

遺伝子・染色体検査部門

精度管理事業担当者：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：榊原 達朗（豊田厚生病院）

村上真理子（刈谷豊田総合病院）

向出 将人（日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院）

I. はじめに

本年度は、SARS-CoV-2核酸増幅検査・結核菌群核酸増幅検査について不活化ウイルス、不活化菌液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. 結核菌群核酸増幅検査 サンプルサーベイ

- 1) 不活化菌溶液1（試料104）
- 2) 不活化菌溶液2（試料105）

3. 文章設問（設問5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

IV. 参加施設数について

SARS-CoV-2核酸増幅検査への参加は41施設、結核菌群核酸増幅検査への参加は38施設、文章設問への参加は37施設（最大）であった。

V. 評価基準

試料101～102、試料104～105、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、試料104～105、設問1～5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陽性	97.6
試料102	②陰性	100.0
試料104	②陰性	97.4
試料105	①陽性	92.1

	正解	正解率(%)
設問1	④RNAは酸性では不安定だが弱アルカリ性では安定なため、溶解する溶液のpHを約8.5にする。	100.0
設問2	②マルチプレックスPCRでは複数の病原体を同時に検出することができる。	100.0
設問3	⑤EGFR遺伝子変異検査は、生殖細胞系列遺伝子検査に分類される。	97.2
設問4	③肺癌コンパクトパネルでは細胞診検体での検査は行うことができない。	94.4
設問5	①PML::RARA	97.2

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101)を作成した。陰性試料(試料102)には、健康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101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。採用頻度が高い機器・キットはGeneXpertが10施設、SmartGeneが7施設、次いでFilmArrayが6施設であった。

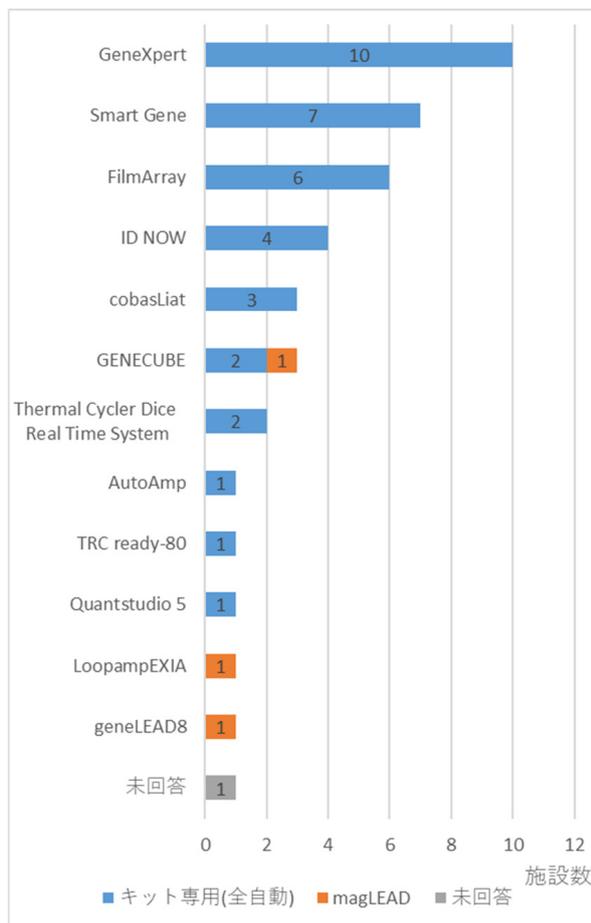


図1

1) 試料101

陽性試料として、不活化ウイルス量100,000コピー/mLを100μL（総量10,000コピー）配布した。

41施設のうち、39施設が陽性(95.2%)、1施設が判定保留(2.4%)、1施設が陰性(2.4%)の回答であった(図2)。判定保留、陰性であった施設の使用解析機器は、共にSmartGeneであり、SmartGeneで回答された施設は7施設であった。

