

INVITED REVIEW ARTICLE

細胞検体による肺癌ゲノム診断の現状と今後の展望

森川 慶¹

Current Status and Future Prospects for the Genomic Diagnosis of Lung Cancer Using Cytological Samples

Kei Morikawa¹

¹*Division of Respiratory Diseases, Department of Internal Medicine, St. Marianna University School of Medicine, Japan.*

ABSTRACT — With the spread of personalized medicine for non-small cell lung cancer, the importance of genetic panel screening at the time of the diagnosis is increasing. On the other hand, we often experienced cases in which sufficient amounts of tissue samples could not be collected, and the development of an alternative diagnostic method is required. The lung cancer compact panel™, which received approval from Pharmaceutical Affairs in November 2022 as the third multi-gene panel test in Japan, resulted in a high genetic analysis success rate, even for cytological samples. This new next generation sequencing panel test, which was released in February 2023, shows high accuracy and versatility. After confirming the presence of malignant cells in paired samples, fluid specimens such as pleural and pericardial effusions, as well as cytological brushing solution and needle wash can be submitted. In addition to the conventional procedures based on tissue specimens, standardization of the handling of cytological samples for genetic analyses is required. The use of cytological samples will increase the opportunities to submit gene panel tests for genetic mutation searches, thereby enhancing the spread of personalized treatment.

(JLCC. 2023;63:153-160)

KEY WORDS — Cytological sample, Lung cancer compact panel, Next generation sequencing, Non-small cell lung cancer

Corresponding author: Kei Morikawa.

要旨 — 非小細胞肺癌に対する個別化医療の普及に伴い、診断時の遺伝子一括検査の重要性が増している。一方で、十分量の組織検体を採取できないケースをしばしば経験し、代替となる診断法の開発が求められていた。本邦で3番目の肺癌遺伝子パネル検査として2022年11月に薬事承認された肺癌コンパクトパネル[®]は、細胞検体でも高い遺伝子解析成功率が報告され、高精度かつ汎用性の高い新規の次世代シーケンスパネル検査として2023年2月に発売された。擦過細胞懸濁液や針洗浄液

だけでなく、胸水や心嚢水などの液性検体も、ペア検体中の悪性細胞の存在を確認することで提出可能である。組織検体を基本とした従来の手順に加え、パネル検査のための細胞検体の取扱いも標準化が求められる。細胞検体の利用により出検機会が増加することで、遺伝子変異検索の裾野が拡大し、個別化治療が広く浸透する可能性を有す。

索引用語 — 細胞検体、肺癌コンパクトパネル、次世代シーケンス、非小細胞肺癌

はじめに

非小細胞肺癌患者に対する分子標的薬の適応判定の補助を目的とした遺伝子パネル検査が保険適用となって、

約4年が経過した。発売当初は next generation sequencing (NGS) 解析に不十分な核酸量やクオリティによる解析不成功例を各施設で経験し、十分な検査成功率とはいえない難い苦難の時期を経て、¹ その後は検体採取時の臨床

¹聖マリアンナ医科大学呼吸器内科。

論文責任者：森川 慶。

Table 1. Correspondence Between Molecular-targeted Drugs and Multi-panel Tests/Therascreen Companion Diagnostics

	Molecular-targeted drug	Oncomine	Amoy	Lung cancer compact panel	Therascreen	FoundationOne
EGFR mutation	Gefitinib	○	○	○		○
	Erlotinib	○	○	○		○
	Afatinib	○	○	○		○
	Osimertinib	○	○	○		○
	Dacomitinib	○				○
ALK fusion gene	Alectinib	○	○	○		○
	Crizotinib	○	○	○		○
	Brigatinib	○	○	○		○
	Lorlatinib	○				
	Ceritinib					○
ROS1 fusion gene	Crizotinib	○	○	○		
	Entrectinib	○	○			○
MET exon14 skip.	Tepotinib		○	○		
	Capmatinib					○
RET fusion gene	Selpercatinib	○	○	(○)		
KRAS mutation G12C	Sotorasib		○	(○)	○	
BRAF mutation V600E	Dabrafenib + trametinib	○	○	(○)		
NTRK1-3 fusion gene	Entrectinib					○

(○): Already applied for and available after approved.

医の工夫²や、病理部との連携により諸問題を克服しつつあり、安定的な解析成功率が各施設から報告されるに至っている。またパネル検査自体も、変異バリエーションの拡充やコンパニオン診断となる遺伝子変異や薬剤の追加など、逐次内容が更新されてきた。このような状況で新たな分子標的薬の薬事承認や遺伝子変異の発見など、肺癌遺伝子変異の一括検査の必要性は益々高まってきていると言える。将来的には liquid biopsy への代替が期待される中で、いかに低侵襲に、かつ早期にパネル検査を実施できるかという点で、細胞検体の活用が注目されている。

細胞検体の役割推移

本邦における細胞検体取扱いの歴史は古く、細胞型分類を基本として、当初は喀痰などの剥離癌細胞を対象とした判定基準であったが、気管支擦過法や肺穿刺吸引法の普及に伴い、直接的採取法による新鮮癌細胞の判定基準も肺癌取扱い規約に盛り込まれ³、また細胞診と組織診断との一致率や治療反応性、予後予測など、熱心な議論が重ねられてきた経緯がある。一方個別化治療に舵がきられた近年は、癌細胞の存在確認のみでは治療を決定できず、実診療における細胞検体は補助的な活用に留まっていたと言わざるを得ない。特に組織検体を基にした ALK 融合遺伝子診断の実臨床への導入以降、2015 年に登場した免疫チェックポイント阻害薬の治療適応や効

