

令和4年度厚生労働科学研究費補助金(地域医療基盤開発推進研究事業)
「遺伝子関連・染色体検査」の精度の確保に係る基準の明確化に関する研究
分担研究報告書

「遺伝子関連・染色体検査」の外部精度管理調査の効果的な代替法の提案

研究分担者・研究代表者 宮地 勇人(新渡戸文化短期大学 臨床検査学科 教授)

研究分担者 田澤 裕光 (京都大学医学部附属病院

クリニカルバイオリソースセンター病院特任教授)

研究要旨

検体検査の精度の確保を含む医療法等の一部改正が平成29年(2018年)に施行された。そこでは、「遺伝子関連・染色体検査」の分類が新設され、その実施における基準と規制が我が国で初めて定められた。我が国の環境・体制整備の現状を鑑みて、外部精度管理調査の受検は努力義務として求められた。その現状課題として、外部精度管理調査は、試料等の開発費が高価なこと、検査項目によっては精度管理試料が存在しない等により十分に普及していない。本研究では、「遺伝子関連・染色体検査」の外部精度管理調査が利用出来ない検査項目に関して、技術的観点から、それに準ずる効果を期待できる低コストかつ容易な代替法について、先進的な海外事例調査と我が国の現状調査現状を踏まえて提示することとした。

代替法の選択は検査項目や検査方法によって異なる。さらに大規模外部精度管理調査の項目の有無との関係で運用基準を示す必要がある。そこで、遺伝子関連検査の外部精度管理の選択フロー(案)を作成した。遺伝子関連検査における代替方法論を明確化し、その位置づけとして、推奨度A-Cとしてグレード分けした。代替法の選択における順位付けの理解を助けるため、プログラムのサーベイの種類との関係を明確化した。代替方法論を明確化と順位づけとともに、より重要な点は、検査室では、選択した代替法の論拠を示し、有効性のエビデンスを提供しなければならない。選択した代替法の論拠として、要件として、検査室内でプロトコル作成による承認の上で実施し、結果について承認など、精度の確保に係る責任者の役割を明確化した。遺伝子関連検査の外部精度管理調査が利用出来ない場合における効果的な代替法について、方法論を踏まえた選択基準と推奨度に基づく運用フローとともに、その有効性を確保するため、精度の確保に係る責任者の役割を明確化した。新興感染症への対応やがん遺伝子パネル検査、難病遺伝学的検査のような先進医療等で用いられる遺伝子関連・染色体検査において、精度の確保のもとで実施拡大が期待される。本研究成果は、遺伝子関連・染色体検査の精度の確保に関して、外部精度管理調査の受検の基準について、医療法等の一部改正で努力義務に留まる点を見直すための資料となることが期待される。

A. 研究目的

ゲノム医療の実用化に向けた議論に基づき、安全で適切な医療提供の確保を推進するため、検体検査の精度の確保を含む医療法等の一部改正が平成 29 年（2018 年）に施行された。そこでは、検体検査の中に、「遺伝子関連・染色体検査」の分類が新設され、その実施における基準と規制が我が国で初めて定められた。すなわち、責任者の配置、標準作業書の作成、作業日誌の作成と保存、内部精度管理の実施や適切な研修の実施が義務として求められた。我が国の環境・体制整備の現状を鑑みて、外部精度管理調査の受検は努力義務として求められ、検査室の第三者認定は勸奨とされた。その現状課題として、外部精度管理調査は、試料等の開発費が高価なこと、検査項目によっては精度管理試料が存在しない等により十分に普及していない。

今般の新型コロナウイルス感染症の対応において、適切な診断・治療を行う上での検体検査の精度管理の重要性が指摘されているが、今後、新興感染症への対応やがん遺伝子パネル検査、難病遺伝学的検査のような先進医療等で用いられる遺伝子関連・染色体検査において、精度を確保しつつ、平時から信頼性ある検査サービスの提供が行われるように図り、有事には、即時に対応可能な検査体制を構築する必要がある。

以上の背景から、「遺伝子関連・染色体検査」の外部精度管理調査が利用出来ない検査項目に関して、技術的観点から、それに準ずる効果を期待できる低コストかつ容易な代替法について、先進的な海外事例調査と我が国の現状調査現状を踏まえて提示する。

