

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

2019年12月5日 第1.0版

2019年12月23日 第1.1版

2021年10月20日 第2.0版

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

三窪 将史、谷田部 恭、荒金 尚子、池田 貞勝、井上 彰、大泉 聡史、越智 宣昭、阪本 智宏、
里内 美弥子、枝園 和彦、清水 淳市、角南 久仁子、宗 淳一、蔦 幸治、西尾 和人、西野 和美、
畑中 豊、松本慎吾、横瀬 智之、後藤 功一、豊岡 伸一

Table of Contents

1. はじめに	3
2. 次世代シーケンサーを用いた遺伝子パネル検査について	3
2.1 概要	3
2.2 各遺伝子パネル検査について	5
2.2.1 オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム（オンコマイン DxTT）	5
2.2.2 FoundationOne® CDx ガンゲノムプロファイル（F1CDx）	6
2.2.3 OncoGuide™ NCC オンコパネルシステム（NCC オンコパネル）	8
3. ガンゲノム医療	10
3.1 ガンゲノム医療の概要	10
3.2 保険点数について	10
3.3 保険点数についての留意点	11
3.4 本手引きの適応範囲	12
4. 遺伝子パネル検査の対象患者と目的	12
4.1 F1CDx のコンパニオン診断について	12
4.2 オンコマイン DxTT のコンパニオン診断について	12
5. 生検検査の採取について	13
6. 検査検体と検体取り扱い上の注意点	14
6.1 腫瘍細胞含有率	15
6.2 標本組織量	16
7. 既存の単一遺伝子コンパニオン診断検査との使い分け	17
7.1. 結果返却までの時間（Turnaround time, TAT）	17
7.2. 解析成功率	17
8. FAQ	18
Q1. 進行再発非小細胞肺癌患者の初回治療前の治療薬選択にはどうしたらよい？	18
Q2. 単一遺伝子検査が推奨される場合、遺伝子パネル検査が推奨される場合とは？	18
Q3. 分子標的治療 PD 後の獲得耐性機序に基づく治療薬選択目的には用いられるか？	18
Q4. 複数のコンパニオンパネル検査の使い分けは？	18
Q5. 適切な検体とは？	18
Q6. 腫瘍細胞含有率はどのように評価すればよい？	19
Q7. 遺伝子パネル検査が Failure であった場合にする？	19
Q8. 現在の遺伝子パネル検査を含めた実用的なアルゴリズムとは？	19
9. 最後に	21
10. 参考文献	21
11. 用語解説	22
12. 関連 Web リンク	22
13. 追補	23
13.1 腫瘍細胞含有率の例	23
13.2 標本から採取される DNA 量の例	25
13.3 各検査法における報告対象バリエーション一覧	26
14. 第 1.1 版から第 2.0 版への主な改訂点	27

1. はじめに

ドライバー遺伝子を標的とする分子標的治療薬、コンパニオン診断薬の開発は近年急速な進歩を遂げている。非小細胞肺癌では個別化治療は高い効果を示し、現在では *ROS1* 融合遺伝子や *BRAF* V600E 変異、*MET* ex14 skipping 変異、*NTRK* 融合遺伝子、*RET* 融合遺伝子変異など希少頻度のドライバー遺伝子を標的とする分子標的治療薬の適応が拡大している。一方で、検査検体の消費、検査時間の長時間化、検査費用の高額化が懸念され、がんの臨床においてマルチプレックス検査、殊に次世代シーケンサー(NGS)を用いた遺伝子パネル検査の果たす役割は大きい。本手引きは、がん関連 3 学会合同「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネルに基づくがん診療ガイドンス」¹では触れられていない、遺伝子パネル検査によるコンパニオン診断を中心として、Q&A 方式で実地診療に役立つ情報、必要な情報を提供することを目的に 2019 年 12 月に第 1 版が作成された。その後の遺伝子パネル検査の適応範囲の拡大や対応する承認薬の増加に伴い、情報のアップデートを行うべく今回第 2 版への改訂を行った。

2. 次世代シーケンサーを用いた遺伝子パネル検査について

2.1 概要

次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析においては、網羅的な遺伝子を解析する全ゲノムシーケンス、全エクソームシーケンスに加え、特定の遺伝子を解析するターゲットシーケンス（遺伝子パネル検査）がある。現状としては臨床で用いられる検査は遺伝子パネル検査がほとんどであり、その概要を図 1 にまとめた。

さらにターゲットシーケンス（遺伝子パネル検査）には、アンプリコンシーケンス法 Hot Spot パネル検査と 100 以上の遺伝子を網羅的に解析するキャプチャーシーケンス法に大別される（図 2）、それぞれの特徴について表 1 にまとめた²。

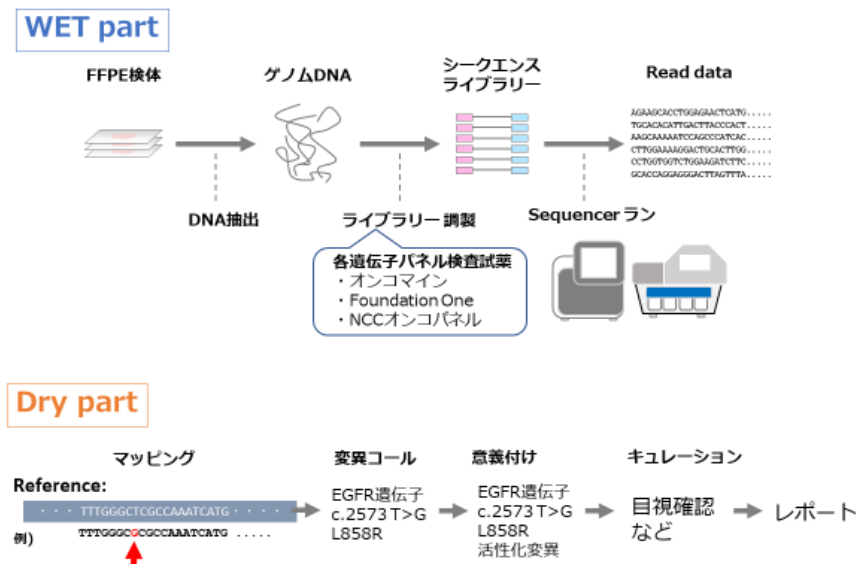


図 1 ターゲットシーケンスにおける次世代シーケンサーの解析フローの概略

ターゲットシーケンシングの主なライブラリー調製方法

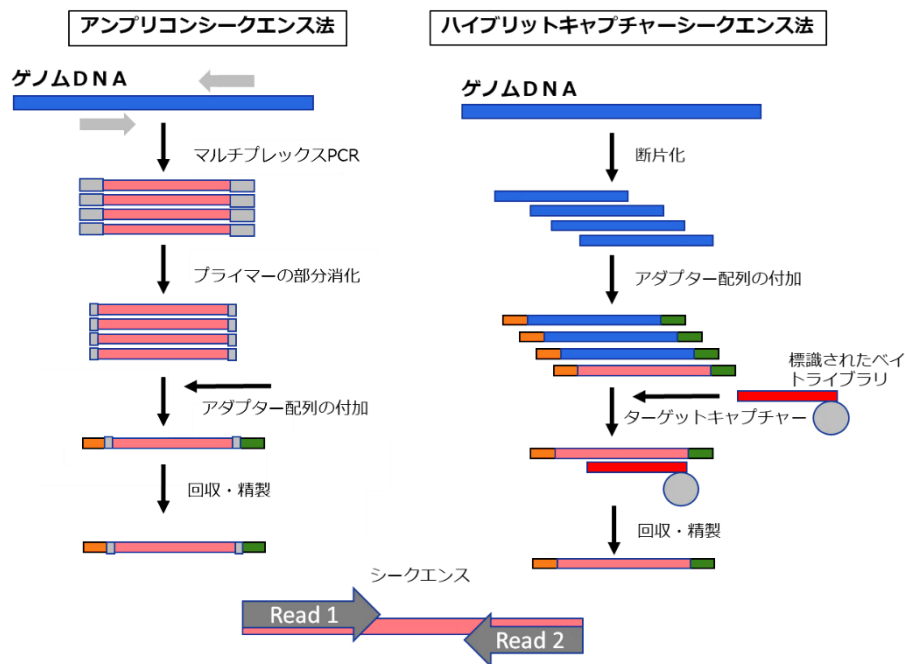


図 2 アンプリコンシーケンスとハイブリッドキャプチャーシーケンスの原理（久保ら, 病理と臨床 35, 653 (2017), 一部改変）

表 1 アンプリコンシーケンスとハイブリッドキャプチャーシーケンスの特徴の比較²

特徴	アンプリコンシーケンス法	ハイブリッドキャプチャーシーケンス法
代表的なパネル	オンコマイン Target Test マルチ CDx システム	OncoGuide NCC オンコパネルシステム FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル
特徴	少数で特定の遺伝子の変異 ホットスポットなどを手早く簡 便にスクリーニングするのに 向いている	コピー数の変化や融合遺伝子を含む多くの遺伝子 の包括的な情報を得るのに向いている
PCR 反応による増幅	あり	なし
必要とされる DNA 量	より少ない	より多い
Gene copy number	難しい	得ることができる
情報処理	それほど必要ではない	必要
報告までの時間	より短い	より長い
シーケンスエラー	より多い	より少ない
未知の融合遺伝子	シーケンス不可	シーケンス可能

