

遺伝子・染色体検査部門

山本 浩二（独立行政法人地域医療機能推進機構 中京病院）

実務担当者：平松 可帆（愛知県がんセンター病院）

河井 麻友（西尾市民病院）

I. はじめに

本年度は、SARS-CoV-2核酸増幅検査について不活化ウイルスを使用したサンプルサーベイを実施した。また、遺伝子検査の基礎と検体取り扱いに関する文章設問を出題した。

II. 対象項目

1. SARS-CoV-2核酸増幅検査 サンプルサーベイ

- 1) 不活化ウイルス溶液1（試料101）
- 2) 不活化ウイルス溶液2（試料102）

2. 文章設問

（評価対象設問5問、評価対象外設問1問）

III. 設問について

- ① 設問1～5：遺伝子検査の基礎・検体取り扱い
- ② 設問6：遺伝子検査の応用問題（評価対象外）

IV. 参加施設数について

SARS-CoV-2核酸増幅検査への参加は50施設、文章設問への参加は37施設であった。

V. 評価基準

試料101～102、設問1～5について評価を設定した。正解をA、不正解をDと設定し評価した。

評価A	正解	「基準」を満たし、極めて優れている
評価D	不正解	「基準」から極めて大きく逸脱し、早急な改善が必要

VI. 調査結果

試料101～102、設問1～6の正解および正解率を表2、表3に示した。

	正解	正解率(%)
試料101	①陰性	100.0
試料102	②陽性	98.0

設問1	④肺がんにおけるEGFR遺伝子変異の検出。	100.0
設問2	③反応試薬の調製は、使用後にUV照射ができる安全キャビネット内で行った。	94.6
設問3	②粘性の高い検体については、セミアルカリプロテアーゼ処理を実施する。	100.0
設問4	④症状を認めてから10日以上経過しても感度は変わらない。	100.0
設問5	①真性多血症 - JAK2	100.0
設問6	② Clinical Significance は Likely-Pathogenic である。	83.8 (評価対象外)

VII. 解説および考察

1. SARS-CoV-2核酸増幅検査 サンプルサーベイ

SARS-CoV-2核酸増幅検査のサンプルサーベイとして、不活化ウイルス溶液を試料として使用し、核酸抽出工程と核酸増幅工程の精度管理調査を行った。コントロール試料はInactivated SARS-CoV-2 Whole Virus(関東化学株式会社)を使用し、1種類の陽性試料(試料102)を作成した。陰性試料(試料101)には、健常人末梢血より作成したヒトリンパ球浮遊液を使用した。なお、同浮遊液は陽性試料102にも同じ濃度を添加して作成した。

参加施設の使用解析機器(キット)をそれぞれ核酸抽出法別に図1に示した。なお、同じ抽出法と思われる回答(全自動機器のキット専用抽出/機器による自動抽出など)については同じものと見なして示した。最も使用の多い機器・キットはGeneXpertが13施設、ID NOWが8施設であり、次いでSmartGeneが6施設、GENECUBE、FilmArrayが4施設であった。

