

## 自家開発の NGS 遺伝子パネル遺伝学的検査の品質要件の設定に関する研究

研究分担者 原田 直樹  
京都大学 iPS 細胞研究所 准教授

### 研究要旨

国策ゲノム医療の実装を目的として、医療法と臨床検査技師法に関する法律が改正され、2018年12月から施行された。新規制では検体検査分類が一部変更され、遺伝子関連検査と染色体検査において新たな検査室の管理と精度確保の基準が設定されている。ゲノム医療の対象のひとつに難病・希少疾患が設定されているが、診断を目的とした遺伝学的検査では、専門医の関わりのもと、長らく診療と研究が区別されずに実施されてきた経緯があり、新規制に合う検査体制への移行は容易ではない。

現時点の課題として、診療の用に供する検査と研究を区別し、多数の疾患責任遺伝子を標的化した NGS 遺伝子パネルの検査室による自家開発検査（Laboratory Developed Test, LDT）としての実用化が必要と考えられるものの、その具体的品質を特定する法令や学会指針等がないことが挙げられる。この課題への具体的解決策として、海外で公表済みの標準化ガイドラインや論文を参考に、LDT 開発時点で臨床的妥当性と分析的妥当性を確認する項目と手順の検討を行った。

難病・希少疾患を対象とした体外診断薬や医療機器の開発を行う事業者が今後現れる見込みは低く、前記の妥当性確認後に個別 LDT の安全性を含めた品質性能を検査事業者が文書化し、利用者に開示して検査が運用されるべきである。

### A．研究目的

希少遺伝性疾患が多数含まれる難病等を対象とした遺伝学的検査では、項目毎の検体数が少なく、開発経費の回収が見込めないために体外診断薬や医療機器の開発を行う事業者が存在しない。また、現状の個別遺伝学的検査の保険点数が現実的な検査稼働コストに見合わず、事業性が見込めないために、LDT を開発して参入する登録衛生検査所が大変少なく、国内の遺伝学的検査実施機関は極少数しか存在しない状況である。同時に、我が国に LDT に対する規制は存在せず、実用化される LDT 遺伝学的検査の品質を特定し、医療機関が利用の適否を確認することが容易ではない状況でもある。希少難病の診断検査を合理的に医療実装するためには、多数の疾患関連遺伝子を標的化した次世代シーケンサー(NGS)によるパネル遺伝学的検査の LDT としての開発が現実的な解決策と思われるが、その具体的品質基準を早急に明らかにすることが必要と思われる。

LDT においては、外部機関による技能試験を前提にチェックリストが作成され、その準拠の度合いが確認されることで品質保証がなされる。米国病理学会（College of America Pathologist, CAP）が提供する技能試験が最もよく知られており、外部精度管理の枠組みとして世界中で利用されている。臨床検査室認定プログラム（Laboratory Accreditation Program, LAP）の要件として技能試験を設定しており、検査室の認定取得を以って品

質保証の根拠とするものである。同様の考え方により、日本臨床検査標準協議会（JCCLS）が ISO15189 による認定取得を前提に遺伝子関連検査のためのガイダンス文書を 2019 年に公表している。CAP-LAP, JCCLS-ISO15189 のいずれも、チェックリストや要求事項に基づき検査室に対して技能試験、あるいは査察を行い、検査室・機関が認定を受けることによって間接的に検査室自体の品質保証を行うものである（図 1）。個別 LDT 検査項目の開発時点で行うべき具体的な検証項目や手順がこれらのチェックリスト・要求事項ではカバーされてはならず、この点が個別の LDT の品質を特定することが難しい主な要因と思われる。

そこで、欧米諸国の遺伝医学関連学会、病理医学会、専門職能団体等が公表済みの標準化ガイドライン、専門誌で公表された論文を参考に、開発時点における臨床的妥当性の確認と検査の設計、分析的妥当性の検証手順の検討を行った。さらに稼働後に実施すべき品質管理の内容についても検討を行った。

### B．研究方法

遺伝学的検査の有用性を客観的に評価する基盤として米国疾病予防管理センター（CDC）が提案する ACCE モデル（<https://www.cdc.gov/genomics/gtesting/acce/index.htm>）がよく知られる。LDT の開発段階においては、臨床的妥当性と分析的妥当性を評価し、当該項目の品質を特定すること、およびその後の検体検査の稼働後においても、定常的にベリフィケーションを行うことで品

