

INVITED REVIEW ARTICLE

肺癌バイオマーカー検査の変遷と今後の展開

畑中 豊^{1,2}・木下一郎^{3,4}・秋田弘俊⁴Predictive Biomarker Testing for Lung Cancer:
Past and Future PerspectivesYutaka Hatanaka^{1,2}; Ichiro Kinoshita^{3,4}; Hirotohi Dosaka-Akita⁴¹Research Division of Genome Companion Diagnostics, ²Center for Development of Advanced Diagnostics, ³Division of Clinical Cancer Genomics, ⁴Department of Medical Oncology, Hokkaido University Hospital, Japan.**ABSTRACT** — In Japan, predictive biomarker testing for driver mutations as companion diagnostics (CDxs) in lung cancer includes six genes: *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *MET*, and *RET* (newly added in 2021). As a CDx for cancer immunotherapy, PD-L1 immunohistochemistry testing has been conducted since 2016. We herein review the issues experienced during the clinical introduction of such testing and overview the future development of CDxs expected to be useful as new technologies, such as multiplex assays and liquid biopsies.

(JLCC. 2022;62:15-25)

KEY WORDS — Lung cancer, Molecular-targeted therapy, Cancer immunotherapy, Companion diagnostics

Corresponding author: Yutaka Hatanaka.

要旨 — 肺癌におけるドライバー変異を対象としたバイオマーカー検査は、*EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*、*MET*に、2021年に*RET*が新たに加わり、現在本邦では6遺伝子がコンパニオン診断 (CDx) 項目となっている。またがん免疫療法のバイオマーカー検査としてPD-L1 IHC検査が、2016年よりCDxとして実施されるようになった。本稿では、これらバイオマーカー検査の臨床導入の

経緯やその際に直面した諸課題について総括するとともに、マルチプレックスアッセイやリキッドバイオプシーなどの新規検査技術のさらなる普及が見込まれている肺癌CDxの今後の展開について概説する。

索引用語 — 肺癌, 分子標的治療, がん免疫療法, コンパニオン診断法

はじめに

EGFRチロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) の登場を契機にEGFR遺伝子変異検査が臨床導入されて以降、肺癌ドライバー変異を対象としたバイオマーカー検査は、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*、*MET*、さらには*RET*が加わり、現在本邦では6遺伝子がコンパニオン診断 (CDx) 項目となり、さらに今後*KRAS*や*ERBB2*なども追加される見通しである。これらの検査はこれまで単一遺伝子検査として行われてきたが、次世代シーケンシング (NGS) システムの登場によりCDxのマルチプレックス化への移行が始まった。また抗PD-1/PD-L1阻害薬のバイオマーカー検査としてPD-L1 IHC検査が2016年に最初にCDx承認され、その後も新たなCDx薬やコンプリメンタリー診断薬が登場し、薬事承認された複数の検査法が用いられる状況になっている。一方、固形がんを対象としたバイオマーカー検査には、*NTRK*やマイクロサテライト不安定性 (MSI)、間もなく臨床導入される腫瘍遺伝子変異量 (TMB) が含まれ、肺癌診療にも関係している。一部の分子標的治療薬の使用にあたっては、CDx機能を有する包括的ゲノムプロファイリング (CGP) 検査システムによるバイオマーカー検査が必須となっているが、CDx承認北海道大学病院¹ゲノム・コンパニオン診断研究部門、²先端診断技術開発センター、³がん遺伝子診断部、⁴腫瘍内科。

論文責任者：畑中 豊。

Table 1. Differences Between CDxs and Comprehensive Genomic Profiling Tests

	コンパニオン診断 (CDx)	包括的ゲノムプロファイリング (CGP)
使用目的 測定対象	医薬品の適応判定の補助を目的として対応する遺伝子変異等 (個別のマーカー) の検出	包括的な遺伝子変異等のプロファイルの取得
想定される治療	エビデンスが確立した治療方法	原則として標準的治療は存在せず、エビデンスレベルが高くない治療を想定
検査薬・医療機器として評価される性能	1つのマーカーに対する高い診断的中率	包括的なプロファイル検査を前提とした測定機器としての分析性能 (真度, 再現性など)
効果予測に関する変異 (バリエーション) のエビデンスレベル (EL)	薬剤感受性については EL A, 薬剤耐性については EL R1 が該当	薬剤感受性については EL B ~ F, 薬剤耐性については EL R2 ~ R3 が該当 (EL A や EL R1 に分類されるバリエーションも検出される場合あり), 一般に EL D 以上がアクションナブル変異と呼ばれている
規制上の整理*1		
出力された検査結果の位置付け	医薬品適応の可否を直接提示する	出力された結果に基づき医師による結果解釈が行われ, 治療方針が策定される
実施医療機関	一般医療機関 (限定なし)*2	がんゲノム医療指定医療機関に限定
厚労省からの関連通知	コンパニオン診断薬等及び関連する医薬品の承認申請に係る留意事項について (平成 25 年 7 月 1 日付 薬食審査発 0701 第 10 号) 「コンパニオン診断薬等に該当する体外診断用医薬品の製造販売承認申請に際し留意すべき事項について」(平成 26 年 2 月 29 日付 薬食機発 0219 第 4 号)	遺伝子検査システムに用いる DNA シークエンサー等を製造販売する際の取扱いについて (平成 28 年 4 月 28 日付 薬生機発 0428 第 1 号・薬生監麻発 0428 第 1 号)
主な保険適用の区分 (肺癌/固形がん関連抜粋)	<p>【遺伝子関連検査】</p> <p>D004-2 悪性腫瘍組織検査</p> <p>イ 処理が容易なもの 2500 点/2100 点*3</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 2 項目 4000 点 ・ 3 項目 6000 点 ・ 4 項目以上 8000 点 <p>ロ 処理が複雑なもの 5000 点</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 2 項目 8000 点 ・ 3 項目以上 12000 点 <p>D006-12 EGFR 遺伝子 (血漿) 2100 点</p> <p>【病理組織標本作製】</p> <p>N002 免疫染色 (免疫抗体法)</p> <ul style="list-style-type: none"> 6 ALK 融合タンパク 2700 点 N005-2 ALK 融合遺伝子 6520 点 N005-3 PD-L1 タンパク 2700 点 	<p>D006-19 がんゲノムプロファイリング検査</p> <ul style="list-style-type: none"> 1 検体提出時 8000 点 2 結果説明時 48000 点 <p>通知 (抜粋: 下線部はリキッドバイオプシーの場合の追加事項)</p> <p>「1」検体提出時については, 固形腫瘍の腫瘍細胞又は血液を検体とし, 100 以上のがん関連遺伝子の変異等を検出するがんゲノムプロファイリング検査に用いる医療機器等として薬事承認又は認証を得ている次世代シーケンシングを用いて, 包括的なゲノムプロファイルの取得を行う場合に患者 1 人につき 1 回 (以下のイの場合*4 については 2 回) に限り算定できる。ただし, 血液を検体とする場合については, 以下に掲げる場合*4 にのみ算定できる。</p>
関係学会の診療ガイドライン (肺癌/固形がん関連抜粋)	<p>【肺癌】日本肺癌学会バイオマーカー委員会作成。肺癌患者における各種バイオマーカー検査の手引き</p> <p>【固形がん】日本癌治療学会・日本臨床腫瘍学会合同作成。成人・小児進行固形がんにおける臓器横断的ゲノム診療のガイドライン</p>	<p>日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会合同作成。次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン</p> <p>日本肺癌学会バイオマーカー委員会作成。肺癌患者における次世代シーケンサーを用いた遺伝子パネル検査の手引き</p>