果予測のための腫瘍 PD-L1 発現率 (tumor proportion score : TPS) の評価、2017 年の凍結生検 (クライオバイオプシー) の保険償還、2019 年の遺伝子パネル検査の保険償還と、十分な組織を採取することに臨床現場は注力してきた。この潮流の中、つまり細胞検体の活用が肺癌診療において日陰的役割を甘受せざるを得ない状況においても、細胞診関連の報告が本邦から続いたことは重要である。⁴ Epidermal growth factor receptor (EGFR) 変異検査は細胞検体が日常診療でも汎用され、⁴ ROS proto oncogene 1 (ROS1) のシングル測定においても細胞検体が薬事承認の範囲に含まれたものの、これらの遺伝子変異も現在はパネル検査の 1 項目に吸収されつつある。

細胞診の究極の目的は早期診断 (現場確認) にあることに立ち返って、低侵襲かつ高品質の核酸が確保できる利点を十分に情報共有するとともに、「採れない、出せない、回せない」の回避がパネル検査の機会均等化に必要であると考えられる。本稿では、現状の遺伝子パネル検査の問題点をまず考察し、この解決策となり得る性能を保有した新規のパネル検査についても紹介したい。

現在の遺伝子パネル検査の問題点

現行の遺伝子パネル検査の問題点は、①腫瘍含有率による出検時セレクション、②変異検出閾値 (limit of detection : LOD)、③変異バリエーション、④コンパニオン診断薬の不一致 (Table 1)、⑤検体受領から結果返却までの日数

(turn around time : TAT)などの運用面の課題に大別される。

①次世代シーケンス技術によるマルチコンパニオン検査として、Thermo Fisher Scientific社の“オンコマイン Dx Target Test 遺伝子プロファイリングシステム”が2019年5月に保険償還された。オンコマイン検査は、大きなサイズの生検組織で30%以上の腫瘍細胞含有率が検体として推奨される。発売当初と比較して、現在の解析成功率が上昇したのは事実であろう。この要因として、臨床医による分量の検体を採取するための取り組みは重要であるが、² 病理部門と協同で実施する出検の「選別」が、解析成功率を安定化させた大きな要因であろうと推定する。すなわち、この解析成功率の上昇は外見の数値とも考えられ、出検不可となりパネル検査が実施できない事例は依然として少なくないことが予測される。各施設で本来パネル検査に出検すべき症例を母数とし、実際に解析した症例の割合の推移を、解析成否と併せて把握する必要がある。

②遺伝子変異検出率について、例えばEGFR変異に対するsingle-plex検査と比較し、変異検出率が低下している可能性が指摘されている。⁵ これは検査自体のLODが異なる点や、後述する各検査の変異バリエーションなど、複合的に影響を受けるためと考えられる。オンコマインは、46遺伝子を対象としたパネル検査のため、コンパニオン対象となるdruggable遺伝子以外の変異情報も、担当医師の希望により参考情報として研究的に情報を得ることができる。一方で、コンパニオン対象以外の遺伝子にも大量のリードを読み取ることから、コンパニオン部分に十分なリード深度が確保できない状況が、アレル頻度の最小検出感度が5~8%付近となっている⁶ 1つの要因と考えられている。また日常臨床において10年以上の診断実績を有するALK融合遺伝子についても、IHC法あるいはFISH法による診断と比較し、検出率が低下している可能性が示唆される報告もあるが、¹ 前向きな検証作業は困難である。今後実施が予定されているデータベース化により、高精度な情報が公表されることを期待する。

③変異バリエーションについて、例えばEGFRエクソン19欠失やEGFRエクソン20挿入には、様々なサブタイプ・バリエーションが存在することが知られている。また近年、これまでEGFR-TKIの効果が限定的と考えられてきたエクソン20欠失のバリエーションの中にも、第1~第3世代EGFR-TKIの効果が高いサブタイプ・バリエーションが存在することが示され、⁷ 今後バリエーション情報も含めた個別化医療がより重要になっていくだろう。変異バリエーションのアレル頻度と治療効果の相関について、耐性変異での報告が存在し、⁸ 初診時の遺伝子変異のアレル頻度も今後注目される可能性がある。また一般的に相互排

他的と考えられてきた遺伝子変異が、偏ったアレル頻度で検出されることも稀ながら報告され、⁹ 治療の優先度決定に必要な情報である。本邦は、欧米諸国よりもEGFR遺伝子変異の検出頻度が高く、若年・非喫煙者も多く含まれる。分子標的薬の治療効果が長く長期の生存が見込まれるため、検出漏れが生じることは診療上許容できない。バリエーションのカバー率が各社製品ごとにスペクトルが異なり、かつパネルの測定回数に制限があることが問題であり、特にEGFR遺伝子変異は網羅的にバリエーションをカバーしたコンパニオン・パネル検査の使用が望ましい。

④パネル検査によってコンパニオン診断薬が異なる一方で、保険算定が1回しか適用とならないことにより、稀少遺伝子が検出されながら薬剤使用に繋がらない保険診療上の矛盾については、オンコマイン、アモイ、肺がんコンパクトパネルともに今後も対応遺伝子・薬剤が拡充される見込みである。また将来的には医薬品横断的CDxとして解決されることを期待したい。

