

2030年に向けた臨床検査のあるべき姿

V. 遺伝子検査(遺伝子関連検査)

Genetic Testing

まえ かわ まさ と
前 川 真 人
Masato MAEKAWA

はじめに

2030年、日本では総人口は減少の一途をたどり、65歳以上の高齢化人口が32%に近づき、寿命は今よりさらに1歳近く延びると予測されている。医療費や介護費、社会保障にかかる費用は増大し、日本の財政はどうなっているだろう。一方では、次世代シーケンサー(next generation sequencer; NGS)などの技術が進歩し、人工知能(Artificial Intelligence; AI)やロボット化は進み、医療業務の効率は格段に向上しているに違いない。臨床検査に関する技術も進歩し、コンピューターやバイオインフォマティクスの性能が向上し、新しい検査法、検査項目なども開発されているだろう。付加価値とされる情報提供も増大するだろう。ワイヤレスでスマートフォンなどを用いた日々リアルタイムで得られる生体情報の収集から、医療機関で行われる検査(検体、画像)などを使い分けることで診断体系も変革され、検査の裾野も広がることが予測される。とはいえ、基本的な臨床検査の姿勢は普遍である。すなわち、精確な検査結果を報告することが基本であり、2030年の遺伝子関連検査も然りである。

I. 技術の進歩

遺伝子解析技術の進歩はさらに速く加速して広範囲で起こるだろう。遺伝子関連検査は、微生物核酸検査、ヒト体細胞遺伝子検査、ヒト遺伝学的検査に分類されるが、特にヒトにおいては、ゲノム、トランスクリプトーム、エピゲノム、マイクロRNA(miRNA)

など、多種のオミックス解析(マルチオミックス解析)が行われ、それぞれの情報が既存の臨床検査ほかの情報と相まって診療に使われていくことを期待する。

1. 微生物核酸検査

新型コロナウイルス感染症の核酸検査として、PCR以外のLAMP法などの遺伝子増幅法も多数使用された。感染症検査であるがゆえに、迅速・簡便に、多検体を分析でき、精確な結果を得ることができかが重要な要素となったが、方法により特徴があるため、目的に応じた使用が求められた。日常検査として行われている検査と同様に、大別すると、迅速・簡便にその場で検査できるポイントオブケア検査(point of care testing; POCT)と、多検体処理が可能な中央検査室で行われるタイプの検査に分けることができる。前者は疑診例や救急医療などで使用され、後者はスクリーニング的に用いられた。これらは、医療機関や検査室によって需要が異なるため、抗原検査も含め、たくさんの選択肢が市場に出回った。

一項目だけを調べるのではなく、マルチプレックスで多種の微生物の検出を1度に行う核酸検査の検査キットも活躍している。これは標的となる微生物が限定されており、それらが存在するかを見る検査である。今後、NGSも含めて技術がさらに進歩すれば、試料中に存在する微生物由来の全ての核酸の塩基配列を決定して、データベースと照合するメタゲノミクスの手法で、感染症の診断や感染対策に役立てることも¹⁾、臨床検査としてできるようになる可能性がある。また、SARS-CoV-2をはじめ病原微

生物の全ゲノム解析が手軽に行えれば、ストレスなく疫学調査を容易に行うことができ、より速くより精確に感染対策に役立てることができるかもしれない。感染症は早く検査結果がほしいため、使用される技術は匠の技としてのものではなく、訓練した臨床検査技師が臨床検査室で行えるもので、かつできるだけ安価なものであってほしい。

さらに、感染症検査とは一線を画するが、疾患やヘルスケアに関連していると言われる、腸内細菌叢や口腔内細菌叢などのヒト体内のマイクロバイオーーム²⁾の解析システムが容易に使用できるようになり、診療のみならず予防や予知など、いわゆる 3P-MEDICINE (Preventive, Personalized, Precision) として普及している可能性もある。これらの基幹技術は NGS であるが、現在の NGS ではなく、第三世代、第四世代の NGS で、ロングリードまで精確に読み取れるものが使用されている必要があるだろう。