保険収載された遺伝子パネル検査には、大きく分けて二つの機能がある。一つは、特定のバイオマーカーの有無ではなく検出された遺伝子異常を総合的に判断して治療選択につなげるがんゲノムプロファイリング機能、もう一つは、コンパニオン診断薬としての分析学的・臨床的妥当性が示されたコンパニオン診断機能である。2021 年 9 月現在で保険収載されている遺伝子パネル検査は、どちらか片方または両方の機能を有する。保険収載されている 3 種の遺伝子パネル検査について表 2 にまとめた。

表 2 2021 年 09 月現在保険適用されている遺伝子パネル検査

	オンコマイン Target Test マルチ CDx システム	OncoGuide™ NCC オンコパネルシステム	FoundationOne® CDx /FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル	
パネル種類	Hot-spot panel	Comprehensive genome profile (CGP)	Comprehensive genome profile (CGP)	
方法	アンブリコンシーケンス	キャプチャーシーケンス	ハイブリッドキャプチャーシーケンス	
機能	コンパニオン診断	がんゲノムプロファイリング	がんゲノムプロファイリング コンパニオン診断	
保険適用区分	体細胞遺伝子変異解析システム (抗悪性腫瘍薬適応判定用)	遺伝子変異解析プログラム (がんゲノムプロファイル検査用)	体細胞遺伝子変異解析システム (抗悪性腫瘍薬適応判定用) 遺伝子変異解析プログラム (がんゲノムプロファイル検査用)	
対象遺伝子数	46	124	324	
融合遺伝子数	21	13	36	
その他	TMB: X /MSI-high: X	TMB: ○ /MSI-high: ○	F1CDx TMB:○ / MSI-high:○	F1LiquidCDx TMB: X / MSI-high: X
コンパニオン Dx	非小細胞肺癌:○	なし	F1CDx 非小細胞肺癌: ○ 悪性黒色腫: ○ 乳癌: ○ 大腸癌: ○ 固形癌: ○ 胆道癌: ○ 卵巣癌: ○ 前立腺癌: ○	F1LiquidCDx 非小細胞肺癌: ○ 固形癌: ○ 前立腺癌: ○
施設基準	なし	がんゲノム医療 関連病院	がんゲノム医療 関連病院	

2.2 各遺伝子パネル検査について

2.2.1 オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム (オンコマイン DxTT)

アンブリコンシーケンス法を用いた Hot Spot パネル検査である。腫瘍検体由来 DNA を用いて 46 遺伝子の hot-spot についての変異の有無を解析するとともに、腫瘍検体由来 RNA を用いて *ALK*、*ROS1*、*RET*をはじめとした 21 遺伝子について融合遺伝子を解析対象としている (表 3)。また、表 8 に示す遺伝子変化・治療薬に対するコンパニオン診断薬として承認されている。

結果の報告範囲は徐々に拡大され、コンパニオン診断薬として機能する *EGFR* 変異(exon19 del, exon21 L858R)、*ALK* 遺伝子融合、*ROS1* 遺伝子融合、*BRAF*V600E 変異に加え、2019 年 10 月の変更承認によって T790M を含む *EGFR* 遺伝子の稀な変異 (uncommon mutation)が追加され³ (各検査法における報告対象バリエーションの比較は追補 13.3 を参照)、さらに 2021 年 9 月の変更承認によって *RET* 融合遺伝子についても薬剤適応判定の補助として使用することが追加された。

表 3 オンコマイン Dx TTで検索される遺伝子（赤字はコンパニオン診断テスト対象遺伝子）

	gene	DNA (遺伝子変異)	RNA (融合遺伝子)
1	ABL1		○
2	AKT1	○	
3	ALK	○	○
4	AR	○	
5	AXL		○
6	BRAF	○	○
7	CDK4	○	
8	CTNNB1	○	
9	DDR2	○	
10	EGFR	○	
11	ERBB2	○	○
12	ERBB3	○	
13	ERBB4	○	
14	ERG		○
15	ESR1	○	
16	ETV1		○
17	ETV4		○
18	ETV5		○
19	FGFR1		○
20	FGFR2	○	○
21	FGFR3	○	○
22	GNA11	○	
23	GNAQ	○	
24	HRAS	○	
25	IDH1	○	
26	IDH2	○	
27	JAK1	○	
28	JAK2	○	
29	JAK3	○	
30	KIT	○	
31	KRAS	○	
32	MAP2K1	○	
33	MAP2K2	○	
34	MET	○	○
35	MTOR	○	
36	NRAS	○	
37	NTRK1		○
38	NTRK2		○
39	NTRK3		○
40	PDGFRA	○	○
41	PIK3CA	○	
42	PPARG		○
43	RAF1	○	○
44	RET	○	○
45	ROS1	○	○
46	SMO	○	

2.2.2 FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル（F1CDx） / FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル（F1LiquidCDx）

ハイブリッドキャプチャーシーケンス法を用いた Comprehensive genome profile (CGP) 検査である。F1CDx は腫瘍組織由来 DNA を、F1LiquidCDx は血漿中 ctDNA (circulating tumor DNA: 血中循環腫瘍 DNA) を解析対象とする。324 遺伝子を搭載し、309 遺伝子の塩基置換・挿入／欠失変異と遺伝子増幅、36 遺伝子の遺伝子融合（表 4）に加え、F1CDx ではマイクロサテライト不安定性 (MSI) および腫瘍変異負荷 (tumor mutation burden: TMB) の測定ができる。F1LiquidCDx ではコピー数変化は薬事承認範囲外となっている点には留意が必要である。

F1CDx はがんゲノムプロファイリング機能に加えてコンパニオン診断薬としての機能を持つのが特徴であり（表 5）、非小細胞肺癌では EGFR 変異 (exon19 del, exon21 L858R, exon20 T790M) に対するアファチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、オシメルチニブ、ALK 遺伝子融合に対するアレクチニブ、クリゾチニブ、セリチニブに加え、2019 年 12 月に ROS1 融合遺伝子に対するエヌトレクチニブ、2020 年 5 月に MET exon14 skipping 変異に対するカブマチニブが承認され、現在 4 遺伝子異常に対する 9 薬剤の投与判断のためのコンパニオン診断として使用可能となっている。また、他癌腫においても ERBB2 コピー数異常を有する乳癌や BRAF V600E/K 変異陽性の悪性黒色腫、KRAS/NRAS 野生型の大腸癌、NTRK1/2/3 融合遺伝子を有する固形癌のほか、BRCA1/2 遺伝子変異陽性の卵巣癌および前立腺癌、FGFR2 融合遺伝子を有する胆道癌に対し、それぞれの関連薬剤に対するコンパニオン診断としての使用が認められている。（表 5、および 3.3 保険点数についての留意点/11 ページについても参照のこと）。さらに 2021 年 6 月には MSI-high を有する結腸・直腸癌および固形癌に対する免疫チェックポイント阻害薬（ニボルマブおよびペムブロリズマブ）のコンパニオン診断としても承認された。

F1LiquidCDx は組織検査が困難な症例に対する遺伝子パネル検査として、2021 年 8 月に保険償還され、

F1CDx と同様にかんゲノムプロファイリング機能およびコンパニオン診断薬としての機能を有している。コンパニオン診断薬としては、非小細胞肺癌では *EGFR* 変異 (exon19 del, exon21 L858R, exon20 T790M) に対するアファチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブ、オシメルチニブ、*ALK* 遺伝子融合に対するアレクチニブ、クリゾチニブ、セリチニブ、*ROS1* 融合遺伝子に対するエヌトレクチニブに対して承認されているほか、*NTRK1/2/3* 融合遺伝子陽性の固形癌、*BRCA1/2* 遺伝子変異陽性の前立腺癌に対しても承認されている。(表 5)

融合遺伝子については、*ALK*、*NTRK1*、*NTRK2* 遺伝子については融合パートナーが搭載遺伝子以外でも検出可能だが、*NTRK3* 遺伝子については *NTRK3* 自体の搭載はなくパートナー遺伝子側から検出するため、搭載遺伝子がパートナーであった場合のみ検出可能であるため注意が必要である。搭載 36 遺伝子の中ではこれまでに *ETV6-NTRK3* 融合が多く報告されている⁴⁻⁶。

