

REVIEW ARTICLE

肺癌ゲノム医療のアップデート
—末梢血由来 cell-free DNA 解析技術の
臨床的有用性と今後の展望—

後藤 悌¹

Updated Genomic Medicine for Lung Cancer:
The Clinical Usefulness and Future Issues Associated with Analytical
Technologies for Cell-free DNA in Peripheral Blood

Yasushi Goto¹

¹Department of Thoracic Oncology, National Cancer Center Hospital, Japan.

ABSTRACT — Molecular-targeted drugs for specific genetic aberrations are already used for lung cancer treatment in clinical practice, and new molecular-targeted drugs are also currently in clinical development. Personalized treatment for lung cancer based on genomic medicine, which simultaneously investigates multiple genes of patients with lung cancer and detects genetic aberrations, is performed in Japan. Recently, advances in DNA analysis technologies have enabled the accurate detection of genetic aberrations from a tiny DNA sample, and liquid biopsies using bodily fluids, such as peripheral blood, urine or saliva, are emerging as genomic analysis methods for cancer. Many investigations have suggested that liquid biopsies, particularly those analyzing the cell-free DNA (cfDNA) in peripheral blood samples, may become useful biomarkers for lung cancer therapies. We herein report the recent advances in cfDNA analysis technologies using digital polymerase chain reaction or next-generation sequencing and reviewed the recent findings from investigations on the potential clinical application of these technologies to the early diagnosis of lung cancer, selection of anti-lung cancer drugs and prediction of the efficacy of anti-lung cancer drugs. Finally, we discuss future issues and perspectives concerning cfDNA analysis technologies for clinical applications.

(JLCC. 2020;60:90-98)

KEY WORDS — Cell-free DNA, Liquid biopsy, Genomic medicine for lung cancer, Digital PCR, Next generation sequencer

Corresponding author: Yasushi Goto.

Received December 26, 2019; accepted February 13, 2020.

要旨 — 肺癌治療においては、遺伝子異常を標的とした分子標的治療が既に実臨床で行われ、新たな分子標的治療薬も開発されている。肺癌患者の多数の遺伝子を同時に調べ、遺伝子変異を明らかにすることにより、患者個々の病態に合わせて診療を行う肺癌ゲノム医療が日本でも実践されている。近年、DNA解析機器の技術革新により、微量のDNAから正確に遺伝子変異を検出することが可能になり、末梢血、尿や唾液などの体液を用いて癌の診療を行うリキッドバイオプシーが癌ゲノム医療において注目されている。リキッドバイオプシーのなかでも、

患者の末梢血中に存在する cell-free DNA (cfDNA) を解析する医療技術は、肺癌の診断や予後予測に有用なバイオマーカーになる可能性が多くの研究で検討されている。本総説では、cfDNA およびデジタル PCR と次世代シーケンサーによる cfDNA 解析技術の進歩について概説するとともに、この cfDNA 解析技術を肺癌の早期診断、肺癌治療薬の選択、肺癌治療薬の効果予測に応用しようとする最新の研究結果を解説した。また、cfDNA 解析技術を肺癌治療に応用するうえでの今後の課題と展望についても言及した。

¹国立がん研究センター中央病院呼吸器内科。
論文責任者：後藤 悌。

受付日：2019年12月26日、採択日：2020年2月13日。

はじめに

わが国の2019年の肺癌新規患者数は122,300例、1年間の肺癌での死亡患者数は76,600例と推定されており、癌種のなかでは肺癌が最も多い死亡原因となっている。¹ 肺癌の治療成績を向上させることが引き続き重要な課題といえる。

肺癌治療においては、2000年代にEGFR遺伝子変異を標的としたゲフィチニブが細胞傷害性抗癌薬(化学療法)よりも優れた治療効果を示すことが臨床試験で確認され、² その後にALK, ROS1, RET, BRAF, HER2およびKRASなどの遺伝子も、肺癌の発症、進展に関与していることが報告された。³ 現在、これらの遺伝子異常を標的とした分子標的治療が既に実臨床で行われるとともに、新たな分子標的治療薬も開発されている。NCCNガイドラインでは標準治療として、可能な遺伝子変異検査を実施することが推奨されており、⁴ 日本肺癌学会のガイドラインでも遺伝子異常に対する標的治療薬がある場合には、その投与の機会を逸することがないように意図されている。⁵ 肺癌患者の多数の遺伝子を同時に調べ、遺伝子変異を明らかにすることにより、患者個々の病態に合わせて診療を行う肺癌ゲノム医療が日本でも実践されている。

肺癌ゲノム医療で遺伝子検査に用いる検体は、生検にて採取した腫瘍組織が従来から用いられてきたが(組織生検: ティッシュバイオプシー)、生検による採取は少なからず侵襲を伴い、また再発や転移の場合には組織の採取が困難であることも多く、検査に必要な量のDNAが採取できないなどの課題がある。また、治療期間中に標的とすべき遺伝子変異が変化する可能性があり、⁶ 複数回の実施が困難な腫瘍ティッシュバイオプシーのみの検査では、遺伝子変異の変化に対応した治療の選択ができない可能性がある。

