（肺癌．2022;62:200-206）
© 2022 The Japan Lung Cancer Society

ORIGINAL ARTICLE

当院における細胞診用検体による包括的遺伝子変異検査システムの検査結果について

長谷川幸裕[1]・森本武史[1]・三浦　大[1]・萩原弘一[2]

Comprehensive Genome Profiles Obtained by Next-generation Sequencing Using the Cytological Samples in Our Hospital

Yukihiro Hasegawa[1]; Takeshi Morimoto[1]; Dai Miura[1]; Koichi Hagiwara[2]

[1]Department of Respiratory Medicine, Aomori Prefectural Central Hospital, Japan; [2]Department of Respiratory Medicine, Jichi Medical University, Japan.

ABSTRACT —— ***Objective.*** We herein report the comprehensive genome profiles obtained by next-generation sequencing (MINtS) using cytological samples (following cell samples) in our hospital. ***Method.*** After having registered various kinds of cell samples gathered by examinations performed for cases suspected of being lung cancer at our hospital with the North East Japan Study Group 021A study, we sent the samples to a genetic testing facility. Analyses of EGFR, KRAS, BRAF, and HER2 gene mutations were performed, and ALK, RET, and ROS1 fusion was done. ***Results.*** The 1298 samples sent to the facility from December 2015 to June 2019 were all cell samples. The most common EGFR gene mutation was lung adenocarcinoma, which was found in 164 (27.2%) out of 602 samples. The EGFR mutation was more found in 97 (48%) samples with never smoker and in 97 (47%) samples with female, significantly (P＜0.01). The KRAS gene mutation was found in 89 samples (15%), and 1 was more found in 72 samples (20%), significantly (P＜0.01). The Cobas® EGFR Mutation Test version 2.0 of the available EGFR genetic test was performed in 380 patients with lung adenocarcinoma, and the positive conformity ratio was 82.6%, with a negative coincidence rate of 95.2% for MINtS. ***Conclusion.*** These findings suggest that MINtS performed using cell samples, which are easier to acquire than tumor tissue, is a promising comprehensive gene variation laboratory procedure for next-generation sequencing in lung cancer patients.

(*JJLC.* 2022;62:200-206)

KEY WORDS —— Cytological sample, Next-generation sequencing, Comprehensive genome profiles, MINtS, Lung cancer

Corresponding author: Yukihiro Hasegawa.
Received November 18, 2021; accepted December 27, 2021.

要旨 —— 目的．当院で採取された細胞診用検体（以下細胞検体）における次世代シークエンサーを用いた包括的遺伝子変異検査システム（MINtS）の検査結果について報告する．**方法．**当院にて気管支鏡検査などにより採取された種々の細胞検体を北東日本研究機構 021A 研究に登録し送付．EGFR，KRAS，BRAF 及び HER2 各変異遺伝子と ALK，RET，ROS1 各融合遺伝子を解析した．**結果．**送付検体は 2015 年 12 月から 2019 年 6 月までの 1298 検体で，肺腺癌の 602 検体中 EGFR 遺伝子変異が 164 検体（27.2%）で，非喫煙者 97 検体（48%）と女性 97 検体（47%）が有意に多かった（P＜0.01）．又，KRAS 遺伝子変異は 89 検体（15%）で，喫煙者が 72 検体（20%）と有意に多かった（P＜0.01）．市販の EGFR 遺伝子検査（コバス ver2.0）が肺腺癌患者 380 症例で行われ，MINtS の結果に対する陽性一致率が 82.6%，陰性一致率が 95.2% であった．**結論．**組織検体よりも容易に取得しやすい細胞検体による MINtS は，今後の肺癌患者の次世代包括的遺伝子検査方法として有望と考えた．

索引用語 —— 細胞診用検体，次世代シークエンサー，包括的遺伝子変異検査，MINtS，肺癌

[1]青森県立中央病院呼吸器内科；[2]自治医科大学内科学講座呼吸器内科学部門．
論文責任者：長谷川幸裕．
受付日：2021 年 11 月 18 日，採択日：2021 年 12 月 27 日．