質管理を行うことが求められる。そこで、NGSパネル遺伝学的検査を項目開発段階と検査の運用段階に分け、具体的な妥当性検証項目や対応すべき事項の検討を行った(参照元とした資料・論文を文末にリストして示す)。なお、検査工程のうち、バイオインフォマティクスとITインフラに関する妥当性評価については、現時点で特定のツールを対象として要件を定義することが困難と思われる、本研究の対象に含めていない。またウェットおよびインフォマティクスプロセスを経て出力され、検出・報告されるバリエーションの病原性を解釈する過程について、国内では検査に含める工程であるのか、医療行為なのか、その職能要件を含めて現時点で明確化するのには困難であり、本研究の対象からは除外している。

## (倫理面への配慮)

特記事項無し

## C. 研究結果

個別LDTの開発段階を設計、最適化、妥当性検証の3つに分けた。検査の運用段階では品質管理について対応すべき事項を整理した(図1)。Santaniらが各段階の確認事項を具体的にリストアップしており、大変参考になる(Santani et al., 2019)。以下はSantaniらが公表した情報を基本として、他の情報と合わせ、筆者の解釈を加えて記載するものである。

### 開発段階

#### 1. 設計

診断検査の対象とする疾患、標的として取り込むべき遺伝子、重要なバリエーションを特定し、詳細を開発文書に記載しなければならない。特定の疾患と関連する遺伝子、疾患と関連する遺伝子に報告されているバリエーションの変異スペクトラム、1つの遺伝子が複数の疾患原因となる場合に報告対象とする疾患をあらかじめ決めておくことである。疾患と遺伝子の関連を確認する際には、ClinGenのGene-Disease Clinical Validity Results (<https://search.clinicalgenome.org/kb/gene-validity>)が最も確実な根拠となるはずである。

#### (ア) 遺伝子/疾患/バリエーション

<確認して記載すべき情報>

- ・ 遺伝子シンボル (HGNC), 遺伝子別名
- ・ 遺伝子ID (Entrez, Ensemble, 等)
- ・ 遺伝子-疾患ペア  
疾患名, 疾患コード (Monarch, OMIM, Disease Ontology, etc.)  
遺伝子-疾患関連性の強さ (ClinGen Gene-Disease Clinical Validity)
- ・ 疾患の特徴  
遺伝子型式 (AD, AR, XL, ミトコンドリア, 不明)  
有病率  
遺伝子の寄与度 (検出率)  
分子機序 (GOF, LOF, DN)
- ・ SNVs/Small indels  
Missense (すべての臨床的に重要なバリエーションにおける検出%)  
Nonsense, frameshift, splicing (すべての臨床的に重要なバリエーションにおける検出%)
- ・ CNVsとSVs

遺伝子全体または遺伝子内のCNVs

(有/無) (すべての臨床的に重要なバリエーションにおける割合)

他のSVs (Y/N) (すべての臨床的に重要なバリエーションにおける検出%)

#### ・ その他

他の特徴的なバリエーションの種類

(例: repeat expansion)

#### ・ 再発/一般的なバリエーション

既知のバリエーション (有/無)

(リスト化する)

#### ・ 非翻訳領域のバリエーション

臨床的に重要な典型的検査領域の外部にバリエーションが存在するかどうか

#### (イ) 遺伝子についての技術的留意点

<確認して記載すべき情報>

- ・ 遺伝子シンボル (HGNC)
- ・ 染色体座位
- ・ ゲノム座標 (GRCh37/GRCh38)
- ・ 転写産物数
- ・ 主要な転写産物のID
- ・ コードエクソン数
- ・ 追加で含めるべき転写産物
- ・ 追加で含めるべきエクソン
- ・ バッファーとして含めるイントロンの塩基数初期値 (ex +/-15bp)
- ・ バッファー初期値からの変更  
スプライス領域の変更の有無  
例1) homopolymer stretches (ex)による  
バッファーの短縮  
例2) 既知の疾患原因バリエーションの存在による  
バッファーの延長
- ・ 臨床的に重要な非翻訳領域の追加  
例1) イントロン内部のバリエーション  
例2) 非翻訳エクソン/プロモーター
- ・ 検査に追加で含めるべき領域の数  
GC含有量の高低によるハイブリダイゼーションキャプチャーやPCRに影響を受ける領域の抽出
- ・ 検査領域全体の平均GC含量
- ・ 高GC含量のエクソンの全体比 (%)
- ・ 低GC含量のエクソンの全体比 (%)
- ・ 問題となる疾患原因バリエーションを含むエクソンのリスト  
100%の相同性によりNGS不可能な領域の抽出
- ・ 問題となる翻訳領域の全体比 (%)
- ・ 問題となるエクソンの全体比 (%)
- ・ 問題となる疾患原因バリエーションを含むエクソンのリスト
- ・ 特記事項  
例) 遺伝子内、またはその他の領域内の相同配列領域  
Segmental Duplicationの存在によりNGS不可能な領域
- ・ 問題となる翻訳領域の全体比 (%)
- ・ 問題となるエクソンの全体比 (%)
- ・ 問題となる疾患原因バリエーションを含むエクソンのリスト
- ・ 特記事項