⑤最後に運用面の課題として、試薬の安定供給に問題が起り、長期間の検査の受け入れ遅延や、出検タイミングによってTATが遅延する状況が一時期生じた。2021年8月には、国内で第2のマルチコンパニオン検査として、理研ジェネシス社から、AmoyDx[®]肺がんマルチ遺伝子PCRパネルが上市され、TATが4~7日と、課題の一つであったTATの大幅な短縮が達成された一方、変異バリエーションのカバー率、バリエーション情報が分類できずレポートされないなどpolymerase chain reaction (PCR) ベース手法の限界が指摘されている。

上述した臨床現場あるいは検査性能の問題点も障壁となり、本邦において遺伝子パネル検査がどの程度浸透しているか、エビデンスレベルの高いデータは乏しい。大学病院や中核病院も決して例外ではなく、パネル検査の導入が遅延する施設は少なくない。パネル検査の実施有無が医療者側の都合で二極化するのでは決して好ましいことではなく、診断機会や診断の質を均てん化する医療体制の構築が急務であり、より簡便な診断キットの開発が問題解決の一翼を担うものとして望まれていた。

細胞検体を使用したパネル検査への期待

組織生検が採取できず、細胞診においてのみ肺がんの診断に結びつくケースもあるものの、細胞診では腫瘍細胞含有率が低いケースも想定されるため、検出感度の問題からパネル解析の実施が難しいと考えられてきた。また、パネル検査に提出する際の要件として腫瘍細胞が十分に存在していることの確認が必須となるが、細胞診における腫瘍細胞割合測定の標準化については、これまで知見が不足している状況であった。このような状況から、細

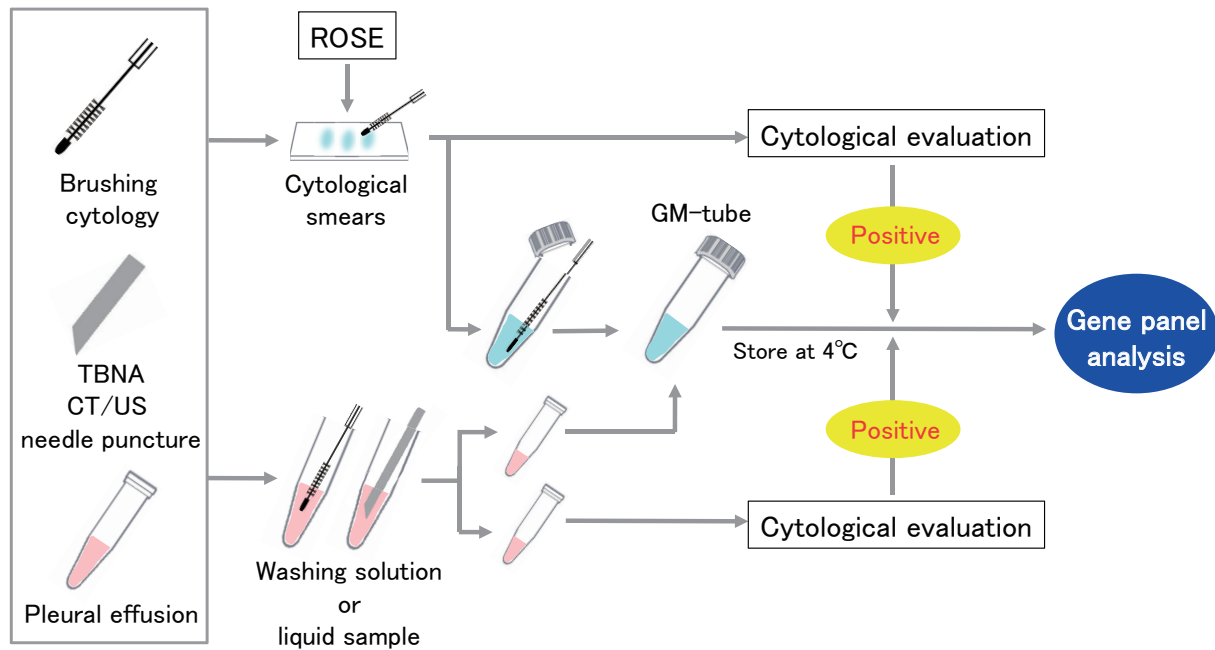


Figure 1. Cytological specimen collection using a GM-tube.

胞診にも適用可能なコンパニオン診断パネル検査はこれまでに確立されていなかった。

日常診療において、病変の大きさや部位、患者の重症度、検査の合併症リスクなどから、組織検体を採取できない、あるいは組織検体を採取したものの癌細胞がほとんど含まれていないことをしばしば経験し、細胞診の診断感度が勝る場面は、病変の線維化や瘢痕化が進行した再生検の症例において過去に報告した。¹⁰ また胸水や心嚢水などの液性検体の採取は容易ながら、組織採取部位が見つからず診断に難渋することも少なくない。このような液性検体や、擦過細胞診、針洗浄液は比較的容易かつ安全に採取でき、主たる組織採取に付随した手技として、残余検体の活用も可能である。細胞検体に一定量の癌細胞が含まれ、かつ核酸保管を良好に維持できれば、高感度なパネル検査においては遺伝子変異を検出できるであろうという仮説のもと、細胞検体を対象として、肺がんコンパクトパネルの有用性を検証する共同研究を実施してきた（株式会社 DNA チップ研究所と聖マリアンナ医科大学呼吸器内科）。