*1 PMDA 資料を一部改変 (<https://www.pmda.go.jp/files/000225560.pdf>)

*2 CDx 機能を有するゲノムプロファイリング検査システム (例: FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル) を使用し, コンパニオン診断を行う場合はがんゲノム医療指定医療機関に限定

*3 「イ 処理が容易なもの」のうち, (1) 医薬品の適応判定の補助等に用いるもの (薬事承認又は認証を得ている体外診断用医薬品又は医療機器を用いるもの) は 2500 点, (2) その他のもの (いわゆる薬事未承認検査 (LDT) 法によるもの) は 2100 点

*4 医療機器の保険適用について (令和 3 年 8 月取載予定) を参照 (<https://www.mhlw.go.jp/content/12404000/000805789.pdf>)

されているにも関わらず外注検査費用と保険点数の乖離が大きいため検査が実施されず, 当該分子標的治療薬の使用が大きく制限される状況を招いている。

本稿では, これらバイオマーカー検査の臨床導入の経

緯やその際に直面した諸課題について総括するとともに, マルチプレックスアッセイやリキッドバイオプシーなどの新規検査技術の本格導入が見込まれている肺癌 CDx の今後の展開について概説する。

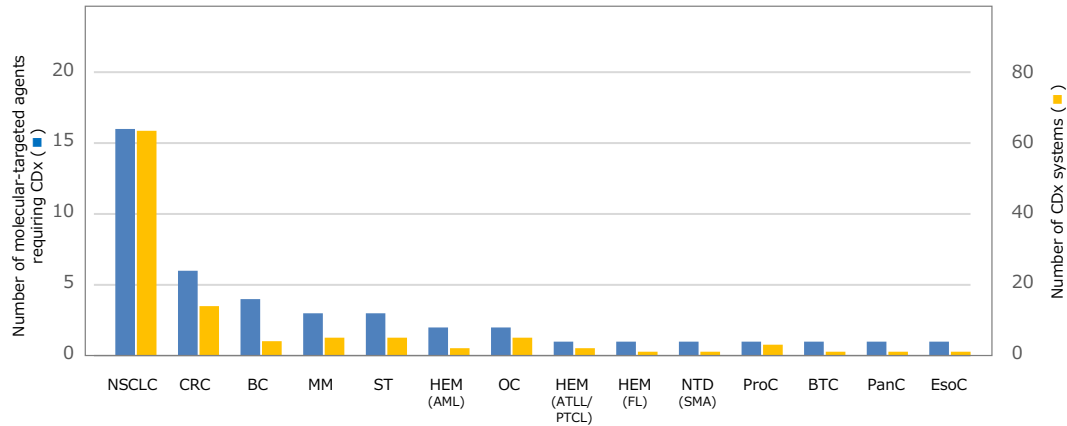


Figure 1. Number of CDx systems approved in Japan by tumor type*. NSCLC: non-small-cell lung cancer, CRC: colorectal cancer, MM: malignant melanoma, ST: solid tumor, HEM: hematopoietic tumor, AML: acute myeloid leukemia, OC: ovarian cancer, ATLL/PTCL: adult T-cell leukemia/lymphoma/peripheral T-cell lymphoma, FL: follicular lymphoma, NTD: non-tumor disease, SMA: spinal muscular atrophy, ProC: prostate cancer, BTC: biliary tract cancer, PanC: pancreatic cancer, EsoC: esophageal cancer. *As of September 28, 2021.

治療効果予測マーカー検査の分類

がんにおける治療効果予測に関わるバイオマーカー検査は、診療上の使用目的の違いから CDx と CGP に大別され (Table 1), CDx はすでにエビデンスが確立した標準治療へのアクセスを目的としている。¹ 一方 CGP は研究開発段階にあるエビデンスがまだ十分確立されていない治療へのアクセスを目的としており, NCC オンコパネルシステム (NOP), FoundationOne CDx (F1CDx), FoundationOne Liquid CDx (F1LCDx) が保険診療で用いられている。CDx については, 多くのがん種で CDx 承認されているバイオマーカーは少数に留まっている一方, 非小細胞肺癌においては上述のように多数の体細胞遺伝子検査キットが CDx 薬として承認されており (Figure 1), 今後も増加する見通しである。本邦における CDx 薬/CDx システムは, 2013 年 7 月 1 日付厚生労働省課長通知「コンパニオン診断薬等及び関連する医薬品の承認申請に係る留意事項について」(薬食審査発 0701 第 10 号) に記載のある経過措置期間 (2014 年 6 月 30 日まで) に申請された体外診断用医薬品のうち CDx 薬として評価された品目, およびこの期間以降に CDx 申請された品目となり, 現時点 (2021 年 9 月 28 日時点) で CDx 薬/CDx システムを必要とする分子標的治療薬は 32 品目 (適応数は 46) あり, このうち非小細胞肺癌への適応を有する分子標的治療薬は 16 品目 (うち TKI などが 14 品目, 免疫チェックポイント阻害薬 (ICI) が 2 品目) である (Figure 1)。また分子標的治療薬と CDx 薬の組み合わせ総数 109 件のうち, 非小細胞肺癌が 64 件 (59%) を