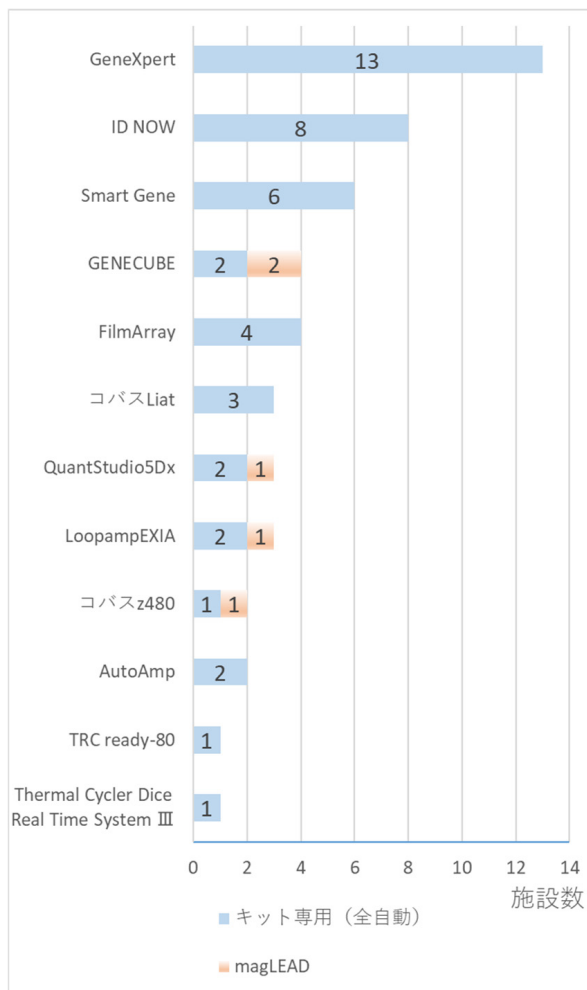


図1

1) 試料101

陰性試料としてヒトリンパ球浮遊液を100 μL配布した。50施設のすべてが陰性の回答であった。

2) 試料102

陽性試料として、不活化ウイルス量90,000コピー/mLを100 μL(総量9,000コピー)配布した。

50施設のうち、49施設が陽性(98.0%)、1施設が陰性(2.0%)の回答であった(図2)。陰性であった施設の使用解析機器は、LoopampEXIA(キット専用抽出)であった。LoopampEXIAで回答された施設は3施設で、抽出法についてはキット専用抽出が2施設、magLEADが1施設であった。

LoopampEXIA(キット専用抽出)を使用している施設の陽性率は50.0%であり、回答にバラつきがみられた。また、キット専用抽出以外の抽出法を使用している施設は陽性であった。キット専用抽出法は4mLの抽出液に試料100 μLを添加するため試料が希釈されてしまい、LoopampEXIAの検出感度60コピー/テスト以下(試料102は22.0コピー/テスト)となるため、回答にバラつきが生じたものと考えられた。このため、LoopampEXIA(キット専用抽出)で陰性と回答された施設は検出感度を

満たせないため評価対象外とした。

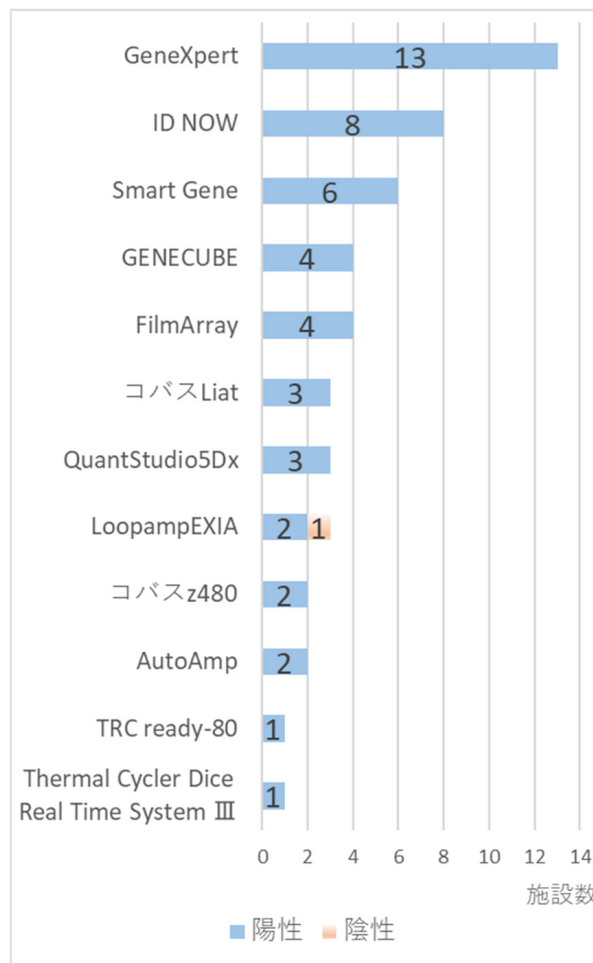


図2

試料101、102の結果からSARS-CoV-2核酸増幅検査のサンプルサーベイは概ね良好であった。LoopampEXIA(キット専用抽出)は、他の測定法と比較すると比較すると、やや感度低下の傾向があり使用の際には十分な注意が必要であると考えられた。