FoundationOne® CDx および FoundationOne® Liquid CDx は医療機器プログラムであり、検体はすべて米国 FMI (Foundation Medicine, Inc.) に送付され、DNA 抽出からシーケンス、データ解析、バイオインフォマティクスによるデータ確認と臨床的意義付けされたレポート作成まですべて米国で行われる。

表 4 FoundationOne CDx/FoundationOne Liquid CDx の搭載遺伝子リスト

●塩基置換、挿入/欠失、及びコピー数異常を検出するために全エクソン*領域を解析対象とする309の遺伝子

<i>ABL1</i>	<i>ACVR1B</i>	<i>AKT1</i>	<i>AKT2</i>	<i>AKT3</i>	<i>ALK</i>	<i>ALOX12B</i>	<i>AMER1</i>	<i>APC</i>	<i>AR</i>
<i>ARAF</i>	<i>ARFRP1</i>	<i>ARID1A</i>	<i>ASXL1</i>	<i>ATM</i>	<i>ATR</i>	<i>ATRX</i>	<i>AURKA</i>	<i>AURKB</i>	<i>AXIN1</i>
<i>AXL</i>	<i>BAP1</i>	<i>BAR1</i>	<i>BCL2</i>	<i>BCL2L1</i>	<i>BCL2L2</i>	<i>BCL6</i>	<i>BCOR</i>	<i>BCORL1</i>	<i>BRAF</i>
<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>	<i>BRD4</i>	<i>BRIP1</i>	<i>BTG1</i>	<i>BTG2</i>	<i>BTX</i>	<i>C11orf30</i>	<i>CALR</i>	<i>CARD11</i>
<i>CASP8</i>	<i>CBL</i>	<i>CBL</i>	<i>CCND1</i>	<i>CCND2</i>	<i>CCND3</i>	<i>CCNE1</i>	<i>CD22</i>	<i>CD274</i>	<i>CD70</i>
<i>CD79A</i>	<i>CD79B</i>	<i>CDC73</i>	<i>CDH1</i>	<i>CDK12</i>	<i>CDK4</i>	<i>CDK6</i>	<i>CDK8</i>	<i>CDKN1A</i>	<i>CDKN1B</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>CDKN2B</i>	<i>CDKN2C</i>	<i>CEBPA</i>	<i>CHEK1</i>	<i>CHEK2</i>	<i>CIC</i>	<i>CREBBP</i>	<i>CRKL</i>	<i>CSF1R</i>
<i>CSF3R</i>	<i>CTCF</i>	<i>CTNNA1</i>	<i>CTNNB1</i>	<i>CUL3</i>	<i>CUL4A</i>	<i>CXCR4</i>	<i>CYP17A1</i>	<i>DAXX</i>	<i>DDR1</i>
<i>DDR2</i>	<i>DIS3</i>	<i>DNMT3A</i>	<i>DOT1L</i>	<i>EED</i>	<i>EGFR</i>	<i>EP300</i>	<i>EPHA3</i>	<i>EPHB1</i>	<i>EPHB4</i>
<i>ERBB2</i>	<i>ERBB3</i>	<i>ERBB4</i>	<i>ERCC4</i>	<i>ERG</i>	<i>ERF1</i>	<i>ESR1</i>	<i>EZH2</i>	<i>FAM46C</i>	<i>FANCA</i>
<i>FANCC</i>	<i>FANCG</i>	<i>FANCL</i>	<i>FAS</i>	<i>FBXW7</i>	<i>FGF10</i>	<i>FGF12</i>	<i>FGF14</i>	<i>FGF19</i>	<i>FGF23</i>
<i>FGF3</i>	<i>FGF4</i>	<i>FGF6</i>	<i>FGFR1</i>	<i>FGFR2</i>	<i>FGFR3</i>	<i>FGFR4</i>	<i>FH</i>	<i>FLCN</i>	<i>FLT1</i>
<i>FLT3</i>	<i>FOXO2</i>	<i>FUBP1</i>	<i>GABRA6</i>	<i>GATA3</i>	<i>GATA4</i>	<i>GATA6</i>	<i>GID4(C17orf39)</i>	<i>GNA11</i>	<i>GNA13</i>
<i>GNAQ</i>	<i>GNAS</i>	<i>GRM3</i>	<i>GSK3B</i>	<i>H3F3A</i>	<i>HDAC1</i>	<i>HGF</i>	<i>HNFA1</i>	<i>HRAS</i>	<i>HSD3B1</i>
<i>ID3</i>	<i>IDH1</i>	<i>IDH2</i>	<i>IGF1R</i>	<i>IKZF1</i>	<i>IKZF2</i>	<i>INPP4B</i>	<i>IRF2</i>	<i>IRF4</i>	<i>IRS2</i>
<i>JAK1</i>	<i>JAK2</i>	<i>JAK3</i>	<i>JUN</i>	<i>KDM5A</i>	<i>KDM5C</i>	<i>KDM6A</i>	<i>KDR</i>	<i>KEAP1</i>	<i>KEL</i>
<i>KIT</i>	<i>KLHL6</i>	<i>KMT2A(MLL)</i>	<i>KMT2D(MLL2)</i>	<i>KRAS</i>	<i>LTK</i>	<i>LYN</i>	<i>MAF</i>	<i>MAP2K1</i>	<i>MAP2K2</i>
<i>MAP2K4</i>	<i>MAP3K1</i>	<i>MAP3K13</i>	<i>MAPK1</i>	<i>MCL1</i>	<i>MDM2</i>	<i>MDM4</i>	<i>MED12</i>	<i>MEF2B</i>	<i>MEN1</i>
<i>MERTK</i>	<i>MET</i>	<i>MITF</i>	<i>MKNK1</i>	<i>MLH1</i>	<i>MPL</i>	<i>MRE11A</i>	<i>MSH2</i>	<i>MSH3</i>	<i>MSH6</i>
<i>MST1R</i>	<i>MTAP</i>	<i>MTOR</i>	<i>MUTYH</i>	<i>MYC</i>	<i>MYCL</i>	<i>MYCN</i>	<i>MYD88</i>	<i>NBN</i>	<i>NF1</i>
<i>NF2</i>	<i>NFE2L2</i>	<i>NFKB1A</i>	<i>NKX2-1</i>	<i>NOTCH1</i>	<i>NOTCH2</i>	<i>NOTCH3</i>	<i>NPM1</i>	<i>NRAS</i>	<i>NT5C2</i>
<i>NTRK1</i>	<i>NTRK2</i>	<i>NTRK3</i>	<i>P2RY8</i>	<i>PALB2</i>	<i>PARK2</i>	<i>PARP1</i>	<i>PARP2</i>	<i>PARP3</i>	<i>PAX5</i>
<i>PBRM1</i>	<i>PDCD1</i>	<i>PDCD1L G2</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>PDGFRB</i>	<i>PDK1</i>	<i>PIK3C2B</i>	<i>PIK3C2G</i>	<i>PIK3CA</i>	<i>PIK3CB</i>
<i>PIK3R1</i>	<i>PIM1</i>	<i>PMS2</i>	<i>POLD1</i>	<i>POLE</i>	<i>PPARG</i>	<i>PPP2R1A</i>	<i>PPP2R2A</i>	<i>PRDM1</i>	<i>PRKAR1A</i>
<i>PRKCI</i>	<i>PTCH1</i>	<i>PTEN</i>	<i>PTPN11</i>	<i>PTPRO</i>	<i>QKI</i>	<i>RAC1</i>	<i>RAD21</i>	<i>RAD51</i>	<i>RAD51B</i>
<i>RAD51C</i>	<i>RAD51D</i>	<i>RAD52</i>	<i>RAD54L</i>	<i>RAF1</i>	<i>RARA</i>	<i>RB1</i>	<i>RBM10</i>	<i>REL</i>	<i>RET</i>
<i>RICTOR</i>	<i>RNF43</i>	<i>ROS1</i>	<i>RPTOR</i>	<i>SDHA</i>	<i>SDHB</i>	<i>SDHC</i>	<i>SDHD</i>	<i>SETD2</i>	<i>SF3B1</i>
<i>SGK1</i>	<i>SMAD2</i>	<i>SMAD4</i>	<i>SMARCA4</i>	<i>SMARCB1</i>	<i>SMO</i>	<i>SNCAIP</i>	<i>SOC1</i>	<i>SOX2</i>	<i>SOX9</i>
<i>SPEN</i>	<i>SPOP</i>	<i>SRC</i>	<i>STAG2</i>	<i>STAT3</i>	<i>STK11</i>	<i>SUFU</i>	<i>SYK</i>	<i>TBX3</i>	<i>TEK</i>
<i>TET2</i>	<i>TGFB2</i>	<i>TIPARP</i>	<i>TNFAIP3</i>	<i>TNFRSF14</i>	<i>TP53</i>	<i>TSC1</i>	<i>TSC2</i>	<i>TYRO3</i>	<i>U2AF1</i>
<i>VEGFA</i>	<i>VHL</i>	<i>WHSC1</i>	<i>WHSC1L1</i>	<i>WT1</i>	<i>XP01</i>	<i>XRCC2</i>	<i>ZNF217</i>	<i>ZNF703</i>	