#### (ウ) 検査対象領域のリストアップ

(ア)と(イ)の情報をもとに検査対象領域を選

定し、補足的に追加する検査の要否を決定する。

< 確認して記載すべき情報 >

- ・ 遺伝子
- ・ 転写産物
- ・ エクソン / 領域
- ・ 疾患原因となるエクソンのリスト
- ・ バッファ
- ・ cDNA開始点、終止点
- ・ 染色体 (GRCh37/GRCh38)  
開始点、終止点
- ・ 最重要なバリエーション (有/無)  
(ア)を参照
- ・ GC 含量の問題 (有/無)  
(イ)を参照
- ・ 配列相同性の問題 (有/無)  
(イ)を参照
- ・ 検査に含めるか否か (有/無)
- ・ 最重要なバリエーションを含む領域でありながら検査に含めない場合に、追加検査を開発する ( )  
検査の限界として明記する ( )

## 2. 検査の要求事項と最適化

1の設計過程で収集した情報をもとに検査要件を設定する。ここでは臨床的妥当性と臨床的有用性を確保するために、当該検査項目に遺伝子・バリエーションが必要かどうかを明確にして確定する必要がある。検出したバリエーションを評価する過程で病原性が不明なもの (Variant of Uncertain Significance: VUS) の割合を高めることなく、診断の目的に合うようにするため、検査に絶対に含めるべきものをメンデル遺伝病と関連する遺伝子 (Gene associated with Mendelian disorder, GADs; GADはClinGenがその疾患との関連をdefinitive, strongまたはmoderateのカテゴリーに含めているものと定義) とし、その他は関連が不明な遺伝子 (Gene of uncertain significance, GUSs; GUSはClinGenがその疾患との関連がlimitedまたはdisputed evidenceのカテゴリーに含めているものと定義) として、含めることが考慮されるべきものとして区別する。次いで、所要日数、検証する検体材料 (血液、唾液等)、検査項目パッケージとする際のコスト、将来の処理数拡大の必要性などの要件を設定する。検査要件を設定する協議はすべての利害関係者によって慎重に議論され、文書化され、承認される必要がある。

(エ) 検査要件

< 確認して記載すべき情報 >

- ・ 選定した遺伝子領域のそれぞれについて  
必要あり (GAD) ( )  
考慮すべき (GUS) ( )  
決定した理由:
- ・ 週/月あたりに必要な検体処理量  
必須 ( )  
考慮すべき ( )  
決定した理由:
- ・ 総物品コスト  
必須 ( )  
考慮すべき ( )  
決定した理由:
- ・ 各領域の正確なバリエーションコールに必要な read depth

必須 ( )

考慮すべき ( )

決定した理由:

- ・ 検体とする材料のそれぞれについて  
必須 ( )  
考慮すべき ( )  
決定理由:
  - ・ 追加検査が必要とされる問題領域  
必須 ( )  
考慮すべき ( )  
決定した理由:
  - ・ 期待される検査所要日数  
必須 ( )  
考慮すべき ( )  
決定した理由:
  - ・ シークエンズランで異なる検査項目を含めるかどうか  
必要 ( )  
考慮すべき ( )  
決定した理由:
- 他の要件を必要に応じて追加  
(例)

- ・ 需要が見込まれるマーケットの期待
- ・ 既存の機器による制限
- ・ 規模拡大への期待
- ・ 情報インフラによる制限

(オ) 初期の検査設計

ここでは要件を初期の検査設計に展開する。まず、対象となる全体のゲノム領域のサイズを試算し、特定のシークエンズ機器とキットの組み合わせを検討する。1回のランでシークエンズできる検体数、および1週間で効率的に処理できるおおよその検体数が推定できる。データの出力、コスト、ラン時間から、適当な機器、キット、フローセルサイズを決定する。