B. 研究の方法

「遺伝子関連・染色体検査」の外部精度管理調査が利用出来ない検査項目に関して、それに準ずる効果を期待できる低コストかつ容易な代替法を提示する。代替法のたたき台案は、国際規格 ISO 15189（臨床検査室の品質と能力）や「遺伝子関連検査に関する日本版ベストプラクティスガイドライン(日本版ベストプラクティスガイドライン)」(日本臨床検査標準協議会)など既存資料を参照し作成する。外部精度管理調査に準ずる効果を期待できる低コストかつ容易な代替法は、海外の先進事例を参考として作成する。そのために、米国における国レベルでの外部精度管理の調整、モニタリングの仕組みの実際、外部精度管理を要件とする第三者施設認定に関する規制と運用の実態を学ぶため、米国で遺伝学的検査を実施する検査室に対して参照物質や情報の提供を行う Get-IRM プログラムの開発・運営責任者 Lisa Kalman、PhD（Senior Adviser for Repository Science Informatics and Data Science Branch OPHSS/CSELS/DLS）、CAP 検査精確度調査委員長であるミネソタ州立大学の検査室 Anthony Killeen MD 検査部長と面談し、情報交換と調査を行う。

C. 調査の結果と考察

外部精度管理調査 EQA は、検査室間比較による、事前に決めた基準に照らしての参加者の遂行能力の評価である。検査室は、他の検査室の結果との比較によって、検査方法の遂行能力をモニターしなければならない。検査及び検査結果の解釈に適した EQA

プログラムに参加することを含む。検査室は、そのようなプログラムが利用可能な場合には、使用する検査方法について、参加登録、参加及び遂行の手順を確立しなければならない。EQA 試料は、検査前手順、検査手順又は検査後手順を日常的に遂行する要員によって処理されなければならない。検査前プロセス、検査プロセス及び検査後プロセスをチェックする効果、臨床的に関連する課題を課すために患者試料に類似した試料を利用する。

米国の遺伝子・染色体検査の外部精度管理調査受験の代替法について、ミネソタ州立大学の検査室 Anthony Killeen MD 検査部長との訪問面談は、コロナパンデミックのため、ウェブ会議にて情報交換した（2022年7月20日）。遺伝子関連検査の外部精度管理調査、代替法の運用の実際を聴取し、以下のごとくまとめられた。

- ・遺伝子関連検査の外部精度管理調査の基本は CAP PT 参加
- ・代替法は、検査室内でプロトコル作成、検査部長の承認の上で実施→結果と評価について検査部長が承認
- ・第一選択は Cross check（精度管理のみに使用する限定条件のもと）
- ・その他、CAP 試料の利用がある。
- ・Split sample 利用の場合、精密度は評価できるものの、正確度は評価できない難点がある。
- ・代替法の結果は、第三者モニタリングの対象とならない。

これらの調査結果に基づき、研究班の期待効果：「遺伝子関連・染色体検査」の外部精度管理調査が利用出来ない検査項目に関して、それに準ずる効果を期待できる低コストかつ容易な代替法に関して、図のごとく整理された。

要件として、代替法は、検査室内でプロトコル作成、精度の確保に係る責任者による承認の上で実施→結果について承認の流れが必要である。

EQA プログラムが利用できない、又は適切でないと考えられる場合、検査室は、代替方法論を使用して検査方法の遂行能力をモニターしなければならない。代替方法論には、遺伝子関連検査のベストプラクティスガイドラインや ISO 15189 において事例が紹介されている。Cross check、PT 試料、CRM 等の利用に加えて、過去に検査した既存の患者試料 split sample を用いて、ブラインドにて再現性の確認とともに、異なる方法（検査室）で比較する方法を提案した。（例1）自施設の NGS について、異なる原理の方法（サンガーシーケンス、PCR など）と結果を比較、（例2）自施設の測定結果と衛生検査所に測定依頼した結果を比較。

代替法の選択は検査項目や検査方法によって異なる。さらに大規模外部精度管理調査の項目の有無との関係で運用基準を示す必要がある。そこで、遺伝子関連検査の外部精度管理の選択フロー（案）を作成した。遺伝子関連検査における代替方法論を明確化し、その位置づけとして、推奨度 A-C としてグレード分けした。代替法の選択における順位付けの理解を助けるため、EQA プログラムのサーベイの種類との関係を明確化した。サーベイの種類は、EQA プログラムのサーベイの種類として、大規模外部精度

- ・異なるロット番号の製造業者のエンドユーザのキャリブレーション、又は製造業者の真度管理物質の分析
- ・二人以上、又は二つ以上の分析装置、又は二つ以上の方法により行う、同じサンプル（試料）の分割/盲検テストを利用した微生物の分析
- ・患者試料とコンピュータビリティ有りと見做される参照物質の分析
- ・臨床的相関性試験からの患者試料の分析
- ・細胞及び組織レポジトリからの材料の分析