*:遺伝情報をコードする塩基配列

●遺伝子融合等を検出するためにイントロン*領域等を解析対象とする36の遺伝子

<i>ALK</i> イントロン18,19	<i>BCL2</i> 3'UTR	<i>BCR</i> イントロン8,13,14	<i>BRAF</i> イントロン7-10	<i>BRCA1</i> イントロン2,7,8,12,16,19,20	<i>BRCA2</i> イントロン2	<i>CD74</i> イントロン6-8	<i>EGFR</i> イントロン7,15,24-27	<i>ETV4</i> イントロン5,6
<i>ETV5</i> イントロン6,7	<i>ETV6</i> イントロン5,6	<i>EWISRI</i> イントロン7-13	<i>EZR</i> イントロン9-11	<i>FGFR1</i> イントロン1,5,17	<i>FGFR2</i> イントロン1,17	<i>FGFR3</i> イントロン17	<i>KIT</i> イントロン16	<i>KMT2A(MLL)</i> イントロン6-11
<i>MSH2</i> イントロン5	<i>MYB</i> イントロン14	<i>MYC</i> イントロン1	<i>NOTCH2</i> イントロン26	<i>NTRK1</i> イントロン8-10	<i>NTRK2</i> イントロン12	<i>NUTM1</i> イントロン1	<i>PDGFRA</i> イントロン7,9,11	<i>RAF1</i> イントロン4-8
<i>RARA</i> イントロン2	<i>RET</i> イントロン7-11	<i>ROS1</i> イントロン31-35	<i>RSP02</i> イントロン1	<i>SDC4</i> イントロン2	<i>SLC34A2</i> イントロン4	<i>TERC</i> ノンコーディングRNA	<i>TERT</i> プロモーター	<i>TMPPRSS2</i> イントロン1-3

*:遺伝情報をコードしない塩基配列

表 5 F1CDx/F1LiquidCDxにおけるコンパニオン診断検査の対象となる遺伝子、癌腫および関連する薬剤

癌種	遺伝子変異等	関連する医薬品	
		F1CDx	F1 Liquid CDX
非小細胞肺癌	<i>EGFR</i> エクソン19欠失変異 およびエクソン21 L858R変異	・アファチニブマレイン酸塩 ・エルロチニブ塩酸塩 ・ゲフィチニブ ・オシメルチニブメシル酸塩	・アファチニブマレイン酸塩 ・エルロチニブ塩酸塩 ・ゲフィチニブ ・オシメルチニブメシル酸塩
	<i>EGFR</i> T790M変異	・オシメルチニブメシル酸塩	・オシメルチニブメシル酸塩
	<i>ALK</i> 融合遺伝子	・アレクチニブ塩酸塩 ・クリゾチニブ ・セリチニブ	・アレクチニブ塩酸塩 ・クリゾチニブ ・セリチニブ
	<i>ROS1</i> 融合遺伝子	・エヌトレクチニブ	・エヌトレクチニブ
	<i>MET</i> ex14 skipping変異	・カブマチニブ	-
悪性黒色腫	<i>BRAF</i> V600E及びV600K変異	・ダブラフェニブメシル酸塩 ・トラメチニブ ジメチルスルホキシド付加物 ・ベムラフェニブ	- - -
乳癌	<i>ERBB2</i> コピー数異常 (<i>HER2</i> 遺伝子増幅陽性)	・トラスツズマブ(遺伝子組換え)	-
結腸・直腸癌	<i>KRAS/NRAS</i> 野生型	・セツキシマブ(遺伝子組換え)	-
		・パニツムマブ(遺伝子組換え)	-
	高頻度マイクロサテライト不安定性	・ニボルマブ(遺伝子組換え) ・ペムブロリズマブ(遺伝子組換え)	- -
固形癌	<i>NTRK1/2/3</i> 融合遺伝子	・エヌトレクチニブ ・ラロトレクチニブ硫酸塩	・エヌトレクチニブ
	高頻度マイクロサテライト不安定性	・ペムブロリズマブ(遺伝子組換え)	-
卵巣癌	<i>BRCA1/2</i> 遺伝子変異	・オラパリブ	-
前立腺癌	<i>BRCA1/2</i> 遺伝子変異	・オラパリブ	・オラパリブ
胆道癌	<i>FGFR2</i> 融合遺伝子	・ペミガチニブ	-

2021 年 9 月時点の本邦における承認薬情報に基づいて作成した。

2.2.3 OncoGuide™ NCC オンコパネルシステム（NCC オンコパネル）

ハイブリッドキャプチャーシーケンス法を用いた CGP 検査である。2021 年 2 月の変更承認によって、がん関連 124 遺伝子の塩基置換・挿入／欠失変異と遺伝子増幅、*NTRK3* を加えた 13 遺伝子の遺伝子融合、TMB および MSI が検査可能となっている（表 6）。融合遺伝子はパートナー遺伝子にかかわらず検出可能である。腫瘍組織由来 DNA だけでなく、正常コントロールとして非腫瘍細胞（末梢血）由来 DNA を用いることで、まれな遺伝子多型も含め完全に除外でき、体細胞遺伝子変異と生殖細胞系列遺伝子変異も区別できるという特徴がある。

生殖細胞系列遺伝子変異については、遺伝性腫瘍の原因遺伝子として米国遺伝医学会(American College of Medical Genetics, ACMG) において担当医への返却が推奨され⁷、「ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言-その 1：がん遺伝子パネル検査を中心に(改訂第 2 版)」⁸において開示推奨度 AAA および AA の遺伝子として搭載がある 19 遺伝子 (*APC*, *BRCA1*, *BRCA2*, *MEN1*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *NF2*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RB1*, *RET*, *STK11*, *SMAD4*, *TP53*, *TSC1*, *TSC2*, *VHL*) についての病的バリエーションについて報告する仕様になっている（表 7、2021 年 9 月現在）。尚、その他の遺伝子のバリエーションについても参考情報として提供される。

DNA ライブラリー調整試薬キットと遺伝子異常解析プログラムからなるコンビネーション医療機器で、NextSeq™ 550Dx システムを用いることで、品質保証において ISO15189 等の第三者認証を受けている検査機関またはがんゲノム医療中核拠点病院で検査実施可能である。

表 6 OncoGuide™ NCC オンコパネルにおける解析遺伝子リスト

変異・増幅対象遺伝子 (124遺伝子)								融合対象遺伝子 (13遺伝子)
ABL1	BCL2L1/ BIM	DDR2	GNAQ	MAP2K2/ MEK2	NF2	PIK3R1	SETBP1	AKT2
ACTN4	BRAF	EGFR	GNAS	MAP2K4	NFE2L2/ Nrf2	PIK3R2	SETD2	ALK
AKT1	BRCA1	ENO1	HRAS	MAP3K1	NOTCH1	PMS2	SMAD4	BRAF
AKT2	BRCA2	EP300	IDH1	MAP3K4	NOTCH2	POLD1	SMARCA4/ BRG1	ERBB4
AKT3	CCND1	ERBB2/ HER2	IDH2	MDM2	NOTCH3	POLE	SMARCB1	FGFR2
ALK	CCNE1	ERBB3	IGF1R	MDM4	NRAS	PRKα	SMO	FGFR3
APC	CD274/ PD-L1	ERBB4	IGF2	MET	NRG1	PTCH1	STAT3	NRG1
ARAF	CDK4	ESR1/ER	IL7R	MEN1	NTSC2	PTEN	STK11/ LKB1	NTRK1
ARID1A	CDK6	EZH2	JAK1	MLH1	NTRK1	RAC1	TP53	NTRK2
ARID2	CDK12	FBXW7	JAK2	MSH2	NTRK2	RAC2	TSC1	NTRK3
ATM	CDKN2A	FGFR1	JAK3	MSH6	NTRK3	RAD51C	TSC2	PDGFRA
AXIN1	CHEK2	FGFR2	KDM6A/ UTX	MTAP	PALB2	RAF1/ CRAF	VHL	RET
AXL	CREBBP	FGFR3	KEAP1	MTOR	PBRM1	RB1		ROS1
B2M	CRKL	FGFR4	KIT	MYC	PDGFRA	RET		
BAP1	CTNNB1/ β-catenin	FLT3	KRAS	MYCN	PDGFRB	RHOA		
BARD1	CUL3	GNA11	MAP2K1/ MEK1	NF1	PIK3CA	ROS1		