近年、DNA解析機器の技術革新により、微量のDNAから正確に遺伝子変異を検出することが可能になり、生検で採取した腫瘍組織ではなく、末梢血、尿や唾液などの体液を用いて癌の診断を行うリキッドバイオプシーが注目されている。リキッドバイオプシーの長所は、腫瘍組織の生検が困難な症例でも安全かつ簡便に検体が採取できる点であり、腫瘍由来のDNAが検出できた場合には、侵襲的な腫瘍組織の生検を行わずとも、腫瘍の遺伝子変異を経時的に調べることができる。⁷⁻¹⁰

今回、リキッドバイオプシーのなかでも、癌患者の末

梢血中に存在する cell-free DNA (cfDNA) を解析する肺癌ゲノム医療技術に焦点を当て、その臨床的有用性と今後の展望について概説する。

末梢血由来 cfDNA 解析技術の進歩

cfDNA

cfDNAは、リキッドバイオプシーの検体となるヒトの末梢血、胸水、尿または唾液などの体液中に存在するDNAである。cfDNAの大部分は血球系細胞の死滅に由来するDNAであって健常人にも存在するが、癌患者のcfDNAのなかには微量の腫瘍由来DNA(circulating tumor DNA: ctDNA)が含まれている。ctDNAは腫瘍細胞のネクロシスやアポトーシスによって腫瘍細胞中のDNAが末梢血中に漏出したり、腫瘍細胞からの分泌によっても末梢血中に放出されると考えられており、変異、多型、メチル化、マイクロサテライト(短い反復DNA配列)変異などを有するctDNAが末梢血中に存在する(Figure 1)。リキッドバイオプシーによってcfDNAのなかに含まれるctDNAを解析することで、cfDNAは肺癌をはじめさまざまな癌種の診断および予後予測に有用なバイオマーカーになる可能性があり、多くの研究で検討されている。¹¹

デジタルPCRと次世代シーケンサー(NGS)によるcfDNA解析技術の進歩

リキッドバイオプシーでは、癌患者の主に末梢血に含まれるcfDNAのなかからさらに微量なctDNAを検出して解析する技術が必要となるため、高い検出感度を有するPCRによるDNA増幅法や、莫大なゲノム情報に含まれる遺伝子配列を正確かつ速やかに読み取ることができ、シーケンス技術が必要となる。近年、デジタルPCRやNGSといった技術が応用されており、これらを用いたDNA解析技術は従来の解析技術と比較して検出力、解析速度や精度が大きく向上しており、さらなる解析技術の向上も現在進行形で検討されている。

デジタルPCRでは、規定の遺伝子変異に対するプライマーを用いて各PCR反応中に1つ以下のテンプレートDNA分子が含まれるように検体サンプルを限界希釈状態にした20,000通り以上の反応単位でPCRを行い、それぞれの反応単位でDNAが増幅されたか/増幅されなかったかのバイナリーデータ(2進数)を統計学的に解析し、検体サンプル中に含まれていたDNA絶対量を推算する。PCR反応を利用しているため、cfDNAのなかの微量なctDNAを検出することにも応用できる。従来のリ

