

INVITED REVIEW ARTICLE

肺がんの全ゲノムシーケンス解析と臨床実装

河野隆志¹

Whole-genome Sequencing-based Lung Cancer Precision Medicine in Japan

Takashi Kohno¹¹Division of Genome Biology, National Cancer Center Research Institute, Japan.

ABSTRACT — Lung cancer is a cancer for which personalized medicine based on genomic information, including companion diagnostics, such as driver gene mutations, is already available. In addition, after standard treatment is completed, gene panel tests, including liquid biopsies, can be performed under national insurance coverage to seek new treatment methods. However, there is an emerging trend involving the implementation of whole-genome sequencing into cancer care for many intractable cancers, including lung cancer. Given the limited amount of cancer tissue samples available from patients and the fact that the information on genetic alterations required for medical treatment varies greatly among patients, it would be ideal to implement whole-genome sequencing, which has no restrictions on the genes that can be analyzed. However, due to the huge amount of genomic information obtained, the resources and time required to process it, and the need for quality assurance, we are not yet at a stage where this approach can be implemented immediately. Therefore, a national project is set to be launched that will implement whole-genome sequencing of cancer into studies and return results to patients for use in further research and development.

(JLCC. 2022;62:10-14)

KEY WORDS — Whole-genome sequencing, Cancer precision medicine, Data sharing

Corresponding author: Takashi Kohno.

要旨 — 肺がんはドライバー遺伝子変異などのコンパニオン診断など、すでにゲノム情報に基づいた個別化医療が行われているがんである。また標準治療終了後には、リキッドバイオプシー検査を含め、保険診療としてのがん遺伝子パネル検査を行い、新たな治療法を探すことも可能である。その一方で、肺がんを含めた多くの難治がんについて、全ゲノムシーケンス解析をがん診療に実装する動きが出てきている。患者から得られるがん組織試料に限りがあることや診療上必要となる遺伝子変化の情報が患者ごとに大きく異なることを考えると、解析対

象遺伝子に制限のない全ゲノムシーケンス解析を実装することは理想的である。しかしながら、得られるゲノム情報は膨大であり、その処理のための資源・時間、そして検査としての質的保証の問題があり、現時点ですぐに医療実装できる段階ではない。そこで、がんの全ゲノムシーケンス解析をまずは研究として開始し、その結果を患者に還元するとともに研究・開発に活かすという、国家事業が開始されようとしている。

索引用語 — 全ゲノムシーケンス解析, がん精密医療, データシェアリング

はじめに：全ゲノムシーケンス解析の特徴

肺がんはドライバー遺伝子変異などのコンパニオン診断など、すでにゲノム変化の情報に基づいた個別化医療が行われているがんである。また標準治療終了後には、

リキッドバイオプシー検査を含め、保険診療としてがん遺伝子パネル (CGP) 検査を行い、新たな治療法を探すことも可能である。実際、国立がん研究センターがんゲノム情報管理センター (C-CAT) に集約されている2万3千例以上のがん患者の検査結果や診療情報^{1,2}の中

¹国立がん研究センター研究所ゲノム生物学研究分野。

論文責任者：河野隆志。

Table 1. From Gene Panel Tests to Whole-genome Sequencing

	Gene panel test	Whole-genome sequencing
Pros	Short turn-around-time Analysis of cancer-related genes with strong clinical evidence Strong for tumor heterogeneity FFPE tissue usable	No limit to the number of genes tested Capable of detecting intra-gene rearrangements, promoter/enhancer region mutations, translocations/amplifications, non-coding RNA mutations, etc.
Cons	Genes to be analyzed and genomic changes to be detected are limited Not easy to add new genes	Analytical validity is unclear Frozen tissues needed Long turn-around-time Weak for tumor heterogeneity Clinical usefulness is unknown
Next to do	Liquid biopsy Multiple testing Individualization of testing	Assurance of analytical validity Feasibility including expert panel Selection of target patients How to implement into insurance treatment