2. ヒト体細胞遺伝子検査

ヒトを対象とした遺伝子関連検査は、感染症よりは時間的な許容幅が大きいことが多いため、多種多様な方法が選択肢に入る。もちろん、病気の進行が速い、治療方法を早く決めたいなど、少しでも早く結果を知りたい検査も存在する。NGS は 1 度に多量の情報ははじき出してくれることから、ますます遺伝子関連検査の中心的な役割を担っていくものと思われる。しかしながら、NGS も苦手な塩基配列、領域、バリエーションの種類があり、それらにどのように対応するかが課題として残るだろう。従って、NGS を補完する技術の開発が待たれる。サンガー法で補完するのは現実的ではなく、スループットが低すぎる。NGS を補完するのは、新しいタイプの NGS であるのかもしれない。また、検出されたバリエーションの意義づけ・臨床評価に関するガイドラインが少なからず公表されてきたが、まだまだ課題として残っていた。最近、がんの体細胞バリエーションの病原性分類の基準が紹介された³⁾。従って、バリエーションをいかに精確に検出するか、そしていかに精確に意義づけをするかが重要である。この点でも、バリエーションなどのデータベースとバイオインフォマティクス解析が進歩し、AI を活用した自動診断を期待したい。

測定対象の量が少ない場合、例えば、ヒト体細胞

遺伝子検査において、腫瘍の含有量の少ないがん組織や血液などの体液から抽出した核酸に占めるがん由来の核酸（循環血中腫瘍 DNA ; circulating tumor DNA; ctDNA) のバリエーションなどは、NGS による検出もバイオインフォマティクス解析でも検出・同定するのは困難である。たくさん存在する同じ配列のもの以外を増やして効率よくバリエーションを検出する方法、つまりバリエーションのエンリッチ法が期待されるが、その可能性は現時点では想像できない。従って、精確な分析技術とバイオインフォマティクスパイプラインの開発・改良の方が現実的なのかもしれない。

がん組織、もしくは ctDNA の解析によって、その患者のがん細胞で生じているバリエーションが判明したら、その患者用のがん遺伝子パネルを作製することが可能である。これを用いれば、該当のバリエーションの趨勢を、血漿を試料とした ctDNA の解析によって経過観察することも可能となる。欠点は新しいバリエーションが生じても検出できないことであるが、標的が絞られる分、より安価に感度良く検出できる。現時点でもそのサービスは存在する⁴⁾。

マルチオミックスとして、検査項目が増え、それらの結果を含め統合して診断する方向性が考えられる。この際、遺伝子関連検査以外の従来の検査や、他のオミックス解析、たとえばプロテオミクスやメタボロミクスなどの結果も合算したシステム化された検査も増えて来ると思われる。例えば、遺伝子とタンパク質のマーカーを組合せた「がん」診断のツールである CancerSEEK の臨床検討が進められている⁵⁾。CancerSEEK の一番の特徴は、がん遺伝子パネル検査や Oncotype DX のような遺伝子のバリエーションや発現量から判定するのではなく、遺伝子解析による循環血中腫瘍由来の ctDNA と臓器特異的なタンパク質解析を組み合わせることで、異常の場所と種類（質）を判断しようとするものである。このような異なる技術を使って解析した結果を組み合わせるマルチオミックス解析において、遺伝子からの情報以外を組み合わせることは重要な位置づけとなると期待される。実際、研究レベルではふつうに行われてきたものと考えられる。一個のがん組織からゲノム、トランスクリプトーム、エピゲノム、プロテオーム（免疫組織染色を含む）などの情報を得て、統合的に判断するなど行われていたので、それを検査キット化することで、一気にハードルが

下がり、実施しやすくなるであろう。また、データ自体が一生変化しないゲノム情報だけではなく、変化する項目も一緒に評価するため、時系列での変動が重要でビッグデータとなりうるため、結果の解釈にはAIとの協働が重要である。時間軸を考えると、前がん病変のオミックス解析によって、がん化の可能性や早期診断など、予知医学、予防医学に役立てることも期待される。

3. ヒト遺伝学的検査

未診断疾患イニシアチブ (Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases; IRUD)⁶⁾ の遺伝学的解析によって、希少・未診断疾患の40%強の遺伝学的背景が明らかとなってきた。また国内外の研究者とのデータシェアリングにより、さらに診断確定などの成果が出ている。診断率は技術の進歩によってさらに上昇し、遺伝子に起因する疾患の診断は加速度的に進むことが期待される。これらは全て研究によるものであるが、原因が判明すれば診療目的となるものが増える可能性がある。すなわち、難病の全ゲノムシーケンスが計画されており、現在は保険適用される遺伝学的検査は少ないが、手技が容易になるとともに、IRUDで判明した疾患も既存の難病も、同じレベルで診療に用いる遺伝学的検査となりうるかもしれない。ただし、種類が多くなってしまうと個々に測定系を構築するよりも同じ測定系で行う方が現実的で、コストダウンにも繋がると思われるので、頻度の高いものを包括化・パネル化し、そうでないものは網羅的に解析するのがよいのだろう。