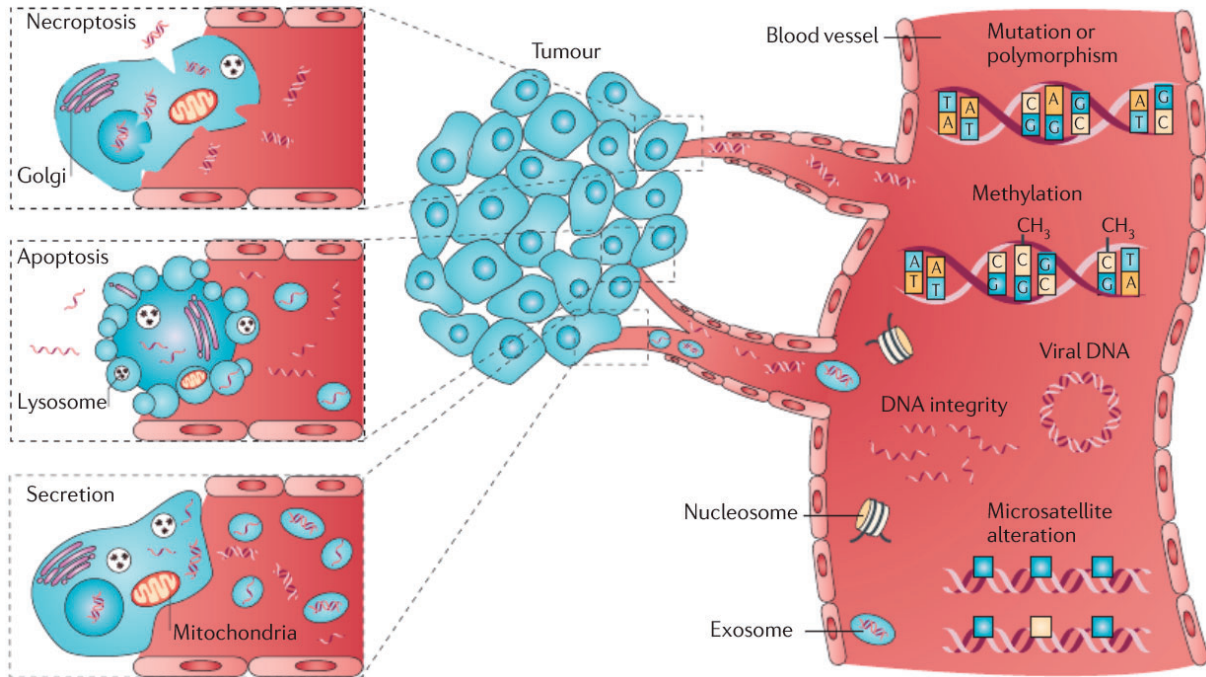


Figure 1. Cell-free DNA (cfDNA) in peripheral blood of patients with cancer. Mutations, methylation, DNA integrity, microsatellite alterations and viral DNA can be detected in cfDNA in peripheral blood. Tumor-related cfDNA, which circulates in the peripheral blood of patients with cancer, is released by tumor cells in different forms and at different levels. DNA can be shed as both single- and double-stranded DNA. DNA can be released from tumor cells through various cell physiological events, such as apoptosis, necrosis and secretion. The physiology and rate of release is still poorly understood; the tumor burden and tumor cell proliferation rate may have a substantial effect on these events. Individual tumor types can release more than one form of cfDNA. Reprinted with permission. All rights reserved in *Nat Rev Cancer*. 2011;11:426-437.¹¹

アルタイム PCR では、PCR 反応の指数関数的増幅相を用いて DNA 量を算出するため、誤差が生じた場合は指数関数的に誤差も大きくなってしまふのに対して、デジタル PCR ではアッセイ間での差が出にくく、精度の高い定量が可能であり、¹² 微量な ctDNA の正確な定量や希少変異を検出することに利用されている。また、マルチプレックス PCR という、一度の PCR 反応で複数のプライマーセットを用いて DNA を増幅する方法を利用することで、一度に多種類の遺伝子変異の有無を調べることも可能になっている。

前述した PCR 法は、規定の遺伝子変異を検出する方法としては有用であるが、規定外の変異を含めた網羅的解析を行うにはシーケンシング法が必要となる。従来のシーケンサーではサンガー法で塩基配列を決定する方法が取られてきた。一方、NGS では機種ごとに個別のシーケンシング原理が採用されていて塩基配列の決定量が飛躍的に高まっており、NGS によって多くの遺伝子を包括的に解析することができ、遺伝子変異を検出する技術が著しく向上している。NGS では、多量の断片化 DNA をビーズやガラスの基板上に固定して並列にシーケンシング

を行い、得られたデータをバイオインフォマティクス解析するため、サンガー法のような単一遺伝子シーケンシングでは塩基の挿入、欠失および置換の検出に限定されていたのに対し、これらに加えて染色体組み換え、癌遺伝子の融合、転座、コピー数変異の検出も可能になっている。さらに、精度、特異度、費用対効果もサンガー法より優れるとされている。¹³

NGS 法のさらなる改良も進められており、簡便に 50 を超える癌関連遺伝子の包括的なパネル検査が可能でデジタルシーケンシング法が開発され、この方法で固形癌患者から得られた 165 検体の末梢血由来 cfDNA を解析した結果、ティッシュバイオブシー由来の DNA を解析したときとほぼ同等の感度、特異度、正確度で遺伝子変異を検出することができ、末梢血由来 cfDNA を用いて包括的な癌ゲノム情報が得られることが報告されている。¹⁴ また、その後 73 の癌関連遺伝子を標的とした遺伝子検査パネルである Guardant360[®]が開発された。検体とする DNA をオリゴヌクレオチドでラベル化（分子バーコード化）しておき、解析するゲノム領域をターゲットキャプチャー法で選択的に濃縮してシーケンシング

Table 1. The Comparison of the Prevalence of Guideline-recommended Genomic Biomarkers Identified in cfDNA and Tissue Biopsies in Patients with Non-small Cell Lung Cancer

Guideline-recommended biomarkers	cfDNA			Tissue	
	TCGA	Percent of total cohort	Frequency of alteration (%) in those with completed testing for biomarker of interest	Percent of total cohort	Frequency of alteration (%) in those with completed testing for biomarker of interest
EGFR mutation	11.3%	15.2%	16.0%	14.2%	17.3%
ALK fusion	1.3%	2.1%	2.2%	3.2%	4.0%
ROS1 fusion	1.7%	0.0%	0.0%	0.7%	1.2%
BRAF mutation (V600E)	7.0%	0.7%	0.7%	0.7%	2.1%
RET fusion	0.9%	1.1%	1.1%	0.0%	0.0%
ERBB2 mutation	1.7%	1.1%	1.1%	0.4%	1.6%
MET exon 14 skipping variant	4.3%	3.5%	3.7%	1.8%	7.5%
MET amplification	2.2%	5.3%	5.6%	0.4%	1.6%
MET focal amplification		1.8%	1.9%		
MET aneuploidy		3.5%	3.7%		
KRAS mutation	32.2%	31.6%	33.2%	8.5%	32.9%