判定保留と回答された施設は定量値45/45と記載があり、検出は出来たがサイクル数がギリギリだったため判定保留とされたため、本サーベイにおいては正解としA評価とした。

SmartGeneで回答された施設の陽性率は85.0%（判定保留の施設も含む）であり、その定量値は41～45/45であった。他の定量可能な解析機器を使用した施設の定量値は30前後（最小29、最大34.5）であり、SmartGeneとの感度差がある可能性が示唆された。

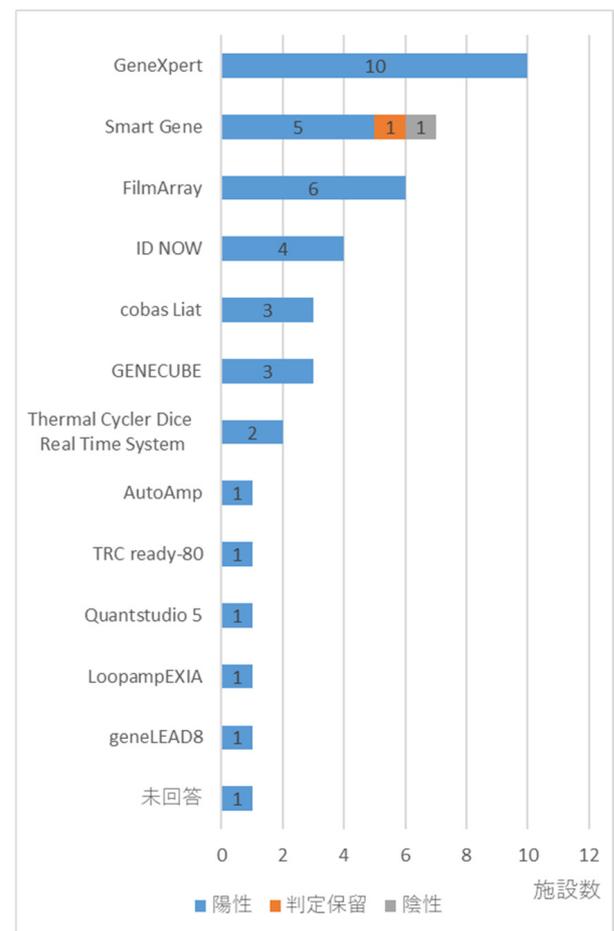


図2

2) 試料102

陰性試料としてヒトリンパ球浮遊液を100 μ L配布した。41施設のすべてが陰性の回答であった。

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。SmartGeneは、他の測定法と比較すると、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. 結核菌群核酸増幅検査 サンプルサーベイ

結核菌群核酸増幅検査のサンプルサーベイとして、不活化菌溶液を試料として使用し、NALC-NaOH処理後の検体として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結核菌遺伝子検査精度管理コントロール(関東化学株式会社)を使用し、1種類の陽性試料(試料105)を作成した。陰性試料(試料104)には、PCR grade Waterを使用した。

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3に示した。最も使用の多い機器・キットはGeneXpert、LoopampEXIAが12施設、GENECUBEが7施設、次いでTRCReady-80が5施設であった。

