



〈特集：シンポジウム（第33回年次学術集会より）〉

遺伝子検査の精度保証の概念

佐藤 悦子

The status of quality assurance in genetic analysis operations

Etsuko Sato

Summary In December 2018, the medical care act was revised to mandate that organizations performing genetic and chromosome analyses appoint an accuracy oversight manager, internal quality control and training sessions, and make their best efforts to participate in the external quality assessment program. Additionally, while standardization has lagged in the field of genetic analysis, the spread of ISO 15189 certification for cancer genomics and the onset of the COVID-19 pandemic led to widespread implementation of genetic testing in many facilities, making it a larger and more widely familiar field. This has provided impetus for a significant reassessment of quality assurance. Specifically, for chromosome analysis, the value of double-checking sequence via certified internal quality control personnel has motivated proliferation of training programs for certification acquisition and maintenance. With this revision of the medical care act, an environment supporting and requiring quality assurance has been established, and compliance with the requirements of ISO 15189 is believed to lead to appropriate quality assurance..

Key words: revision of medical care act, Chromosome, quality assurance, certification acquisition
ISO15189

I. はじめに

2018年12月に医療法が改正され、遺伝子関連検査、染色体検査を行う場合、その精度の確保に係る責任者、いわゆる精度管理責任者の配置が義務化された。さらに、病院等の管理者は、内部精度管理に配慮が必要となり、外部精度管理調査の受検、遺伝子関連検査・染色体検査の精度保証について努めることとなった。本稿では、テーマである遺伝子検査の精度保証の概念、さらに染色体検査の精度保証の現状について報告する。

II. 医療法等改正¹⁾

検体検査に比べ精度保証の標準化が遅れていた遺伝子検査において、近年大きく前進した理由の一つに医療法等の改正がある。検体検査の精度の確保のために、平成29年6月14日公布、平成30年（2018年）12月1日施行された医療法等の一部を改正する法律（法律第57号）により、医療法と臨床検査技師等に関する法律が一部改正され、検体検査業務を行う医療機関や衛生検査所等における精度管理の基準を明確化するとともに、ゲノム医療の実用化に向けた遺伝子関

社会医療法人 雪の聖母会 聖マリア病院
中央臨床検査センター
〒830-8543 福岡県久留米市津福本町422番地
TEL: +81-0942-35-3322
E-mail: eksato@st-mary-med.or.jp

Department of Hematology, St. Mary's Hospital 422,
Honmachi, Tubuku, Kurume, Fukuoka 830-8543, Japan

連検査の精度の確保に取り組むこととなった。また、医療技術の進歩に合わせて検体検査の分類を柔軟に見直すため、検査の分類を法律ではなく、厚生労働省令で定めることが規定された。改正後医療法施行規則第9条の7では、検体検査全般並びに遺伝子関連検査・染色体検査に係る精度の確保に係る責任者を各々配置することが義務化された。また、標準作業書、作業日誌、台帳の策定が義務化され、内部精度管理の実施、外部精度管理調査の受検、適切な研修の実施についても努力義務となった。その中でも遺伝子関連検査・染色体検査についてはがんゲノム医療を背景に、内部精度管理と研修については努力義務ではなく義務化されたことは大きい変革だと考える。

検体検査の分類改正では、遺伝子関連検査・染色体検査が一次分類として新設され、二次分類として以下の4分類が設定された。

- ① 病原体核酸検査：ヒト以外の、COVID-19 など病原体のDNA,RNA検査。
- ② 体細胞遺伝子検査：造血器関連、病理分子学的検査に大きく二分されるが、がん細胞など病態とともに変化する一時的な遺伝学的情報を明らかにする検査。
- ③ 生殖細胞系列遺伝子検査：ファーマコゲノミクスのUGT1A1、遺伝病など、一生変化