には、1,200例以上の肺がん患者のデータが含まれている (https://for-patients.c-cat.ncc.go.jp/registration_status/)。多遺伝子を対象としたコンパニオン診断検査を含め、これらの遺伝子パネル検査には、PCRやゲノムキャプチャー法により特定の遺伝子セットのゲノムDNAを濃縮した後、次世代シーケンサーを用いて配列の読み取りを行うターゲットシーケンスの手法が用いられている。一方、全エクソン、全RNA、全ゲノムシーケンスなどのより大規模なゲノム解析は、研究の場で広く用いられている。

全エクソンシーケンス検査では、事実上すべての遺伝子のエクソン内変異の検出が可能である。同様に、全RNAシーケンス検査を行ったならば、網羅的な遺伝子の融合の検出の把握も可能となる。しかしながら、全エクソンシーケンス検査では遺伝子融合の検出ができない、全RNAシーケンス検査では遺伝子のコピー数変化の検出ができないなど、遺伝子パネル検査よりも劣る点が存在する。全ゲノムシーケンス解析は、その点すべての遺伝子の変異、融合、コピー数変化が検出でき、最も検出能力の高い解析手法であるといえる。さらに、遺伝子内の再構成、プロモーター・エンハンサー領域の変異や転座・増幅、ノンコーディングRNAの変異など、他の検査では検出できない種類の遺伝子変化の検出が可能である。³ よって、患者から得られるがん組織検料に限りのある臨床現場で全ゲノムシーケンス解析を診断手法として取り入れることは、理にかなっているといえる。

一方、全ゲノムシーケンスでは得られる情報量が膨大であることから、一般的な検査に求められる時間内でそのすべてを品質保証のもと検出・報告することは容易ではない。合わせて次世代シーケンサーのラン費用が高額となることから、シーケンスの読み取り深度を下げざるを得ず、腫瘍内の不均一性が高い症例では、一部のがん細胞でのみ生じている遺伝子変異を検出しきれな

い可能性もある。⁴ よって、全ゲノムシーケンスの実装は、利点・欠点を理解しながら進めることが重要である (Table 1)。

肺がんにおける全ゲノムシーケンス研究

全ゲノムシーケンスでは、がん抑制遺伝子の失活⁵ やがん関連遺伝子の高発現をもたらす構造変化^{6,7} などが効率よく検出できることが明らかにされてきている。これまでの代表的な肺がんの全ゲノムシーケンス研究を、Table 2にまとめた。2010年過ぎには、少数例を対象に肺がん全ゲノムシーケンス解析が行われ始めた。最初の1例は、NCI-H209肺小細胞がん細胞株の解析であり、ここで肺がんゲノム全体にわたって喫煙中に含まれるベンツピレンによると考えられるC→A変異が多数みられることが示され、現在の変異シグネチャー解析の先駆けとなった。⁸ さらに同年、1例のKRAS変異陽性の肺非小細胞がんの全ゲノムシーケンスが解読された。⁹ また、2012年には韓国で若年肺腺がんの1例が全ゲノムシーケンス解析され、KIF5B-RET融合が同定された。¹⁰ この発見は、我々を含めた複数のグループによる肺がんにおけるRET融合発見の論文と同時期に発表され、RET融合の存在をより確かなものとして示した。¹¹

2012年にはまた、Meyerson博士らのグループにより、全ゲノムシーケンス解析24例を含めた183例の肺腺がんのゲノムプロファイルが報告され、U2AF1などスプライス因子遺伝子の変異が肺がんでも生じていることが明らかになった。¹² また2014年、鈴木穰博士らのグループにより、汎用される26種の肺腺がん細胞株の全ゲノム、RNA、ChIP、メチル化プロファイルが取得され、そのデータはDBKEROデータベース (<https://kero.hgc.jp/>) で公開されている。¹³ 2015年には、日本も含めた国際共同研究により、110例の肺小細胞がんの全ゲノムシーケンスが解読され、TP53やRB1遺伝子に加えて、