別の重要な留意点は、検査技術法でPCRアンプリコンとハイブリダイゼーションキャプチャベースに大別される。一般に、キャプチャベースの検査がより多くの遺伝子を同時に調査できるのに対し、アンプリコン技術ではPCR最適化による柔軟性が技術的に困難な領域への対処に役立つ可能性がある (GC含有量が高い領域への対処等)。

検体の取り違えを検出するには、検体の同一性を追跡する必要がある。報告すべきバリエーションの確認検査が有用であるが、陰性の検査結果には適用されないことを留意しておく必要がある。

< 確認して記載すべき情報 >

シークエンズ機器記載表

機器

試薬キット

出力データ量

所要時間

機器コスト

保守契約コスト

試薬キットコスト

制限事項:

標的領域のサイズ

- ・ 遺伝子1  
エクソン数  
コード領域のサイズ
- ・ 遺伝子2  
エクソン数



- コード領域のサイズ
- ・エクソン総数  
標的サイズの総和
- ・エクソンの外側のバッファゾーン  
(50塩基を推奨)  
1ランの適切な検体数を試算
- ・1ランの出力(塩基数)
- ・望ましい平均カバレッジ( X)
- ・理論上の検体数 /ラン  
出力 /平均カバレッジ
- ・期待される検体数 /ラン
- ・期待される月間の検体処理量  
結果確認
- ・報告の前にバリエーションの確認を行うか?  
(有/無)
- ・全ての検体の検体IDを追跡するか?  
(有/無)  
検体毎の初期コストを試算
- ・ランコストを予想検体数で割った値
- ・DNA抽出コスト
- ・ライブラリー調整コスト
- ・他の消耗品
- ・確認または追加検査のコスト
- ・労務見積もり
- ・間接経費見積もり(機器の減価償却を含む)
- ・1検体あたりの総コスト(前記の合計)
- ・総コストに10%の再検率を含める

(カ) 検査要件の再確認  
初期の検査設計が理論的にすべての「必要/必須」の要件を満たすことを確認する。

- (キ) 検査の詳細  
検査が要件を完全に満たしていることを確認することを目的として、最初の検査実行時の分析性能を評価するために使用するデザインと試料をリストアップする。検体を処理する前にSOPドラフトを準備し、検査実行中にワークフローの観察と以降の最適化の可能性について記録しておく。  
< 確認して記載すべき情報 >
- 一般情報
  - ・プライマー、またはキャプチャープローブの詳細を記載  
プローブ/プライマーシーケンス、転写産物、情報源、物理位置
  - 追加検査の詳細
  - ・予想されるシーケンス困難領域をリストし、対応する追加検査の詳細情報を収集して記載する。  
例)GC含有率の高・低、相同性の高い領域、コピー数バリエーション、リピート伸長
  - ・サンガー法による確認
  - ・サンガーフィルシーケンスでカバーされる領域をリストし、詳細を記載する。
  - ・バリエーションの確認検査を行う場合は、ポリシーを定義し、事前に設計されたサンガープライマーをリストする。  
最初のテストランの検体
  - ・最初のテストランを実行する試料をリストする。  
2回目以降も独立した検証に利用できるものとする。
  - ・既知の陽性検体と陰性検体の両方を含め、全種類の検体をセットする。
  - ・大きなパネルの場合には、NIST標準試料等、利

用可能な公的データセットが入手できる試料を含めることを検討する。  
・検証のために前記の試料のほとんどの使用を考慮する。  
検体受入と受入拒絶基準を定義  
検証中および本番環境で使用される検体受入可否の指標をリストし記載する。

(ク) 必要に応じて反復  
最初の検査を実行した後、(エ)の検査要件に対する指標を慎重に評価する。要件が満たされていない場合には、検査を改善する方法を検討する。検査がすべての必要な要件を満たすと、(カ)とSOPに関する情報が完成し、検査の妥当性を検証する準備が整うことになる。

(ケ) 結果受入と拒絶基準を定義  
検査合格あるいは不合格の指標  
ウェット検査フローで生成された結果の受入と拒絶基準であり、検査の最適化中に確立され、検証中に利用される測定基準と品質管理パラメーターに基づく必要がある。これを(キ)に記載する。