しない遺伝学的情報を明らかにする検査。

- ④ 染色体検査：先天性染色体異常、腫瘍性染色体異常を明らかにする検査。

Ⅲ . ISO 15189

国際規格ISO 15189（臨床検査室－品質と能力に関する要求事項）を認定基準とした臨床検査室の認定は、2005年8月よりJAB（日本適合性認定協会）により開始されているが、2015年に臨床研究中核病院の指定要件、2016年の診療報酬改定における国際標準検査管理加算40点により、臨床検査室の認定数が増加した背景がある。さらに、2017年がんゲノム医療中核拠点病院、2019年がんゲノム医療拠点病院の指定要件となったことから、病理分野取得が拡大し、2022年12月現在で臨床検査室認定施設数は277件となっている（Fig. 1）²⁾。

ISO 15189：2012（第3版）では、第4章の管理上の要求事項と第5章の技術的要求事項（Table 1）³⁾の大分類から構成されている。2022年12月発行のISO 15189：2022（第4版）では、項番が大きく変わり、技術的要求事項の5.1～5.3は6項に資源に関する要求事項として、5.4～5.10は7項としてプロセスに関する要求事項に構成されている。

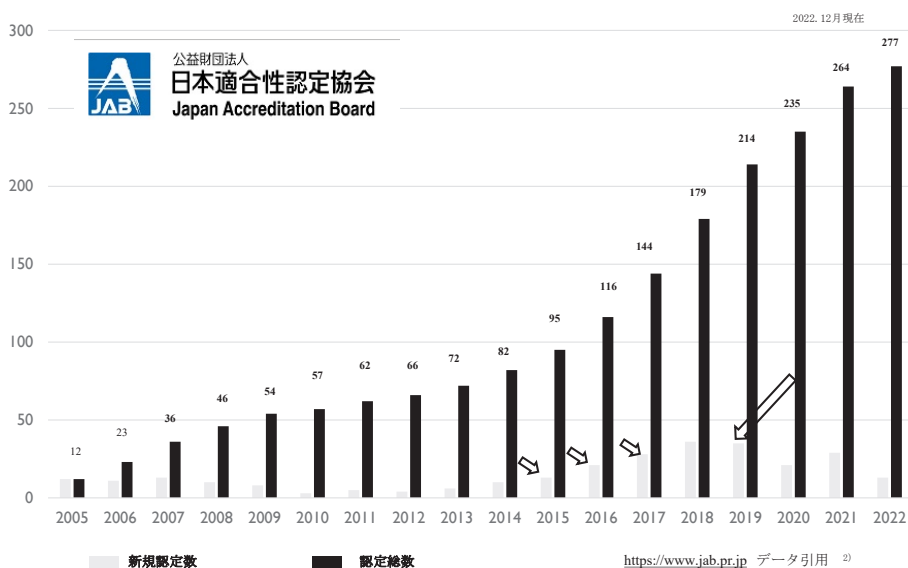


Fig. 1 国際規格ISO15189 臨床検査室 認定数

Table 1 ISO15189:2012 要求事項 (技術的要求事項)³⁾

5	技術的要求事項
5.1	要員
5.2	施設及び環境条件
5.3	検査室の機材, 試薬, 及び消耗品
5.4	検査前プロセス
5.5	検査プロセス
5.6	検査結果の品質の確保
5.7	検査後プロセス
5.8	結果の報告
5.9	結果の報告(リリース)
5.10	検査室情報マネジメント

当院検査室は、2007年にISO 15189:2007 (第2版)を取得し、その後、ISO 15189:2012 (第3版)にて認定継続中であるが、今回の改定を受け、2024年以降に文書管理を大きく見直し、ISO 15189:2022 (第4版)による更新予定である。先述の医療法等改正により、精度の確保に係る標準作業書の作成や作業日誌および台帳の記録が義務化されたが、既にISO 15189の要求事項を満たす上で機器や測定項目の標準作業手順書の作成、試薬管理、機器保守点検(日常点検、定期点検)に関する作業日誌など、殆どが精度保証のために実践している内容であったため、義務化は受け入れやすい環境だったといえる。他にも内部精度管理、外部精度管理だけでなく、結果に影響を及ぼす環境要因、冷蔵庫・冷凍庫の温度管理、要員のスキルまで検査結果の品質の確保に至るすべてが精度保証の要素といえる。