The biomarker frequency was calculated across the entire cohort (N=282) and for those that had undergone complete testing (positive or negative) for the biomarker of interest. The results were also as compared with those in The Cancer Genome Atlas (TCGA). The NILE study was conducted in North America, so interpretation of these findings should be done while acknowledging the differences in mutation frequencies between North America and Japan. Reprinted with permission. All rights reserved in Clin Cancer Res. 2019;25:4691-4700.¹⁹

を行った後に、シーケンシング結果をバイオインフォマティクス解析する検査法である。一塩基変異、コピー数変異、融合遺伝子、塩基の挿入や欠失が検出可能である。この新しいNGSを用いた進行性の固形癌患者10,593例を対象とした末梢血由来cfDNA解析においても、ティッシュバイオプシー由来のDNAを解析したときと同様の遺伝子変異の検査結果が得られることが報告されている。¹⁵

末梢血由来 cfDNA 解析の臨床的有用性

肺癌の早期診断への応用

癌を早期に発見して適切な治療を行うことによって、癌患者で高い生存率が得られるなど予後改善に繋がることが報告されている。¹⁶

末梢血中のcfDNAは非常に微量であり、半減期も1.5~2時間程度とされており一般的な腫瘍マーカーと比較すると半減期は極めて短い。さらに、cfDNA中に含まれる腫瘍組織由来のctDNAは、癌の早期では腫瘍組織が少ないため微量であり、癌の病期I期ではIV期に比べctDNA量が約1/100であることが報告されている。¹⁷したがって、肺癌の早期診断に末梢血由来cfDNA解析技術を応用するため、ctDNAの検出感度や特異性を高める高感度なアッセイ系の開発が進められた。

2014年には、非小細胞肺癌(NSCLC)患者の末梢血中のctDNAを、CAncer Personalized Profiling by deep Sequencing (CAPP-Seq)と称される、NGS解析のなかで

もDNA増幅産物を数万回解読する高精度なディープシーケンス技術で解析した結果が報告された。このCAPP-Seqでは、標的となる遺伝子変異を有するDNAをプローブで選別するハイブリッドキャプチャー法を用いてNGS解析用サンプルを調製し、病期II~IV期では100%、I期では50%のctDNAを特異度96%で検出可能であった。¹⁸この解析手法では、複数の遺伝子変異を増幅できるプライマーを設定しており、癌の>95%を網羅するとしている。

肺癌の治療薬選択への応用

2019年には、治療歴のない転移性NSCLC患者282例を解析対象とし、NCCNガイドラインが推奨する8種類の遺伝子異常(EGFR, ALK, ROS1, BRAF, RET, METの2種類の変異およびERBB2)について、前述した新しいNGS技術を応用した遺伝子検査法のGuardant360[®]によるcfDNA解析法と従来のNGSなどを用いたティッシュバイオプシーの遺伝子検査法の2つの検査法で検出し、その成績が報告された(Table 1)。cfDNA解析では77例(27.3%)、ティッシュバイオプシーでは60例(21.3%)が8種類の遺伝子異常のいずれかが陽性となり、ティッシュバイオプシーで陽性となった60例のうちの48例(一致割合80%)がcfDNA解析でも陽性となった(Figure 2)。特に、EGFR, ALK, ROS1, BRAFの4種類の遺伝子異常の両検査法での一致割合は98.2%以上と高かった。NCCNガイドラインが推奨する8種類の遺伝子異常の検査をすべて実施できた患者割合は、