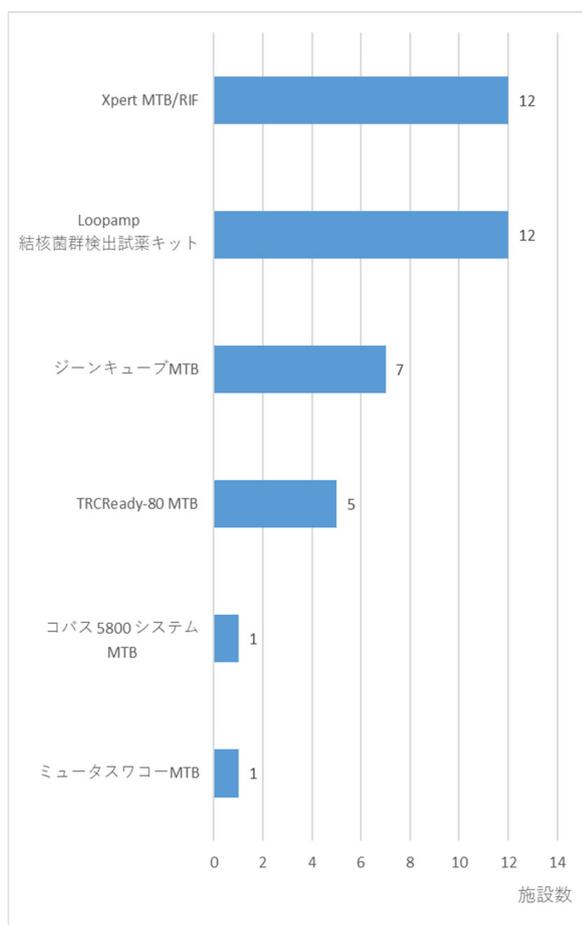


図3

1) 試料104

陰性試料としてPCR grade Waterを100 μ L配布した。38施設のうち、37施設が陰性(97.4%)、1施設が陽性(2.6%)の回答であった(図4)。

陽性と回答された施設は試料105を陰性と回答されており、入力間違いもしくは検体取り違いの可能性が考えられた。

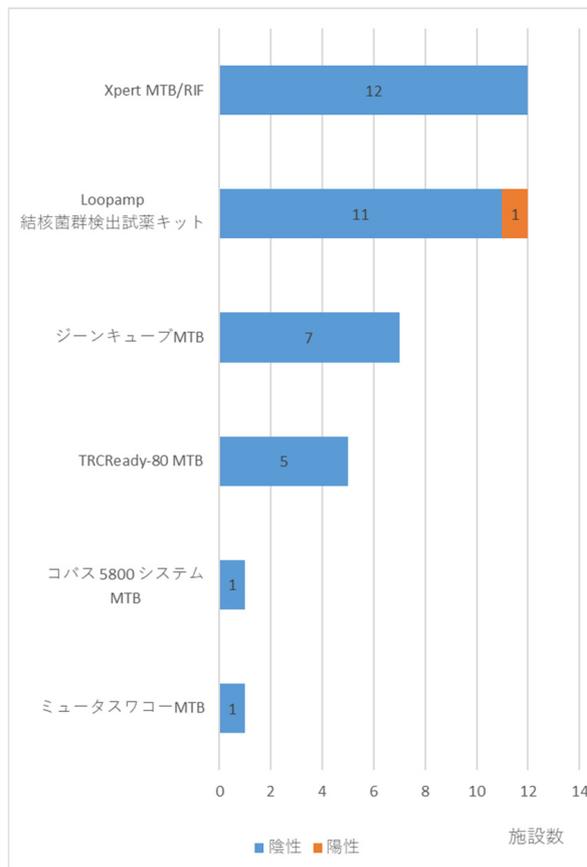


図4

2) 試料105

陽性試料として、不活化菌量1,200 ~ 12,000コピー/mLを100 μ L(総量120 ~ 1,200コピー)配布した。

38施設のうち、35施設が陽性(92.1%)、3施設が陰性(7.9%)の回答であった(図5)。1施設は入力間違い疑いであり、残り2施設での使用解析機器は、共にGeneXpertであり、GeneXpertで回答された施設の陽性率は約83.0%であった。今回陰性と回答された施設に確認をしたが、手順等に問題はなく明確な原因は不明確であり、偶発的なエラー等の可能性が高いと考えられた。

