

Film array 髄膜炎・脳炎パネル導入による当院での検出状況と臨床的有用性の検討

◎森 雅浩¹⁾、上田 浩平¹⁾、木下 賢人¹⁾、栗野 敏光¹⁾、江口 光徳¹⁾
医療法人徳洲会 宇治徳洲会病院¹⁾

【はじめに】 髄膜炎の診断において、迅速な治療方針の決定は非常に重要である。しかし、従来の髄液培養は結果判明に時間を要し、ウイルス検査は外部委託のため数日かかっていた。当院では、髄膜炎の迅速診断を目的として、複数の病原体を同時に検出できる Film array 髄膜炎・脳炎パネル（販売元：バイオメリュージャパン社、以下 Film array）を 2021 年 1 月より導入した。今回導入後の検出状況を分析し、その臨床的有用性を評価した。

【方法】 2021 年 1 月から 2025 年 5 月の期間に、当院で髄膜炎が疑われ、Film array が実施された全症例を対象とした。Film array で検出された病原体の種類とその割合を解析した。Film array の結果が従来の検査（髄液培養、髄液一般検査）とどのように関連したかを検討し、特に治療方針への影響について評価した。

【結果】 解析対象となった 738 例のうち、Film array が陽性だったのは 45 例（6.1%）であった。検出された病原体の内訳は、ウイルス 39 例、細菌 6 例であった。抗ウイルス薬が投与されたのは 14 例、投与されなかったのは 25 例

であった。抗ウイルス薬が投与されなかったのは、検出された病原体の種類や髄膜炎を疑う所見に乏しいなど、対症療法が選択されたことが要因と考えられた。Film array と髄液培養の結果が一致しなかった事例が 6 例あり、内訳は培養陰性・Film array 陽性が 1 例、Film array 陰性・培養陽性が 5 例でした。後者の 5 例のうち 4 例は、Film array パネルに含まれていない病原体によるものであり、残りの 1 例については両検査が乖離した要因は不明であった。

【結論】 当院における Film array の導入は、ウイルス性髄膜炎の迅速診断に大きく貢献した。抗ウイルス薬の投与判断や抗菌薬の適正使用にも貢献できた。Film array を髄液培養と併用することで、髄膜炎の診断精度が向上し、患者の予後改善につながる有用なツールであると考えられた。

宇治徳洲会病院 tel 0774-20-1111

DigitalPCR を用いた *IDH1* 変異遺伝子を標的とした MRD 解析の有用性

◎福田 真恵¹⁾、丸岡 隼人¹⁾、白石 祐美¹⁾、大野 彩¹⁾、大山 幸永¹⁾、高澤 駿太¹⁾、井上 麻比留、川井 順一¹⁾
独立行政法人 神戸市民病院機構 神戸市立医療センター 中央市民病院¹⁾

【目的】当院では急性骨髄性白血病（AML）患者の治療評価として、骨髄像検査とフローサイトメトリー（FCM）および遺伝子検査を用いた測定可能残存病変（MRD）解析を実施している。しかしながら再発時にクローンが変化することにより MRD が検出されないケースがある。今回、*IDH1* 変異陽性患者において digital PCR を用いた *IDH1* 変異検出により再発を捉えることができた症例を後方視的に検討したので報告する。

【対象】60 代男性。20XX 年 1 月に AML と診断。寛解導入療法で寛解となり地固め療法を施行。20XX+8 年 1 月に再発診断。初発時の遺伝子変異解析では *FLT3*-ITD、*NPM1* 変異および *IDH1* 変異が陽性。

【方法】診断時に検出された *IDH1* 変異（c.394C>G）を元に設計したプライマー（日本遺伝子研究所）およびプローブ（Integrated DNA Technologies）を用いて digital PCR（dPCR）解析した。測定機器は AbsoluteQ dPCR system（Thermo Fisher Scientific）を用いた。約 5 年に渡る経過観察時 PB、再発 5 ヶ月前 PB、再発時 BM の検体で、*NPM1* 定量値、目視の

blast(%) と *IDH1* 変異 (%) を比較した。

【結果】経過観察時 PB は *NPM1*:陰性/目視:0.0/dPCR:4.5~12.3 と dPCR のみ MRD を検出していた。再発 5 ヶ月前 PB は *NPM1*:陰性/目視:0.0/dPCR:40.16 で dPCR が高値となり、再発の予兆が認められた。再発時 BM は *NPM1*:陰性/目視:72.8/dPCR:44.59 で *NPM1* 変異は陰性を維持していた。