Table 2. Whole-genome Sequencing Studies on Lung Cancer

Patient/sample	No. of cases	Study character	Mean sequence depth (T; N)	Representative results	Publication
SCC cell line	1	Commonly used H209 cell line	39x; 31x	Frequent C → A mutation	Pleasant, Nature, 2010
NSCLC	1	KRAS-mutated case	60x; 46x	Frequent C → A mutation	Lee, Nature, 2010
ADC	1	Young patient (33 y.o.)	48x; 28x	KIF5B-RET fusion	Ju, Genome Res, 2012
ADC and others	22	19 cell lines and 3 patients	60x	Mutations in chromatin regulator genes	Liu, Genome Res, 2012
ADC	24	183 cases, including WES-analyzed cases	69x; 36x	EGFR and SIK2 rearrangements, U2AF1 and RBM10 mutations	Imielinski, Cell, 2012
ADC cell lines	26	Multi-omics study including ChIP seq	33x	Comprehensive omics profiling	Suzuki, Nucleic Acids Res, 2014
Lung cancer	30	Character of never-smoking cases	50x	Frequent C → T mutation	Krishnan, Cancer Res, 2014
SCC	110	Global study including Japan	30x; 30x	TP53, RB1, TP73 and NOTCH mutations	George, Nature, 2015
ADC	79	Focusing inter-gene region	69x; 36x	InDel at pulmonary surfactant protein gene loci	Imielinski, Cell, 2017
ADC and SQC	92	Character of Asian cases	68x; 37x	Mutational signature and driver mutations	Wang, Nat Commun, 2018
ADC	24	Long read sequencing	25-30x	Intra-gene rearrangements of STK11 and others	Sakamoto, Genome Res, 2020
ADC	85	Character of driver negative cases	74x; 37x	Deletion of tumor suppressor genes	Carrot-Zhang, Cell Rep, 2021
ADC and others	232	Never smokers	85x; 31x	Subtyping according to copy number alterations	Zhang, Nat Genet, 2021

SCC: small cell carcinoma, NSCLC: non-small cell lung carcinoma, ADC: adenocarcinoma, SQC: squamous cell carcinoma.

TP73, NOTCH, そして、CREBBP や EP300 などのクロマチン制御遺伝子の変異が発がんに関与していることが明らかにされた。¹⁴ その他、ドライバー遺伝子変異陰性腺がんの解析では、がん抑制遺伝子である TP53, STK11, KEAP1, SMARCA4 遺伝子の失活変異が高頻度であるという特徴が明らかにされている。¹⁵ 我々を含めた複数のグループは、SMARCA4, CREBBP や EP300 の失活変異は合成致死治療法の対象であると考えており、治療薬の開発に取り組んでいる。¹⁶⁻²⁰

全ゲノムシーケンス解析は、全エクソンシーケンス解析と比べて得られる変異の情報が数十倍に増えることから、変異シグネチャー解析をより正確に行うことができる。また、大規模ゲノム構造変化の特徴も合わせてとらえられることから、非喫煙者におけるゲノム変化の特徴や肺がんメカニズムの理解にも役割を果たしている。^{21,22} 2021 年には、米国 NCI のグループが、非喫煙者の肺腺がんはゲノムコピー数変化により 3 つのタイプに分けられることを報告した。ここでは、コピー数変化の乏しい “piano” タイプがドミナントであり、その他、EGFR 変異や遺伝子増幅を伴う “mezzo-forte” タイプ、全ゲノム倍化を特徴とする “forte” タイプが存在している。²³

ここに示した肺がん全ゲノムシーケンス解析は、すべて探索的な研究として行われているものである。一方、

海外では乳がんを対象に全ゲノムシーケンス解析を前向きに行い、その臨床検査としての稼働性や有用性を調べる研究が行われている。²⁴ 今後、肺がんでもこのような動きが生まれてくるのかもしれない。