体質診断も遺伝子を使用されつつあるが、全ゲノムシーケンスによるバリエーションデータの集積と解析によって、2030年頃から治療方針の決定や予後推定に使用されるようになるかもしれない。発症前の予防医学や予知医学はもう少し時間がかかるだろうが、遺伝医療は確実に「個の医療」を推進してくれる。

薬物代謝に関係する遺伝子解析 (ファーマコゲノミクス) の活用が進むが、薬物代謝も遺伝子だけによる推測ではかなり誤差があることがわかっている。遺伝子を見るにしても複数の関連遺伝子、そして腎機能や肝機能など後天的な薬物代謝への干渉要因も含めた総合的な「個の薬物治療」に移行していく必要があると考える。

II. 検査の基本を忘れない

1. 臨床検査は診療に不可欠

国際臨床化学連合 (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine; IFCC) がそのホームページに掲載している臨床検査の広報スライドに、「Laboratory medicine results: A hidden treasure in health care」というタイトルのものがある。すなわち、臨床検査結果は、医療記録の中の客観的データの94%、緊急異常値報告によって影響される臨床決定の90%、診療ガイドライン記載の23%、コンパニオン診断結果の23%を占めると記載されている⁷⁾。遺伝子関連検査も検体検査の一つで、客観的なデータを示してくれる。治療薬の選択など治療に直結する検査も多い。2030年になるだろうが、臨床検査の重要性は下がることはなく、頼れる臨床検査の遂行を目指すべきである。

2. 正確な検査結果を得るために

目的に応じた適切な検査が依頼され、適切な検査法を選択する必要がある。適切な設備を整えた検査施設で、適切な教育・研修を受けた要員によって検査を実施する。検査の全工程 (分析前、分析、分析後のプロセス) を適切に行い、全工程の質保証・運営を確実に行う (図1)。分析は通常検査室内で行われる分析・測定を示すが、分析プロセスだけが結果に影響するわけではなく、分析前と分析後のプロセスも重要である。臨床化学検査の場合、日常行われている臨床検査値が正確でない場合、分析前プロセスの関与が大きく全体の60~70%を占めると報告されている⁸⁾。それは、分析技術の標準化に比して、分析前プロセス (検体採取時の個体の生理的変動などの条件、検体採取や搬送・前処理や保管などの方法) に関する標準化が相対的に遅れており、自動化ができないためヒトが関与する割合が多くヒューマンエラーが多い上に、重要性に関する認識も不十分であるためである。新しい遺伝子解析技術が遺伝子関連検査に使用される場合にも、注意すべき重要なプロセスと考える。

米国CDC (Centers for Disease Control and Prevention) のACCEモデルは、分析的妥当性 (A)、臨

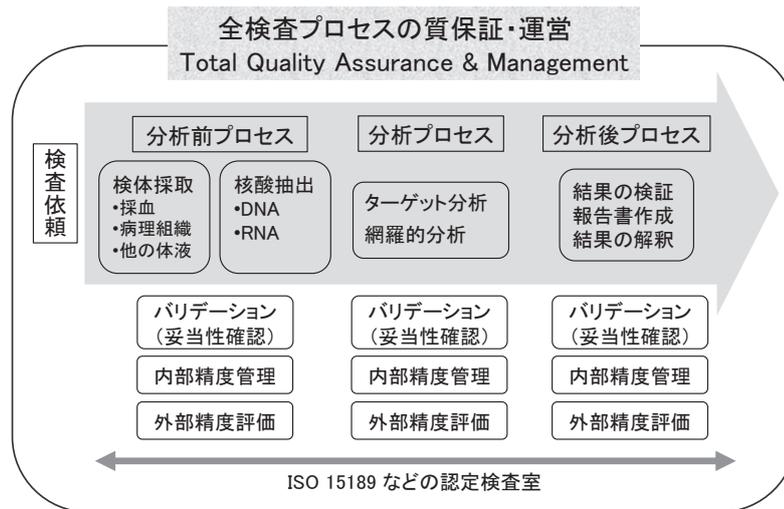


図1 遺伝子関連検査のプロセスと精度保証

床的妥当性 (C)、臨床的有用性 (C)、ELSI (Ethical, Legal and Social Issues: 倫理的・法的・社会的課題、E) の頭文字をとって ACCE モデルと呼ばれている⁹⁾。遺伝子関連検査のみならず、全ての臨床検査で考えるべきモデルであり、特に A の分析的妥当性は検査室が責任を持って実施・確認すべきものであり¹⁰⁾、表 1 に示した内容について導入時に妥当性確認を行う。日常検査化されれば、日々の内部精度管理 (IQC) を適切に行い、年に数回、外部精度評価スキーム (EQAS) に参画して、自施設の検査が的確に行われていることを確認できるのが望ましい。