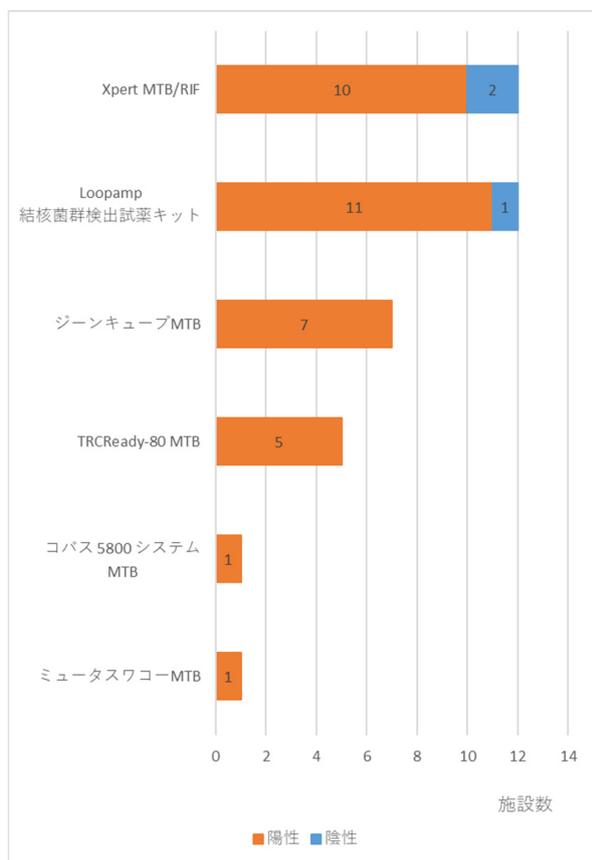


図5

試料104、105の結果から結核菌群核酸増幅検査のサンプルサーベイは概ね良好であった。結核菌群核酸増幅検査のサンプルサーベイは本年度が初めての実施であったが、特に大きな問題なく終了した。来年度も引き続き実施していく予定である。

3. 文章設問1～5

1) 設問1

核酸(DNAもしくはRNA)について誤っているものを1つ選択してください。

- ① DNAはガラスに吸着しやすいため、ガラス製のピペットなどの器具は用いない。
- ② 高分子DNAを抽出する場合は、凍結融解は避けたいほうが良い。
- ③ RNAはDNAと比べ非常に不安定であるため、保存には-70℃以下で小分け保存が望ましい。
- ④ RNAは酸性では不安定だが弱アルカリ性では安定なため、溶解する溶液のpHを約8.5にする。
- ⑤ DNA、RNAを取り扱う際には、手袋、マスクの着用は必須である。

回答	回答数	割合(%)
④RNAは酸性では不安定だが弱アルカリ性では安定なため、溶解する溶液のpHを約8.5にする。	36	100.0

【正解】 ④

RNAはアルカリ性では不安定だが弱酸性では安定なため、溶解する溶液のpHを約5.5にする。

2) 設問2

病原体に対する遺伝子検査に関して、正しいものを1つ選んでください。

- ① 遺伝子検査では病原体の核酸を直接検出するため感度が低い。
- ② マルチプレックスPCRでは複数の病原体を同時に検出することができる。
- ③ 遺伝子検査で得られた結果は、抗菌薬耐性の有無を判断することはできない。
- ④ 遺伝子検査では死菌と生菌の区別は可能である。
- ⑤ 遺伝子検査で病原体が陰性であれば、感染症の存在は完全に否定できる。

回答	回答数	割合(%)
②マルチプレックスPCRでは複数の病原体を同時に検出することができる。	37	100.0

【正解】 ②

- ① 核酸を増幅するため遺伝子検査は高感度。
- ③ 抗菌薬耐性の有無を判断できる。
- ④ 死菌と生菌の区別はできない。
- ⑤ 検体採取のタイミングや保存状態によっては偽陰性が起こる可能性がある。

3) 設問3

遺伝子関連検査について誤っているものを1つ選んでください。

- ① 病原体遺伝子検査は、喀痰、便といった感染部位から採取した材料が検体となる。
- ② 体細胞遺伝子検査は、腫瘍細胞の割合が重要である。
- ③ 体細胞遺伝子検査は、ホルマリン固定パラフィン包埋組織を用いて検査を行うこともできる。
- ④ 生殖細胞系列遺伝子検査は、生涯変化しないゲノムを対象とする。
- ⑤ EGFR遺伝子変異検査は、生殖細胞系列遺伝子検査に分類される。