肺がんコンパクトパネル®の開発経緯と特徴

本邦の臨床現場で使いやすい国産のマルチパネル検査として、NGS を用いた肺がんコンパクトパネル®が発明された（大阪国際がんセンターと奈良先端科学技術大学院大学の共同開発）。肺がんコンパクトパネルは、肺癌に特化し、druggable な遺伝子変異にターゲットを絞り込むことで、1% 程度までの検出感度を達成し、細胞検体に

も適用可能なパネル解析技術である。¹¹ 共同研究成果を元に、株式会社 DNA チップ研究所が製品開発を進め、肺癌コンパニオンマルチパネル検査として、国産の薬事承認申請と保険適用を見据えた各種薬事試験を実施してきた。株式会社 DNA チップ研究所は、2021年10月28日に肺がんコンパクトパネルの薬事承認申請を行い、2022年11月16日に製造販売承認を取得し、2023年2月13日より保険算定と検査サービスを開始している。

細胞検体を使用した肺がんコンパクトパネルの有用性の共同研究成果¹²

肺悪性腫瘍疑いの患者に対し、気管支鏡検査では通常法（EBUS-TBB/TBNA）で生検および擦過を行い、懸濁液や洗浄液を2分割しペア検体を作製した上で、一方を核酸底護剤入り検体採取容器（GM管）に浸漬・固定、他方を病理細胞診評価用とした（Figure 1）。その他、胸水や経皮的針生検の針洗浄液、胸腔鏡下での擦過洗浄液も対象検体に含んだ。検体は室温あるいは冷蔵（2～8℃）で保管した後、共同研究機関にて細胞検体（核酸底護剤固定）から核酸（DNA および RNA）を精製し精製核酸を用いて肺がんコンパクトパネル検査を行い、肺癌関連遺伝子を検出し、FFPE 組織検体がある場合は併せて測定した。保険診療内での single-plex PCR 検査やオンコマイン CDx システムなどは検査コンコダンス確認のため可能な限り実施した。2020年5月から2021年11月まで登録された255例のうち肺腺癌163例（TBB ブラシ112例、TBNA 針洗浄23例、CT ガイド生検針洗浄14例、胸

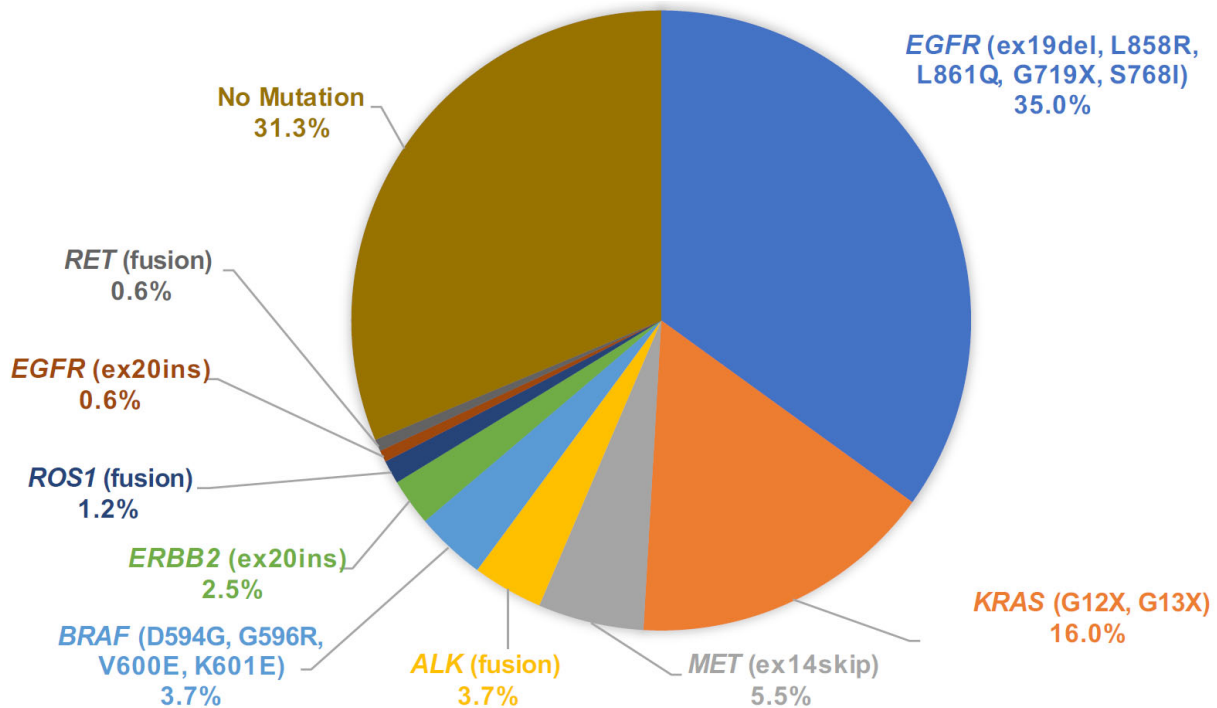


Figure 2. Pie chart of mutation call variants detected by LCCP assay of cytological samples.