われわれは、国内で分析されているがん遺伝子パネル検査の実状を知るために、小さいながらも EQAS を実施し、検出できないバリエーションがあることを示した¹¹⁾。全ての遺伝子関連検査において EQA を定期的に行い、検査結果の妥当性や他施設との関係を確認する必要がある。そして、国内に EQA 実施機関を有することが重要と考える。

1) 分析前プロセス

血球を除いた血液を試料とする検査では、血清と血漿でも結果が大きく異なる検査項目があり、血漿でも遠心条件によって結果が変わる項目もある。すなわち、血球の影響をいかに最小限にするかが重要であり、血球の影響によって結果が変わってしまうこともありうる。

例えば ctDNA の解析では、微量しかない腫瘍由来 DNA の異常を感度良く検出するために、正常細胞由来 DNA の混入を最小限に抑えることが重要で

ある¹²⁾。すなわち、採血時に溶血を生じないようにすること、そのためには太めの採血針で専用採血管に採血することが必要である。また、血漿分離の際に血球細胞が混じらないように保管温度や遠心条件に留意する。ポイントは正常細胞が壊れて血漿にゲノム DNA が流出しないことである。

miRNA も分析前プロセスにおける変動要因が多く知られている¹³⁾。すなわち、一般的な臨床化学検査のように性差や年齢差、食事、運動、服薬歴などの生理的変動、検体採取法、溶血などの検体の性状、分析に使用するのが血清か血漿か、遠心条件や保管・保存方法などの影響が知られている。血小板に多く含まれる miRNA は、血清を使用すれば高くなり、緩徐な遠心条件で得られた血小板を多く含む血漿でも高くなる。

2) 分析プロセス

分析プロセスでは、目的に応じた分析的妥当性を満足する測定系を選択することが重要である。導入時の分析法の妥当性確認は重要である。表 1 の分析的妥当性の項目を検討し、許容できるかどうかを確認する。分析による偽陽性や偽陰性の原因と回避法についても理解する。導入後は、先述したように IQC の実施、EQAS に参加する。

3) 分析後プロセス

標準化された検査報告書の作成や結果の解釈が重要である。特に NGS の解析結果などはバイオインフォマティクス (コンピュータ解析) での作業と解釈は、最終的な結果報告に大きく影響するため、そ

表 1 分析的妥当性 (Analytic Validity) として確認すべき要件

- ・ 正確度、真度 (accuracy)
- ・ 精密度、精度、再現性 (precision)
- ・ 分析感度 (analytical sensitivity、LOD: limit of detection)
- ・ 分析特異度 (analytical specificity)
- ・ 頑健性 (robustness)
- ・ 報告範囲 (reportable range)
- ・ 基準値 (reference range)、基準範囲 (reference interval)
- ・ 内部精度管理 (Internal Quality Control ; IQC)
- ・ 外部精度評価 (External Quality Assessment ; EQA)
- ・ データの方法間差、施設間差 — 標準化とハーモナイゼーション

の手法の利点と限界、報告範囲を熟知した上で行う。偽陽性・偽陰性の可能性も視野に入れ、場合によっては目視での確認、別の方法での検証を行う。

重要なことは、使用しているバイオインフォマティクスとデータベースの報告範囲と限界を知ること、精密さに疑問が生じた箇所は目視確認、もしくは代替となる検証法を行うことであろう。そのためには、出力される品質指標も合わせて AI の活用・支援が望まれる。

3. 医療法の改正、診療と研究の両輪による遺伝子関連検査・遺伝子解析の推進

検体検査の品質・精度の確保が明確化された「医療法等の一部を改正する法律」(2017年6月14日公布、平成29年法律第57号)が公布され、2018年12月1日に施行された¹⁴⁾。すなわち、医療機関が自ら検体検査を実施する場合における精度の確保のために設けるべき基準が設定された。日本もようやく臨床検査の質に目が向けられたわけである。しかしながら、これまで研究室で行われていた検査をどうすればよいのかという課題が出てきた。研究室で行われていた解析は、おそらく玉石混交であると思われる。そこで、研究室で検出された遺伝子バリエーションを、しかるべき検査室や登録衛生検査所でサンガー法による検証を行ったりしている。しかし、これでは偽陽性はある程度防いでも偽陰性は防げない。やはり、日本の遺伝子関連検査のレベルを上げる必要がある。そして、診療と研究は業務分担して考えてよいと思う。また、研究から診療(臨床検査)への橋渡しを円滑に行えるよう、いわゆる LDT (laboratory developed test) の質保証と監視のシステム化と医療制度の再構築も必要となろう。