2. 文章設問1～5

1) 設問1

体細胞遺伝子検査はどれか。正しいもの1つを選んでください。

- ① 親子鑑定
- ② 肝炎ウイルス核酸検出・定量
- ③ 単一遺伝子疾患の診断
- ④ 肺がんにおけるEGFR遺伝子変異の検出
- ⑤ HLAの遺伝型検査

回答	回答数	割合(%)
④肺がんにおけるEGFR遺伝子変異の検出	37	100.0

【正解】 ④

- ①、③、⑤は生殖細胞系列遺伝子検査(遺伝学的検査)
②は病原体遺伝子検査

2) 設問2

PCR法におけるコンタミネーションの防止として、誤っているもの1つを選んでください。

- ① グローブを常に着用し、汚染のおそれがある場合は交換する。
- ② エアゾルによるコンタミネーションを防止するため、フィルター付きチップを使用した。
- ③ 反応試薬の調製は、使用後にUV照射ができる安全キャビネット内で行った。
- ④ 核酸抽出エリア、試薬調製エリア、増幅と検出エリアで使用する器具、試薬などは専用とした。
- ⑤ 紫外線照射装置を装備したフードがないので、使用前後に実験台とピペットを0.5%次亜塩素酸ナトリウム水溶液などで十分に拭き取った。

回答	回答数	割合(%)
①グローブを常に着用し、汚染のおそれがある場合は交換する。	1	2.7
③反応試薬の調製は、使用後にUV照射ができる安全キャビネット内で行った。	35	94.6
⑤紫外線照射装置を装備したフードがないので、使用前後に実験台とピペットを0.5%次亜塩素酸ナトリウム水溶液などで十分に拭き取った。	1	2.7

【正解】 ③

反応試薬の調製は、使用後にUV照射できるクリーンベンチ内で行うことが望ましい。

3) 設問3

抗酸菌PCR検査の検体について、正しいものを1つを選んでください。

- ① 喀痰、吸引痰、気管支洗浄液等の呼吸器検体のみを対象とする。
- ② 粘性の高い検体については、セミアルカリプロテアーゼ処理を実施する。
- ③ 喀痰の検体保存は凍結保存不可である。
- ④ 検体を扱う際は、クラスIの安全キャビネットを使用することが推奨される。
- ⑤ 検体採取に際して、採取者はサージカルマスクを着用する。

回答	回答数	割合(%)
②粘性の高い検体については、セミアルカリプロテアーゼ処理を実施する。	37	100.0

【正解】 ②

- ①→呼吸器検体以外も対象となる
- ③→凍結保存する事が望ましい。
- ④→クラスII以上
- ⑤→N95型マスクを着用することが望ましい

3) 設問4

SARS-CoV-2遺伝子検査について、誤っているものを1つを選んでください。

- ① 一般にイムノクロマト法と比較し高感度でウイルス遺伝子を検出できる。
- ② ウイルスのN遺伝子などのSARS-CoV-2に特異的な領域をターゲットにしている。
- ③ 試薬調整と検体処理は別エリアで実施することが推奨される。
- ④ 症状を認めてから10日以上経過しても感度は変わらない。
- ⑤ ウイルスに曝露された直後では偽陰性となる可能性がある。

回答	回答数	割合(%)
④症状を認めてから10日以上経過しても感度は変わらない。	36	100.0

【正解】 ④

症状を認めてから10日以上経過すると陽性率が低下する傾向にある。

4) 設問5

次の疾患と遺伝子異常の組み合わせで正しいものを1つを選んでください。

- ① 真性多血症 - JAK2
- ② 慢性骨髄性白血病 - PML-RARA
- ③ 急性骨髄性白血病 - BCR-ABL1
- ④ びまん性大細胞性リンパ腫 - ALK
- ⑤ 慢性リンパ性白血病 - BRAF