太字：2021年2月医療機器製造販売承認事項一部変更承認により追加された遺伝子

表 7 OncoGuide™ NCC オンコパネルで検出可能な生殖細胞系列遺伝子変異

遺伝子	Major Phenotype	開示推奨度
APC	FAP	AAA
BRCA1	HBOC	AAA
BRCA2	HBOC	AAA
MEN1	MEN1	AAA
MLH1	Lynch	AAA
MSH2	Lynch	AAA
MSH6	Lynch	AAA
NF2	NF2	AA
PALB2	Breast Ca	AA
PMS2	Lynch	AAA
PTEN	PTEN hamartoma	AA
RB1	Retinoblastoma	AAA
RET	MEN2	AAA
SMAD4	Juvenile Polyposis	AA
STK11	Peutz-Jeghers	AA
TP53	Li-Fraumeni	AA
TSC1	Tuberous Sclerosis	AA
TSC2	Tuberous Sclerosis	AA
VHL	VHL	AAA

3. がんゲノム医療

3.1 がんゲノム医療の概要

前述の3種のF1LiquidCDx以外の遺伝子パネル検査は2019年6月1日にはじめて保険収載され、患者検体のゲノム情報を基に治療法を選択するゲノム医療が実地診療に導入された。それに先駆け、ゲノム医療の実施体制整備として、全国11施設のがんゲノム医療中核拠点病院（中核病院）および100施設のがんゲノム医療連携病院（連携病院）が2018年4月に指定された。その後、中核病院、連携病院の数は増加し、2019年9月にはがんゲノム医療拠点病院（拠点病院）が新設され、2021年9月現在、全国12施設の中核病院、33施設の拠点病院、180施設の連携病院が指定を受けている。

遺伝子パネル検査のがんゲノムプロファイリング機能は、搭載された遺伝子の全体または一部について、塩基置換・挿入／欠失変異、遺伝子増幅・欠失、遺伝子融合などの結果を包括的に解釈して治療方針を選択するための検査である。得られた結果が臨床上どういった意味を持つのか、どのような治療薬選択に繋がるのかなど、専門的知識に基づく解釈が必要となる。そのため、現状では中核病院および拠点病院が主催する専門家の会議体「エキスパートパネル」で検査結果に基づいた治療方針の検討を行うことが義務付けられており、検査可能施設も中核病院・拠点病院・連携病院に限られている。一方で、オンコマイン DxTT はコンパニオン診断薬であり、当該バイオマーカーが陽性／陰性という結果報告であるためエキスパートパネルでの議論は求められず、施設制限なく、どの施設からでも検査提出が可能である。

がんゲノムプロファイリング検査は、標準治療がない、若しくは終了した（見込みも含む）進行再発固形がん患者のうち、全身状態が良好な患者が保険適用で、検体提出からエキスパートパネルまで含めると検査結果が出るまでのturn-around time は4～6週間であり、その時点で化学療法が行える全身状態であるかどうか検査オーダー時に判断が必要である。保険の要件として年齢に対する条件はなく、小児がん患者も適応となる。現行の3学会合同ガイドンス¹において、特に遺伝子パネル検査が活用されるべきがん種として、標準治療が確立していない希少がんや小児がん、原発不明がんが挙げられている。一方、コンパニオン診断機能は、対象となるがん種が特定されており、オンコマイン DxTT は非小細胞肺癌のみが適応がん種とされている。

F1CDx/F1LiquidCDx は表5に示す遺伝子異常・治療薬のコンパニオン診断薬としての機能も持ち、コンパニオン診断機能のみに対してエキスパートパネルは不要である。

コンパニオン診断機能を持たない遺伝子パネル検査についても、検出された遺伝子変化に対して承認薬がある場合は、エキスパートパネルで推奨され担当医が適切と判断した場合は、コンパニオン診断薬で再検査することなく承認治療薬の投与が可能である⁹。

3.2 保険点数について

- オンコマイン DxTT : 11,000 点

非小細胞肺癌患者への抗がん薬による治療法の選択を目的として、患者1人につき1回のみ算定できる。オンコマイン Dx を算定した患者では、それぞれの単一遺伝子検査は算定できないが、EGFR 遺伝子検査のみは増悪後の2次変異（T790M）検索目的で別途算定が可能である。

- F1CDx / F1LiquidCDx, NCC オンコパネル : 56,000 点

標準治療がない、若しくは終了（見込み）の進行再発固形がん患者で、検査結果が返却される4-6週間後にも化学療法が可能な全身状態であることが見込まれる、主要臓器障害がなく全身状態良好な患者が対象となる。

検体を検査会社に提出した時点では8,000点が算定され、エキスパートパネルでの検討を経た後に、結果を患者に説明した時点で48,000点が算定可能である。

3.3 保険点数についての留意点

F1CDx / F1LiquidCDx のコンパニオン診断機能を用いる場合には、標準治療終了前の検査実施が保険上、認められているが、診療に用いることができるのは該当のコンパニオン診断結果のみであり、算定できる点数もコンパニオン診断分の 14,000 点および 11,000 点のみとなる（図 3）。その後、標準治療が終了した時点で、すべての解析結果をエキスパートパネルにかけること、プロファイリング機能部分の結果を診療に用いるとともに 48,000 点が算定可能となる。標準治療終了前に患者の全身状態が悪化した場合などは 48,000 点が算定できないことになるが、その場合でも検査会社に支払う検査費用は両者同額であるため、実際にはコンパニオン診断薬としては利用しやすい状況である。

なお、F1LiquidCDx の使用は、医学的な理由により肺癌組織を検体とした検査が実施困難な場合や、実施しても包括的なゲノムプロファイルの結果を得られなかった場合に限られており、実施の際にはその医学的な理由を診療録および診療報酬明細書に記載する必要がある。F1LiquidCDx を算定した患者では、F1CDx やそれぞれの単一遺伝子検査は算定できない。さらに、「血中循環腫瘍 DNA を用いたがんゲノムプロファイリング検査の適正使用に関する政策提言」¹⁰によると、肺癌組織による検査に比して血漿検体を用いることが優先される状況として、血漿検査が組織検体よりも CGP 検査時の病態をより反映すると考えられる場合や、早急な CGP 検査結果の返却が必要であると考えられる場合と言及されている。