水 10 例, 胸腔鏡直視下擦過 4 例)を解析対象とし, 結果はすでに報告した. 検査に必要な核酸量を, DNA・RNA ともに 10 ng 以上, NGS 解析リード数を DNA 診断モジュール: ×5,000 リード以上, DNA 研究モジュール: ×2,000 リード以上, RNA モジュール: 内部標準遺伝子 HPRT1 ×300 リード以上を解析成功と定義した上で, 主要評価項目である解析成功率は 100%, 核酸収量中央値は DNA/RNA で 475/321 ng であった. 71.1% で遺伝子変異が検出され, 多い順に EGFR (35.0%), KRAS (16.0%), MET (5.5%), ALK (3.7%), BRAF (3.7%), ERBB2 (2.5%), ROS1 (1.2%), RET (0.6%) であった (Figure 2). PMDA-approved CDx との一致率は 98.7% で, 不一致の 1 例は稀少 ALK バリエントの CLIP1-ALK と判明した.¹³

本研究では, 細胞検体でも十分な核酸収量が得られたことの証明だけでなく (Figure 3A), 核酸の質が担保されること (DNA/RIN integrated number: DIN/RIN の中央値が 7.9/5.7 ng, Figure 3B), 更に各症例で対応する FFPE 検体も解析し, total DNA/double stranded DNA の比率において細胞診由来の DNA の質が高いことや, 細胞検体と FFPE での遺伝子変異のアレル比率に高い相関が示されることが判明した (Figure 4).

今後の展望

本検査を用いて, 現在国内で多施設検証試験を実施中

(UMIN000047215) であり, 2023 年 3 月に症例集積を終了した. 70 例の中間解析において解析不成功は 1 例にとどまり (解析成功率点推定値 98.6%), 汎用性の高さも証明されつつある.¹⁴

更に先進的内容の研究として, 喀痰を用いた肺がんコンパクトパネル検査でも遺伝子変異が複数例で検出され, すでに報告した.¹⁵ また気管支鏡検査において, 肺末梢病変においては EBUS での病変到達確認前に, 関与気管支からの洗浄液だけでも遺伝子変異が確認できることが先行研究で判明しており, liquid biopsy の開発に並行して, 気管支鏡検査においてもより低侵襲な手法による遺伝子変異検出の技術開発が進んでいる.

先進医療では高感度多遺伝子検査システム MINtS による, 細胞検体を用いた肺癌 druggable 遺伝子変異検索の実用化が待たれており,¹⁶ 今後複数のパネル検査の使い分けも必要となろう. 簡便かつ高精度な肺がんコンパクトパネルは 2023 年 2 月 13 日に発売され, すべての施設において初診時のパネル検査が更に浸透し, 個別化医療が加速することを期待したい.

付記: 迅速細胞診 (rapid on-site cytologic evaluation: ROSE) の役割について

パネル検査を見越した細胞検体の採取において, ROSE との相性が良いことは言うまでもない. 原発性肺癌に対する ROSE の意義は本邦からの報告があるもの

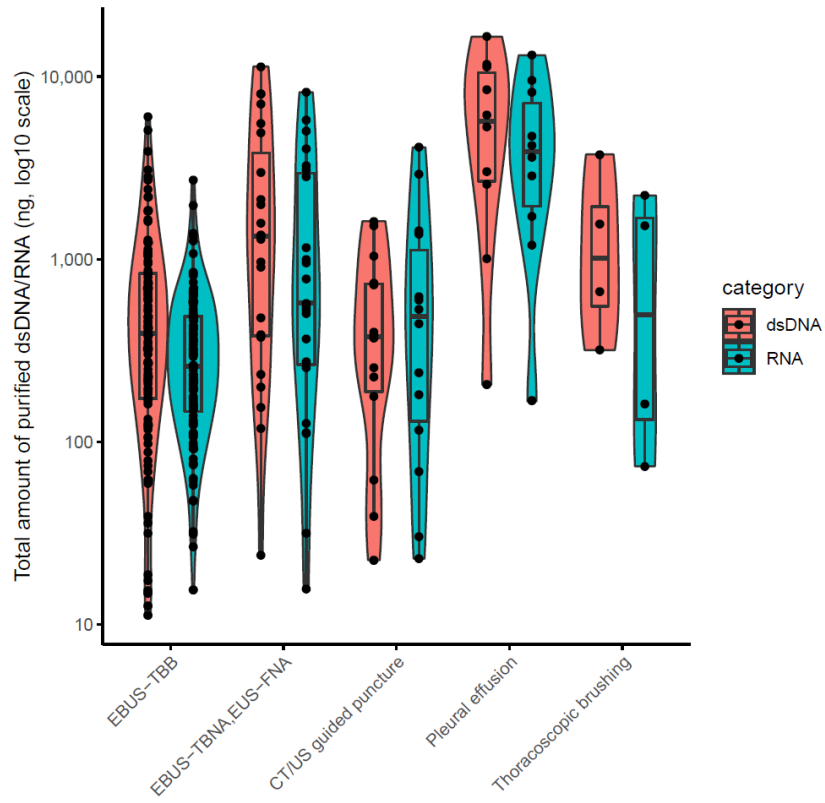


Figure 3A. DNR/RNA yield from 163 cytological samples.