回答	回答数	割合(%)
① 真性多血症 - JAK2	37	100.0

【正解】 ①

- ② 慢性骨髄性白血病 - BCR-ABL1
- ③ 急性骨髄性白血病 - PML-RARA
- ④ 未分化大細胞リンパ腫 - ALK
- ⑤ 有毛細胞リンパ腫 - BRAF

5) 設問6 教育問題

遺伝子検査において、7番染色体の55191822 (chr7:55191822)の位置のTがAに変化(T>A)する遺伝子変異が検出されました。この変異についてインターネットサイト dbSNP (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>)などを使用して調べ、正しいものを1つ選択してください。

- ① 858番目のロイシン(L)がアルギニン(R)に置換している。
- ② Clinical SignificanceはLikely-Pathogenicである。
- ③ chr7:55191822はBRAF遺伝子である。
- ④ exon19の遺伝子変異である。
- ⑤ 皮膚癌において報告がある。

回答	回答数	割合(%)
①858番目のロイシン(L)がアルギニン(R)に置換している。	3	8.1
②Clinical SignificanceはLikely-Pathogenicである。	31	83.8
③chr7:55191822はBRAF遺伝子である。	3	8.1

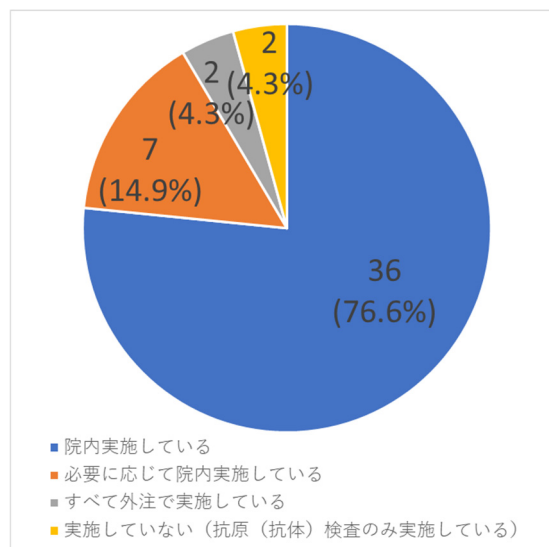
【正解】 ②

- ① 858番目のロイシン(L)がグルタミン(Q)に置換している。
- ③ EGFR遺伝子である。
- ④ exon21の変異である。exon21は55191719から55191874まで。
- ⑤ 肺癌において報告がある。

