

## 遺伝子検査の基礎知識

### 検体採取から結果とその解釈まで

◎西岡 光昭<sup>1)</sup>

山口大学医学部附属病院検査部<sup>1)</sup>

遺伝子検査の臨床応用はこれまでほとんど見受けられず、あまりなじみのない検査としての位置づけであったが、昨今の新型コロナウイルス(SARS-CoV2)対応に伴い急激に遺伝子検査、特に「PCR検査」が検査室だけでなく世の中に広まってきた。また、我が国の第3期がん対策推進基本計画に基づいて、本格的にがんゲノム医療が開始され、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)ブロックを用いた遺伝子検査を行うようになり、病理検査に「遺伝子検査」が入り込んできた。こうした状況から、近年、遺伝子検査における検体採取とその取り扱いから測定前処理、測定方法、結果の提示方法、結果の解釈等の多くの知識が臨床現場で必要となり、その臨床現場で実際に検査を行う臨床検査技師の教育が急務となっている。本内容では、遺伝子検査を行う上での基本的な知識を「①検体採取」「②測定前処理」「③測定方法」「④結果とその解釈」の4つの工程に分けて、なるべくわかりやすく基本的な情報を中心に提示していく。

**①検体採取**：検体採取の工程はほどの臨床検査でも重要であるが、遺伝子検査を目的とした検体採取で重要なことは、対象となる核酸がDNAかRNAかでその扱い方が異なってくるということである。また、検体採取中やその後の保管において「滅菌操作」は細菌検査と同様に非常に重要なポイントの一つである。

**②測定前処理**：遺伝子検査と他の検査で前処理の異なる点は、いかに核酸を分解させずに操作するかということである。①で示した「滅菌操作」だけでなく、適切な器具を用いて実施しなければすぐに分解されていくものもあるため注意する必要がある。

**③測定方法**：遺伝子検査の測定方法は近年、非常に多くの原理を用いた機器が存在している。その基本原理の多くは核酸の増幅がメインとなっている。その中心となるものが「PCR検査」である。このPCR検査を中心に様々な測定法を紹介する。

**④結果とその解釈**：臨床検査の結果を正しく提示するためにはその測定系が正しく機能しているかどうかを

判断する要素として「精度管理」が挙げられる。この精度管理をどのように行うかは、まだ確立されていないため、現在の状況を踏まえて提示していく。また、結果の解釈においては注意を要する点がいくつかあり、他の臨床検査とは異なる知識が必要である。この点においても具体例を交えながら提示していく。

本講演内容ですべての遺伝子検査の基本情報を提示できるわけではないが、これから遺伝子検査を始める方や、遺伝子検査の知識を学びたい方にとって、少しでも役に立つ情報を提供できれば幸いである。

連絡先：0836-22-2582

## 微生物検査における臨床への応用

◎大森 章恵<sup>1)</sup>

公益財団法人 大原記念倉敷中央医療機構 倉敷中央病院<sup>1)</sup>

### 【はじめに】

当院では2020年はじめ頃より新型コロナウイルス感染症の中等症、重症患者の受け入れが始まり、私たち微生物検査技師11名に与えられた院内での遺伝子検査実施という使命は非常に大きく重く、実際に新型コロナウイルス遺伝子検査LAMP法が開始となったのは同年4月からであった。それまで、当検査室保有の遺伝子検査機器は結核菌群遺伝子検査に使用していた Loopamp EXIA と非結核性抗酸菌PCR検査に使用していた TaqMan48 のみであった。当検査室同様、遺伝子検査にほとんどたずさわらなかった検査室も非常に急ピッチに院内の微生物遺伝子検査体制の構築が求められたのではなかろうか。

今回は、当検査室における遺伝子検査の変遷と今後について述べることとする。

### 【当検査室のこれまで～現在】

一保有している遺伝子検査機器および関連設備一

- ① Loopamp EXIA
- ② クラスII安全キャビネット3台
- ③ 核酸自動精製システム Maxwell RSC Instrument  
(2020年9月27日 - 2021年9月20日)
- ④ FilmArray (2020年12月1日運用開始) 重症対応
- ⑤ Smart Gene(2020年12月29日運用開始) 緊急検査
- ⑥ GeneXpert (2021年9月21日運用開始) 緊急検査
- ⑦ cobas 6800 (2021年9月21日運用開始)