### 3.検査の妥当性確認

妥当性確認は、検査に含まれるすべてのステップに対して実行する必要がある。

(コ) 妥当性検証試験の設計  
検査の基準となる性能評価  
検査で検出する必要があるバリエーションのタイプ(SNV, Indel, CNV等)について、検査で対応する必要がある全ての検体種類(全血、唾液、羊水など)毎に、ゲノムの広汎な領域について分析性能を確立する。Genome in a Bottle Consortiumで利用されたNISTリファレンス試料のように、高精度に特徴付けられた材料(<https://www.coriell.org/1/NIGMS/Collections/NIST-Reference-Materials>)の利用が考慮される。

追加すべき性能評価  
疾患原因として重要な遺伝子でありながら、バリエーションの種類により基準性能の確立に十分な信頼性が得られない場合があり(Duchenne型筋ジストロフィーにおけるDMD遺伝子のCNV等)、追加の評価が必要となることがある。

(サ) 性能指標  
検査の一般性能を評価する指標は以下である。

a)バリエーション検出性能

- ・分析感度  
真陽性 / 真陽性 + 偽陽性  
ゴールドスタンダードによって存在することが既知であり、新しい検査によって正しく識別されたバリエーションの割合
- ・分析特異性  
真陰性 / 真陰性 + 偽陰性  
参照法によって取得された陰性結果に一致して、新しい検査で陰性結果を取得する機能。
- ・陽性適中率  
真陽性 / 真陽性 + 偽陰性  
バリエーションコールが真の陽性である可能性

以上の指標のいずれも、検査された疾患に関連するすべてのタイプのバリエーションについて個別に計

算し、信頼区間を設定する必要がある。NIST試料や、他の確立した検査法で検査済みの臨床検体を利用する。

b)条件や機器の変更にわたる性能指標

・**精度**

規定された条件下で得られた独立した検査結果における一致の近さ(ランダムエラーの尺度)通常は次の同時再現性(同じランにおいて)、または再現性(異なる条件下で)に表現される。

・**同時再現性(シーケンス実行精度)**

同じ条件下で参照試料を複数回シーケンスするときと同じシーケンスが派生する度合い

・**再現性(変更された状態)**

変更された条件(機器、実験室、オペレーター、サンプル濃度、サンプルソース、試薬ロット、ラン、日、時刻)での同じサンプルの繰り返し検査間の一致の近さ

・**堅牢性**

テスト条件の小さな意図的な変更(保管条件の変動など)が与えられた場合の検査の精度

c)他の指標

・**検出限界**

所定の信頼度で有益な結果をもたらす分析物の最低量または濃度

・**報告範囲**

・**基準幅**

基準範囲は検査が検出するように設計されている母集団内の配列の通常の変動を指す。

検査の性能指標を満たすための主要原則は以下である。

- ・検査は実在する既知のバリエーションをどの程度検出するか?
- ・実在しないバリエーションを検出する可能性はどれくらい高いか(偽陽性結果)?
- ・特定の条件が変更された場合(たとえば、別のシーケンシング機器が使用された場合)にその検査はどの程度「堅牢」か?

分析性能を計算

リファレンス試料を用いて、新しい検査で次の値を算出する。

・**分析感度**

真陽性 / 真陽性 + 偽陽性

・**分析特異性**

真陰性 / 真陰性 + 偽陰性

・**偽陰性率**

1 - 分析感度

・**偽陽性率**

1 - 分析特異性

・**信頼区間の計算**

<http://www.pedro.org.au/english/downloads/confidence-interval-calculator/>

検証の実行結果を分析し、分析性能指標を計算した後、達成されたパフォーマンスを確認してそれが意図された用途の要件を満たしていることを確認する。これらの要件が満たされていない場合は、2検査の要求事項と最適化の段階に戻らねばならない。それ以外の場合に検査開始に進めることが可能となる。

## 検査の運用段階

### 4. 品質管理

品質管理の手法は、検査の最適化中に定義され、検査の妥当性検証中に具体化される。検査の妥当性検証が終了し、実検体検査にリリースされたら、検査実行中に監視すべき重要な品質管理パラメータを特定しておく。品質管理データの監視は、検査が期待どおりに機能することを確認するために重要である。