目　的

有効な肺癌治療を行うためには多数の遺伝子変異検査が必要になると考えられていて，現在日本でも各種の次世代シークエンサー（next-generation sequencing：NGS）が保険適応のもと行われている.[1] さらに，NGSの有効性を検証するために日本ではLC-SCRUM/LURET試験が実施されている.[2] 今後，さらに多数の肺癌関連遺伝子が報告され，それらに有用な薬剤も報告されると想定されるため，それら未知の遺伝子を追加可能な包括的遺伝子変異検査システムの構築が必要である．上記の条件を満たす包括的遺伝子変異検査システムの構築を目的として，厚生労働科学研究費補助金創薬基盤推進研究事業「高速シークエンサーを用いた包括的臨床遺伝子検査システムの構築」(研究代表者　萩原弘一）研究が施行されている．同研究では，実用化を目的として包括的遺伝子変異検査システム（Mutation Investigator using the Next-era Sequencer：MINtSと命名）を設計，独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）の対面助言を受け，独立行政法人医薬基盤研究所の進捗管理を受けながら実用化に必要なデータを収集している．MINtSは前臨床試験及び凍結保存検体を用いた遺伝子変異検出試験を終了した．次の開発ステップとして，実診療で採取される検体を用いた性能試験が必要であり，本研究は特定非営利活動法人北東日本研究機構（North East Japan Study Group：NEJSG）において臨床研究として施行された（研究名NEJ021A）.

今回我々は，このNEJ021Aに参加して，肺癌疑いの患者に対して行われた検査にて得られた細胞診用検体（以下「細胞検体」）を使用して，MINtSによる包括的遺伝子検査を施行したので，その結果を報告する.

研究方法

1）対　象

肺癌の初回診断，再発診断，又は臨床病期決定を目的として，気管支鏡検査などにより採取した細胞検体の一部を用いMINtSによる遺伝子変異検査を行った.細胞検体には，経気管支生検時の鉗子洗浄液や経気管支ブラッシングの洗浄液（以下経気管支生検洗浄液：transbronchial biopsy washingとする），経気管支針生検時の針洗浄液（以下経気管支針生検洗浄液：transbronchial needle aspiration washingとする），経皮的針生検時の針洗浄液（以下経皮的針生検洗浄液：percutaneous needle biopsy washingとする），胸水（pleural effusion），胸膜生検時の鉗子洗浄液（以下胸膜生検洗浄液：pleural biopsy washingとする）及び心嚢液（pericardial effusion）があった．主要評価項目は，組織型，年齢，性別，喫煙の有無で層別化した患者における各遺伝子変異の検出割合とした．副評価項目は，保険収載検査のある遺伝子検査に関して遺伝子検査結果の一致率と，検査に適したRNAを得ることが可能な検体採取からRNA保存液処理までの時間とした.

2）方　法

青森県立中央病院（以下，当院）において入手された細胞検体を直ちに遠心機にて1500 rpmで5分間遠心する．上澄みをデカンテーションで（ゆっくり遠心管を傾けて）捨て，RNA storage solution（Invitrogen™）を0.5 ml加え，細胞を再浮遊させ，4℃で冷蔵保存した．匿名化番号を検体に添付し，遺伝子検査施行施設（埼玉医科大学国際医療センター）に送付し，検体受領後速やかにDNAとRNAを採取して，MINtSにて遺伝子検査を施行した.

3）MINtSの方法について

Multiplex PCR及びmultiplex RT-PCRにより標的遺伝子領域を増幅し，増幅されたDNA分子とRNA分子の塩基配列を高速シークエンサーMiSeq（米国：イルミナ社）で読み取る．読み取った結果をコンピュータで処理し，統計解析を行って異常遺伝子の有無を判定する．DNA, RNAの品質については，良好（good），低下（poor），不良（bad）に分けられた．良好は全ての遺伝子解析が可能な検体，低下は一部の遺伝子解析のみが可能であった検体，不良は遺伝子解析ができなかった検体とした．解析された異常遺伝子は，DNAで検出する遺伝子がEGFR変異遺伝子，KRAS変異遺伝子，BRAF変異遺伝子，HER2変異遺伝子で，RNAで検出する遺伝子がALK融合遺伝子，RET融合遺伝子，ROS1融合遺伝子であった.