占める (Figure 1, Table 2, 3)。

肺癌コンパニオン診断の薬事承認の変遷

1) ドライバー変異に対する標的治療のための CDx

上述のように肺癌におけるバイオマーカー検査は, 2004 年の肺腺癌における *EGFR* 遺伝子変異の発見を契機に開始となった。*EGFR* 変異検査は, 当初ダイレクトシーケンス法が用いられていたが, その後 PNA-LNA PCR Clamp 法, PCR-Invader 法, Cycleave PCR 法などのより高感度の薬事未承認検査 (laboratory-developed test; LDT) 法が登場し, 主要検査機関では長く用いられてきた。² 2009 年 3 月には, 日本肺癌学会・バイオマーカー委員会より, 最初のバイオマーカー検査のガイダンス「肺癌患者における *EGFR* 遺伝子変異検査の解説」が発出され, *EGFR*-TKI 治療とともに LDT 法が中心となっている検査に関する情報が悉皆的に取りまとめられた。³ 2011 年 9 月にはゲフィチニブの添付文書が改訂され「*EGFR* 遺伝子変異陽性」が適応に追加され, 同年 11 月に theascreen *EGFR* 変異検出キット RGQ「キアゲン」が, *EGFR* 変異検査法としては初の体外診断用医薬品 (IVD) 承認されたが, その申請形態から CDx 薬承認とはならなかった。一方, 上述の 2013 年 7 月 1 日付厚生労働省課長通知に基づき, 肺癌領域で最初に CDx 薬となった検査法は, クリゾチニブと合わせて 2012 年 2 月に承認された Vysis *ALK* Break Apart FISH プローブキットである。*EGFR* 変異検査で最初の CDx 薬は, コバス *EGFR* 変異検出キット v2.0 である。前身となるコバス *EGFR* (対象バリエーション 41 種類) は, 当初 theascreen *EGFR*

Table 2. CDx Systems for Targeted Therapy Against Oncogenic Driver Alterations*

CDx 承認システム		検査対象/検体種		分子標的治療薬							固形がん	
				非小細胞肺癌								
種別	システム名	検査法	組織 (FFPE)	血漿	EGFR	ALK	ROS1	BRAF	MET	RET	KRAS	NTRK
					ゲフィチニブ エルロチニブ アファチニブ ダコチニブ オシメルチニブ	クリゾチニブ アレクチニブ セリチニブ プリグチニブ	クリゾチニブ エヌトレクチニブ	ダブラフェニブ + トラメチニブ	テボチニブ カプマチニブ	セルベルカチニブ	ソトララシブ	エヌトレクチニブ + トラメチニブ ラ
単一検査	therascreen EGFR	qPCR	○ (D)		○ ○ ○ ○							
	コバス EGFR	qPCR	○ (D)	○ (ctD)	○ ○ ○ △ ○							
	EGFR リキッド	NGS	※ (D)	○ (ctD)	○ ○ ○							
	ヒストファイブ ALK	IHC	○ (P)			○ ○ ○ ○						
	ペンタナ OptiView ALK	IHC	○ (P)			○ ○ ○ ○						
	Vysis ALK Break Apart	FISH	○ (D)			○ ○ ○						
	AmoyDx ROS1	qPCR	○ (R)				○					
	ArcherMET	NGS	○ (R)	○ (ctD)					○			
	therascreen KRAS	qPCR	○ (D)								○	
	Guardant360 CDx**	NGS		○ (ctD)							○	
マルチプレックス検査	AmoyDx 肺癌マルチ	qPCR	○ (D/R)		○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○
	オンコマイン DxTT マルチ	NGS	○ (D/R)		○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○
	FoundationOne CDx	NGS	○ (D)		○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○
	FoundationOne Liquid CDx	NGS		○ (ctD)	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○

* PMDA ホームページ掲載「コンパニオン診断薬等の情報」2021年9月28日版に基づき作成。

** 仕様はマルチプレックス検査となっているが肺癌 CDx 項目としては現時点で1項目のみ。

○：CDx 承認項目，△：組織のみ。

D：DNA，R：RNA，P：Protein，ctD：ctDNA，※：凍結のみ。

の後発品として2013年9月にIVD承認され、その後、コバス EGFR v2.0 (対象バリエーション42種類；L861Qが追加)が2016年3月のEGFR-TKIに抵抗性を示すEGFR T790M変異陽性の手術不能または再発非小細胞肺癌に対するオシメルチニブの承認に合わせ、CDx薬として同時承認された。これにより組織検体を用いたEGFR-TKI治療耐性後の二次的T790M変異検査が開始となった。2016年12月には、リキッドバイオプシー検査としては初となる血漿検体を用いた同検査も追加承認(2017年7月に保険適用)された。その後、ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブのCDx薬としても2017年8月に

追加承認(2018年1月に保険適用)され、さらにオシメルチニブのEGFR-TKI投与前の初回検査に対しても2018年7月にCDx承認・保険適用されている。これ以降、新規の単一CDx法として、2017年1月にROS1(AmoyDx ROS1融合遺伝子検出キット)、2018年4月にBRAF(オンコマインDx Target Test CDxシステム)、2020年4月にMET(ArcherMETコンパニオン診断システム)が承認されている。また大きな節目となった新規のマルチプレックスCDx法として、2019年2月にオンコマインDx Target TestマルチCDxシステム(ODxTTマルチ；EGFR, ALK, ROS1, BRAF；2021

Table 3. CDx and IVD Systems for Immune Checkpoint Blockade Therapy*

CDx 承認システム		CDx 項目				免疫チェックポイント阻害薬							
						非小細胞肺癌			固形がん				
						PD-L1			dMMR	TMB			
種別	システム名	検査法	検体対象 (FFPE 組織)	マーカー	判定基準	ペムプロリズマブ (1st/2nd line)	アテゾリズマブ (1st line)	アテゾリズマブ (2nd line in SQ)	ニボルマブ + 化学療法 (1st line)	ニボルマブ (2nd line in nonSQ)	デュルバルマブ (局所進行, CRT後)	ペムプロリズマブ	ペムプロリズマブ
PD-L1 検査	PD-L1 IHC 22C3 pharmDx	IHC	Protein	PD-L1	TPS \geq 1%	○							
	ベンタナ OptiView PD-L1 (SP142)	IHC	Protein	PD-L1	TC3 or IC3* TC1/2/3 or IC1/2/3*		○						
	PD-L1 IHC 28-8 pharmDx	IHC	Protein	PD-L1	TPS 相当 <1% TPS 相当 \geq 1%				□			△	
	ベンタナ OptiView PD-L1 (SP263)	IHC	Protein	PD-L1	TPS 相当 \geq 1%							△	
dMMR/TMB 検査	MSI 検査キット (FALCO)	FA	DNA	MSI	MSI-High (\geq 2 MS markers)							○	
	ベンタナ MMR IHC パネル	IHC	Protein	MMR 4 マーカー	Loss of any MMR protein							○	
	Foundation-One CDx	NGS	DNA	MSI TMB	MSI-High TMB (\geq 10 mut/MB)							○	○