回答	回答数	割合(%)
⑤ EGFR 遺伝子変異検査は、生殖細胞系列遺伝子検査に分類される。	35	97.2
② 体細胞遺伝子検査は、腫瘍細胞の割合が重要である。	1	2.8

【正解】 ⑤

EGFR 遺伝子変異検査は、体細胞遺伝子検査に分類される。

4) 設問4

各種遺伝子検査について誤っているものを1つ選んでください。

- ① オンコマイン DxTT で用いられるアンプリコンシークエンス法は少数で特定の遺伝子の変異ホットスポットなどを手早く簡便にスクリーニングするのに向いている。
- ② AmoyDx は、DNA の解析 (ARMS 法) では一塩基置換や欠失/挿入などの遺伝子変異を検出し RNA の解析 (RT-PCR 法) では、融合遺伝子やエクソスキッピングを検出する。
- ③ 肺癌コンパクトパネルでは細胞診検体での検査は行うことができない。
- ④ FoundationOne CDx で用いられるハイブリッドキャプチャーシークエンス法はコピー数の変化や融合遺伝子を含む多くの遺伝子の包括的な情報を得るのに向いている。
- ⑤ NCC オンコパネルはまれな遺伝子多型も含め完全に除外でき、体細胞遺伝子変異と生殖細胞系列遺伝子変異も区別できる。

回答	回答数	割合(%)
③ 肺癌コンパクトパネルでは細胞診検体での検査は行うことができない。	34	94.4
⑤ NCC オンコパネルはまれな遺伝子多型も含め完全に除外でき、体細胞遺伝子変異と生殖細胞系列遺伝子変異も区別できる。	2	5.6