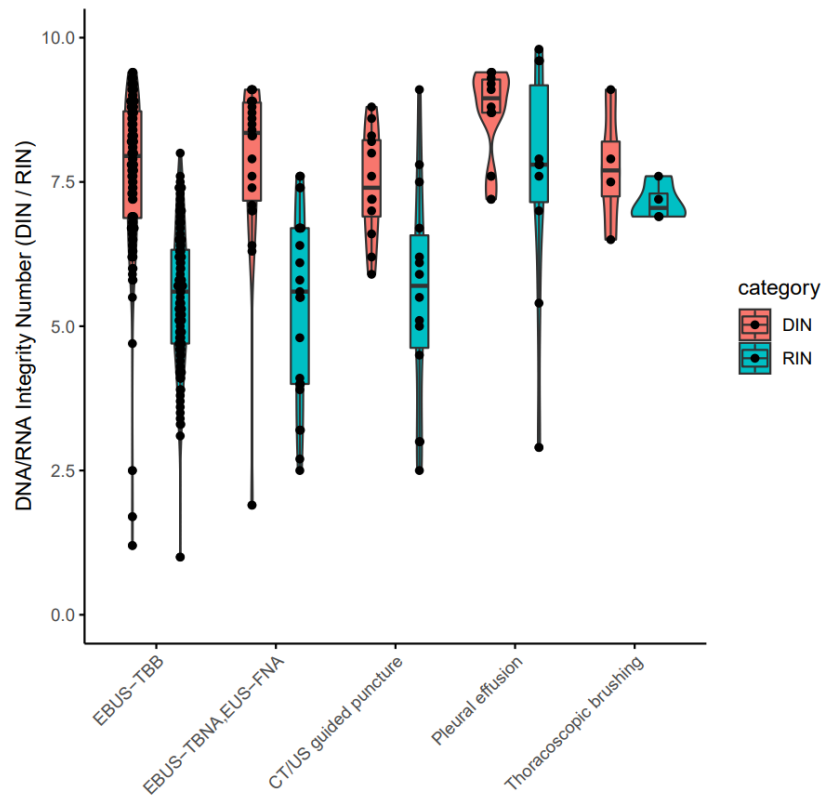


Figure 3B. DIN/RIN values for purified nucleotides from cytological samples.

caseid	Mutation	FFPE		Cytology			Mutation VAF Cytology > FFPE
		Tumor Content (%)	VAF (%)	Method	DNA Yield (ng)	VAF (%)	
219	BRAF_p.V600E	30	1.1	TBB brushing	2472	6.0	x
35	KRAS_p.G12S	5	1.3	TBB brushing	10422	1.0	x
150	KRAS_p.G12C	10	1.7	TBB brushing	638	6.2	●
111	KRAS_p.G12V	30	2.5	TBB brushing	4812	1.3	x
159	EGFR_p.G719A	0	3.7	TBB brushing	2412	6.9	●
151	BRAF_p.V600E	20	6.6	TBB brushing	924	22.3	●
187	EGFR_p.L858R	1	6.6	Pleural effusion	11520	18.8	●
58	KRAS_p.G12C	20	7.0	TBB brushing	103.14	18.2	●
16	MET_p.R1022R	10	7.1	TBB brushing	287.68	8.8	●
215	EGFR_p.L858R	10	7.5	TBB brushing	184.8	3.9	x
39	EGFR_p.L747_A750delinsP	10	8.0	TBB brushing	13014	8.5	●
84	KRAS_p.G12D	10	8.6	TBB brushing	1593	0.6	x
78	EGFR_p.L858R	20	8.6	TBB brushing	11124	8.5	x
15	EGFR_p.L561G	10	9.1	TBB brushing	93	10.7	●
41	EGFR_p.T790M	10	10.1	Thoracoscopy brushing	995	14.7	●
123	EGFR_p.L858R	20	11.4	TBB brushing	678	4.4	x
131	EGFR_p.L858R	10	12.1	TBB brushing	342	30.6	●
95	EGFR_p.E746_A750del	40	12.8	TBB brushing	1900.8	12.1	x
42	KRAS_p.G12C	10	12.9	TBB brushing	4809	31.4	●
214	EGFR_p.L858R	20	13.2	Pleural effusion	25440	10.0	x
91	EGFR_p.L747S	30	13.5	TBB brushing	14094	17.8	●
130	KRAS_p.G12A	40	13.6	TBNA needle washing	24000	14.0	●
200	EGFR_p.L858R	10	14.1	TBB brushing	720	23.9	●
155	KRAS_p.G12C	30	14.5	Pleural effusion	18920	42.0	●
116	KRAS_p.G12V	0	14.9	CT-guided needle washing	2424	0.8	x
204	BRAF_p.V600E	40	15.2	TBB brushing	930	23.3	●
72	BRAF_p.G369R	20	15.7	TBB brushing	2374	8.8	x
137	ERBB2_p.V772_A775dup	20	15.9	TBNA needle washing	3864	8.6	x
73	BRAF_p.V600E	20	16.4	TBB brushing	310.8	0.9	x
33	EGFR_p.E746_A750delinsP	20	16.8	TBB brushing	92.88	5.6	x
60	EGFR_p.L858R	10	16.9	TBB brushing	4023	20.8	●
148	KRAS_p.G12C	20	16.9	Pleural effusion	308.4	14.0	x
46	KRAS_p.G12A	60	17.7	TBB brushing	340.2	19.1	●
110	EGFR_p.A767_V769dup	20	18.1	TBB brushing	499.5	12.8	x
132	KRAS_p.G12C	0	20.4	CT-guided needle washing	252	4.7	●
188	EGFR_p.E746_A750del	0	20.4	TBB brushing	726	42.7	●
125	KRAS_p.G12V	30	21.1	TBNA needle washing	8928	15.1	x
121	EGFR_p.E746_A750del	30	22.0	TBB brushing	4632	28.2	●
36	EGFR_p.E746_A750del	40	24.6	TBB brushing	1574	9.1	x
222	KRAS_p.G12C	50	25.6	TBNA needle washing	12120	23.8	x
163	EGFR_p.L858R	40	25.8	TBB brushing	1632	12.9	x
96	KRAS_p.G12V	30	27.2	TBB brushing	375.3	29.0	●
67	EGFR_p.L747_A750delinsP	20	31.6	TBB brushing	252	20.8	●
126	EGFR_p.L858R	10	32.1	TBB brushing	1620	33.5	●
80	EGFR_p.T790M	40	32.9	TBB brushing	259.74	27.3	x
83	EGFR_p.L747_A750delinsP	88	34.5	TBB brushing	4060.8	31.8	x
68	EGFR_p.L858R	30	40.0	TBB brushing	522	10.3	x
136	EGFR_p.E746_A750del	30	35.5	TBB brushing	481.2	35.5	●
129	KRAS_p.G12C	40	35.5	TBB brushing	184.8	36.0	●
124	EGFR_p.L747_P753delinsS	50	35.7	TBB brushing	1044	23.1	x
133	KRAS_p.G12C	50	38.0	TBB brushing	522	17.8	x
84	KRAS_p.G12E	50	38.4	CT-guided needle washing	380.7	34.1	x
139	EGFR_p.E746_A750del	30	39.0	TBB brushing	906	6.5	x
134	EGFR_p.E746_A750delinsP	30	39.8	TBB brushing	1008	6.2	x
223	KRAS_p.G12C	60	40.0	CT-guided needle washing	3276	34.9	x
98	MET_c.2942-18_2942-6del	20	46.5	TBB brushing	577.8	38.4	x
86	EGFR_p.L858R	30	46.6	TBB brushing	356.4	61.1	●
22	EGFR_p.L858R	50	46.8	Thoracoscopy brushing	942.4	24.6	x
52	MET_c.3082-27C	40	50.7	CT-guided needle washing	33.75	32.7	x
158	EGFR_p.E746_A750del	0	75.0	TBNA needle washing	38	73.8	●
18	EGFR_p.L858R	20	92.8	TBNA needle washing	2318.8	93.7	●