IV. 染色体検査

1. 環境要因

精度保証、つまり検査結果の品質の確保を考えるうえで、検査前、検査中、検査後の一連のプロセスが重要となる。まず、環境についても、遺伝子検査では、核酸の抽出、PCR反応試薬調整、増幅のエリアは、クリーンベンチの設置や部屋をわけるなどの必要があるが、染色体検査でも、培養時のクリーンベンチ内での作業はもちろんだが、標本作製時の部屋の温度・湿度の

管理、鏡検時には静かで作業が中断されない場所などが求められる。

2. 一次サンプル

染色体検査は、一次サンプル(末梢血、骨髄血、体腔液、リンパ節など)の採取、培養、低張・固定・展開操作の標本作製工程、Gバンド染色を行い、標本を鏡検、写真を核型解析して報告する。一次サンプルとなる凝固した血液検体や腫瘍細胞が少ない骨髄血やリンパ節などでは、分裂不可や正常細胞のみを分析してしまい結果に影響を及ぼすため、塗抹標本を事前に観察することも必要である。

3. 標本作製

染色体では、International System for Human Cytogenetic Nomenclature2020 (ISCN2020)⁴⁾によるバンドレベルが高いほど精度が高いといえる。先天性では550バンド程度、造血器腫瘍では300から400バンド程度が理想である。バンドはGバンド染色により分染されるが、標本作製の工程条件に左右される。

展開操作では、適度なメタフェーズの広がりになるように、高さ15センチ位からカルノア浮遊液を滴下させるが(Fig. 2-①)、検体材料、作業部屋の温度・湿度でも滴下条件が異なるので、鏡検して広がりを確認しながら標本作製している。展開操作の条件は、Fig. 2 (②~④)⁵⁾に示したようなメタフェーズの広がりを参考に判断する。②は染色体の重なりも少なく、観察

に適した広がりであるが、③は滴下の高さが高すぎて染色体が飛び散り、染色体数にばらつきが生じる結果となる。④の場合は反対に低すぎて、染色体が重なり合って解析が困難なメタフェーズとなる。ただし、原因は、展開時の高さだけでなく、コロセミドのLOTの影響や低張時間、固定時間が適切でない場合もあり、工程ごとの原因追及が必要な場合もある。

Gバンド染色では、トリプシンの反応時間が決

め手となるFig. 2 (②、⑤、⑥)。②の適切なバンドの濃淡に比べ、トリプシンの反応時間が長い⑤では形態が崩れ、反対に反応時間が短い⑥ではバンドの濃淡が不明瞭でギムザ染色のような形態となる。Gバンド染色の場合、まず、条件をみつけるために試し染色を行うが、Fig. 3⁶⁾に示した2番染色体の短腕の4本のバンドの入り具合でその日のトリプシン時間を決定している。