4）コンパニオン診断としての市販の遺伝子検査について

コンパニオン診断として，肺癌患者におけるEGFR遺伝子検査については，コバス® EGFR変異検出キットv2.0（SRL社）を用いてホルマリン固定パラフィン包埋（formalin-fixed·paraffin·embedded：FFPE）組織検体や細胞検体，血漿などにてDNAを抽出して行われた.[3,4] ALK遺伝子検査については，まず肺癌ALKタンパク染色（高感度IHC）（SRL社）をFFPEで試行し，ALKタンパクが陽性症例に対しては肺癌ALK遺伝子検査（Fish）（SRL社）を試行した.[5] ROS1遺伝子検査については，FFPEによるROS1融合遺伝子定性検査（SRL社）を試行した.[6]

5）インフォームドコンセント

本研究の開始にあたり，患者に対し十分に説明し，本研究への参加について文書により患者本人の自由意思による同意を得ることとした．同意の取得方法は，当院の

Table 1. The Correlation Between the DNA and RNA Quality, and Time to the Addition of RNA Solution, Cytology and Sample Type in All Samples of MINtS (N = 1298)

		DNA			RNA		
		good	poor	bad	good	poor	bad
Time to the addition of RNA solution	10 min.	999	90	19	1051	4	53
	15 min.	101	11	13	122	0	3
	≥20 min.	58	5	2	62	0	3
Cytology	Negative	401	34	11	421	2	23
	Suspicious	308	31	9	335	0	13
	Malignancy	449	41	14	479	2	23
Sample type	TBB washing	1007	88	18	1055	4	54
	TBNA washing	74	7	0	79	0	2
	PCNB washing	33	2	11	43	0	3
	Pleural effusion	27	5	3	35	0	0
	Pleural biopsy washing	16	3	0	19	0	0
	Pericardial effusion	1	1	2	4	0	0
	Total (%)	1158 (89)	106 (8.1)	34 (2.6)	1235 (95)	4 (0.3)	59 (4.5)

TBB: transbronchial biopsy, TBNA: transbronchial needle aspiration, PCNB: percutaneous needle biopsy

Table 2. Genomic Alterations of MINtS in All Samples (N = 1298, *: N = 1094)

MINtS	DNA mutations			RNA fusions			
	EGFR	KRAS	BRAF	HER2*	ALK	RET	ROS1
Positive	185	124	16	4	17	4	5
(%)	(14)	(9.6)	(1.2)	(0.4)	(1.3)	(0.3)	(0.4)
Negative	1045	1138	1222	1043	1222	1235	1234
(%)	(80)	(88)	(94)	(95)	(94)	(95)	(95)
No test	68	36	60	47	59	59	59
(%)	(5.2)	(2.8)	(4.6)	(4.2)	(4.5)	(4.5)	(4.5)

倫理審査委員会の指示に従った．

6）統計方法

両群間の比較は，Prism 7（GraphPad Software 社製）によるカイ二乗検定により行い，有意差を P＜0.05 とした．

結　果

1）MINtS の検体

2015 年 12 月 17 日から 2019 年 6 月 27 日までに当院にて検体採取され，事務局に送付された 1298 検体（以下「検体」を省略する）について検討された．Table 1 に DNA と RNA のそれぞれの品質と RNA 保存液を入れるまでの時間と細胞診，検体種類との比較を示す．DNA の品質は 89% が良好であるのに対して，RNA は 95% が良好であり，DNA より RNA の品質がより良く保たれた．

2）MINtS の検体別検査結果

当院で行われた MINtS の各種遺伝子検査結果を Table 2 に示す．EGFR 遺伝子変異 185 中，サブタイプとして，エクソン 19 欠失変異が 72（38.9%），L858R 変異が 98（53%），まれな EGFR 遺伝子変異は 15（8.1%）であった．細胞診断別の MINtS の各種遺伝子検査結果を Table 3 に示す．細胞診断別遺伝子検査では，陰性例では EGFR, KRAS の遺伝子変異の比率が，陽性疑いや陽性例に比較して有意に低下していた（p＜0.01）．検体種別の MINtS の各種遺伝子検査結果を Table 4 に示す．ここでは，胸水中の EGFR 遺伝子変異が 35 例中 10 例（29%）と比率は高い傾向にあった．

3）MINtS の診断別検査結果

当院で行われた MINtS の症例数（検体数）における診断の内訳は，正常又は良性疾患の症例数（検体数）が 118（122）で，肺癌疑いは 89（89），他臓器の癌は 71（77），肺腺癌は 555（602），肺扁平上皮癌は 235（255），その他の非小細胞肺癌は 57（59），小細胞肺癌は 92（94）で，全 1217（1298）であった．各診断別の MINtS の検査結果