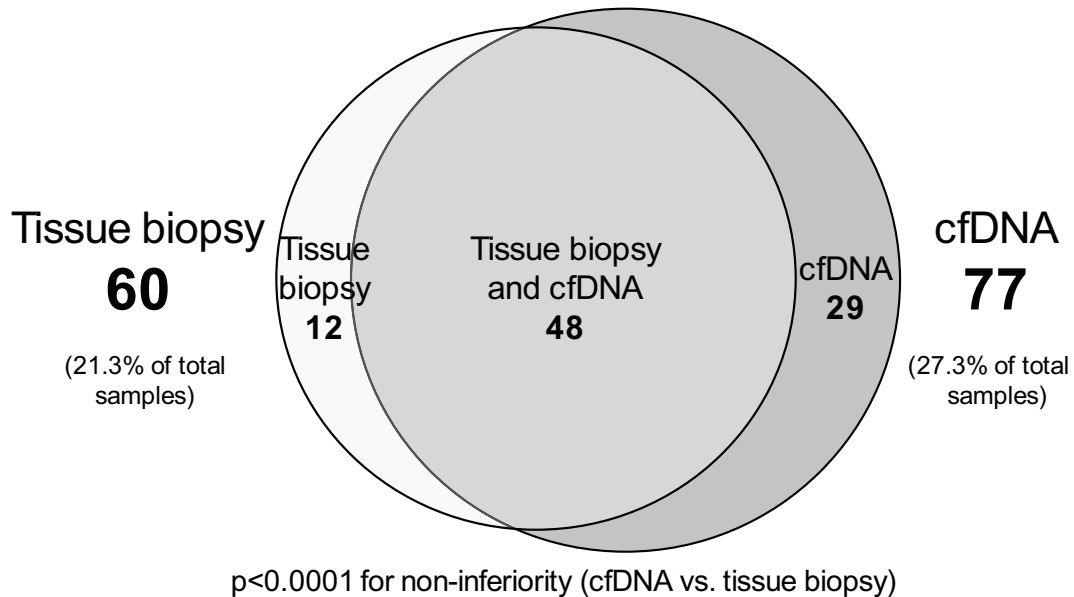


Figure 2. Guideline-recommended genomic biomarker positivity in cfDNA and tissue biopsy samples in patients with non-small cell lung cancer. Prepared based on Clin Cancer Res. 2019;25:4691-4700.¹⁹

cfDNA 解析で 268 例 (95.0%)、ティッシュバイオプシーで 51 例 (18.1%) であり、検査に要した期間の中央値は cfDNA 解析で 9 日間、ティッシュバイオプシーで 15 日間であった。また、組織検査から実施した場合には、その後に cfDNA で遺伝子異常の見つかる患者が 33% いるのに対し、cfDNA の後に組織検査を実施した場合には 13% しか新たな患者が見つからない。以上の成績から、治療歴のない転移性 NSCLC 患者を対象に NCCN ガイドラインが推奨する 8 種類の遺伝子異常を検査する際に、Guardant360[®]を用いた cfDNA 解析は、従来のティッシュバイオプシーと比較し、同様の遺伝子異常の検出率を有しながら、検査の完遂率が極めて高く、より短期間で検査できることが報告されている。¹⁹

EGFR 変異陽性肺癌では、他の先陣を切って分子標的治療薬や遺伝子検査に関する多くのエビデンスが創出してきている。第 3 世代の EGFR チロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) オシメルチニブの分子標的となる EGFR 遺伝子変異の T790M 変異は、末梢血由来 cfDNA をリアルタイム PCR 法で検出する検査法が 2016 年に承認されている。しかしながら、この cfDNA 解析法は感度が 58.7%、特異度が 80.2% と感度および特異度ともに不十分であって偽陰性となることが避けられず、ティッシュバイオプシーの代替にはなり得ず、ティッシュバイオプシーを補助する目的での使用に留まっているとされている。²⁰ その一方で近年、デジタル PCR や NGS を用いて末梢血由来 cfDNA 中の T790M 変異の検出感度や特異度を高めることで、cfDNA 解析法が臨床的に有用であることが報告さ

れてきている。²⁰ 2017 年には、第 1 および第 2 世代の EGFR-TKI で治療したにもかかわらず進行が認められた NSCLC 患者 48 例の T790M 変異を、Guardant360[®]と同様な Tagged Amplicon-Sequencing という NGS 法を用いた cfDNA 解析技術で検出し、24 例 (50.0%) に T790M 変異を認め、その 24 例でのオシメルチニブの部分奏効割合は 62.5%、12 ヶ月後の無増悪生存患者割合は 52% であったことが報告された。²¹ さらに 2018 年には、第 1 および第 2 世代の EGFR-TKI で治療したにもかかわらず進行が認められた NSCLC 患者 119 例の T790M 変異を、デジタル PCR を用いた cfDNA 解析法によって検査し、実際に T790M 変異を有する 91 例の NSCLC 患者のうちの 85 例 (93.4%) を陽性と判定できたことも報告された。デジタル PCR を用いた cfDNA 解析法で T790M 変異陽性と判定できた NSCLC 患者 85 例の無増悪生存期間および全生存期間は、T790M 変異の DNA 量が多い患者において短縮する傾向も確認できた。²²

また、NGS 技術を用いた cfDNA 解析を実施することで、ティッシュバイオプシーの検査法では検出できなかった、あるいは検査できていなかった別の遺伝子変異を見つけることができた 2 症例の報告があり、ティッシュバイオプシーに加えて NGS 技術を用いた cfDNA 解析を実施することが、精密医療において極めて重要であると述べられている。²³