【考察】再発時の検体を用いて遺伝子変異解析を実施したところ、初発時に陽性であった *NPM1* 変異は陰性であり、新たに *RUNX1* 変異が出現していた。このことから初発時とは異なるクローンが増殖し AML 再発に至ったと考えられる。

【まとめ】従来の MRD 解析に加え、dPCR を用いた患者特異的遺伝子変異解析を加えることで、これまで再発を予測できなかった症例においても早期の再発診断に有用であることが示唆された。

フラグメント解析を用いた *KMT2A* 遺伝子再構成検出法の確立

◎大野 彩¹⁾、丸岡 隼人¹⁾、白石 祐美¹⁾、福田 真恵¹⁾、大山 幸永¹⁾、高澤 駿太¹⁾、井上 麻比留¹⁾、川井 順一¹⁾
独立行政法人 神戸市民病院機構 神戸市立医療センター 中央市民病院¹⁾

【背景】

KMT2A 遺伝子再構成は、急性白血病において認められる遺伝子異常であり、一般に予後不良とされている。*KMT2A* は複数のパートナー遺伝子と融合することに加え、転座の切断点が複数に及ぶことから、従来の PCR 法による包括的な検出は困難である。このため現在は G バンド分染法や Fluorescence in situ hybridization (FISH)、次世代シーケンス (NGS) が主な解析手法として用いられている。本研究では *KMT2A* 遺伝子のうち転座の切断点として頻度の高い exon7~11 領域を標的とし、*KMT2A* 再構成の存在により標的領域の増幅が低下すると仮定した。この増幅低下が *KMT2A* 再構成の証明に有用であるか検討した。

【対象と方法】

KMT2A 再構成陰性検体 20 例および陽性検体 5 例 (*KMT2A::ELL* 2 例, *KMT2A::MLLT3* 1 例, *KMT2A::MLLT11* 1 例, *KMT2A::AFF1* 1 例) を対象とした。cDNA を鋳型とし、内在性コントロールとして *KMT2A* exon7、標的領域として exon7~11 領域を PCR で増幅した。各増幅産物をフラ

グメント解析により測定し、得られたエリア値から exon7/exon7~11 の発現量比を算出した。算出した値に対し群間比較および ROC 解析を行った。

【結果】

陰性検体の発現量比は 1.26~1.99 (中央値 1.72)、陽性検体は 2.81~7.46 (中央値 3.35) であり、両群間に有意差を認めた (Mann-Whitney の U 検定、 $p=0.000768$)。ROC 解析ではカットオフ値 2.81、AUC は 1.00、感度・特異度ともに 1.00 と極めて高い判別能を示した。

【結語】

フラグメント解析により、*KMT2A* 再構成の存在を標的領域の増幅低下に伴う発現量比の上昇として捉えることができた。本手法は既存の分子診断法を補完し得る迅速かつ安価な検出法としての有用性が期待される。今後は症例数をさらに蓄積し、条件の最適化を進めることで検査法としての確立を目指す。

脊髄性筋萎縮症 (SMA) 診断におけるデジタル PCR 法導入の意義と課題

◎吉免 綾花¹⁾、野口 依子¹⁾、松本 久幸¹⁾、西川 佳佑¹⁾、今西 孝充¹⁾、千藤 莊¹⁾、坊 亮輔¹⁾、西尾 久英²⁾
国立大学法人 神戸大学医学部附属病院¹⁾、神戸学院大学²⁾

【背景】脊髄性筋萎縮症 (SMA) は常染色体潜性遺伝疾患であり、5 番染色体 q13 上の *SMN1* 遺伝子の異常によって進行性の下位運動ニューロン障害を引き起こす。SMA 患者の多くに *SMN1* のホモ接合性欠失があることから、診断においてはまずこの欠失を調べるのが有用である。2017 年以降複数の治療薬が認可され、特に早期発症の SMA では、迅速な診断と治療開始が生命予後と運動機能の維持に重要であることから拡大新生児スクリーニング検査に SMA が組み込まれるようになり、全国で実施が広まっている。当院ではこれまで、確定診断として MLPA 法による *SMN1*, *SMN2* のコピー数解析を実施してきたが、最短でも結果報告までに 2 日を要する。より迅速な検査体制の構築を目指し、当日中の結果報告が可能なデジタル PCR (dPCR) 法の SMA 診断における有用性を検証した。