#### 検査品質チェックリスト

検査ごとに、監視するすべての項目のチェックリストを作成する。パラメータは検査の最適化と妥当性検証の実行によって事前に特定される。一部の指標は、定義済みのしきい値や仕様(受入および拒否基準)を持つ「直接的な品質管理指標」であり、他の指標は、時間の経過とともに検査性能を監視して、さらに最適化が必要な傾向を検出できるように収集される。

#### 分析前品質管理項目

検査実行前の個々の検体に対する項目が含まれる。一般的な項目として、検体の種類、量、状態(凝血、ラベル記載の不備、採取後経過時間、採血管の種類等)が含まれる。他にはDNAの吸光度(260/280)比、分子量、収量等が該当する。不適合であれば、文書化されたポリシーに従って受付が拒否されることになる。すべての検体のデータは「検体品質管理ログ」に記録される。

#### 分析時品質管理項目

事前定義される品質管理指標は、工程全体、即ち、ライブラリーの調整中(フラグメントサイズと分布、ライブラリー濃度)、シーケンスラン完了後のバイオインフォマティクス処理後に監視される(サンプルの逆多重化; readアライメント率、標的の平均カバレッジ、カバレッジ分布; バリエーションコールとアノテーション、検体の同一性、データ転送状態)。一部の指標は、機器ごとにラン単位で調べられる(クラスター密度、Qスコア、パスフィルター-read総数、由来不明read率、ネガティブコントロールのread数、陽性コントロールのバリエーション検出力)。これらは通常、検査の最適化の結果から導出され、妥当性検証中に確認されるものである。

各指標について、以下の点が明確でなければならない。

- ・特定の要件
- ・要件について検体を評価する方法を説明するプロトコル
- ・担当者が記入する関連ログ
- ・検体が要件を満たさない場合に取りべき措置
- ・要件が満たされていない場合、誰が検体の処理を許可できるか

#### 検査品質管理モニタリング

定期的に検査品質チェックリストに記載されているログからすべての情報を収集し、項目毎に品質管理レビューを行わなければならない。これには、検査所要日数(TAT)、陽性、陰性で判定不能な結果の割合、修正報告の数、検査キャンセル数、例外ログとして記録された不適検体の結果分析等が含まれる。さらに、これらすべての検査関連文書のレビューが行われなければならない。この品質管理



レビューはディレクターによって承認され、結果はすべての担当者に配布される（マネージメントレビュー）。

#### 内部精度管理

検査項目毎にラン単位、週次、月次で実施する既知試料と検体との同時測定を計画する。ラン単位であればスパイクイン製品に設定されている基準値を検査の合格指標とすればよく、分析時管理項目としてチェックリストに含めるべきである。陽性患者の臨床検体が十分量入手できれば計画的に利用すべきであるが、妥当性確認段階で利用するNISTリファレンス試料複数を定期的に測定するのが合理的である。ベンチマークデータセットを入手し参照比較することにより、複数項目のパイプラインについて、バリエーションのアノテーションとフィルタリングに使用される自動化プロセスの定期観測に利用できる。

検査施設内の品質管理部門が検査部門に通知することなく既知の検体を検査ラインに流し、検査工程全般のログや結果を確認するブラインドチェックは内部監査の一部であるが、内部精度管理と捉えることもできる。

#### 文書管理

検査項目ごとに、関連するすべての文書のリストをまとめて文書管理台帳とする。これには、検査のすべての検証記録、ログ、SOP、確認検査、品質管理文書が含まれる。各文書の改定日を一覧化し、最新版であることをレビューする頻度も明記する。

#### D. 考察

ゲノム医療の実装に向けて、種々の研究がなされているが、難病領域については、研究と診療を区別し、研究成果を医療に還元していくフローが明確ではないように思われる。まず研究について、AMED事業である未診断疾患イニシアチブ(IRUD)は研究プロジェクトではあるものの、患者の診断を目的としており、個々の患者データの取扱いと診療情報とする手続きを明確にし、医療と直接的に繋がる研究として、維持継続することが求められる。網羅的シーケンス検査の医療実装について、米国ではClinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) 認定検査室が臨床検査としてエクソーム、ゲノムシーケンスを行っているが、バリエーションの解釈まで検査側で請け負う体制ができていない。また英国では、政策としてNHSの管理のもと、ISO15189の認定を受けた施設が研究として網羅的シーケンスを行い、別の機関が個人情報を含まず類型化した患者・家系員の臨床情報とシーケンス結果情報を合わせて、疾患原因バリエーションを特定し、さらにNHSの検査機関で確認検査後に診療情報化する仕組みができていない。特に英国の取り組みを参考に、国内でも研究と医療側が相互に患者情報をやり取りするフロー、そしてバリエーションの臨床的な解釈を担う医療インフラ等の段階的な整備が望まれるところである。