③～⑦は微生物検査室に段階的に導入された機器である。機器選定にあたっては

- ・ 約70名の時間外検査担当技師も対応できる簡便な操作性を持つ全自動機器であること
- ・ 新型コロナウイルス検査だけでなく試薬ラインナップが多く、微生物分野以外でも広く活用できること
- ・ 院内クラスター対応、県からの要請および地域での検体受け入れに対応できること

など、自施設の持つ特性・役割を考慮し選定した。

一遺伝子検査機器の活用・応用一

③の核酸自動精製システムはLAMP法測定前のRNA抽出に使用していたが、現在は染色体検査室に移設し、白血病におけるPCR検査時の核酸抽出に使用している。

④はウイルス・細菌核酸多項目同時検出が可能であり、現在は臨床からの要望で呼吸器パネルおよび髄膜炎・脳炎パネルを採用したことにより、早期診断および早期治療に貢献している。

⑦は大型の全自動遺伝子検査装置で組み合わせ測定が可能、現在は他部署と連携し新型コロナと肝炎ウイルスPCR検査を1バッチで測定している。さらに、結核菌群と非結核性抗酸菌PCR検査も実施、至急対応が必要となった結核菌群PCR検査は⑥を使用し、場合により機器の使い分けをしている。また、1つの機器に対し2つのLISが切り替え接続できるようシステム改造を行ったことにより他部署とスムーズに連携し、機器を共用している。

### 【そして、これから】

遺伝子検査機器を活用し、感染症分野での早期診断・早期治療への応用が期待できる項目の一例を挙げる。

- ・ *C.difficile* トキシンB 遺伝子の検出
  - ・ 性感染症の微生物遺伝子検出
  - ・ 血液培養陽性液からの微生物・薬剤耐性遺伝子の検出
  - ・ 培養困難あるいは培養不能な病原微生物の検出
- 新型コロナのタイピング目的に次世代シーケンサー(NGS)を導入した施設は、予防医療への活用、さらには未知の微生物の検出、今後起こりうる新興感染症への対応が期待できるのではなかろうか。

### 【おわりに】

発生から4年目となった2023年5月より新型コロナウイルス感染症が5類感染症に移行した現在、院内の検査体制の変更やPCR検査件数減少にともない、今までに微生物検査室に導入された複数種類の遺伝子検査機器をいかに活用・応用するかに重点が置かれている。各施設の持つ特性やマンパワー、教育体制に違いはあるが、検体数やランニングコストなどを十分に考慮したうえで自施設に合った遺伝子検査を導入・応用させ、臨床に大きく貢献したいものである。

連絡先：086-422-0210 (内線2424)

## 血液検査における臨床への応用

◎橋本 祐樹<sup>1)</sup>鳥取大学医学部附属病院 検査部<sup>1)</sup>

血液検査における遺伝子検査は、主に造血器腫瘍遺伝子検査が臨床の現場で活用されている。検査数こそ病原体遺伝子検査を比較すると少ないものの、PCR検査を中心に造血器腫瘍の診断や病型の確定、腫瘍細胞のクローナリティーや細胞起源の決定、ウイルスによる発癌の証明、微小残存病変の検出による治療効果モニタリングや再発の早期発見、予後因子の評価などを目的として実施されている。特に、分子標的治療薬の登場やWHO分類の普及に伴い、診断や治療選択に必須の検査となり、検査数が増加しているのが現状である。また、2022年に論文で発行されたWHO分類第5版では、それまでの遺伝子検査の結果のみで診断を確定できる病型が3つであったのに対し、9つに増え、造血器腫瘍に対する遺伝子検査の重要性は増してきていると考えられる。更に今回のWHO分類第5版では遺伝子名の表記方法が変更となり、融合遺伝子の表記方法として「:(ダブルコロン)」を使用するようになったことも造血器腫瘍遺伝子検査にとっては大きな変更となった。

造血器腫瘍遺伝子検査の課題として、研究用試薬による検査室開発検査が多いことが挙げられる。体外診断薬も少数存在するが、試薬サイズが大きく、どちらかという検査センターのように毎日大量の検体が集まる施設向きの試薬サイズで、1バッチのコストと検査所要時間を加味すると地方大学病院規模で使用できるサイズが無く、現場と開発メーカー間で開発のミスマッチが起きており、大きな問題となっている。したがって、自施設で検査を実施する場合は検査室開発検査になる場合が多く、それに伴い標準化も難しい現状があり、この点も造血器腫瘍遺伝子検査の課題と言える。