Table 3. The Correlation Between Cytology and Genomic Alterations of MINtS in All Samples (N = 1298, *N = 1094)

Cytology	All	DNA mutations			RNA fusions			
		EGFR	KRAS	BRAF	HER2*	ALK	RET	ROS1
Negative	446 (%)	38 (8.5)†	20 (4.5)†	3 (0.7)	1 (0.2)	3 (0.7)	2 (0.4)	0
Suspicious	348 (%)	53 (15)	38 (11)	4 (1.1)	1 (0.3)	3 (0.9)	1 (0.3)	2 (0.6)
Positive	504 (%)	95 (19)	66 (13)	9 (1.8)	2 (0.4)	11 (2.2)	1 (0.2)	3 (0.6)

†: <0.01

Table 4. The Correlation Between Sample Types and Genomic Alterations in All Samples of MINtS (N = 1298, *N = 1094)

Sample types	ALL	DNA mutations			RNA fusions			
		EGFR	KRAS	BRAF	HER2*	ALK	RET	ROS1
TBB washing	1113 (%)	167 (15)	103 (9.2)	13 (1.2)	4 (0.4)	10 (0.8)	3 (0.3)	3 (0.3)
TBNA washing	81 (%)	6 (7.4)	8 (9.9)	0	0	4 (5.0)	1 (1.2)	1 (1.2)
PCNB washing	46 (%)	1 (2.2)	3 (6.5)	1 (2.2)	0	1 (2.2)	0	0
Pleural effusion	35 (%)	10 (29)	3 (8.5)	1 (2.9)	0	1 (2.9)	0	1 (2.9)
Pleural biopsy washing	19 (%)	1 (5.2)	3 (16)	0	0	0	0	0
Pericardial effusion	4 (%)	0	0	0	0	0	0	0

TBB: transbronchial biopsy, TBNA: transbronchial needle aspiration, PCNB: percutaneous needle biopsy

Table 5. The Correlation Between Disease Types and Genomic Alterations in All Samples of MINtS (N = 1298, *N = 1094)

Disease types	ALL	DNA mutations			RNA fusions			
		EGFR	KRAS	BRAF	HER2*	ALK	RET	ROS1
N/B	122 (%)	0	0	0	0	0	1 (0.8)	0
Other carcinoma	77 (%)	0	5 (6.5)	1 (1.3)	0	0	0	0
s/o LC	89 (%)	7 (7.9)	6 (6.7)	2 (2.2)	0	0	2 (2.2)	0
Lung Ad	602 (%)	164 (27)	89 (15)	11 (1.8)	3 (0.5)	9 (1.5)	3 (0.5)	4 (0.7)
Lung SCC	255 (%)	5 (2.0)	12 (4.7)	0	0	3 (1.2)	0	0
Other NSCLC	59 (%)	2 (3.4)	7 (12)	2 (3.4)	1 (1.7)	1 (1.7)	0	0
SCLC	94 (%)	3 (3.2)	1 (1.0)	0	0	3 (3.2)	0	1 (1.0)

N/B: normal or benign, s/o LC: suspected of being lung carcinoma, Ad: adenocarcinoma, SCC: squamous cell carcinoma, NSCLC: non-small-cell lung carcinoma, SCLC: small-cell lung carcinoma

を Table 5 に示す．EGFR 遺伝子変異は，肺腺癌が最も多く 602 中 164（27.2%）で，他種の肺癌は数例であった．KRAS 遺伝子変異についても肺腺癌が最も多く 602 中 89（15%）で，肺扁平上皮癌が 12（4.7%），他種の肺癌は数例であった．正常又は良性の症例で遺伝子変異がみられたのは RET 遺伝子の 1 例のみであった．

4）肺腺癌患者の臨床病理学的因子と MINtS の検査結果との比較

肺腺癌の症例数は 555 例で，各臨床病理学的因子と MINtS の検査結果との関係を Table 6 に示す．EGFR 遺伝子変異については，女性で 47% と多く（P<0.01），非喫煙者も 48% で多かった（P<0.01）．KRAS 遺伝子変異については，喫煙者が 20% で非喫煙者の 8.3% より有意に多かった（P<0.01）．