* PMDA ホームページ掲載「コンパニオン診断薬等の情報」2021年9月28日版に基づき作成。

○；CDx 承認項目，△；IVD 承認項目（いわゆるコンプリメンタリー診断薬），□；CDx 承認されていないが，最適使用推進ガイドライン上の記載を踏まえ，日本肺癌学会バイオマーカー委員会がCDx 相当と判断した項目。

CRT；化学放射線療法，FA；キャピラリーシートエンサーを用いたフラグメント解析。

年9月に *RET* がさらに追加) が承認され，さらに2021年9月に AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子PCRパネル (AmoyDx マルチ) が統合承認 (6月に *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*；8月に *MET*) された (Table 2)。

2) ICI 治療のための CDx

PD-L1 IHC 検査については，非小細胞肺癌患者におけるペムプロリズマブの投与の可否の判断を目的として，PD-L1 IHC 22C3 pharmDx が2016年11月に国内で初めてCDx 承認された (Table 3)。また同時に化学療法既治療の扁平上皮非小細胞肺癌患者におけるニボルマブ投与の可否判断の補助を目的として，PD-L1 IHC 28-8 pharmDx が承認されたが，こちらはCDx 承認ではなく，IVD 承認となっている (Table 3)。IVD の場合は，CDx のように添付文書に薬剤名は通常記載されないが，

28-8 キットでは薬剤名が記載されている。また検査運用にあたっては厚生労働省が発出する「ニボルマブ最適使用推進ガイドライン」の内容に即した対応が求められていることから，28-8 キットは，IVD 承認となっているものの米国のコンプリメンタリー診断薬 (効果予測のための補助的検査) に相当する取扱いとなっている。このほか同様の IVD となっているものとして，非小細胞肺癌患者におけるデュルバルマブ投与可否の判断補助を目的として，OptiView PD-L1 (SP263) が2019年3月に承認されている (Table 3)。またほかのCDx 薬として，扁平上皮非小細胞肺癌患者におけるアテゾリズマブの投与の可否の判断を目的として使用する OptiView PD-L1 (SP142) が2018年2月に承認されている。

肺癌 CDx の保険適用の変遷

上述のように肺癌 EGFR 変異検査が開始された当初は、検査機関で確立されたダイレクトシーケンス法や高感度検査法などの LDT 法を用いて非保険適用下で行われた。こうしたなか、平成 18 年 (2006 年 4 月) の診療報酬改定において、高度先進医療 109 技術のうち、「悪性腫瘍の遺伝子診断」を含め 8 技術について保険導入が決定し、「第 3 部 検査」のなかに区分「D004 (13) 悪性腫瘍遺伝子検査」(保険点数 2000 点)が新設された。その後 2007 年 6 月 1 日付の厚生労働省保険局医療課事務連絡の疑義解釈を踏まえ、上記 LDT 法を用いた EGFR 変異検査が、この区分で保険適用となった。平成 22 年 (2010 年 4 月) の診療報酬改定では、現在の「D004-2 悪性腫瘍遺伝子検査」となったものの保険点数は 2000 点で据え置きとなった。本検査を含む遺伝子検査全般において採算上問題視されていたものの、数年間続いたこの保険点数は「2000 点問題」と呼ばれるようになった。平成 24 年 (2012 年 4 月) の診療報酬改定ではようやく増点されたが、2100 点に留まった。一方、2011 年 11 月に IVD 承認された theascreen EGFR の 2012 年 9 月の保険適用時には 2500 点での算定が可能となった。これ以降、薬事承認されたリアルタイム PCR 法を使用する単一遺伝子検査システムはこの点数が準用されている。また 2018 年 4 月の診療報酬改定では、将来のマルチプレックス化を受け、「患者から 1 回に採取した組織等を用いて同一がん種に対して悪性腫瘍遺伝子検査を実施した場合」として、「2 項目 4000 点、3 項目以上 6000 点」が新設された。また同年 12 月には、NGS を用いた CDx として初めて承認された BRAF 変異検査の保険点数として 5000 点が算定可能となった。これらを受け、令和 2 年 (2020 年 4 月) の診療報酬改定では、現行の「イ 処理が容易なもの」(2021 年 10 月時点で、EGFR/ALK/ROS1 が該当)に加えて、「ロ 処理が複雑なもの」(BRAF/MET/RET/NTRK が該当)が設けられた (Table 1)。一方、血漿検体を用いた肺癌バイオマーカー検査としては、上述のオシメルチニブの CDx 薬として 2016 年 12 月に承認されたコバス EGFR v2.0 が 2017 年 7 月に保険適用され、その後平成 30 年 (2018 年 4 月) の診療報酬改定時に「D006-12 EGFR 遺伝子 (血漿)」が新設された。なお IHC や ISH 法が関わる病理関連項目については、平成 20 年 (2008 年 4 月) の診療報酬改定で「第 3 部 検査」から新設された「第 13 部 病理診断」へ移行され、ALK IHC や FISH 検査、PD-L1 IHC 検査は、こちらの「免疫染色 (免疫抗体法) 病理組織標本作製、遺伝子標本作製」の項に分類されるようになったが、保険点数上大きな動きはない (Table 1)。

本邦における CDx の課題と今後の展開

1) マルチプレックス CDx の本格化

2019 年 6 月の ODxTT マルチの保険適用によって、マルチプレックス CDx が開始された。日経メディカル誌が行った調査によると、ODxTT マルチの使用施設割合は 2020 年 4 月時点では 27% に留まっていたものの、2020 年 11 月時点では 35% に、そして 2021 年 5 月および 11 月時点では 52% と半数を超えた。⁴ 今後 AmoyDx マルチの登場により、マルチプレックス化がさらに加速すると思われる。2022 年 1 月の保険適用以降は、NGS 法ベースの ODxTT マルチと qPCR ベースの AmoyDx マルチのいずれかを軸とした検査アルゴリズムが用いられることが予想される。これら検査法の選択にあたっては、それぞれの特性を把握し、選択することが肝要である (Table 4)。国内で実施されるこれら検査の多くは検査機関へ外注されることになるが、検査機関の対応 (各検査における検査所要時間 (TAT) など) は一律ではないことが予想されるため、この点に留意し選定する必要があると思われる。また、保険算定上も両検査間で差異が生じる。現在 6 種ある CDx 項目のうち ODxTT マルチでは MET 検査が追加で必要になるが、ArcherMET との組み合わせにより保険点数内での実施が概ね可能となる。一方、AmoyDx マルチでは RET 検査が追加で必要になるが、ODxTT マルチとの組み合わせによる保険点数内での実施は難しい状況となるので注意が必要である。