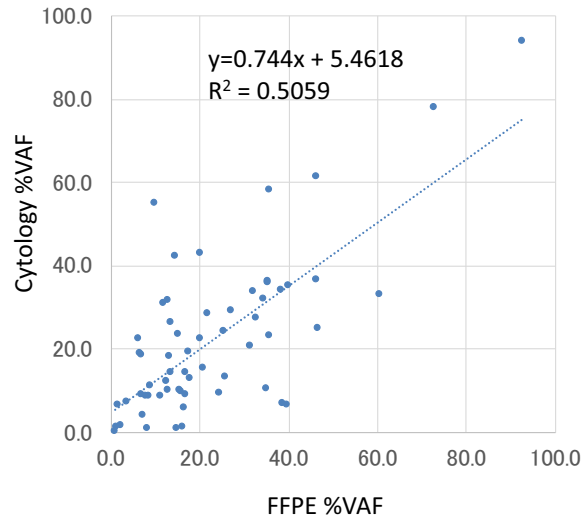


Figure 4. Correlation of estimated %VAF between FFPE tissue sample and cytological sample.

の^{17,18} 全国的な導入・普及には至っていない。これらが報告された時期が本格的な個別化治療や免疫治療の普及前ということもあり、ROSEの意義を再考する必要がある。ROSEに関する先駆的な報告において記載された、気管支擦過→塗抹→迅速固定→鏡検→診断をユニットとした診断向上の基本は、今も昔も不変である。¹⁹「迅速細胞診は、術者が日常遭遇する技術上の easy miss による false negative を防止する上で貢献しているといえよう。またこれら陰性例では、従来では気管支鏡検査の再適応となる結果術者ばかりでなく患者への精神的肉体的負担は著しく、迅速細胞診がこれら無意味な労力を防止する上で極めて価値ある手段となっている」という40年前の文章を、今も重く受け止めたい。

パネル検査を見越した気管支鏡検査においては、ROSEでの細胞量などの現場確認が検査の質のモニタリングになっており、手技の回数や手技の変更など、臨機応変に対応することで診断率や細胞採取率が向上していると推定され、今後前向きな検証が必要である。

おわりに

現在細胞検体を使用したパネル検査の指針となるものは、日本臨床細胞学会によるがんゲノム診療における細胞検体の取扱い指針²⁰である。この中で、液状化検体細胞

診 (liquid-based cytology : LBC) を用いた核酸抽出や LBC 標本での腫瘍含有評価の記載もあり、肺癌領域における細胞検体取扱いと手技や使用資材の標準化について、今後議論されていくものと思われる。本稿は、細胞診の活用を目的としたこれまでの取り組みを中心に記載したが、形態学的病理診断・免疫染色および今後のバイオマーカー検索のため、組織検体が引き続き重要であることは言うまでもない。周術期での複合治療、特に術前免疫複合治療の導入により、診断時に十分な検体を採取する意義は増す。だからこそ、ゲノム検索は細胞検体に任せ、今後のバイオマーカー検索など、研究開発のために組織検体を温存しておくという考えも必要であろう。組織生検と細胞採取は相互補完的な役割を担い、最適な手段を選択するための医師の現場判断とともに、細胞検体のみならず、組織採取に関連した検査手技の質の向上も引き続き求められている。