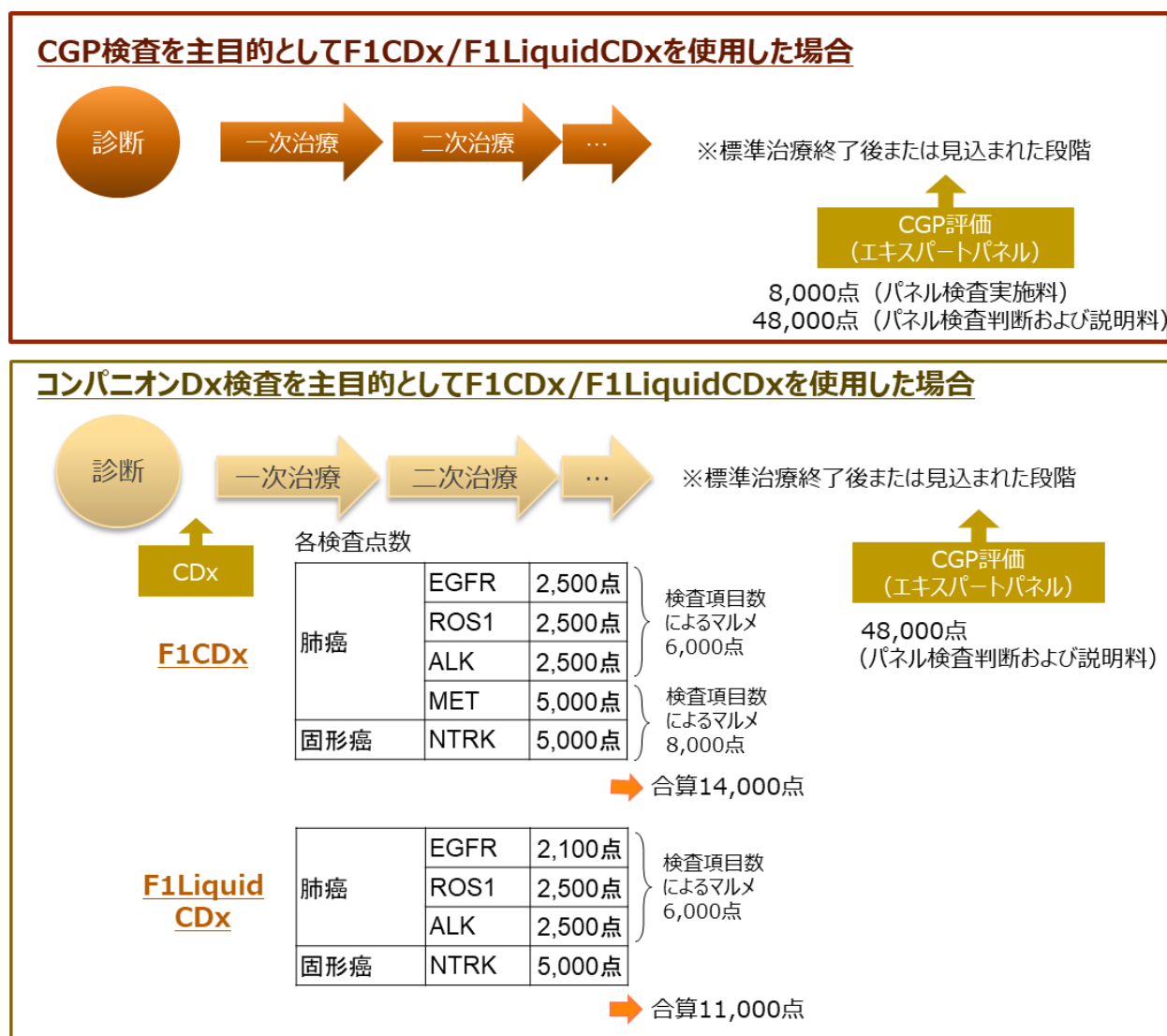


図 3 F1CDx/F1LiquidCDx における CGP 検査を目的とした場合とコンパニオン診断検査を目的とした場合との保険償還の違い

3.4 本手引きの適応範囲

本手引きでは実地診療で役立つ手引きとするのが目的であるため、組織検体（細胞診検体も含む）を対象としてコンパニオン診断として用いる場合に限定した記載とする。したがって、既存の単遺伝子解析によるコンパニオン診断とどのように組み合わせていくべきか、その際の注意点などに焦点を当てた。なお、CGP 検査の詳細については 3 学会合同ガイダンス¹を参照されたい。

4. 遺伝子パネル検査の対象患者と目的

4.1 F1CDx/F1LiquidCDx のコンパニオン診断について

F1CDx/F1LiquidCDx は、非小細胞肺癌については表 5 に示す通り、EGFR 阻害薬、ALK 阻害薬、ROS1 阻害薬、MET 阻害薬（F1CDx のみ）、固形癌では NTRK 阻害薬についてのコンパニオン診断薬としての解析学的・臨床的妥当性が示されている。3.3 項でも述べた通り、コンパニオン診断薬として使用する場合は、標準治療終了（見込み）という条件はなく、治療開始前からの検査が可能である一方、保険点数の仕組みからは、現状ではコンパニオン診断薬として使うことができない。

レポートには、最初に、「Companion Diagnostics (CDx) Associated Findings」というタイトルでコンパニオン診断に関わる遺伝子変異の検出結果と各変異に対する薬剤が記載される。コンパニオン診断薬として用いる場合でも全ての遺伝子についての解析結果も返却されるが、この「Companion Diagnostics (CDx) Associated Findings」に記載された結果のみ診療に使うことが保険上、認められている。

それ以外の結果を診療に用いるためには、現状の保険診療制度では、標準治療が終了（見込み）となった時点で、エキスパートパネルでの議論を経る必要がある。

4.2 オンコマイン DxTT のコンパニオン診断について

オンコマイン DxTT の対象は、非小細胞肺癌患者である。非小細胞肺癌での承認薬剤に対応する 5 つの遺伝子変化に対して解析学的・臨床的妥当性が示され、コンパニオン診断薬として承認されている（表 8）。この他、42 遺伝子についても変異情報が参考情報（研究目的）として返却されるが、治療に関連してその情報を使用することは制限されている。アンブリコンシーケンス法を用いているため、比較的少量の組織量からも解析が可能であり、FFPE 標本から同時に DNA と RNA を抽出し、DNA を用いて変異解析を、RNA で融合遺伝子解析を行う（図 4）。また、二次的所見が得られる可能性に乏しい点、承認薬投与適否を判断するためのバイオマーカーの有無が陽性/陰性と報告され判断に迷うことがないことから、がんゲノムプロファイリング検査とは一線を画すため、エキスパートパネルでの検討の必要はない。

解析結果が得られない場合は原因によって「検査不可能」もしくは「判定不能」の 2 つの理由が添付されて返却される。「検査不可能」とは抽出核酸量・核酸品質等で検体が不適格な場合で、「判定不能」とは十分なリード数が得られなかったり、バックグラウンドのノイズが多く、適切な結果と考えられなかった場合である。このため、「検査不可能」では抽出後速やかにその結果が分かり、まったく結果は返却されないのに対し、「判定不能」ではシーケンス結果が得られてから通知される。この場合、参考値として変異検出が可能であった遺伝子結果が返却されることもある。

表 8 オンコマイン DxTT のコンパニオン診断テスト承認取得遺伝子と関連医薬品

遺伝子	遺伝子変異等	関連する医薬品
EGFR	Ex19Del, L858R, まれな変異	ゲフィチニブ、エルロチニブ、 アファチニブ、オシメルチニブ
ALK	ALK fusion	クリゾチニブ、アレクチニブ
ROS1	ROS1 fusion	クリゾチニブ、エヌトレクチニブ
BRAF	BRAF V600E	ダブラフェニブ+トラメチニブの併用投与
RET	RET fusion	セルベルカチニブ

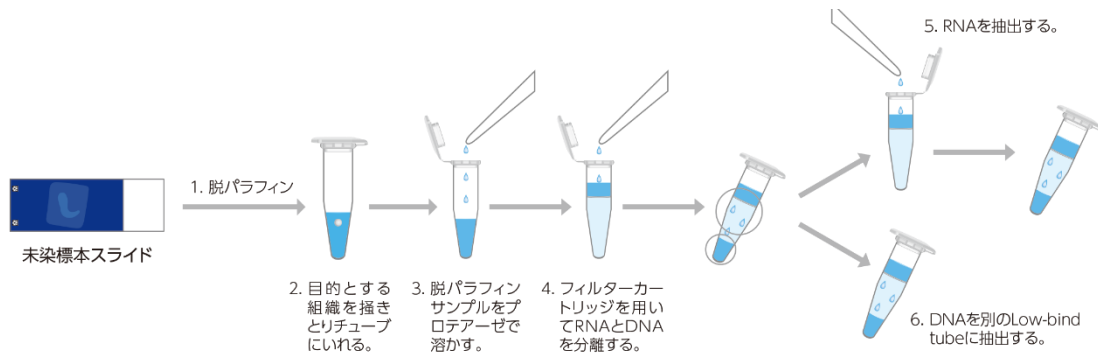


図4 オンコマイン DxTT における腫瘍組織からの核酸抽出。同一標本から *DNA* と *RNA* を同時に抽出する。

5. 生検検査の採取について

病変の局在・大きさや、施設で実施可能な手技に応じて、適当な検体採取方法を選択する必要があり、肝・骨生検や超音波内視鏡下穿刺吸引法（EUS-FNA）、外科的生検を考慮する場合は、他科との連携が重要である。気管支内視鏡検査では特に検体が微小であり、様々な工夫が必要である。末梢肺結節に対する腫瘍生検では、仮想気管支鏡画像やナビゲーションの併用は病変への確実な到達を容易にし、気管支腔内超音波断層法（EBUS）にガイドシース法（EBUS-GS 法）もしくは細径気管支鏡（EBUS-UT 法）を併用することで再現性が高まり、数多くの検体の採取が可能になる。ただし同一部位で生検を重ねると、後半になるにつれて出血によるアーチファクトが発生する可能性を考慮する必要があり、採取部位を少しずつ変更するなどの工夫をする。一度の生検で大きな検体を採取するために、可能であれば大型の生検鉗子やガイドシースキットを用いる。関与気管支が腫瘍辺縁にしか到達しないような病変では、末梢での経気道的針穿刺後に鉗子生検を行うことでより腫瘍細胞割合の高い検体が採取される。また、昨年国内で承認された経気道的生検方法のクライオバイオプシーでは、大きな検体が採取可能で、国立がん研究センター東病院の解析結果では採取された *DNA*・*RNA* 量は鉗子生検の約3倍で、NGS 解析成功割合は有意に高かった¹¹⁾。