2) マルチプレックス CDx に伴う RUO データ利用に関する留意点

ODxTT マルチの臨床導入に伴い、CDx 承認対象外の研究用 (research use only ; RUO) データの入手が医療機関側で可能となった。この対応は平成 28 年 4 月 28 日付薬生機発 0428 第 1 号・薬生監麻発 0428 第 1 号通知「遺伝子検査システムに用いる DNA シークエンサー等を製造販売する際の取扱いについて」の次の記載「臨床的意義が未知な検査項目については、承認の対象とはならないが、医師が必要と判断した場合に限り、参考情報として検査結果を出力することは差し支えない」に基づき行われており、承認範囲外であることから参考値データとして取り扱うことが前提となっている。ODxTT マルチで入手可能な RUO データのうち、MET exon14 skipping 変異に関する結果が、ArcherMET による検査実施前のスクリーニング検査的に診療利用されているケースが多く見受けられる。こうしたなか、最近 ODxTT マルチによる当該変異陽性の約 30% で ArcherMET の結果と不一致を示し、その原因が融合遺伝子に由来する read count のカットオフの設定に起因することが報告され、

Table 4. A Comparison Between Major Multiplex CDx Systems in Japan

	オンコマイン DxTT マルチ	AmoyDx 肺癌マルチ
検査原理	NGS 法 (アンプリコン法)	qPCR 法
システム全体の解析対象遺伝子数	46 遺伝子 ・ DNA : 37 遺伝子 ・ RNA : 24 遺伝子	9 遺伝子 ・ DNA : 4 遺伝子 ・ RNA : 7 遺伝子
CDx 承認項目 (全 6 遺伝子*1 のうち)	<i>EGFR, ALK, ROS1, BRAF, RET</i>	<i>EGFR, ALK, ROS1, BRAF, MET</i>
上記に含まれない CDx 項目とその対応	<i>MET</i> ・ ArcherMET と同時実施 ・ ODxTT 後に ArcherMET 実施	<i>RET</i> ・ AmoyDx 後に ODxTT 実施
外注時の検査 TAT	7 ~ 14 日*2	4 ~ 10 日*2
検査に使用する核酸 (FFPE 検体)	【蛍光法による測定】 ・ DNA : 10 ng ・ RNA : 10 ng	【吸光度法による測定】 ・ DNA : 67.5/90/112.5 ~ 135 ng*3 ・ RNA : 120 ~ 1200 ng*4
提出する未染色標本の必要枚数	2 枚 (手術検体 : 8×8 mm) 10 枚 (生検検体) 15 ~ 20 枚 (僅少検体 : 2×2 mm) ※1×1 mm 以下は注意が必要	7 ~ 10 枚 (面積目安 : 7×7 mm)
保険点数	14000 点	10000 点

*1 2021 年肺癌診療ガイドラインでは、固形癌の CDx 項目として *NTRK* が含まれている。

*2 検査機関間で TAT は異なる。

*3 検体保管期間 : 3 か月以下 : 67.5 ng, 1 年以下 : 90 ng, 2 年以下 112.5 ~ 135 ng.

*4 検体保管期間 : 2 年以下 : 120 ~ 1200 ng.

日本肺癌学会から 2021 年 7 月に注意喚起がなされた。今後 AmoyDx マルチが臨床導入され、この使用を第一選択とした場合は、この検査で得られる RUO データで *RET* 陽性となった場合に、*RET*-TKI である seliperatinib の CDx システムである ODxTT マルチを使用して検査することになる。また今後 *KRAS* G12C 変異阻害薬である sotorasib が承認された場合は、海外の開発状況 (適応は既治療の局所進行または転移性の *KRAS* G12C 変異陽性非小細胞肺癌) から想定すると、ODxTT マルチや AmoyDx マルチを用いて初回治療前の CDx にて *KRAS* G12C 変異が検出された場合に、sotorasib の CDx 薬である theascreen *KRAS* で主に追加検査を行うことになる。今後こうした参考値扱いの RUO データを用いたアルゴリズムを用いる場合は、事前の同等性確認が必要と思われる。

3) リキッドバイオプシーによる CDx

上述のように血漿検体を用いた CDx は、本邦では単一遺伝子検査としてコバス v2.0 による T790M 変異検査が最初に承認され、その後、*EGFR*-TKI 投与前の初回検査においても CDx 承認されている。次いで NGS 法ベースの単一遺伝子を対象としたリキッドバイオプシー検査 (*EGFR* リキッドおよび ArcherMET) が登場し、2021 年 3 月には CDx 機能を有する CGP 検査システム (FILCDx) が肺癌ではマルチプレックス CDx (肺癌 ;

EGFR, ALK, ROS1, 固形がん ; *NTRK*) として承認され、同年 8 月より保険適用となった。リキッドバイオプシー検査については、使用する検出技術により検出感度が異なり、qPCR 法ベースのリキッドバイオプシー検査の臨床有用性は限定的であることから、⁵ 今後は NGS 法ベースの CDx が主流になると思われる。組織検査と NGS 法を用いた血漿検査間の検査同等性については、*EGFR* などの遺伝子変異 (SNV) 検出では、性能上、比較的高い陽性一致率を示しているが、*ROS1* や *NTRK* (FILCDx ; 陽性一致率はそれぞれ 62.1%, 47.4%), *MET* (ArcherMET ; 陽性一致率は 48.6%) など、一部の融合遺伝子検出では陽性一致率は低い場合も認められ、注意が必要である。臨床応用が期待されるリキッドバイオプシー検査の形態として、治療中の遺伝子変化の検出があげられ、とくに *EGFR*-TKI や *ALK*-TKI 治療中の耐性変異の検出がある。現在 TKI 治療後の耐性変異を対象とした CDx としては、*EGFR* T790M 変異に留まっているが、複数の TKI による治療シークエンスが可能となっている *ALK*-TKI 治療については、海外において耐性変異のモニタリングの臨床有用性が示されており、⁶ 本邦での臨床導入が期待される場所である。現状では FILCDx を用いた耐性変異検出は CDx 承認の対象外となることから、CGP として検査を行うことで対応は可能であるが、原則 1 患者 1 回のみの検査となるため、保険診