肺癌治療中のゲノム変異の変化を検出することへの応用

患者の末梢血を検査検体とするリキッドバイオプシーの cfDNA 解析技術の長所の 1 つは、安全かつ簡便に検

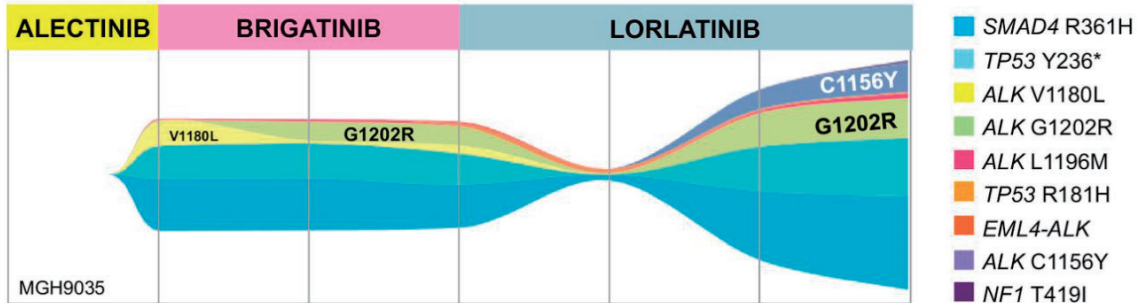


Figure 3. The evolution of ALK mutations during treatment with sequential second- and third-generation ALK tyrosine kinase inhibitors (TKIs). The patient's (case number: MGH9035) clonal evolution plot depicts the acquisition and "loss" of ALK mutations in plasma during sequential treatment with alectinib, brigatinib (second-generation ALK-TKI) and lorlatinib (third-generation ALK-TKI). Reprinted with permission. All rights reserved in Clin Cancer Res. 2019;25:6662-6670.²⁵

体が採取でき、腫瘍の遺伝子変異を経時的に調べることができることである。第2世代EGFR-TKIアファチニブで治療を開始したEGFR変異陽性の肺腺癌患者32例において、治療開始前および治療開始後4および24週時点で末梢血由来のcfDNAをデジタルPCR法で経時的に解析した成績が報告されている。治療開始前では26例(81.3%)でEGFR変異が検出されたが、治療開始後速やかにEGFR変異DNA量が顕著に減少し、24週間以上アファチニブが投与された19例では4週後にEGFR変異が検出感度以下または検出できるが少量となった。EGFR変異が検出感度以下となった患者群の無増悪生存期間中央値は、検出できた患者群よりも少し延長しており(14.3ヵ月 vs. 10.0ヵ月)、デジタルPCR法を用いてcfDNAを経時的にモニターすることで、アファチニブの効果を推測できることが示唆されている。²⁴ ALK融合遺伝子陽性肺癌でも分子標的治療薬ALK-TKIの臨床応用が進んでおり、第1世代(クリゾチニブ)、第2世代(アレクチニブ、ブリガチニブ)、第3世代(ロルラチニブ)のALK-TKIが臨床で使用できるようになっている。2019年には、NGS法によって末梢血由来cfDNAを解析するGuardant360[®]を使用し、アレクチニブやブリガチニブに耐性を生じたためにロルラチニブが投与されたALK融合遺伝子陽性の肺癌患者84例を対象に、ALK-TKI治療中のALK融合遺伝子の変化を経時的に検査し、その結果が報告された。²⁵ Figure 3に示した症例では、ロルラチニブ治療中にV1180L変異は消失したが、G1202RおよびL1196M変異が減少することはなく、新たにC1156Y変異が検出された。本症例では、次世代ALK-TKIを連続使用することでALK-TKI治療抵抗性のcompound mutationを形成したと考えられる。²⁵ このように、EGFR-TKIやALK-TKI治療中にcfDNAを経時的に検査することで、これら分子標的治療薬の治療

効果に関与する遺伝子変異をモニターすることができ、上記で示したようなcfDNA解析法の臨床応用が期待される。

免疫チェックポイント阻害薬と末梢血由来cfDNA解析

抗PD-1抗体のニボルマブが2014年に登場して以来、肺癌治療における免疫チェックポイント阻害薬の臨床応用が進んでいるが、免疫チェックポイント阻害薬の効果予測因子や治療効果のモニタリング法は確立されていない。²⁶

2015年に、メラノーマおよびNSCLC患者において、ティッシュバイオプシーのNGS解析で検出した遺伝子変異総量(tumor mutational burden: TMB)と、免疫チェックポイント阻害薬の効果が相関することが報告された。²⁷ しかしながら、TMB検出のためにティッシュバイオプシーを繰り返すことは困難であるため、末梢血由来cfDNA解析の検討が行われた。2011年12月から2016年12月に免疫チェックポイント阻害薬で治療された固形癌患者69例を対象に、末梢血由来cfDNAを検体として54~70の遺伝子変異についてNGSによる遺伝子検査が実施された。特定の遺伝子変異であるが現時点でその遺伝子変異の意義が不明である変異(variants of unknown significance: VUS)が4以上の群(高VUS群)と3以下の群(低VUS群)に分けて比較検討した結果、無増悪生存期間は高VUS群で有意な改善を認めた。また、6ヵ月以上の病態安定、部分奏効および完全奏効の割合が、高VUS群では45%であったのに対して低VUS群では15%と有意差を認めた。全生存期間についても同様に高VUS群で有意な改善が認められた。²⁸ また、免疫チェックポイント阻害薬の大規模な2つの無作為化比較対照試験に参加したNSCLC患者583例のTMBが末梢

Table 2. The Comparison of Circulating Tumor DNA (ctDNA) Versus Tumor Tissue Testing Described by ASCO and CAP in 2018