【正解】 ③

肺癌コンパクトパネルは FFPE 検体の他に、細胞診検体も比較的容易に検査提出が可能である。

5) 設問5

AML (急性骨髄性白血病) で認められる主な遺伝子異常として誤っているものを1つ選んでください。

- ① PML::RARA
- ② RUNX1::RUNX1T1
- ③ FLT3
- ④ NPM1
- ⑤ MYD88

回答	回答数	割合(%)
⑤ MYD88	35	97.2
① PML::RARA	1	2.8

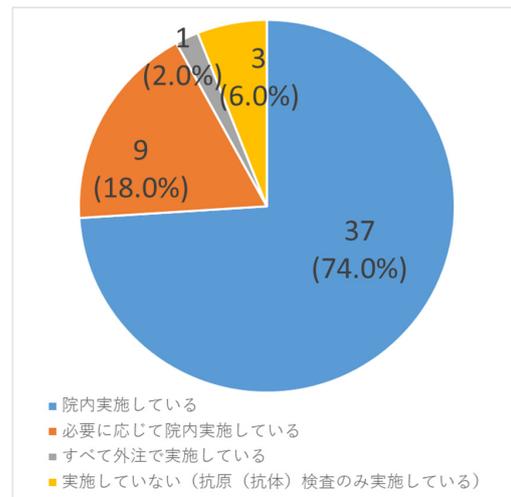
【正解】 ⑤

MYD88 は主に B 細胞性リンパ腫で認められる。

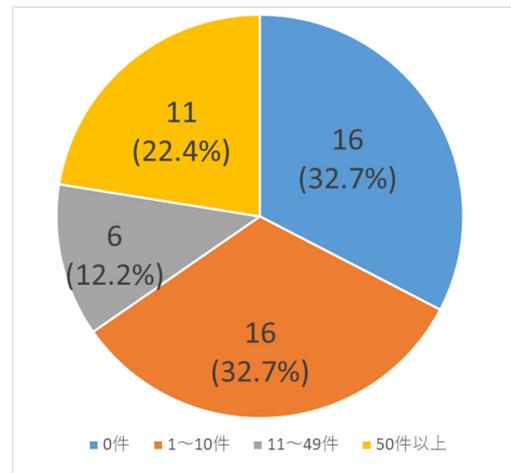
4. アンケート調査結果

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。

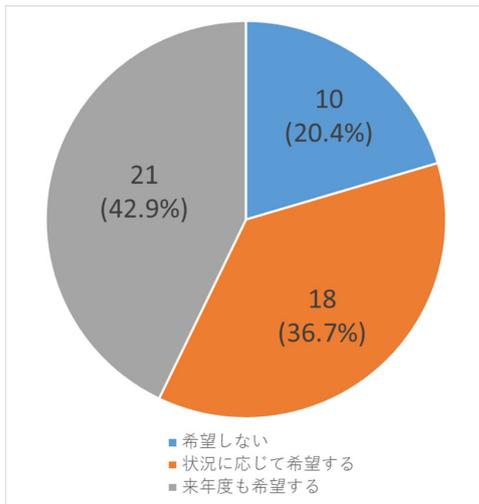
- ① 現在、SARS-CoV-2 核酸増幅検査を実施していませんか。



- ② SARS-CoV-2 核酸増幅検査の月間検査数 (およびその平均) は何件ですか。



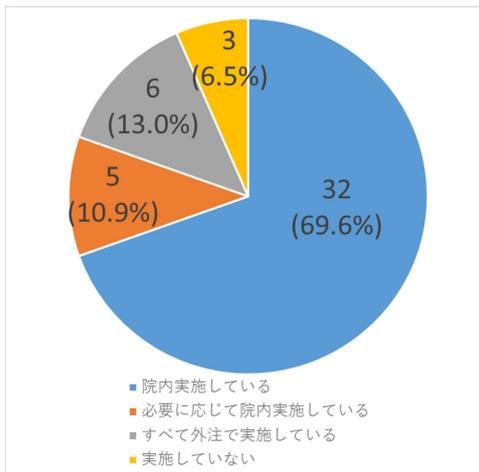
③ 今後SARS-CoV-2核酸増幅検査のサンプルサーベイの参加を希望しますか。



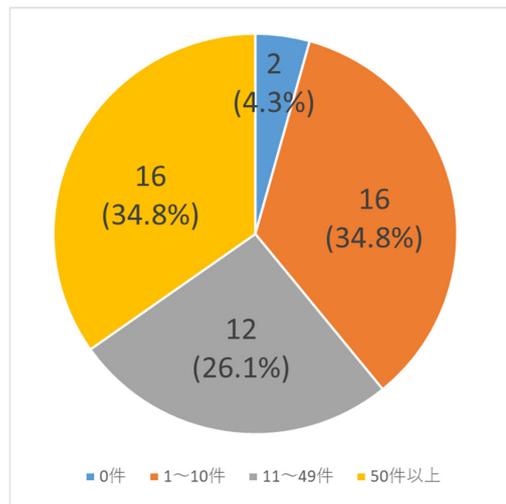
SARS-CoV-2遺伝子検査の実施状況について、調査を行った。現在(2025年8～9月調査)の実施状況は、前年度と同じ傾向で、外注で実施している施設が1件、実施していない施設が3件あった。1か月あたりの実施数は、各施設でさまざまであったが、0件、1～10件程度実施している施設が多かったが、50件以上実施している施設も多数あった。また、来年度のサンプルサーベイの参加希望は、希望しない施設もあるものの、多くの施設が希望する、状況に応じて希望するという回答であった。実施数も比較的多く、参加希望も多いため、来年度も引き続きサーベイを実施したいと考える。