療下での TKI シークエンス治療間の複数回のモニタリングは困難である。それゆえ、F1LCDx 国内版レポートには検出されたバリエーションの VAF 変動を示す図の提示は省略されている。今後 Guardant360 CDx が CDx 機能を有する CGP として承認見込みであるが、F1LCDx と同様の制限を受けることになるとと思われる。

4) 横断的 CDx ガイダンス

医薬品医療機器総合機構(PMDA)は、これまでに2014年と2019年にCDxに関するワークショップを開催し、CDxの開発や評価における課題の洗い出しや、それを踏まえた新たな規制上の取扱い案に関する意見交換が行われた。この取扱い案として、(i)同一の分子マーカーを対象とするCDxの互換使用に向けた薬事手続きと開発の考え方、(ii)follow-on CDxの開発において求められる評価手法、といった検討課題が示された。⁷このうち前者(i)には、①互換使用可能と考えられる既承認CDxのグループ化、②グループ化CDxを用いた新医薬品の開発の考え方、が含まれた。Figure 1に示すようにCDxを日常診療で多く取り扱う肺癌領域においては、とりわけ①は喫緊の課題であり、ALK IHC検査で生じた臨床上の問題を踏まえ、日本肺癌学会バイオマーカー委員会は、かねてよりCDxと治療薬の1:1対応から、分子異常/遺伝子異常と治療薬の1:1対応への規制上の取扱い変更に関する要望を行ってきた。こうしたCDxに対する規制側の見直しに向けた動きは、米国FDAにおいてもみられ、2018年12月に発出された“Developing and Labeling In Vitro Companion Diagnostic Devices for a Specific Group or Class of Oncology Therapeutic Products”に関するドラフトガイダンスでは、同一バイオマーカーに対する分子標的薬をグループ医薬品として、グループ医薬品に対する包括的なCDxの承認申請を認める方向性を提示している(このガイダンスは2020年4月に最終版が発出されている)。⁸

現在本邦では、PMDA コンパニオン診断薬ワーキンググループから「横断的コンパニオン診断薬等に関するガイダンス」の発出準備が進められており、これまで「グループ化CDx」とされていた記載は、今後「横断的CDx」という用語へ変更される見通しである。このガイダンスの適用範囲については、①すでに本邦において、同一の効能・効果を有する複数の医薬品に対し複数のCDx承認製品があるもの、②組織検体や血液検体を対象として、SNVやINDELの遺伝子変異、融合遺伝子、タンパク発現等を検出対象とするもの、とされており、肺癌においては、EGFR、ALK、PD-L1など複数のCDx薬/CDxシステムが対象となると予想される。とくにPD-L1については、複数のIHCキットが同時期に開発されたことで診療上の運用が複雑化することが懸念され、国内外で大き

な課題として取り上げられた。こうした状況を踏まえ、米国や日本では、アカデミア・製薬/診断薬企業・規制当局などの関係団体が参加するワークショップが開催され、協議が行われた。さらに米国ではこれらの枠組みからハーモナイゼーションへ向けた取り組みを実行するBlueprintプロジェクトが発足し、同等性に関する比較試験が行われ、重要な知見が得られている。^{9,10}日本肺癌学会では、2020年末の進行非小細胞肺癌の一次治療における新規レジメンの承認に際し、「肺癌患者におけるPD-L1検査の手引き」第2版の補遺を発出し、そのほかの報告なども踏まえ、PD-L1 IHC検査法に関する互換使用について整理を行っている。¹¹今後、これら報告や動向を踏まえた規制側のガイダンス発出が待たれる。

5) CDxにおける検査の精度確保

今後のCDxのマルチプレックス化の本格化に向け、より一層重要になるのが検査精度の確保である。国内の大部分の体細胞遺伝子検査が外注検査で行われている状況にあつては、とくに医療機関において重要となるのは、いわゆるプレアナリシス段階の検体の質と量を意識した取扱いである。日本病理学会では、遺伝子パネル検査の速やかな臨床導入を目指し2018年に病理組織検体の取扱いの推奨法を取りまとめた「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」を発出し、¹²これらの意識付けを図ってきた。2019年6月に保険適用されたODxTTマルチは、検査開始当初、検査機関における検査不成功率が予想以上に高く問題となったものの、その後検体の量不足による検査不成功はDNA、RNAアッセイともに大幅に改善している。一方検体の質不良については、現時点においてもとくに手術検体を用いたRNAアッセイで一定割合の検査不成功がみられ、その改善は喫緊の課題となっている(Figure 2)。¹³また体細胞遺伝子検査において、病理医による腫瘍細胞含有割合(TC)の判定は、適切な変異検出を行う上で極めて重要な工程である。現在薬事承認されている遺伝子パネル検査の性能は、20%以上のTCを必要としている。一方でこのTC判定は病理医間ではばらつきを生じることが、これまでも報告されている。¹⁴これを踏まえ、当該規程での推奨は30%としているが、実臨床ではTC20~30%の腫瘍検体の提出を余儀なくされることは少なくない。20%付近のTC判定を過大に評価した場合、偽陰性を招くことになるため、とくに正確な判定が求められる。近年AI病理画像解析技術を用いた医療機器プログラム開発が急速に進んでおり、¹⁵現在このTC判定においても進行中であり、¹⁶今後の保険診療下での実用化が待たれる(Figure 3)。

