RAS遺伝子変異解析 ・サイトケチン19mRNA(OSNA法) ・マイクロサテライト不安定性検査 ・キヌラ遺伝子検査	高・施設認定
生化学的検査			
生化学検査	・天びん ・精製水製造器	・蛋白質・酵素・糖質・脂質・電解質など	
免疫化学検査	・自動分析装置又は分光光度計	・腫瘍マーカー ・内分泌学的検査	
血中薬物濃度検査	・自動分析装置又は分光光度計	・抗がん薬、抗てんかん薬、免疫抑制剤など	
尿・糞便等一般検査			
尿・糞便等一般検査	・顕微鏡	・尿検査 ・便潜血検査 ・穿刺液・採取液検査	
寄生虫検査		・虫卵・虫体検査	
遺伝子関連検査・染色体検査			
病原体核酸検査		・肝炎ウイルス関連 ・EBV DNA、CMV DNA ・淋菌及びクラミジアrRNA同時同定 ・抗酸菌核酸同定 ・インフルエンザ、SARSコロナウイルス ・HTLV-1、HIV-1 ・HPVジェノタイプ	高・施設認定
体細胞遺伝子検査	・顕微鏡 ・核酸増幅装置 ・核酸増幅産物検出装置もしくはDNA シークエンサー ・高速冷却遠心器 ・安全キャビネット	・癌関連遺伝子検査 ・白血病・悪性リンパ腫関連遺伝子検査 ・Major BCR-ABL1変異解析 ・WT1mRNA ・免疫関連遺伝子再構成 ・EGFR変異解析 ・BRAF V600変異解析 ・RAS遺伝子変異解析 ・サイトケチン19mRNA(OSNA法)	高・施設認定
生殖細胞系列遺伝子検査		各種遺伝学的検査	高・施設認定
染色体検査	・CO2インキュベーター ・クリーンベンチ ・写真撮影装置又は画像解析装置	・先天性疾患の染色体検査 ・血液疾患の染色体検査 ・固形腫瘍の染色体検査	高・施設認定