Consideration	ctDNA Assay	Tissue Assay
Logistics	Easy to draw Variable venipuncture risks Easy serial testing	Invasive, more challenging to obtain Variable biopsy risks Serial testing more difficult
Biology	Cannot directly correlate ctDNA results with histology or cellular phenotype More likely to represent whole tumor, but differential tumor cell turnover may bias representation	Can correlate with histology and cellular phenotype Represents one small tumor region
Pre-analytical	Easier to standardize across sites Requires special processing and handling unless using cell-stabilization tubes Limited data on confounding patient-related factors	More difficult to standardize across sites Uses existing, validated tissue processing and handling approaches
Clinical utility	Limited evidence for treatment selection in advanced cancer No evidence for other potential indications	Substantial evidence for treatment selection in multiple malignancies for early and advanced cancers

Reprinted with permission. © 2018 American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists. All rights reserved. Merker JD et al; J Clin Oncol Vol.36 (16), 2018:1631-1641.³⁰

血由来 cfDNA 解析によって後向きに評価され、TMB 量が多い NSCLC 患者では免疫チェックポイント阻害薬投与で無増悪生存期間が有意に延長したことが報告された。²⁹ このように、末梢血由来 cfDNA 解析により検出した TMB と免疫チェックポイント阻害薬の効果に相関性が認められることが示唆されており、今後のさらなる検討結果が待たれる。

末梢血由来 cfDNA 解析の課題

ここまで述べてきたように、末梢血由来 cfDNA 解析は肺癌の早期診断、肺癌治療薬の選択、肺癌治療薬の効果予測に有用であることが新しい研究結果から支持されている。世界肺癌学会からのレポートでは分子標的治療薬の治療中に増悪した患者では、cfDNA の解析を優先することも指示されている。²⁶

一方で、末梢血由来 cfDNA 解析の課題も指摘されている。米国臨床腫瘍学会 (ASCO) と米国病理学会 (CAP) の共通の見解として、末梢血の cfDNA の遺伝子変異は同一患者の腫瘍組織の遺伝子変異と必ずしも一致しないこと、早期癌の検出や治療効果のモニタリングの有用性を示す科学的根拠はまだ不十分であることを課題としている (Table 2)。³⁰ 今後、末梢血由来 cfDNA 解析の実臨床での応用を目指したさらなる検討が進むことが期待される。

今後の展望

肺癌ゲノム医療により、癌細胞を標的とした分子標的治療薬、宿主を標的とした免疫チェックポイント阻害薬の2つの治療法のなかから、個々の患者に最も適した治

療法を選択したり、両治療法を併用したりすることで肺癌治療成績がさらに向上すると考えられる。また、最近では検査技術の進歩に伴って遺伝子検査や画像診断などから得られるデータが膨大な量になっており、情報を統合して解析することが必要かつ重要になってきている。遺伝子解析の結果を集約し管理する目的で「がんゲノム情報管理センター (Center for Cancer Genomics and Advanced Therapeutics : C-CAT)」が2018年6月に国立がん研究センター内に設置された。今後は、C-CAT を中心として大量のデータが解析、蓄積され、ビッグデータが形成される予定である。癌の遺伝子変異には人種差があることから、C-CAT の設置により日本人のデータを集約できるのは意義深いと思われる。また、保険診療下で数多くのゲノム解析が実施されれば、ビッグデータを活用した研究や、それを発端にした研究が盛んになるであろう。海外では既に膨大な量の文献データ、医薬品情報、臨床試験データなどを人工知能 (AI) に学習させて、患者個人の癌ゲノム変異情報に対応した最適な治療法を予測する技術も臨床応用され始めている。

末梢血由来 cfDNA 解析技術の実臨床での応用を目指したさらなる検討が進むとともに、TKI による分子標的治療、免疫チェックポイント阻害薬による治療、AI を用いたビッグデータの解析・応用技術なども一層発展するものと予想される。これらの診療技術を組み合わせ、個々の患者に応じた肺癌ゲノム医療のプレジジョンメディスンが可能になり、肺癌治療の成績が今後さらに向上することが期待できる。