一方、アナリシス段階に関わる動きとして、簡便なqPCRベースのAmoyDxマルチの登場によりマルチプレックスCDxの院内実施の増加が見込まれることがあ

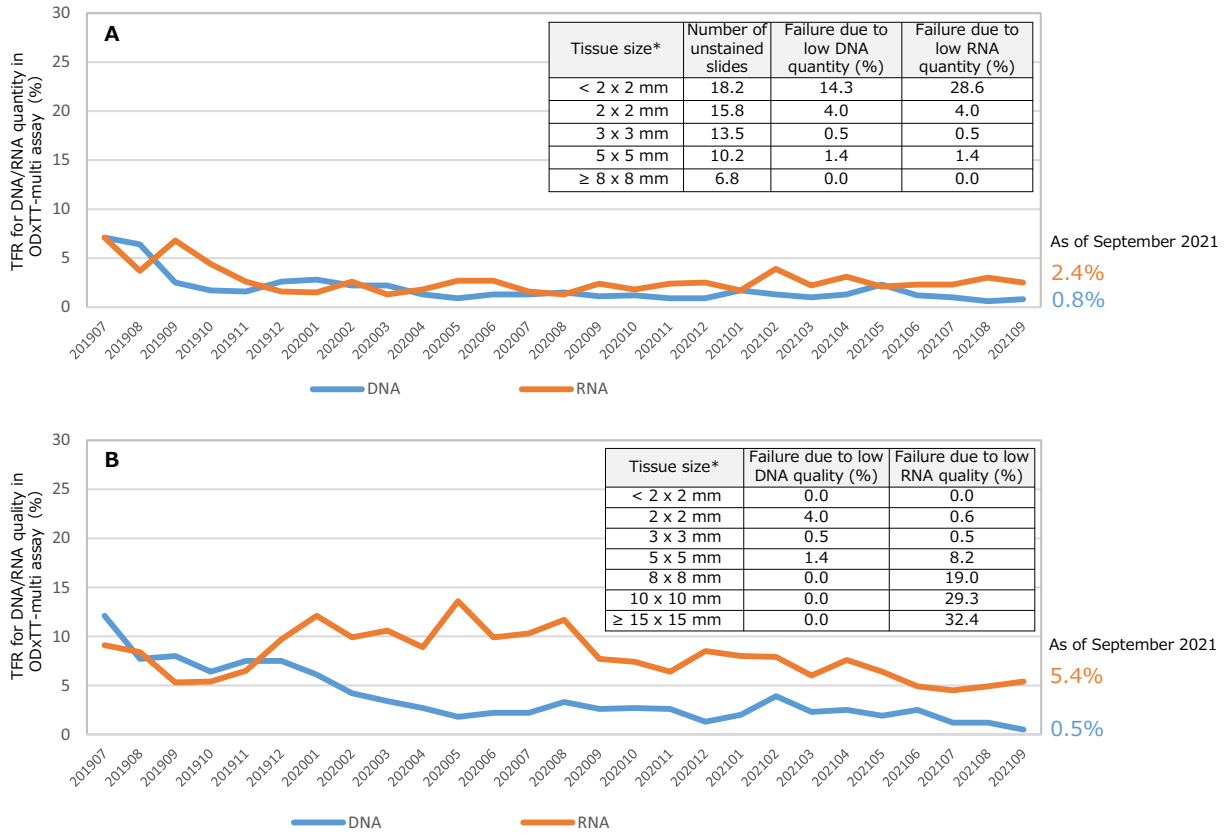


Figure 2. Test failure rate (TFR) of multiplex CDx using the ODxTT-multi assay in NSCLC. **A:** Failure due to a low DNA/RNA quantity. **B:** Failure due to a poor DNA/RNA quality. Inset table: Failure rate in accordance with tissue size. *As of June 2020.

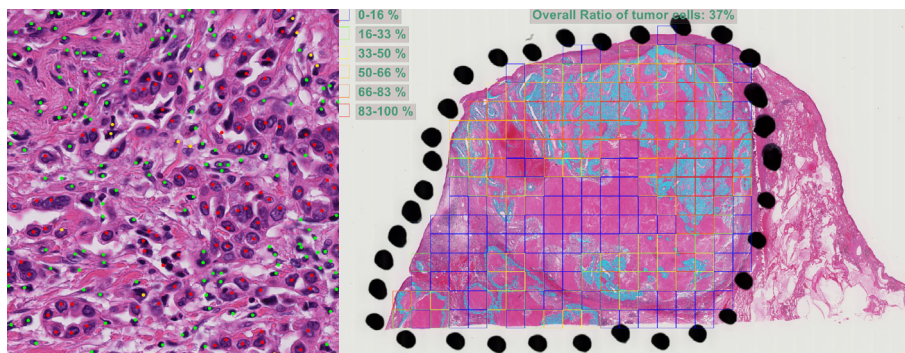


Figure 3. A tumor content assessment using an AI-based image analysis. Tumor cell ratio counting (left) and heatmap (right) using the analysis module for the tumor content assessment.

げられる。治療選択に関わる CDx をマルチプレックスで行うことは、より診療への影響は大きくなり、それゆえ精度確保に必要な検査実施体制が求められることはいうまでもない。国内の遺伝子関連検査の検査精度に対する取り組みは、検査機関では早期に対応が行われている一方、医療機関では対応が著しく遅れている状況が長ら

く続いており、とくに肺癌 CDx などの組織検体を用いた体細胞遺伝子検査については脆弱な体制で実施されている例も散見された。検査機関では CDx が本格化してきた 2013 年と NGS 検査の臨床導入が目前に迫った 2018 年には、日本衛生検査所協会から、遺伝子関連検査の質保証に求められる要件が取りまとめられた「遺伝子

関連検査の質保証体制についての見解」が発出されている。17 諸外国では法令などにより精度管理基準が定められており、米国では臨床検査室改善法（Clinical Laboratory Improvement ACT/Amendments；CLIA）が知られているが、国内の医療機関内で自ら実施する検体検査の品質・精度管理の基準と規定は定められていなかった。こうした状況に対し2017年に厚生労働省管轄の検討会である「ゲノム情報を用いた医療等の実用化推進タスクフォース」より指摘を受け、ゲノム医療などの実現・発展のための具体的方策の1つとして、検体検査の品質・精度確保に関する医療法等の改正が2017年6月に公布され、2018年12月に施行された。これに合わせ、医療機関が自ら検査を実施する場合にすべての医療機関に義務または努力義務として求める事項、さらには遺伝子関連検査などを実施する場合に追加的に設定する基準（①責任者の配置、②内部精度管理の実施・適切な研修の実施義務、③外部精度管理調査の受検に係る努力義務）が示された。このほか検査室の第三者認定取得についても盛り込まれた。当面この取得は勸奨となったものの今後義務化についても検討されている。がんゲノム医療中核拠点病院等の指定要件に第三者認定取得が盛り込まれたことで、ISO15189の取得が進んだものの、多くの場合その認定範囲は「病理標本作製・病理診断」(プレアナリシス段階/検査前工程)のみに留まっており、「体細胞遺伝子検査」(アナリシス段階/検査工程)の認定を取得して院内実施を行っている施設はかなり限定されている。一方、検査機関においては、かなり以前からISO15189認定や外部精度管理調査の受検を含むCAP認証などを取得し、CDxを含む検体検査の品質・精度確保に努めている。今後、医療機関においてマルチプレックスCDxを実施するにあたっては、第三者認定取得もしくはその取得を視野に入れた準拠下での運用と、それに必要なインフラや十分なリソースの確保が望まれる。