造血器腫瘍遺伝子検査におけるがんゲノム検査も近年注目されている。日本血液学会から「造血器腫瘍ゲノム検査ガイドライン 2021年度一部改訂版」が2022年3月に作成され、パネル検査において迅速結果返却が望ましい遺伝子異常（Fast-track 対象遺伝子異常）に関する情報を加えられた。これまで実施されているがんゲノム検査と造血器腫瘍のがんゲノム検査の大きな違いが反映されており、造血器腫瘍ではこれまでのような「治療法の選択」の目的のみならず、「初診時

の診断」「予後予測」といった目的にも利用される点が大きく異なり、どの程度実施されていくのか臨床現場や検査室から非常に注目されている。

本シンポジウムでは、造血器腫瘍遺伝子検査の臨床応用の一般的な流れ、その特徴と課題をまとめ、最近の話題としてWHO分類第5版での変更点や造血器腫瘍のがんゲノム検査に触れるとともに、その他に私が経験した遺伝子検査技術の応用として急性前骨髄急性白血病へのRT-LAMP法の試みや造血器腫瘍遺伝子検査から見た新型コロナウイルス対応で感じたことも紹介したい。

連絡先

TEL : (0859)-38-6871(直通)

E-mail : y.hashimoto@tottori-u.ac.jp

## 病理検査における遺伝子関連検査の役割と現状

◎松永 徹<sup>1)</sup>、松永 睦美<sup>1)</sup>、多田 有輝子<sup>1)</sup>、清永 加菜<sup>1)</sup>、郷田 衛<sup>1)</sup>、片倉 和哉<sup>1)</sup>  
香川大学医学部附属病院<sup>1)</sup>

病理部門では、日常業務として摘出された組織材料からホルマリン固定パラフィン包埋標本(FFPE)を作製し、薄切などの作業を経て、ヘマトキシリン・エオジン染色を実施し、病変の良悪性、組織型およびがん取扱い規約に示されている様々な病理学的因子などを決定する病理診断業務がおこなわれている。病理標本の作製技術そのものは、パラフィン包埋法やホルマリン固定法が確立された1800年代後半からほぼ変らない確立された技術であるが、1900年代に細胞が発現している特定のタンパク質を同定し可視化する、免疫組織化学的検索法(免疫染色)の技術が開発されて以降、分子生物学的な検査手法が病理診断の補助として広く用いられるようになった。特に2000年頃にはHER2に代表される分子標的治療薬と、その適応を免疫染色で判定する検査法がセットで開発、臨床応用される、いわゆる「コンパニオン診断/コンパニオン診断薬」が登場したことで、病理診断は形態学的診断だけでなく治療薬選択の判断としての役割も加わった。さらに現在ではFFPEから核酸を抽出し、腫瘍の組織型や治療薬選択に関連する遺伝子関連検査をパネル検査として実施できる「がんゲノム遺伝子パネル検査」が日常的におこなわれるようになってきており近年、病理部門が関わる遺伝子関連検査はめざましい発達を遂げている。

本来、遺伝子関連検査を行う被検査材料としては、未固定かつ新鮮な生組織が最適ではあるが、その保管、管理が煩雑であり、特殊な設備を要すること、さらに遺伝子検査用の凍結保存組織材料は形態学的診断がなされていないことが多いため、病理部門では一般的にFFPEが用いられている。FFPEは多くの病理検査室でHE染色標本による形態診断を目的として正常部を含めて日々多数のFFPEブロックとして作製され、常温で保管されている。また、作製されたFFPEは病変の有無に始まり「がん」の腫瘍細胞割合などの質的、および量的な診断が病理医によりなされており、腫瘍部と非腫瘍部をマクロダイセクション法により明確に分離することも可能である。その一方で、検体摘出から標本作製までのプレアナリシス段階が核酸品質に大きく影響を及ぼすことも知られており、遺伝子関連検

査を成功させるためには、病理診断および検査に適した「良質」な材料を可能な限り多く採取することや、病理標本作製過程の標準化を含めて、遺伝子関連検査の品質保証のために各施設固有の事情も加味して様々な取り組みがおこなわれているのが現状である。

今回の発表では、当院の病理診断科・病理部でおこなっている遺伝子関連検査の現状と問題点について報告する。

連絡先：香川大学医学部附属病院 病理診断科・病理部 087-891-2282