5）肺腺癌患者における市販検査による遺伝子検査の結果との比較

Table 7 で示す通り，EGFR 遺伝子検査のコバス ver 2.0 は，肺腺癌患者 380 症例で行われ，陽性者が 132，陰性者が 248 で，陽性率が 34.7% であった．同症例で行われた MINtS との感度（陽性一致率）は 82.6%，特異度

Table 6. The Correlation Between Clinical Factors and Genomic Alterations of MINtS in Cases with Lung Adenocarcinoma (N = 555, *N = 465)

	Cases	DNA mutations				RNA fusions		
		EGFR	KRAS	BRAF	HER2*	ALK	RET	ROS1
All	555 (%)	163 (29)	89 (16)	11 (2.0)	3 (0.6)	9 (1.6)	3 (0.5)	4 (0.7)
Age (Years)								
<70	250 (%)	67 (27)	38 (15)	7 (2.8)	2 (0.8)	5 (2.0)	1 (0.4)	3 (1.2)
≥70	305 (%)	96 (31)	51 (17)	4 (1.3)	0	4 (1.3)	2 (0.6)	1 (0.3)
Sex								
Male	348 (%)	66 (19)	66 (19)	9 (2.6)	1 (0.3)	4 (1.1)	1 (0.3)	2 (0.6)
Female	207 (%)	97 (47)†	23 (11)	2 (1.0)	2 (1.0)	5 (2.4)	2 (1.0)	2 (1.0)
Smoking								
Never	204 (%)	97 (48)†	17 (8.3)	2 (1.0)	2 (1.0)	5 (2.4)	2 (1.0)	1 (0.5)
Former/Current	351 (%)	66 (19)	72 (20)†	5 (1.4)	1 (0.3)	4 (1.1)	1 (0.3)	3 (0.9)
Stage								
0	10 (%)	4 (40)	0	0	0	0	0	0
I	164 (%)	57 (35)	26 (16)	2 (1.2)	0	0	1 (0.6)	2 (1.2)
II	46 (%)	17 (37)	10 (22)	0	1 (2.1)	0	0	0
III	98 (%)	26 (27)	22 (22)	2 (2.0)	1 (1.0)	2 (2.0)	1 (1.0)	1 (1.0)
IV	225 (%)	57 (25)	29 (13)	6 (2.7)	0	6 (2.7)	1 (0.4)	1 (0.4)
Treatment								
Surgery	180 (%)	59 (33)	29 (16)	2 (1.1)	1 (0.6)	1 (0.6)	1 (0.6)	2 (1.1)
Radiation	61 (%)	22 (36)	13 (21)	0	0	0	0	0
CRT	45 (%)	8 (18)	8 (18)	1 (2.2)	1 (2.2)	1 (2.2)	1 (2.2)	1 (2.2)
Chemotherapy	169 (%)	60 (36)	20 (12)	5 (3.0)	1 (0.6)	4 (2.4)	1 (0.6)	0
BSC	97 (%)	14 (14)	19 (20)	2 (2.1)	0	3 (3.1)	0	1 (1.0)

CRT: chemoradiotherapy, BSC: best supportive care
†: P<0.01

Table 7. The Correlation Between Covas ver. 2.0 and MINtS of EGFR Mutation Tests in Cases with Lung Adenocarcinoma (N = 380)

		MINtS	
		Positive	Negative
Covas ver. 2.0	Positive	109	23
	Negative	12	236

（陰性一致率）が 95.2%，陽性的中率が 90.1%，陰性的中率が 91.1% であった．又，高感度 IHC による ALK 染色は 357 症例に行われ，陽性が 8 で，陰性が 342，判定保留が 7 であった．同様に，ROS1 遺伝子融合遺伝子についても 136 症例に行われ，陽性が 2 例，判定保留が 7 例，陰性が 127 例であった．いずれも頻度が少なく MINtS との統計学的比較検討はできなかった．