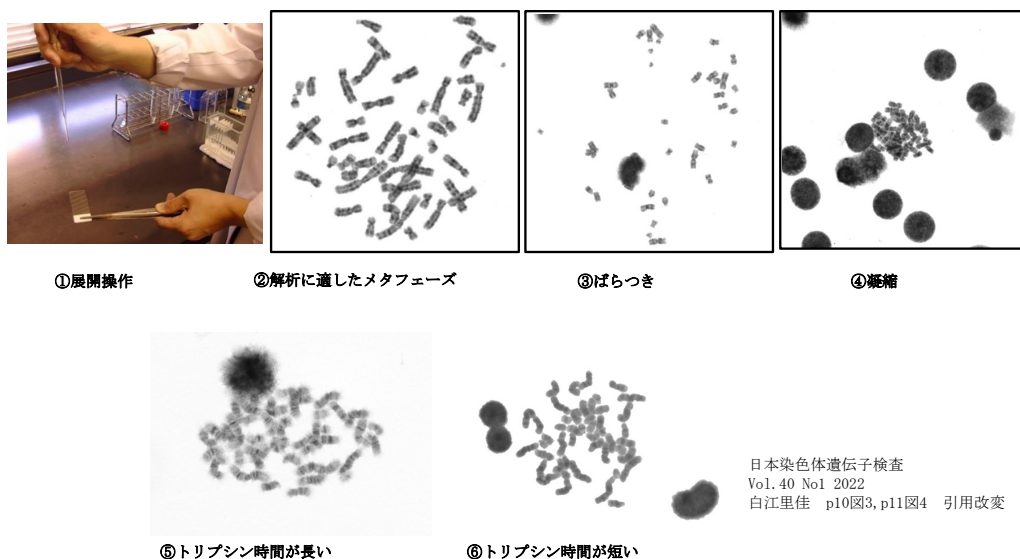
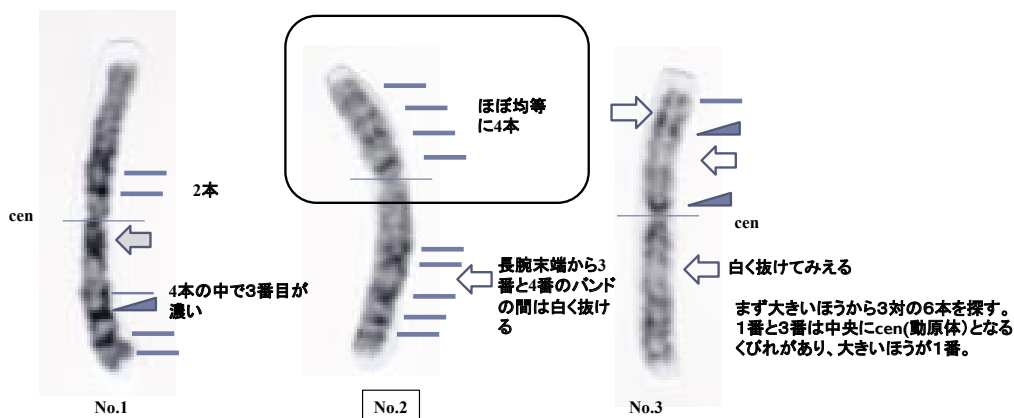


Fig. 2 展開操作とGバンドの条件の違いによるメタフェーズ



JAMT遺伝子・染色体検査技術教本
11.4核型分析 p226 より引用改変

Fig. 3 A群 2番染色体の見分け方

4. 核型分析

核型分析は顕微鏡で通常20個のメタフェーズを分析し、数個のメタフェーズを写真撮影し、核板貼付を行い核型分析する。

正確に染色体を並べることは当然であるが、分析のスキルがなければ正確な報告ができない。例えば、先天性の数の異常で、一番多いのは21トリソミーのダウン症候群の核型であるが、標準型、転座型、モザイク型がある。転座型では、特に14番染色体との転座が多いが、仮に正確に並べても14番と21番染色体のロバートソン転座と気づかず、核型表記を46,XYのように正常核型として報告してしまえば、誤報告となる。先天性は、腫瘍性の染色体と違い、経過観察を行うわけではないため、さらなる注意が必要であり、ダブルチェックの重要性も高くなる。

構造異常の場合、不特定の相互転座の先天性と異なり、造血器腫瘍では病型に特異的な染色体異常が多い。

旧版となったもののWHO分類（第4版）⁷⁾ のカテゴリー AML with t(8;21)RUNX1-RUNX1T1, AML with inv(16)CBFB-MYH11, AML with t(15;17)PML-RARA のように、血液像の形態からでも予測可能な染色体異常⁸⁾ は病型決定に重要である。反復性（特異的）染色体異常を理解し、事前に異常細胞の形態を確認しておくことも精度保証につながるといえる。

ただし、腫瘍性の分析を行う際には、腫瘍細胞のメタフェーズは広がりやすく、正常のメタ

フェーズは広がりやすいことから、正常細胞ばかり分析してしまうことになりかねないため、臨床データを知って分析することも必要である。

5. 精度管理

遺伝子関連検査・染色体検査の精度管理では、標準物質がないこと、自家調整試薬が多いことから、検体検査とは異なることが多い。遺伝子検査における内部精度管理については一般に陰性、陽性コントロール、内部標準遺伝子が用いられるが、染色体検査では、操作手順の確認のために染色性のチェックと、核型解析についてはダブルチェックを目合わせとして管理していることが多い。

外部精度管理調査受検については、医療法改正では努力義務であるが、ISO15189では、検査室間比較、代替のアプローチは要求事項（Fig. 4）³⁾ でもあり、認定取得の上では必要不可欠である。