おわりに

今後、ERBB2など新たな項目が追加される見通しとなっており、横断的CDxガイダンス発出後となった場合も、対象とならない項目については今後もこれまで通り特定のCDxのみでの検査となり、マルチプレックスCDxの選択上制約を受けることが予想される。

肺癌CDxについては、新たなマルチプレックス検査システムやCDx機能付きCGP検査システム（現在、単一のKRAS変異検査としてCDx承認されているGuardant360 CDxなど）が開発されており、今後マルチプレックスCDxの選択肢はさらに増える見通しである。2021年9月のODxTTマルチでのRET追加承認と合わせて細胞検体の使用が添付文書に追加され、また現

在先進医療Aとして実施されているNGSベースの検査法（MINtSシステム）でも細胞検体が用いられていることから、検体の取扱いや提出にはFFPE検体とは異なった新たな注意が必要となる。日本臨床細胞学会からは細胞検体を対象とした「がんゲノム診療における細胞検体の取扱い指針」が2021年に発出されており、18これに則った対応が今後求められると思われる。またEGFR-TKI耐性を示すEGFR uncommon変異で、これまでqPCRベースでは一括で取り扱われていたEGFR exon20挿入変異のうち、特定のバリエーション（A763_Y764insFQEA）については、ゲフィチニブやエルロチニブに対する感受性が報告されており、19今後NGSベースのCDxによる詳細なバリエーションの特定が重要となる場面も想定され、マルチプレックスCDxの検査法選択の判断材料となることが予想される。肺癌CDxについては、取り扱う対象遺伝子・分子や検査法、使用検体種が増加し、検査の品質・精度の確保の対応は高度化するなど、多面的な対応が医療機関側には求められるところから、院内関係部門間や検査機関との連携がより一層重要となる。

本論文内容に関連する著者の利益相反：畑中 豊 [日当・講演料]アストラゼネカ株式会社、ノバルティスファーマ株式会社、ファイザー株式会社、日本MSD合同会社[研究費・助成金などの総額]シスメックス株式会社、株式会社理研ジェネシス、サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社、株式会社DNAチップ研究所、ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社、日本MSD合同会社、大鵬薬品工業株式会社[企業などが提供する寄附講座]シスメックス株式会社、大鵬薬品工業株式会社、株式会社エスアールエル、合同会社みらか中央研究所、秋田弘俊 [日当・講演料]アストラゼネカ、中外製薬[奨学(奨励)寄附金などの総額]大鵬薬品工業、日本イーライリリー、小野薬品工業

REFERENCES

- 畑中 豊. コンパニオン診断薬・診断システム. がんゲノム病理学. 文光堂；2021.
- Goto K, Satouchi M, Ishii G, Nishio K, Hagiwara K, Mitsudomi T, et al. An evaluation study of EGFR mutation tests utilized for non-small-cell lung cancer in the diagnostic setting. *Ann Oncol*. 2012;23:2914-2919.
- 日本肺癌学会バイオマーカー委員会作成. 肺癌患者におけるEGFR遺伝子変異検査の解説. 第1.0版. 2009. <https://www.haigan.gr.jp/uploads/files/photos/148.pdf>
- 日経メディカル Oncology 調査. 非小細胞肺癌における遺伝子検査. 2021. <https://medical.nikkeibp.co.jp/leaf/mem/pub/search/cancer/report/202111/572698.html>
- 後藤 悌. 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—. *肺癌*. 2020;60:90-98.

6. 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.
7. 柳原玲子. コンパニオン診断薬等 (CDx) に対する新たな規制上の取扱い案について. PMDA ワークショップ「がんゲノム医療実装を見据えたコンパニオン診断薬等の規制のあり方」公開資料. 2019. <https://www.pmda.go.jp/files/000233040.pdf>
8. Food and Drug Administration (FDA). Developing and labeling in vitro companion diagnostic devices for a specific group of oncology therapeutic products; Guidance for industry. 2020. <https://www.fda.gov/media/120340/download>
9. Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, Ranger-Moore J, Jansson M, Kulangara K, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Assays for Lung Cancer: Results from Phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. *J Thorac Oncol*. 2017;12:208-222.
10. Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, Beasley MB, Borczuk AC, Botling J, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Comparability Study in Real-Life Clinical Samples: Results of Blueprint Phase 2 Project. *J Thorac Oncol*. 2018;13:1302-1311.
11. 日本肺癌学会バイオマーカー委員会. 肺癌患者における PD-L1 検査の手引き. 第 2 版補遺. 2021.
12. Hatanaka Y, Kuwata T, Morii E, Kanai Y, Ichikawa H, Kubo T, et al. The Japanese Society of Pathology Practical Guidelines on the handling of pathological tissue samples for cancer genomic medicine. *Pathol Int*. 2021;71:725-740.
13. エスアールエル社報告資料. オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx に関する検査成功率報告. 2021.
14. Smits AJ, Kummer JA, de Bruin PC, Bol M, van den Tweel JG, Seldenrijk KA, et al. The estimation of tumor cell percentage for molecular testing by pathologists is not accurate. *Mod Pathol*. 2014;27:168-174.
15. Sakamoto T, Furukawa T, Lami K, Pham HHN, Uegami W, Kuroda K, et al. A narrative review of digital pathology and artificial intelligence; focusing on lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2020;9:2255-2276.
16. Cosatto E, Gerard K, Graf HP, Ogura M, Kiyuna T, Hatanaka KC, et al. A Multi-Scale Conditional Deep Model for Tumor Cell Ratio Counting. *SPIE Med Imag*. 2021;1160308:1-12.
17. 日本衛生検査所協会発出. 遺伝子関連検査の質保証体制についての見解 (改定). 2018. <http://www.jrcla.or.jp/info/info/310315.pdf>
18. 日本臨床細胞学会発出. がんゲノム診療における細胞検体の取扱い指針. 2021. <http://jscc.or.jp/wp-content/themes/jscc/guidelines/>
19. Yasuda H, Park E, Yun CH, Sng NJ, Lucena-Araujo AR, Yeo WL, et al. Structural, biochemical, and clinical characterization of epidermal growth factor receptor (EGFR) exon 20 insertion mutations in lung cancer. *Sci Transl Med*. 2013;5:216ra177.