2020年のコロナ禍に入ってまもなくのことを思い出してみよう。海外の大きな需要のため輸入がで

きず、試薬がない、検査機器がない、検査をしたくても十分にできなかった。ワクチンや治療薬の開発も大きく遅れをとった。がんゲノム医療などで新しい技術が海外で開発されても、検体を海外に送って結果だけ利用するという、まん中がすっぽり抜けた体制を続けていると、国内で新しい技術が生まれる土壌が養えず、国内の検査事情は一向に改善しないのではと危惧する。検査の質保証についても同様で、妥当性確認、内部精度管理、外部精度評価スキーム、これら3点セットを自国で完結できないようでは、ゲノム先進国など夢のまた夢ではないのだろうか。

エネルギー、食料、技術、教育は内製化(国内で実施という意味)しないといけないという意見があるが、技術立国日本を取り戻す努力を始めないと、ますます先進国から取り残されてしまう。2030年のゲノム先進国を目指すためには、検査の技術開発と臨床検査の質保証3点セットの完備を国内完結できるような実力をつけることが必要と考える。そのために、日本も諸外国とせめて同じレベルで臨床検査、臨床検査医学を重要視した方がよいのではないか。遺伝子関連検査の内製化とEQASまでの体制構築、そして先述した医療制度について真剣に取り組んでいくことが必要と考える。

おわりに

新しい遺伝子関連検査の分析技術やバイオインフォマティクス解析技術、検査法が開発され、応用範囲が拡がり、またAIの進歩と相まって進化していくと予測される。しかしながら、それらの検査が真に正しい結果を生み出すためには、全検査プロセスの質を確保した臨床検査として管理されることが重要である。そして、臨床検査として真に診療に役立つ検査システムと検査体制の構築が求められる。

文 献

- 1) Miller S, Naccache SN, Samayoa E, et al. Laboratory validation of a clinical metagenomic sequencing assay for pathogen detection in cerebrospinal fluid. *Genome Res.* 2019; **29**: 831-842.
- 2) 腸内細菌と臨床医学(企画:安藤朗). *医学のあゆみ.* 2018; **264**(1): 5-127.
- 3) Horak P, Griffith M, Danos AM, et al. Standards for the classification of pathogenicity of somatic variants in cancer (oncogenicity): Joint recommendations of Clinical Genome Resource (ClinGen), Cancer Genomics Consortium (CGC), and Variant Interpretation for Cancer Consortium (VICC). *Genet in Med.* 2022; **24**: 986-998.
- 4) Signatera. <https://www.natera.com/oncology/signatera-advanced-cancer-detection/> (引用 2022/5/8)
- 5) Lennon AM, et al. Feasibility of blood testing combined with PET-CT to screen for cancer and guide intervention. *Science.* 2020; **369**: eabb9601.
- 6) 日本医療研究開発機構 (AMED)、IRUD (未診断疾患イニシアチブ)について、<https://www.amed.go.jp/content/000006844.pdf> (引用 2022/5/8)
- 7) IFCC, Laboratory medicine results: A hidden treasure in health care, providing, https://www.ifcc.org/media/330667/201510_LabMed_Slide_Kit.pdf (引用 2022/5/8)
- 8) Lippi G, et al. Preanalytical quality improvement: from dream to reality. *Clin Chem Lab Med.* 2011; **49**: 1113-1126.
- 9) Centers for Disease Control and Prevention. ACCE Model Process for Evaluating Genetic Tests. <https://www.cdc.gov/genomics/gtesting/ACCE/> (引用 2022/5/8)
- 10) 臨床検査振興協議会、「がん遺伝子パネル検査の品質・精度の確保に関する基本的考え方」https://www.jpclt.org/common/upload_data/websta00000301/file/【確定版】基本的考え方_ver2.1.pdf (引用 2022/5/8)
- 11) Maekawa M, Taniguchi T, Nishio K, et al. Precision cancer genome testing needs proficiency testing involving all stakeholders. *Sci Rep.* 2022; **12**: 1494. DOI: 10.1038/s41598-022-05589-x
- 12) 臨床検査振興協議会、リキッドバイオプシーによる循環血中の腫瘍由来DNA(circulating tumor DNA; ctDNA)検査の質保証に関する見解、<https://www.jpclt.org/news/detail/20220314093506/> (引用 2022/5/8)
- 13) Becker N, Lockwood CM. Pre-analytical variables in miRNA analysis. *Clin Biochem.* 2013; **46**: 861-868.
- 14) 厚生労働省、「医療法等の一部を改正する法律」(2017年6月14日公布、平成29年法律第57号) https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_02251.html (引用 2022/5/8)