考　察

肺癌を始めとする癌の治療において，precision medicine（精密医療）が求められる昨今，[7,8] その中心は NGS による遺伝子パネル検査である．NEJ021A による臨床試験である MINtS もまた遺伝子パネル検査として行われた．当院においても，肺癌疑いで検査され採取された細胞検体 1298 例について，MINtS に登録され遺伝子パネル検査が行われた．これらの検体には，肺癌を始め肺癌以外の悪性腫瘍，さらには良性の症例も含まれていて，DNA を用いて EGFR，KRAS，BRAF，HER2 各遺伝子と RNA を用いて ALK，RET，ROS1 各遺伝子が検索された．肺癌で最も多い EGFR 遺伝子変異は，[4] 良性や他臓器の癌種には見つかっていないが，肺腺癌では 27.2% の陽性率で，肺扁平上皮癌や小細胞肺癌，その他の非小細胞肺癌は 2～3% であった．次に，肺癌における KRAS 遺伝子変異は日本人の症例でも 5～10% 存在するが，[9] MINtS では肺腺癌の症例で最も多くみられ，14.8% であった．その他，BRAF，HER2，ALK，RET，ROS1 などの遺伝子変異は，主に肺腺癌でみられたが，その頻度としては 2% 以下であった．正常又は良性の症例に RET 遺伝子変異が 1 例のみ陽性であったが，偽陽性なのか否かは不明である．

肺癌に対する NGS については現在オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム（オンコマイン DxTT），OncoGuide™ NCC オンコパネルシステム（NCC

オンコパネル），FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル（F1CDx）の 3 つがあり，それぞれ肺癌のコンパニオン診断薬として，又は，がんゲノムプロファイリング検査として実地医療に導入され，2019 年 6 月 1 日から保険収載もされている.[1] オンコマイン DxTT は対象遺伝子数が 46，融合遺伝子で 21 が検出可能であり，現在 EGFR，BRAF，ALK，ROS1 の遺伝子検査のみが肺癌のコンパニオン診断として認められている. NCC オンコパネルは，コンパニオン Dx はなく，がんゲノムプロファイリングのみとして行われ，対象遺伝子数は 114 で，融合遺伝子は 12 となっており tumor mutation burden（TMB）の測定ができる．F1CDx は対象遺伝子数が 324 あり最も多く，融合遺伝子は 36 あり，TMB，高頻度マイクロサテライト不安定性（MSI-high）の測定ができる．ただし，肺癌のコンパニオン Dx としては，EGFR と ALK の遺伝子検査しか認められていない．さらに，国内では国立がん研究センター東病院を中心に 2013 年 2 月から A Nationwide Lung Cancer Genome Screening Project for Individualized Medicine in Japan（LC-SCRUM-Japan）が行われている.[10] 2017 年からは非扁平非小細胞肺癌症例に対してオンコマイン DxTT を使用して行っていて，その症例数は 1316 例で，遺伝子変異については EGFR が 23%，KRAS が 14%，BRAF が 4%，ALK が 3%， ROS1 が 2%， RET が 3% などであった．これらのデータに基づいて，日本における ROS1 融合遺伝子に対する非小細胞肺癌のクリゾチニブや，BRAF 遺伝子変異に対する非小細胞肺癌のダブラフェニブとトラメチニブの投与が認可された．しかしながら，NGS を用いた遺伝子パネル検査に用いられる検体材料の質の問題がある．すなわち，オンコマイン DxTT では，腫瘍含有率 30% 以上，組織量（DNA 量）10～100 ng が必要で，10～15% の failure rate がある．E2201 試験では，BRAF の遺伝子検査のためのオンコマイン DxTT の解析成功率は 72% であり，[11] LC-SCRUM-Japan でも 2015 年 3 月～2016 年 4 月までの 3370 検体中利用できたのは 89% であった.[10] NGS を用いた遺伝子パネル検査に用いられる検体はいずれも FFPE 標本が推奨され，腫瘍細胞含有率を評価することが可能であるためであるが，その解析成功率は 90% 未満であった.[1] 一方，MINtS については，腫瘍細胞含有率としての評価はされていないが，DNA と RNA の品質による評価が行われており，DNA については 90%，RNA については 95% で良好な品質が得られている．上記の通り，MINtS の検体の品質は，各種 NGS の解析成功率より不変あるいは良好である．又，MINtS における細胞診断別の EGFR 遺伝子陽性率は細胞診陰性例では有意に低く，遺伝子検査が不正確になる可能性がある．一方，胸水では 35 例中 10 例（28.6%）が EGFR 遺伝子陽性で，検体別では最も陽性率が高く，遺伝子検査の検体として有用である可能性がある．