【方法】すでに MRC-Holland 社の試薬を用いた MLPA 法にて解析済の 79 検体について、BIO-RAD 社の試薬を用いて dPCR 法で *SMN1*, *SMN2* それぞれの exon7 コピー数を解析し、SMA 診断における有用性を評価した。

【結果】dPCR 法による *SMN1* および *SMN2* の exon7 コピー数判定は、MLPA 法とすべて一致した(79 検体中 *SMN1* exon7 のコピー数は 0 : 7 例、1 : 5 例、2 : 63 例、3 : 4 例、*SMN2* exon7 のコピーは 0 : 4 例、1 : 33 例、2 : 36 例、3 : 4 例、4 : 2 例)。dPCR 法では最短約 4 時間後の結果報告が可能であった。

【結語】dPCR 法の導入により *SMN1*, *SMN2* の遺伝子解析結果をより迅速に報告できる体制が整い、SMA の早期診断・治療開始に貢献できると考える。一方、dPCR 法では *SMN1*, *SMN2* の exon7 のみの解析となるため、得られる情報が限定的である。今回の検討に利用した検体には、MLPA 法で *SMN1*, *SMN2* の exon8 コピー数を解析したことにより Hybrid 遺伝子の存在が予測された症例が含まれていた。そのため当院では、*SMN1*, *SMN2* の exon8 や、*SMN1*+*SMN2* の exon1~6 のコピー数も解析可能な MLPA 法による検査も継続して行い、必要に応じて選択できる体制とすることとした。

連絡先—078-382-5111

遺伝子検査室におけるリスクマネジメント

～ISO 15189:2022 への対応～

◎中川 裕月¹⁾、白石 直樹¹⁾
近畿大学病院¹⁾

【はじめに】当院ではオンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム(以下、ODxTT)を内製化しており、臨床検査技師が標本の評価から臨床報告に至るまでの工程を担当している。ISO15189:2012 は 2022 年度版へ改定され、品質管理面ではリスクマネジメントの強化が求められるようになった。本報告では、2022 年度版への移行に伴い当検査室において想定されたリスクとその対応について報告する。

【対象・方法】2024 年 4 月～2025 年 3 月の ODxTT オーダー256 件を対象とし、ODxTT のキャンセル理由および検査材料を集計し、検査におけるリスクについて調べた。

【結果】ODxTT オーダー256 件のうちキャンセル件数は 89 件であった。キャンセル理由は、病理診断により検査対象外と診断:49 件、検体未採取:25 件、腫瘍量不足:9 件(うち 6 件は ROSE 未実施)、残余組織量不足:2 件、その他:4 件であった。検査を実施した 167 件の検査材料の内訳は、TBB:96 件、OPE:32 件、TBNA:30 件、その他:9 件であった。腫瘍量不足で検査不可になった検査材料の内訳は、TBB:5 件、TBNA:1 件、CTGNB:2 件、その他:1 件であった。検査前リ

スクは腫瘍量不足と残余組織量不足、検査中リスクはコンタミネーションがあがった。

【考察】当院では検体採取日より前に検査オーダーを受けているため検査前のキャンセル件数が多いが、リスクアセスメントの観点ではそれらは「無視できる」という評価である。検査に用いる検査材料の半数以上は生検材料であり、検査に必要な腫瘍量を確保できない場合は、臨床に検査の継続や検体の再採取について相談対応をしている。コンタミネーション予防のために実施した処置については、DNA と RNA のラベルの色や核酸抽出作業エリアを区別したことなどがあがる。

【結語】遺伝子検査において検体の腫瘍量や残余組織量は重要な因子となる。それらを確保するために検体採取の段階から標本の作製や管理に至るまで他部署との密接な連携が不可欠である。今後も継続的に他部署間との連携や予防処置を重ね、より精確ながんゲノム医療の提供に貢献していきたい。

連絡先：072-366-0221