本論文内容に関連する著者の利益相反：森川 慶 [研究費・助成金などの総額] (株) DNA チップ研究所

REFERENCES

1. Sakata S, Otsubo K, Yoshida H, Ito K, Nakamura A, Teraoka S, et al. Real-world data on NGS using the

- Oncomine DxTT for detecting genetic alterations in non-small-cell lung cancer: WJOG 13019L. *Cancer Sci.* 2022;113:221-228 doi: 10.1111/cas.15176.
2. Kunimasa K, Matsumoto S, Nishino K, Nakamura H, Kuhara H, Tamiya M, et al. Improvement strategies for successful next-generation sequencing analysis of lung cancer. *Future Oncol.* 2020;16:1597-1606 doi: 10.2217/fon-2020-0332.
 3. 日本肺癌学会, 編集. 臨床・病理 肺癌取扱い規約. 改訂第2版. 東京: 金原出版; 1982.
 4. Satouchi M, Tanaka H, Yoshioka H, Shimokawaji T, Mizuno K, Takeda K, et al. Detection of epidermal growth factor receptor gene T790M mutation in cytology samples using the cobas[®] EGFR mutation test. *Lung Cancer.* 2017;111:190-194 doi: 10.1016/j.lungcan.2017.07.015.
 5. Sakaguchi T, Iketani A, Furuhashi K, Nakamura Y, Suzuki Y, Ito K, et al. Comparison of the analytical performance between the Oncomine Dx Target Test and a conventional single gene test for epidermal growth factor receptor mutation in non-small cell lung cancer. *Thoracic Cancer.* 2021;12:462-467 doi: 10.1111/1759-7714.13767.
 6. <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/brochures/oncomine-dx-target-test-brochure.pdf>
 7. Robichaux JP, Le X, Vijayan RSK, Hicks JK, Heeke S, Elamin YY, et al. Structure-based classification predicts drug response in EGFR-mutant NSCLC. *Nature.* 2021;597:732-737 doi: 10.1038/s41586-021-03898-1.
 8. Ariyasu R, Nishikawa S, Uchibori K, Oh-Hara T, Yoshizawa T, Dotsu Y, et al. High ratio of T790M to EGFR activating mutations correlate with the osimertinib response in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2018;117:1-6 doi: 10.1016/j.lungcan.2017.12.018.
 9. Morikawa K, Iinuma M, Shinozaki Y, Nishine H, Inoue T, Mineshita M. A case of advanced adenocarcinoma genetically confirmed with EGFR/BRAF co-mutation in both primary and metastatic lesions. *Ther Adv Med Oncol.* 2021 ; 13 : 17588359211053420 doi : 10.1177 / 17588359211053420.
 10. 森川 慶, 栗本典昭, 柿沼一隆, 古屋直樹, 宮澤輝臣, 峯下昌道. EGFR 遺伝子変異陽性肺腺癌に対し EGFR-TKI 治療後, 気管支鏡下再生検を施行し組織診陰性であった3症例. 肺癌. 2016;56:219-226 <https://doi.org/10.2482/haigan.56.219>.
 11. Kato K, Okami J, Nakamura H, Honma K, Sato Y, Nakamura S, et al. Analytical performance of a highly sensitive system to detect gene variants using next-generation sequencing for lung cancer companion diagnostics. <https://doi.org/10.1101/2021.10.13.21264976>.
 12. Morikawa K, Kida H, Handa H, Inoue T, Saji H, Koike J, et al. A Prospective Validation Study of Lung Cancer Gene Panel Testing Using Cytological Specimens. *Cancers.* 2022;14:3784 doi: 10.3390/cancers14153784.
 13. Vendrell JA, Taviaux S, Béganton B, Godreuil S, Audran P, Grand D, et al. Detection of known and novel ALK fusion transcripts in lung cancer patients using next-generation sequencing approaches. *Sci Rep.* 2017;7:12510 doi: 10.1038/s41598-017-12679-8.
 14. 森川 慶, 浅野文祐, 沖 昌英, 品川尚文, 藤井慎嗣, 南大輔, 他. 細胞診検体等を用いた肺がんコンパクトパネルの多機関検証試験(cPANEL). 第63回日本肺癌学会学術集会.
 15. Morikawa K, Kinoshita K, Kida H, Inoue T, Mineshita M. Preliminary Results of NGS Gene Panel Test Using NSCLC Sputum Cytology and Therapeutic Effect Using Corresponding Molecular-Targeted Drugs. *Genes.* 2022; 13:812 doi: 10.3390/genes13050812.
 16. 長谷川幸裕, 森本武史, 三浦 大, 萩原弘一. 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. 肺癌. 2022;62:200-206.
 17. Oki M, Saka H, Kitagawa C, Kogure Y, Murata N, Adachi T, et al. Rapid on-site cytologic evaluation during endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for diagnosing lung cancer: a randomized study. *Respiration.* 2013;85:486-492 doi: 10.1159/000346987.
 18. Izumo T, Matsumoto Y, Sasada S, Chavez C, Nakai T, Tsuchida T. Utility of rapid on-site cytologic evaluation during endobronchial ultrasound with a guide sheath for peripheral pulmonary lesions. *Jpn J Clin Oncol.* 2017;47:221-225 doi: 10.1093/jjco/hyw180.
 19. 松村公人, 堀江昌平, 嶋田晃一郎, 長井千輔, 山田 喬, 佐藤豊彦, 他. 全麻気管支鏡下迅速細胞診の診断的意義. 日臨細胞誌. 1983;22:539-544.
 20. Morii E, Hatanaka Y, Motoi N, Kawahara A, Hamakawa S, Kuwata T, et al. Guidelines for Handling of Cytological Specimens in Cancer Genomic Medicine. *Pathobiology.* 2023;1-23 doi: 10.1159/000528346.