超音波ガイド下経気管支針生検（EBUS-TBNA）では、19～25G 穿刺針が使用可能で、22G 針で NGS 解析が十分に可能であったとする報告がある¹²⁾。腫瘍細胞含有率の低下を回避するためには、エラストグラフィを含めた超音波所見による穿刺部位の決定（図5A）、slow pull 法（図5B）や迅速細胞診（ROSE 法）の併用が有効である¹³⁾。

胸水貯留例においては、これまで胸水細胞診検体やセルブロックが確定診断やその後の遺伝子検査に提出されていることが多かったが、腫瘍細胞割合は低く、注意が必要である。胸腔鏡下に壁側胸膜を生検することで質の高い検体が多く採取可能で、局所麻酔下に安全に施行できるので、可能であれば考慮してもよい。

（本項目については、国立がん研究センター東病院 呼吸器内科の桐田圭輔先生の協力を得た）

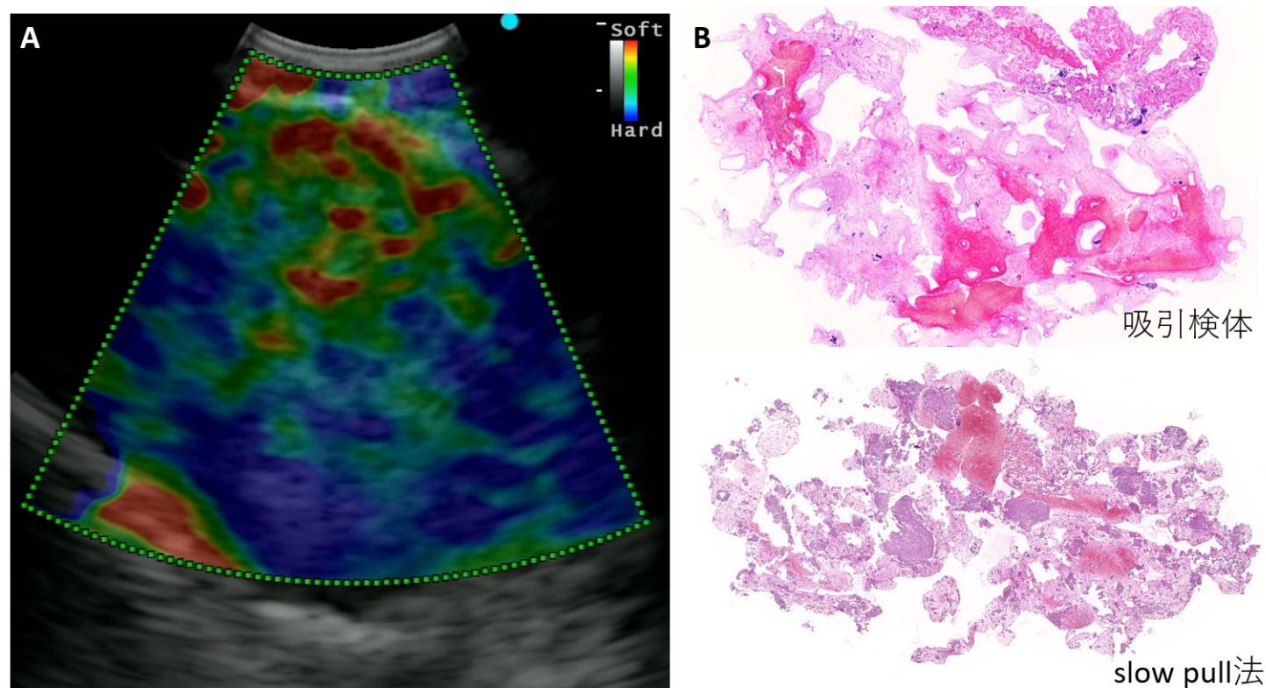


図5 生検採取の注意点

- A. エラストグラフィではリンパ節内での硬さが評価可能であり、硬い部位（青）から穿刺を行うことで良質な検体が採取できる。
- B. EBUS-TBNA 検体での吸引検体（上段）と *slow pull*法（下段）の比較。吸引検体では血液の混入が多く、腫瘍細胞が十分採取されていない。

6. 検査検体と検体取扱い上の注意点

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 標本が推奨されている。新鮮凍結組織や凍結細胞診検体からの解析も可能であるが、腫瘍細胞含有率を評価することが必要である。FFPE 標本であれば、手術切除標本、生検検体、セルブロック検体を用いることが可能であるが、解析に適しているかどうかについては腫瘍細胞含有率および標本組織量によって決定される（表9）。

表9 それぞれのアッセイでの標本に求められる条件

	オンコマイン DxTT	FoundationOne CDx	NCC オンコパネル
腫瘍細胞含有率	≥30%	≥20%	≥20%
組織量（DNA 量）	10 - 100 ng	50 - 1000 ng	≥200 ng
推奨組織面積	-	≥25mm ²	≥16mm ²
推奨未染 FFPE スライド	5μm x 10 枚	4-5μm x 10 枚	5μm x 10 枚 (or 10μm x 5 枚)
補足	組織面積≤4mm ² の場合は 15 枚以上必要	組織面積<25mm ² の場合は 切片の合計体積が 1mm ³ 以上になるよう枚数を追加	少なくとも≥4mm ² あれば 解析可能

6.1 腫瘍細胞含有率

NGS によるアッセイ法の導入により初めて必要となる評価項目であり、解析対象となる組織における有核細胞のうち、腫瘍細胞の核が占める割合を意味する。ダイセクションを行って提出組織の一部を解析に用いる場合は、ダイセクションする領域における有核腫瘍細胞割合となる。この腫瘍細胞含有率が重要になる理由としては、図 6 腫瘍細胞含有率の違いによる変異アリル頻度の違いに示すように、腫瘍細胞含有率が低いと得られるシーケンスデータにおける変異アリル頻度が低くなるためである。変異の検出はシーケンスされるリード数と関連し、シーケンスエラーなどで発生する偽陽性と区別するため、カットオフ値は統計学的に安全域を設けて設定されている（図 7）。そのため、規定以下の腫瘍細胞量以下であった場合は、変異アリル頻度がカットオフ値より低くなる場合があり、偽陰性を示す場合もある。公表されている最小検出限界(Limit of Detection, LOD)をもとに考えると、オンコマイン DxTT では、*EGFR* 変異 L858R は 10.6%、Ex19Del は 8.8%の腫瘍細胞含有率がないと検出できず、*BRAF* V600E 変異は 12.8%以上の腫瘍細胞含有率が必要となる。

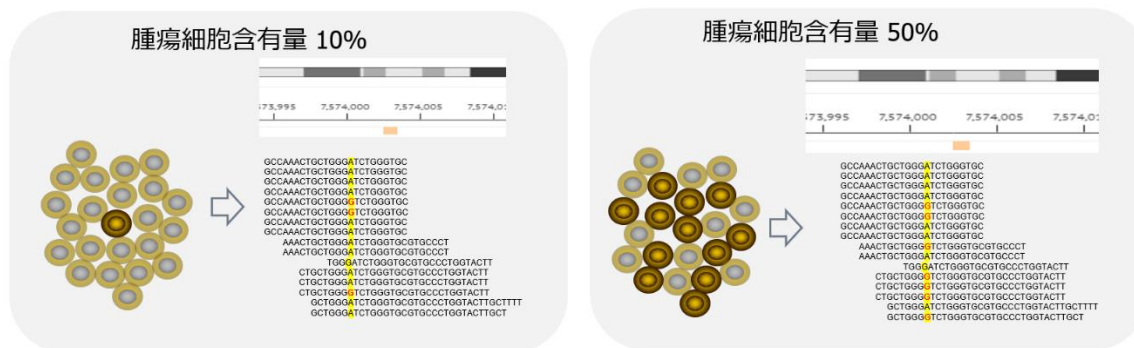


図 6 腫瘍細胞含有率の違いによる変異アリル頻度の違い

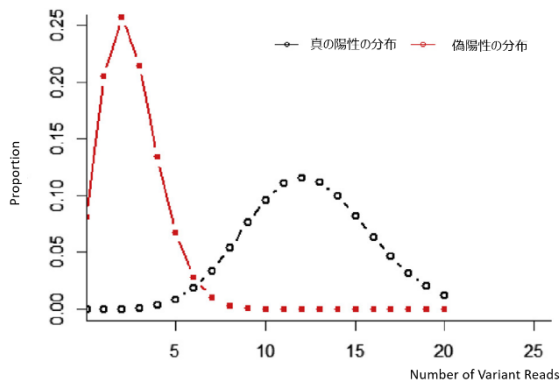


図 7 シーケンスエラー 1%とした場合の偽陽性の 2 項分布および腫瘍細胞 10%で 250リードシーケンスした場合の真の陽性についての 2 項分布。低い変異アリル頻度の場合、真の陽性と偽陽性とが重なるところがある。(J Mol Diagn 2017;19:341-365より引用)