日本で開始されるがん全ゲノムシーケンス解析事業

全ゲノムシーケンス解析を検査として医療現場に実装するためには、患者のゲノムデータを迅速に解析し、診療現場に還元する仕組みを構築する必要がある。その方針は、厚生労働省から「全ゲノム解析等実行計画ロードマップ 2021」として公表されている (<https://www.mhlw.go.jp/content/10901000/000833386.pdf>)。令和 5 年度からは、全ゲノムシーケンス解析事業を束ねる組織として、事業実施組織が設置される予定である。当組織は国立高度専門医療研究センター医療研究連携推進本部が主体的に関与しながらも、広くアカデミアや産業界から参画を募り、幅広い人材からなるボードメンバーが最新の知見に基づく柔軟で迅速な運営判断を行うとされている。

全ゲノムシーケンス解析の対象とする患者としては、難治がんや希少がん、小児がん、遺伝性腫瘍が挙げられ、先行解析としての AMED 研究として、血液がん、消化器がん、婦人科がん、呼吸器がん、希少がん、小児

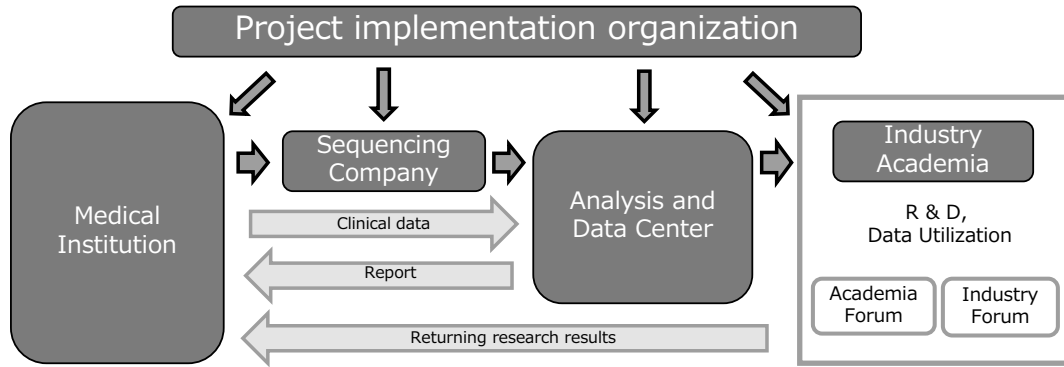


Figure 1. Proposed Implementation System for Whole-Genome Sequencing Analysis. Adapted from <https://www.mhlw.go.jp/content/10901000/000855695.pdf>.

がんにおいて、主にバイオバンクにある既採取試料を用い、各領域1,400例の全ゲノムシーケンスデータの取得が令和3年度より開始されている。令和4年度以降は、臨床的稼働性の検証と体制の確立を目的として、全ゲノムシーケンスは医療機関での前向き解析が主体となる。しかしながら、現行の遺伝子パネル検査で用いられている生検試料やホルマリン固定パラフィン包埋がん試料を用いた全ゲノムシーケンス解析では品質保証が難しいことから、²⁵ 解析対象としては手術で摘出され凍結保存された腫瘍組織が主体となる (Table 1)。

ゲノム・臨床情報の活用・研究・創薬などの拠点として、解析・データセンターが設置され、統一解析パイプラインにより、ゲノム変化の検出を統一的な手法で行う。この結果は医療機関に返却され、エキスパートパネルによる検討の後に、患者に還元される。また、解析・データセンターはクラウドを利用したゲノム・臨床情報の共有 (利活用) の仕組みを提供する。得られたデータの利活用は、共有ルール・利活用ポリシー (データシェアリングポリシー) に従って、アカデミアが参画するフォーラム (アカデミアフォーラム)、産業界が参画するフォーラム (産業フォーラム) を形成して行われる。共有ルールについては、全ゲノム解析等の推進に関する専門委員会により、その骨子が示されている (Figure 1) (<https://www.mhlw.go.jp/content/10901000/000855695.pdf>)。