2) Get-RM 調整プログラムの概要

米国の CDC における国レベルでの外部精度管理の調整、モニタリングの仕組みの実際、外部精度管理を要件とする第三者施設認定に関する規制と運用について、訪問面談は、コロナパンデミックのため、ウェブ面談にて情報交換と調査を行なった（2022年10月9日）。第三者施設認定に関する規制と運用についての詳細は、分担研究報告書「遺伝子関連・染色体検査」に関する検査室の能力評価の明確化と制度案-現行規制の課題と対策/米国 CLIA モデルと比較-（田澤 裕光、宮地 勇人）を参照されたい。

Genetic Testing Reference Materials Coordination Program 特に遺伝学的検査のための特徴づけられた参照物質の開発は以下のごとく。

参照試料および品質管理試料は、患者試料と同時に検査され、検査室は検査システムの障害や測定者のミスによるエラーを検出できる。さらに、検査法の開発と検証、新しい試薬バッチのロット試験、および技能試験/外部精度管理プログラム (PT/EQA) には参考試料が必要となる。遺伝学的検査の提供は、現在 10,000 以上のヒト遺伝性疾患において臨床検査室で行われている。しかしながら、これらの多くについて、公的に入手可能な特徴づけられた参照または精度管理試料は利用できない。

疾病管理予防センター (CDC) は、1995 年以来、遺伝学コミュニティが使用するための適切で十分に特徴づけられた参照資料を開発する取り組みを行ってきた。2004 年、遺伝子検査の参照物質調整プログラム (GeT-RM) が、遺伝学コミュニティと協力して CDC に設立された。このプログラムの目標は、独立したコミュニティプロセスを調整して、品質管理、技能試験、試験開発/妥当性確認、および研究のための特徴づけられたゲノム DNA 試料の公的利用を改善することである。GeT-RM はまた、ユーザーと参照試料の提供者との間の情報交換を促進する。GeT-RM プログラムは CDC によって調整されているが、参照試料の優先順位、患者検体収集、試料の開発、特徴付けに関する決定を含む実際の作業はすべて、遺伝学コミュニティの研究所との自発的な協力を通じて行われている。遺伝子型が確認された細胞株は、実際の患者試料に最も近似しているため、DNA ベースの遺伝学的検査の好ましいタイプのコントロールと見なされる。したがって、GeT-RM の取り組みは、この材料タイプに焦点を当てている。

GeT-RM プログラムは、450 以上の細胞株ベースのゲノム DNA 参照試料において、5800 以上の遺伝子座を特徴付けし、次の遺伝性疾患に利用可能である。脆弱性 X1、ア

シケナージユダヤ人パネル2疾患(ブルーム症候群、カナバン病、ファンコニー貧血、家族性自律神経失調症、ゴーシェ病、ムコリピドーシスIV、ニーマン・ピック病およびテイ・サックス病)、嚢胞性線維症、ハンチントン病、MTHFR 関連ホモシステイン血症、 $\alpha 1$ アンチトリプシン欠乏症、多発性内分泌腫瘍、BRCA1 および BRCA2 関連癌、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィー、Rett 症候群、28 の薬理遺伝学的遺伝子座における多数の多型に関する 244 の細胞株、11 の HLA 遺伝子座に対する 108 の細胞株からの DNA に関する 2 つの大規模な研究である。これらのゲノム DNA 試料のそれぞれは、DNA 塩基配列決定を含む様々な分析法を使用して、3~10 ヶ所の臨床的遺伝学的検査室で検査利用されてきた。これらの試料の提供は、Coriell Cell Repositories から公開されている。また、GeT-RM Web サイト (<https://wwwn.cdc.gov/clia/Resources/GetRM/default.aspx>) は、分子遺伝学的参照物質情報の包括的な情報源を提供している。

GeT-RM は、従来から遺伝性疾患の DNA ベースの検査に注力してきた。しかし、分子腫瘍学、病原体核酸検査、生化学的遺伝子検査など、遺伝学の他の分野の参照試料も同様に不足している。これらの分野のニーズに対応するメカニズムも検討中である。検体検査の外部精度管理調査について国レベルのモニタリングを行ってきた実績に基づき、遺伝子関連検査への拡大は今後の課題である。

遺伝学的検査に関する参照物質や関連情報の調整を行なっている CDC の活動の実態が明らかとなった。この恒常的な組織的取り組みは、我が国において、遺伝子関連検査の外部精度管理調査の代替法を実施する上で、試料や情報の入手先として有用と考えられる。

まとめ

新興感染症への対応やがん遺伝子パネル検査、難病遺伝学的検査のような先進医療等で用いられる遺伝子関連・染色体検査において、精度の確保のもとで実施拡大が期待される。本研究成果は、遺伝子関連・染色体検査の精度の確保に関して、外部精度管理調査の受検の基準について、医療法等の一部改正で努力義務に留まる点を見直すための資料となることが期待される。