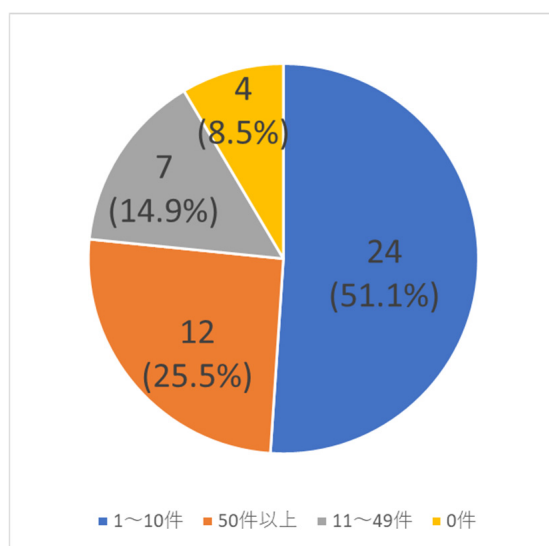
4. アンケート調査結果

1) SARS-CoV-2核酸増幅検査の実施状況についてお答えください。

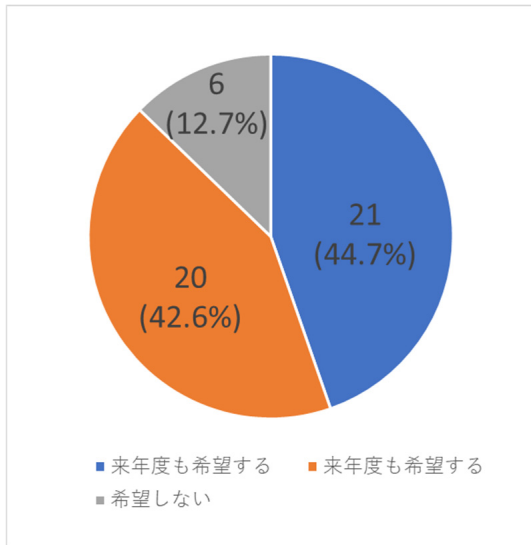
- ① 現在、SARS-CoV-2核酸増幅検査を実施していますか。



- ② 5類感染症へ移行後1年ほどが経ちましたが、SARS-CoV-2核酸増幅検査の月間検査数(およその平均)は何件ですか。



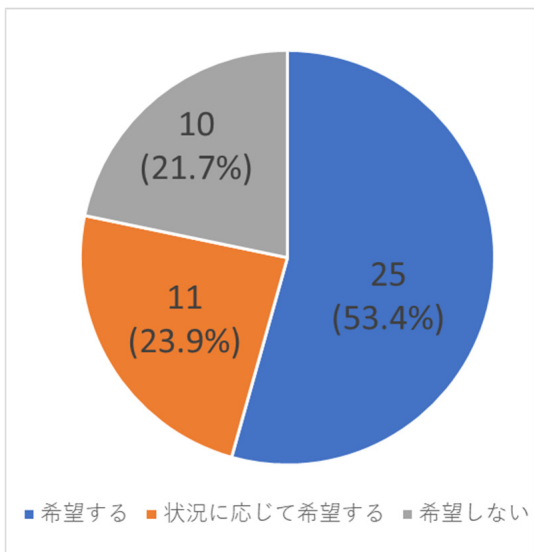
③ 今後SARS-CoV-2核酸増幅検査のサンプルサーベイの参加を希望しますか。



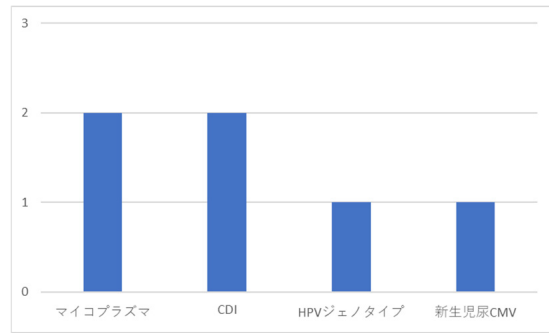
SARS-CoV-2 遺伝子検査の実施状況について、調査を行った。現在(2024年8～9月調査)の実施状況は、前年度はすべての施設が院内実施しているという回答であったが、外注で実施しているが施設が2件、実施していない施設が2件あった。1か月あたりの実施数は、各施設でさまざまであったが、1～10件程度実施している施設が最も多かった。また、来年度のサンプルサーベイの参加希望は、多くの施設が希望する、状況に応じて希望するという回答であった。実施数も比較的多く、参加希望も多いため、来年度も引き続きサーベイを実施したいと考える。

2)

① 結核菌遺伝子検査のサンプルサーベイを企画していますが、参加を希望しますか？



② その他、希望するサンプルサーベイの項目があれば記載をお願いします。



次年度実施予定の結核菌群遺伝子検査のサンプルサーベイの希望状況について調査を行った。実施を希望しない施設も一定数あったが、多数の施設が参加を希望する、状況に応じて希望するという回答であった。また、その他のサンプルサーベイとしてマイコプラズマやクロストリジウムなどのサンプルサーベイを希望する施設もあった。