他方、難病の医療においては医療費助成のため、確定診断を目的として検査が行われる。即ち、臨床診断後に行われる個別遺伝学的検査が保険償還されることになるが、現実には希少疾患の検査を実施する施設は大変少ない。そのため、特定の検査施設において、複数疾患、あるいは複数の疾患領域の責

任遺伝子を標的化したNGSパネル検査をLDTとして開発し、実装することが合理的な解決策となる。本研究ではLDTの開発段階と検査の運用段階における品質管理策について具体的なポイントを挙げた。検査項目の開発段階で十分な妥当性確認を行うと、相応のコストがかかってしまうが、検査施設だけではなく、当該疾患領域の専門家の集まりである厚生労働省難治性疾患政策研究事業下の難病研究班、あるいは臨床系の学会有識者が検査設計の段階I-(ア)、(イ)、(ウ)に関与し、共同開発者として参画することで、臨床的妥当性が確実に担保できるようになると思われる。さらに同じ個別疾患領域の臨床専門家が検査結果の解釈にもコメンテーターとして関与し、医療者に協力することができれば、患者レジストリーや疾患バリエーションデータベースの構築が容易となり、診療基準や治療法開発が加速することも期待できると思われる。

希少難病の診断を目的とする遺伝学的検査は保険診療の中で実施されるべきであり、事実、本年4月には指定難病52疾患の検査が診療報酬化され、拡大傾向にあることは間違いないようである。これらの大半がDNAシーケンスによる検査であり、今回の診療報酬改定でも従来と同じ考え方により保険点数化がなされた。即ち、処理が容易なもの(3,880点)、処理が複雑なもの(5,000点)、処理が極めて複雑なもの(8,000点)である。この処理の複雑さとは対象とする遺伝子数、エクソン数に基づくようであり、NGSによるキャプチャー、またはアンプリコン法で検査を実施する場合には直接的な労務・コストの指標とはなり得ない。遺伝学的検査の事業性を確保し、登録衛生検査所の参入を即して、一定数の検査施設を確保するためにも、今後は検査設計段階(オ)で挙げた現実のコスト、さらに第三者認証等の品質保証策まで含めたコストスケールで保険点数の算定がなされることに期待したい。

以上

<本研究で参照した資料・文献>

Gargis AS, Kalman MWB, Bick DP, et al. Assuring the quality of next-generation sequencing in clinical laboratory practice. *Nat Biotechnol* 30:1033-1036, 2012.

National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine 2017. *An Evidence Framework for Genetic Testing*. Washington, DC: The National Academies Press.  
<https://doi.org/10.17226/24632>.

Santani A, Murrell J, Funke B, et al. Development and Validation of Targeted Next-Generation Sequencing Panels for Detection of Germline Variants in Inherited Diseases. *Arch Pathol Lab Med* 141:787-797, 2017.

Santani A, Simen BB, Briggs M, et al. Designing and Implementing NGS Tests for Inherited Disorders: A Practical Framework with Step-by-Step Guidance for Clinical Laboratories. *J Mol Diagn* 21:369-374, 2019.

Bean LJH, Funke B, Carlston CM, et al. Diagnostic gene sequencing panels: from design to report-a technical standard of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med 22:453-461, 2020.

**E . 結論**

特になし。

**F . 研究発表**

**1. 論文発表**

なし

**2. 学会発表**

原田直樹, 小原 収, 要 匡, 古庄知己, 涌井敬子, 足立香織, 難波栄二: 希少遺伝性疾患の遺伝学的検査の現状. 臨床遺伝 2019 in Sapporo 第 43 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会

第 26 回遺伝子診療学会大会 合同学術集会  
原田直樹, 小原 収, 要 匡, 古庄知己, 涌井敬子, 足立香織, 難波栄二: 希少難病等の遺伝学的検査の現状と課題. 日本人類遺伝

**G . 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)**

**1. 特許取得**

なし

**2. 実用新案登録**

なし

**3. その他**

なし

図 1

図1. NGSパネル遺伝学的検査の開発と運用段階において対応すべき事項