2) 結核菌群核酸増幅検査の実施状況についてお答えください。

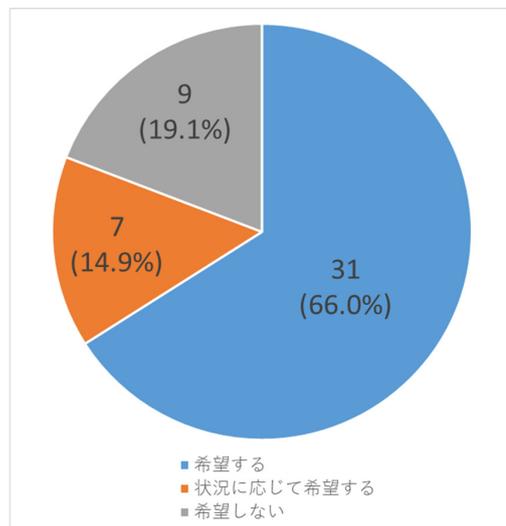
① 結核菌群核酸増幅検査を実施していますか。



② 結核菌群核酸増幅検査の月間検査数(およその平均)は何件ですか。

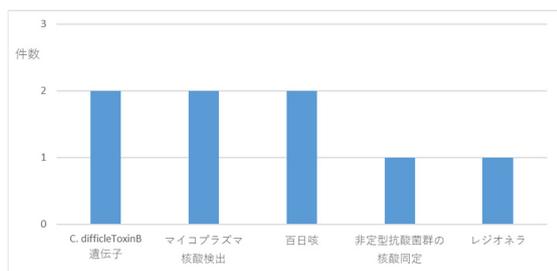


③ 今後結核菌群核酸増幅検査のサンプルサーベイの参加を希望しますか。



結核菌群核酸増幅検査の実施状況について、調査を行った。現在(2025年8～9月調査)の実施状況は、実施していない、すべて外注で実施している施設も20%程度あるものの、80%程度の施設が院内で実施していた。1か月あたりの実施数は1～10件、50件以上の施設が16施設、11～49件の施設が12施設であり、0件の施設もあった。来年度のサンプルサーベイの参加希望はSARS-CoV-2と同様に参加を希望しない施設もあるものの、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ため、来年度も引き続きサーベイを実施したいと考える。

3) 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。



その他のサンプルサーベイとしてマイコプラズマや百日咳、レジオネラ、クロストリジウムや非定型抗酸菌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、本年度より結核菌群核酸増幅検査のサンプルサーベイ、そして文章設問による知識調査を行った。SARS-CoV-2核酸増幅検査のサンプルサーベイは41施設、結核菌群核酸増幅検査のサンプルサーベイは38施設から回答を得られ、文章設問は計37施設(最大)から回答を得られた。

SARS-CoV-2核酸増幅検査のサンプルサーベイでは陽性試料(試料101)、陰性試料(試料102)の2種類の試料を配布して実施した。前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10,000コピー/tubeに変更した。試料101は97.6%で評価A、試料102はすべて評価Aであった。前年度より試料濃度を高濃度に変更したが、参加施設数や試薬の量を考慮すると、10,000コピー/tubeが最大付近である。多くの解析機器・キットで良好な正解率が得られたが、SmartGeneでは10,000コピー/tubeでは定量値より検出限界付近であることが伺え、他の測定法との感度差の存在が伺えた。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たいと考える。

本年度より始めた結核菌群核酸増幅検査のサンプルサーベイでは陰性試料(試料104)、陽性試料(試料105)の2種類の試料を配布して実施した。陽性試料としては不活化菌量120~1,200コピー/tubeを配布した。試料104は97.4%で評価A、試料105は92.1%で評価Aであった。今年度はおおよそ良好な結果であったが、まだ始めたばかりなので来年度も引き続き、注意深く動向を伺っ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。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。

結核菌群遺伝子検査も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実施していない施設もあった。検査件数は月50件以上を実施している施設も多くあった。

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、前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。また結核菌群遺伝子検査は院内での検査数も多く、その精度管理も重要であるため、来年度もサンプルサーベイを実施し、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. 遺伝子検査技術：宇宙堂八木書店
4. バイオマーカー検査の流れとマルチプレックス遺伝子検査：日本肺癌学会
5. 造血管腫瘍アトラス改訂第5版：日本医事新報社
6. 造血管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

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