最近では、遺伝子検査においてもメーカーサーベイ、学会主催のサーベイなどが増えたことで、外部精度管理調査が受検しやすい環境となってきた。

V. 認定資格

遺伝子関連検査・染色体検査の精度管理責任者の配置では、原則、業務経験を有する医師または臨床検査技師、専門知識、経験を有する他職種とされる。さらに、研修会への参加も義務

ISO15189 5.6.3 検査室間比較

5.6.3.1 参加

検査室は、検査結果及び検査結果の解釈に適切な検査室間比較プログラム（外部精度評価プログラム、技能試験プログラムなど）に参加しなければならない。

5.6.3.2 代替のアプローチ

検査室間比較が不可能な場合はいかなるときも、検査室は、その他のアプローチを開発し、検査結果の許容性の決定に関する客観的証拠を提供しなければならない。可能な限り、この手法では適切な材料を利用しなければならない。

- 認証標準物質
- 過去に検査したサンプル（試料）
- 保管細胞又は組織からの材料
- 他の検査室とのサンプル（試料）の交換
- 検査室間比較プログラムで日常的に検査される管理物質

Fig. 4 ISO15189 5.6.3 検査室間比較 要求事項³⁾

化され、がんゲノム関連の研修会が増え、コロナによる遺伝子検査施設が増えたことで、遺伝子関連の研修会も増え、情報の共有化としても良い環境となった。

精度保証に限らず、進歩が著しい遺伝子分野では、知識、力量を高めることは重要である。遺伝子関連検査・染色体検査の認定資格の一部を紹介する。認定臨床染色体遺伝子検査師（日本臨床衛生検査技師会）、遺伝子分析科学認定士（日本臨床検査同学院）、ジェネティックエキスパート認定（日本遺伝子診療学会）、臨床細胞遺伝学認定士（日本人類遺伝学会）、バイオリポジトリ技術管理士（日本生物資源産業利用協議会）の資格がある。特に染色体検査において、認定取得者による内部精度管理としてのダブルチェックの目合わせが望まれるため、認定取得や認定継続のための研修会に参加することも大事である。

VI. まとめ

今回の本学会のテーマ「臨床検査の新たな展開afterコロナ時代を見据えて」であるが、医療法改正、がんゲノムによるISO15189認定の普及、そしてコロナ禍を背景に、遺伝子検査が多く施設で開始され身近な分野となった今、精度管理、人材育成について大きく見直す契機となった。

医療法改正を機に、遺伝子関連検査・染色体検査の責任者の配置、内部精度管理および研修会の実施の義務化、外部精度管理調査受検の努力義務化によって、精度保証の環境が整ってきたこと、ISO15189の要求事項を遵守することで、適切な精度保証の確保につながると考えている。

本論文内容に関連する著者の利益相反：なし

文献

- 1) 厚生労働省「医療法改正等の経緯と検体検査の精度の確保に係る基準について」<https://www.mhlw.go.jp>（参照2023-3-1）
- 2) 公益財団法人 日本適合性認定協会<https://www.jab.or.jp>(参照2023-1-5)
- 3) 監修：ISO/TC212国内検討委員会：臨床検査室品質と能力に関する要求事項 ISO 15189 国際規格, 第3版 英和对訳版, 日本規格協会, 東京 (2013)
- 4) Jean McGowan-Jordan, Ros J. Hastings, Sarah Moore: ISCN 2020 An International System for Human Cytogenomic Nomenclature(2020), 1st ed., S. Karger AG, Switzerland (2020)
- 5) 白江里佳、高井良美智代、佐藤悦子:染色体検査分野.日本染色体遺伝子検査学会雑誌, 40(1), 7-13, 2022.
- 6) 監修：一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会, 佐藤悦子他：11.4核型分析.JAMT遺伝子・染色体検査技術教本, 226, 丸善出版, 東京(2019)
- 7) Eds Swerdlow SH,Campo E, et al, World Health Organization classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.Revised,4th ed. World Health Organization, Lyon (2017).
- 8) 佐藤悦子、高井良美智代 他: 染色体遺伝子検査でわかる病勢の変化検査と血液,15(3):465-475,2014.