VIII. まとめ

遺伝子染色体検査部門の精度管理調査として、昨年度に引き続きSARS-CoV-2核酸増幅検査のサンプルサーベイと、文章設問による知識調査を行った。サンプルサーベイは50施設から回答を得られ、文章設問は計37施設から回答を得られた。

SARS-CoV-2サンプルサーベイでは陰性試料(試料101)、陽性試料(試料102)の2種類の試料を配布して実施した。昨年度からの変更点として、測定法による感度差を考慮し、配布する陽性試料をより高濃度の9000コピー/tubeに変更した。試料101はすべて評価A、試料102は98.0%で評価Aであった。試料濃度を変更したことにより、多くの解析機器・キットで良好な正解率が得られたが、LoopampEXIAに用いる簡易抽出法では、9000コピー/tubeでは最小感度を満たせないため、回答が分かれる結果であり、抽出方法によっては結果が不安定となることが伺えた。また、アンケートでは来年度の参加を希望する回答が大多数であり、今後も引き続き調査をしていきたいと考える。

文章設問は、遺伝子検査の基礎的な内容と検体取り扱いに関する設問を5問で調査を実施した。また、評価対象外の応用設問として遺伝子変異の情報検索の設問を1問出題した。評価対象外設問はやや難易度が高めであったが80%以上の正答率、評価対象問題もすべての設問で90%以上の正解率であり良好な結果であった。

遺伝子検査の実施状況についてアンケート調査を行った。SARS-CoV-2 遺伝子検査は、多くの施設が自施設で検査しているが、外注にしている施設や抗原検査のみに切り替えた施設もあることが分かった。検査数は総じて減少傾向であるが、一部の施設では月50件以上検査を行っていた。

また、新規項目として結核菌群遺伝子検査のサンプルサーベイについて実施の希望を調査した。結核菌群遺伝子検査はSARS-CoV-2と同様に多数の施設が実施している検査であるため、その精度管理は重要であると考ええる。

その他の感染症の遺伝子検査のサンプルサーベイを希望する声もあったが、院内で実施している施設はまだ少ないことが予想され今後の課題として考える。

COVID-19は2023年5月に5類感染症へ移行して以来、検査数もだんだん少なくなっているが、昨年度と同数の参加数があり、来年度の参加希望の声も多く、引き続き調査を実施していく予定である。加えて院内実施数の多い結核菌群遺伝子検査のサンプルサーベイも実施することで、遺伝子検査全体の精度保証に取り組んでいく所存である。

IX. 参考文献

1. 遺伝子・染色体検査技術教本：一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会
2. 染色体遺伝子検査の基礎と臨床応用：社団法人 日本臨床衛生検査技師会
3. 遺伝子関連検査のためのISO 15189ガイダンス文書：日本臨床検査標準協議会
4. 遺伝子検査検体取り扱いガイドライン：愛知県臨床検査標準化協議会
5. 2019-nCoV(新型コロナウイルス)感染を疑う患者の検体採取・輸送マニュアル：日本臨床検査医学会
6. 血液形態アトラス：医学書院
7. 造血器腫瘍ゲノム検査ガイドライン：一般社団法人日本血液学会
8. dbSNP：<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs121434568>
9. ClinVar：[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/376281/?oq=\(363160\[AlleleID\]\)&m=NLM_005228.5\(EGFR\):c.2573T%3EA%20\(p.Leu858Gln\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/376281/?oq=(363160[AlleleID])&m=NLM_005228.5(EGFR):c.2573T%3EA%20(p.Leu858Gln))
10. COSMIC：<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/mutation/overview?id=103093621>
11. Ensembl：http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Exons?db=core;g=ENSG00000146648;r=7:55019017-55211628;t=ENST00000275493

X. 問い合わせ先

〒457-8510
名古屋市南区三条1-1-10
独立行政法人地域医療機能推進機構 中京病院
検査部 山本 浩二
TEL：052-691-7151（代表）
E-mail：yamamoto-koji@chukyo.jcho.go.jp