全ゲノムシーケンスの結果を患者に還元するにあたっては、倫理的・法的・社会的課題への適切な対応が求められる。また、対象患者への説明だけでなく、広く国民や社会に対して継続的な情報発信を行うとともに、患者や市民参画の仕組みを確保することが重要である。上記のデータ利活用を含め、解析の対象となる患者に対してこの全ゲノムシーケンス解析事業を説明する同意説明文書のモデル文案が、全ゲノム解析等の推進に関する専門委員会を通じて公開されている (<https://www.m>

[hlw.go.jp/content/10901000/000855704.pdf](https://www.mhlw.go.jp/content/10901000/000855704.pdf))。令和3年度より、国立がん研究センター中央病院、がん研究会有明病院、静岡がんセンターが、患者還元を行う体制構築のためのAMED研究として、このモデル文案を用いた前向き全ゲノムシーケンス解析を各200例程度行う予定である。

おわりに

全ゲノムシーケンス解析の医療実装に向けた取り組みが大きく進もうとしている。実装に向けては、分析妥当性の担保、エキスパートパネルを含めた稼働性の検証、対象患者の選定基準、そして全ゲノムシーケンス検査自体の薬事承認や保険収載の手法など、多くの検討課題がある (Table 1)。その一方で、全ゲノムシーケンス解析を行うことで、キナーゼがん遺伝子や免疫チェックポイント阻害治療標的分子の構造変化⁶やPARP阻害薬感受性と結びつくようなゲノム不安定性表現型²⁶を、網羅的かつ正確に判断できる。がん遺伝子パネル検査体制を構築し、大きく進展している日本のがんゲノム医療現場において、全ゲノムシーケンス検査が有効利用されることを期待する。

本論文内容に関連する著者の利益相反：なし

謝辞：本稿は、厚生労働科学研究費がん対策推進総合研究事業 (21EA1011)、及び、日本医療研究開発機構革新的がん医療実用化研究事業 (JP21ck0106695) の支援による。

REFERENCES

1. Ebi H, Bando H. Precision Oncology and the Universal Health Coverage System in Japan. *JCO Precis Oncol*. 2019; 3:PO.19.00291.
2. Mukai Y, Ueno H. Establishment and implementation of Cancer Genomic Medicine in Japan. *Cancer Sci*. 2021;112:

- 970-977.
3. Beroukhim R, Zhang X, Meyerson M. Copy number alterations unmasked as enhancer hijackers. *Nat Genet.* 2016;49:5-6.
 4. Dentre SC, Leshchiner I, Haase K, Tarabichi M, Wintersinger J, Deshwar AG, et al. Characterizing genetic intra-tumor heterogeneity across 2,658 human cancer genomes. *Cell.* 2021;184:2239-2254.e39.
 5. Guo X, Shi J, Cai Q, Shu XO, He J, Wen W, et al. Use of deep whole-genome sequencing data to identify structure risk variants in breast cancer susceptibility genes. *Hum Mol Genet.* 2018;27:853-859.
 6. Kataoka K, Shiraishi Y, Takeda Y, Sakata S, Matsumoto M, Nagano S, et al. Aberrant PD-L1 expression through 3'-UTR disruption in multiple cancers. *Nature.* 2016;534:402-406.
 7. Kawazu M, Kojima S, Ueno T, Totoki Y, Nakamura H, Kunita A, et al. Integrative analysis of genomic alterations in triple-negative breast cancer in association with homologous recombination deficiency. *PLoS Genet.* 2017;13:e1006853.
 8. Pleasance ED, Stephens PJ, O'Meara S, McBride DJ, Meynert A, Jones D, et al. A small-cell lung cancer genome with complex signatures of tobacco exposure. *Nature.* 2010;463:184-190.
 9. Lee W, Jiang Z, Liu J, Haverty PM, Guan Y, Stinson J, et al. The mutation spectrum revealed by paired genome sequences from a lung cancer patient. *Nature.* 2010;465:473-477.
 10. Ju YS, Lee WC, Shin JY, Lee S, Bleazard T, Won JK, et al. A transforming KIF5B and RET gene fusion in lung adenocarcinoma revealed from whole-genome and transcriptome sequencing. *Genome Res.* 2012;22:436-445.
 11. Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, Yasuda K, Hiramoto M, Nammo T, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nat Med.* 2012;18:375-377.
 12. Imielinski M, Berger AH, Hammerman PS, Hernandez B, Pugh TJ, Hodis E, et al. Mapping the hallmarks of lung adenocarcinoma with massively parallel sequencing. *Cell.* 2012;150:1107-1120.
 13. Suzuki A, Makinoshima H, Wakaguri H, Esumi H, Sugano S, Kohno T, et al. Aberrant transcriptional regulations in cancers: genome, transcriptome and epigenome analysis of lung adenocarcinoma cell lines. *Nucleic Acids Res.* 2014;42:13557-13572.
 14. George J, Lim JS, Jang SJ, Cun Y, Ozretić L, Kong G, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature.* 2015;524:47-53.
 15. Carrot-Zhang J, Yao X, Devarakonda S, Deshpande A, Damrauer JS, Silva TC, et al. Whole-genome characterization of lung adenocarcinomas lacking alterations in the RTK/RAS/RAF pathway. *Cell Rep.* 2021;34:108784.
 16. Ogiwara H, Sasaki M, Mitachi T, Oike T, Higuchi S, Tominaga Y, et al. Targeting p300 Addition in CBP-Deficient Cancers Causes Synthetic Lethality by Apoptotic Cell Death due to Abrogation of MYC Expression. *Cancer Discov.* 2016;6:430-445.
 17. Oike T, Ogiwara H, Tominaga Y, Ito K, Ando O, Tsuta K, et al. A synthetic lethality-based strategy to treat cancers harboring a genetic deficiency in the chromatin remodeling factor BRG1. *Cancer Res.* 2013;73:5508-5518.
 18. Hoffman GR, Rahal R, Buxton F, Xiang K, McAllister G, Frias E, et al. Functional epigenetics approach identifies BRM/SMARCA2 as a critical synthetic lethal target in BRG1-deficient cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111:3128-3133.
 19. Wilson BG, Helming KC, Wang X, Kim Y, Vazquez F, Jagani Z, et al. Residual complexes containing SMARCA2 (BRM) underlie the oncogenic drive of SMARCA4 (BRG1) mutation. *Mol Cell Biol.* 2014;34:1136-1144.
 20. D'Antonio M, Guerra RF, Cereda M, Marchesi S, Montani F, Nicassio F, et al. Recessive cancer genes engage in negative genetic interactions with their functional paralogs. *Cell Rep.* 2013;5:1519-1526.
 21. Wang C, Yin R, Dai J, Gu Y, Cui S, Ma H, et al. Whole-genome sequencing reveals genomic signatures associated with the inflammatory microenvironments in Chinese NSCLC patients. *Nat Commun.* 2018;9:2054.
 22. Krishnan VG, Ebert PJ, Ting JC, Lim E, Wong SS, Teo AS, et al. Whole-genome sequencing of asian lung cancers: second-hand smoke unlikely to be responsible for higher incidence of lung cancer among Asian never-smokers. *Cancer Res.* 2014;74:6071-6081.
 23. Zhang T, Joubert P, Ansari-Pour N, Zhao W, Hoang PH, Lokanga R, et al. Genomic and evolutionary classification of lung cancer in never smokers. *Nat Genet.* 2021;53:1348-1359.
 24. Hlevnjak M, Schulze M, Elgaafary S, Fremd C, Michel L, Beck K, et al. CATCH: A Prospective Precision Oncology Trial in Metastatic Breast Cancer. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:PO.20.00248.
 25. Robbe P, Popitsch N, Knight SJL, Antoniou P, Becq J, He M, et al. Clinical whole-genome sequencing from routine formalin-fixed, paraffin-embedded specimens: pilot study for the 100,000 Genomes Project. *Genet Med.* 2018;20:1196-1205.
 26. Nguyen L, W M Martens J, Van Hoeck A, Cuppen E. Pan-cancer landscape of homologous recombination deficiency. *Nat Commun.* 2020;11:5584.