既存の単一遺伝子コンパニオン診断検査は，これまで 10 年以上に及ぶ経験があり，小さな検体でも検査可能で，検査から結果報告までの時間が短く，検体が検査不能となる率も少ない．しかし，全ての遺伝子検査をするのには多数の未染検体が必要となる．2004 年に発見された EGFR 遺伝子変異は，一定の肺癌症例に見つかっているが，それらの症例がゲフィチニブなどの EGFR-TKI に有効であることが明らかとなり，その後，2007 年には保険適応となったさまざまな EGFR 遺伝子検査が肺癌患者に対して行われた.[4] なかでもコバス® EGFR 変異検出キット v2.0 は，[3] 2016 年 3 月に日本においてオシメルチニブのコンパニオン診断として保険承認されている．本研究では，本キットと MINtS との感度は 82.6% で，特異度は 95.2% であり，さらに，陽性的中率と陰性的中率がそれぞれ 90.1%，91.1% であったことより，肺癌における EGFR 遺伝子検査における MINtS はコンパニオン診断となりえると考える．又，ALK や ROS1 についても本研究の症例で保険収載の検査と MINtS との比較が行われたが，それぞれの変異陽性数が少なく，困難であった．

以上のように，肺癌に対する NGS やコバスなどの EGFR 遺伝子検査は，主に FFPE を使用しており，コバスについては血漿（血中遊離 DNA）による検査も可能であるが，その NGS との陽性一致率は 60 数%と低い.[12] 検体材料については，FFPE の他に凍結検体，細胞診用検体，セルブロックなどあるが，凍結検体は NGS で最も利用価値の高い検体であるものの手術症例のみで使用可能であり，細胞診用検体やセルブロックにおいては検体の取得は容易であるが，現在のところ NGS での使用は認められていない．特に細胞検体については，組織検体よりも容易に取得しやすく，肺癌においてもひろく検体採取が可能であるため，今後の重要な方法となりうる.[13]

以上より，今回我々が行った MINtS は，全例細胞検体により行われており，今後の肺癌患者のコンパニオン診断としてより有望と考える．

本論文内容に関連する著者の利益相反：萩原弘一［特許使用料］LSI メディエンス［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，小野薬品工業

REFERENCES

1. 日本肺癌学会，編集. 肺癌患者における次世代シークエンサーを用いた遺伝子パネル検査の手引き（第 1.1 版）. 2019.

2. Matsumoto S, Yoh K, Seto T, Yokoyama T, Murakami H, Iwama E, et al. Nationwide genomic screening network for the development of novel targeted therapies in advanced non-small cell lung cancer (LC-SCRUM-Japan). *J Clin Oncol.* 2015;33:8093-8093.
3. Malapelle U, Sirera R, Jantus-Lewintre E, Reclusa P, Calabuig-Fariñas S, Blasco A, et al. Profile of the Roche cobas® EGFR mutation test v2 for non-small cell lung cancer. *Expert Rev Mol Diagn.* 2017;17:209-215.
4. 日本肺癌学会, 編集. 肺癌患者における *EGFR* 遺伝子変異検査の手引き（第 3.05 版）. 2016.
5. 日本肺癌学会, 編集. 肺癌患者における ALK 融合遺伝子検査の手引き（第 2.1 版）. 2015.
6. 日本肺癌学会, 編集. 肺癌患者における *ROS1* 融合遺伝子検査の手引き（第 1.0 版）. 2017.
7. Bahcall O. Precision medicine. *Nature.* 2015;526:335.
8. Politi K, Herbst RS. Lung cancer in the era of precision medicine. *Clin Cancer Res.* 2015;21:2213-2220.
9. Sasaki H, Hikosaka Y, Kawano O, Moriyama S, Yano M, Fujii Y. Evaluation of Kras gene mutation and copy number gain in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2011;6:15-20.
10. Seto T, Matsumoto S, Yoh K, Fujiwara Y, Yokoyama T, Nishino K, et al. Contribution of nationwide genome screening in Japan (LC-SCRUM-Japan) to the development of precision medicine for non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36:9085-9085.
11. Planchard D, Besse B, Groen HJM, Souquet PJ, Quoix E, Baik CS, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAF(V600E)-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17:984-993.
12. Goss G, Tsai CM, Shepherd FA, Bazhenova L, Lee JS, Chang GC, et al. Osimertinib for pretreated EGFR Thr790Met-positive advanced non-small-cell lung cancer (AURA2): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2016;17:1643-1652.
13. Hagiwara K, Kobayashi K. Importance of the cytological samples for the epidermal growth factor receptor gene mutation test for non-small cell lung cancer. *Cancer Science.* 2013;104:291-297.