本論文内容に関連する著者の利益相反：ガーダントヘルス

ジャパン株式会社から資金提供を受け、株式会社インターサイエンス社が執筆および投稿の支援を行った。

REFERENCES

1. 国立がん研究センター. 2019年のがん統計予測. https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/short_pred.html
2. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, et al. North-East Japan Study Group. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med*. 2010;362:2380-2388.
3. Cardarella S, Johnson BE. The impact of genomic changes on treatment of lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188:770-775.
4. NCCN ガイドライン日本語版 非小細胞肺癌. https://www2.tri-kobe.org/nccn/guideline/lung/japanese/non_small.pdf
5. Akamatsu H, Ninomiya K, Kenmotsu H, Morise M, Daga H, Goto Y, et al. The Japanese Lung Cancer Society Guideline for non-small cell lung cancer, stage IV. *Int J Clin Oncol*. 2019;24:731-770.
6. Jamal-Hanjani M, Wilson GA, McGranahan N, Birkbak NJ, Watkins TBK, Veeriah S, et al. Tracking the Evolution of Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017;376:2109-2121.
7. Siravegna G, Marsoni S, Siena S, Bardelli A. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017;14:531-548.
8. Pantel K, Alix-Panabières C. Liquid biopsy and minimal residual disease - latest advances and implications for cure. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019;16:409-424.
9. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, Mouliere F, Brenton JD, Caldas C, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer*. 2017;17:223-238.
10. Corcoran RB, Chabner BA. Application of Cell-free DNA Analysis to Cancer Treatment. *N Engl J Med*. 2018;379:1754-1765.
11. Schwarzenbach H, Hoon DS, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer*. 2011;11:426-437.
12. 谷田部恭. 次世代病理技術講座(第3回)マルチプレックスPCR, リアルタイムPCR, デジタルPCR, リキッドバイオプシー. 病理と臨床. 2019;37:553-557.
13. Friedlaender A, Banna G, Malapelle U, Pisapia P, Addeo A. Next Generation Sequencing and Genetic Alterations in Squamous Cell Lung Carcinoma: Where Are We Today? *Front Oncol*. 2019;9:166.
14. Lanman RB, Mortimer SA, Zill OA, Sebisano D, Lopez R, Blau S, et al. Analytical and Clinical Validation of a Digital Sequencing Panel for Quantitative, Highly Accurate Evaluation of Cell-Free Circulating Tumor DNA. *PLoS One*. 2015;10:e0140712.
15. Odegaard JI, Vincent JJ, Mortimer S, Vowles JV, Ulrich BC, Banks KC, et al. Validation of a Plasma-Based Comprehensive Cancer Genotyping Assay Utilizing Orthogonal Tissue- and Plasma-Based Methodologies. *Clin Cancer Res*. 2018;24:3539-3549.
16. Cho H, Mariotto AB, Schwartz LM, Luo J, Woloshin S. When do changes in cancer survival mean progress? The insight from population incidence and mortality. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2014;49:187-197.
17. Bettgowda C, Sausen M, Leary RJ, Kinde I, Wang Y, Agrawal N, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med*. 2014;6:224ra24.
18. Newman AM, Bratman SV, To J, Wynne JF, Eclow NC, Modlin LA, et al. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. *Nat Med*. 2014;20:548-554.
19. Leighl NB, Page RD, Raymond VM, Daniel DB, Divers SG, Reckamp KL, et al. Clinical Utility of Comprehensive Cell-free DNA Analysis to Identify Genomic Biomarkers in Patients with Newly Diagnosed Metastatic Non-small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25:4691-4700.
20. 高濱隆幸. EGFR T790M 変異検査 リキッドバイオプシーとしての保険承認から今後の必要性まで. がん分子標的治療. 2019;17:92-95.
21. Remon J, Caramella C, Jovelet C, Lacroix L, Lawson A, Smalley S, et al. Osimertinib benefit in EGFR-mutant NSCLC patients with T790M-mutation detected by circulating tumour DNA. *Ann Oncol*. 2017;28:784-790.
22. Buder A, Hochmair MJ, Schwab S, Bundalo T, Schenk P, Errhalt P, et al. Cell-Free Plasma DNA-Guided Treatment With Osimertinib in Patients With Advanced EGFR-Mutated NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2018;13:821-830.
23. Hicks JK, Saller J, Wang E, Boyle T, Gray JE. Cell-free circulating tumor DNA supplementing tissue biopsies for identification of targetable mutations: Implications for precision medicine and considerations for reconciling results. *Lung Cancer*. 2017;111:135-138.
24. Iwama E, Sakai K, Azuma K, Harada T, Harada D, Nosaki K, et al. Monitoring of somatic mutations in circulating cell-free DNA by digital PCR and next-generation sequencing during afatinib treatment in patients with lung adenocarcinoma positive for EGFR activating mutations. *Ann Oncol*. 2017;28:136-141.
25. Dagogo-Jack I, Rooney M, Lin JJ, Nagy RJ, Yeap BY, Hubbeling H, et al. Treatment with Next-Generation ALK Inhibitors Fuels Plasma ALK Mutation Diversity. *Clin Cancer Res*. 2019;25:6662-6670.
26. Rolfo C, Mack PC, Scagliotti GV, Baas P, Barlesi F, Bivona TG, et al. Liquid Biopsy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC): A Statement Paper from the IASLC. *J Thorac Oncol*. 2018;13:1248-1268.
27. Campesato LF, Barroso-Sousa R, Jimenez L, Correa BR, Sabbaga J, Hoff PM, et al. Comprehensive cancer-gene panels can be used to estimate mutational load and predict clinical benefit to PD-1 blockade in clinical practice. *Oncotarget*. 2015;6:34221-34227.
28. Khagi Y, Goodman AM, Daniels GA, Patel SP, Sacco AG, Randall JM, et al. Hypermutated Circulating Tumor DNA: Correlation with Response to Checkpoint Inhibitor-Based Immunotherapy. *Clin Cancer Res*. 2017;23:5729-5736.
29. Gandara DR, Paul SM, Kowanetz M, Schleichman E, Zou W, Li Y, et al. Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer

- patients treated with atezolizumab. *Nat Med.* 2018;24:1441-1448.
30. Merker JD, Oxnard GR, Compton C, Diehn M, Hurley P, Lazar AJ, et al. Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. *J Clin Oncol.* 2018;36:1631-1641.