腫瘍細胞含有率は、腫瘍細胞を正確に同定することができる病理診断医の評価が必須となる。しかしながら、遺伝子パネル検査では厳密に求められる指標であり、腫瘍細胞占有率（面積での割合）と混同される場合もあることから注意が必要である（図 8）。また、病理診断医の評価は、これまでの経験をもとに判断されることが多く、その場合過剰評価する傾向があることが知られている¹⁴⁻¹⁶。その一つの原因として、具体的にどのように計測すべきについての詳細な説明に乏しいことが挙げられ、その方法についての解説を受けることで改善することが報告されている¹⁶。代表的な例を巻末に提示したので参照されたい。

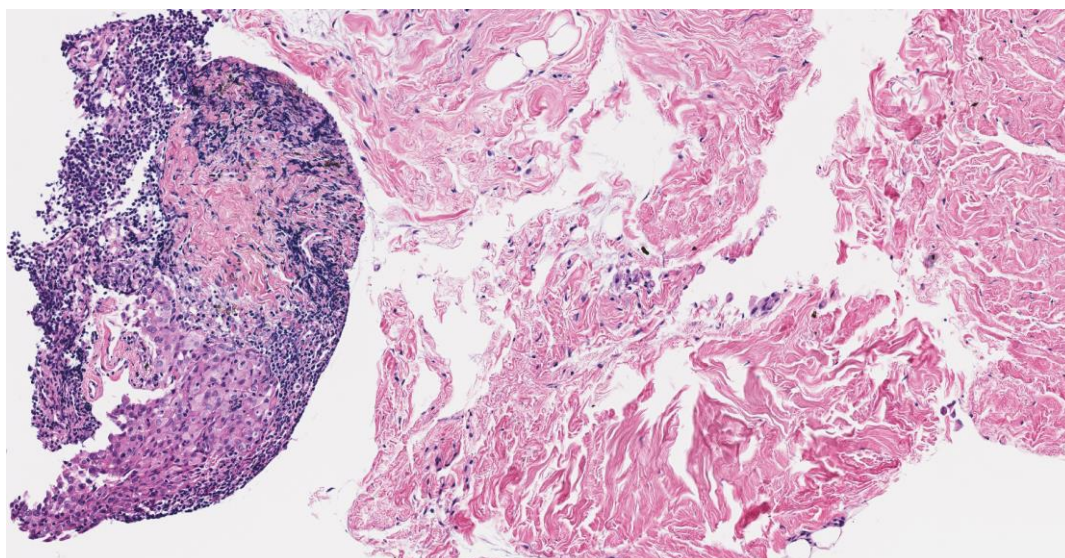


図8 肺扁平上皮癌リンパ節転移巣の針生検組織の例。面積としては線維性結合組織が70%を占めているが、左断片（リンパ球浸潤と腫瘍細胞からなる）に対し、線維性結合組織の有核細胞数は無視できるほど少ない。また、リンパ球は小さな面積しか持たないため、単位面積としては、腫瘍細胞1つあたり3〜7つのリンパ球が占めることになる。遺伝子パネル検査ではDNAでの比較となるため、占有面積ではなく、有核細胞比率で考える必要がある（この写真では有核腫瘍細胞含有率は15%となる）。

6.2 標本組織量

それぞれのアッセイ法によって必要とされる組織量が異なる。これは解析対象となる最小DNA量が異なるためであり、それぞれのアッセイ法での必要DNA量は表9に示した。各アッセイ法で必要とされる未染FFPEスライドの条件は示されているが（表9）、手術切除標本、生検検体、セルブロック検体など検体によって腫瘍サイズが大きく異なっており、実際に未染標本何枚を提出すべきかは腫瘍含有率ともあわせて症例ごとに判断する必要がある。表10に検体タイプごとの5μm未染標本1枚あたりの平均DNA・RNA収量を示す。提出する検体量を考慮する際の大まかな目安として参照されたい。また、一部の例を巻末に示したので参照されたい。

表10 検体タイプごとのオンコメインに提出した検体での5μm未染標本1枚あたりの平均的DNA・RNA収量

検体種類	5μm 厚未染標本1枚当たりの平均的DNA収量 (95% CI)	5μm 厚未染標本1枚当たりの平均的RNA収量 (95% CI)
EBUS-TBNA (n=65)	1.9 ng/μl (1.5-2.3)	1.4 ng/μl (1.0-1.8)
TBB (n=50)	1.4 ng/μl (0.9-1.9)	1.5 ng/μl (0.9-2.0)
EBUS-TBNA (n=65)	1.9 ng/μl (1.5-2.3)	1.4 ng/μl (1.0-1.8)
針生検 (n=9)	1.8 ng/μl (1.2-2.4)	1.7 ng/μl (1.1-2.3)
胸腔鏡 (n=8)	4.9 ng/μl (2.3-7.4)	9.7 ng/μl (2.4-17.0)
手術検体 (n=44)	9.3 ng/μl (8.3-10.4)	22.5 ng/μl (20.0-24.9)

Jpn J Clin Oncol. 2021 Apr 21;hyab059. doi: 10.1093/jjco/hyab059 (PMID: 33881137)で発表したデータ（国立がん研究センター中央病院 竹安優貴先生提供）

7. 既存の単一遺伝子コンパニオン診断検査との使い分け

現在、保険診療で実質的に初回薬物療法選択に用いることができる遺伝子検査は、オンコマイン DxTT とこれまでの単一遺伝子コンパニオン診断検査のみである。それぞれの長所・短所については表 11 にまとめた。

表 11 既存の単一遺伝子コンパニオン検査とオンコマイン DxTT の比較（網掛け部分は短所と考えられる項目）

単一遺伝子検査	オンコマイン DxTT
小さな検体でも検査可能	20-30%の腫瘍細胞含有率が必要
TAT が短い（～1wk）	TAT がやや長い（～2wks）
対象の単一遺伝子のみ	コンパニオン検査以外の遺伝子も 参考情報（研究目的）ではあるが測定可能
全バイオマーカーを調べるには多数の未染標本が必要 （20～30 枚）	10 枚の未染標本が標準
BRAF にはオンコマイン DxTT 以外の 単一遺伝子コンパニオン検査がない	すべてのコンパニオン検査が含まれる
検査の順番などを症例に応じてアレンジできる	同時に結果が返却

また、その使い分けについて特に留意すべき点として以下の点が挙げられる。

7.1. 結果返却までの時間（Turnaround time, TAT）

オンコマイン DxTT はおおむね 2 週間以内には返却されるのに対し、ドライバー変異のおよそ 40-50%を占める *EGFR* 変異を検出するためのコバス® *EGFR* 変異検出キット v2.0（Cobas *EGFR* V2 検査）はおおよそ 1 週間程度、PD-L1 テスト、ALK などの免疫組織染色法も約 1 週間と結果を得るのに要する期間に違いがある。

7.2. 解析成功率

遺伝子パネル検査は 2019 年 6 月に初めて臨床導入され、当初 *BRAF* 変異検出のための診断倫理供給時のいくつかのデータでは解析成功率は 72-76%程度とされていた¹⁷。しかしその後、遺伝子パネル検査のための最適な検体や採取方法、検体処理などの実践的な経験やデータの蓄積により解析成功率は改善してきており、現在では多くの施設から 90%以上の高い成功率が報告されている^{18, 19}。国立がん研究センター中央病院でのオンコマイン DxTT を用いた遺伝子パネル検査の報告では、解析された 136 例の生検検体のうち 9 検体が解析不能（検体不良 3 検体、判定不能 6 検体）で解析成功率は 93%であった。解析成功率には腫瘍細胞含有率および検体の大きさが関連し、検体の大きさが 4mm² 未満の場合には 75%の解析成功率であるのに対し、4mm² 以上では全例で解析可能だったとしている。現在、オンコマイン DxTT を施行する際に検体の大きさが 4mm² に満たない場合には 5μm の FFPE 切片を通常 10 枚のから 15 枚以上に増やして提出するよう推奨されている。また、採取から 3 年以上経過した検体では成功率が低下すると報告されており、高い解析成功率を得るための適切な検体選択が求められる¹⁸。

なお、単一遺伝子コンパニオン診断検査もしくはオンコマイン DxTT の解析の結果データが得られなかった場合については、保険診療上の D004-2 留意事項として「患者 1 人につき 1 回に限り算定する」とされている。上記のように解析成功率は上昇しているものの、検体によって一定頻度で解析不成功例も存在し、この場合でも衛生検査所からの請求は発生するが、単一遺伝子検査で再検査を行う場合には保険請求することができない。すなわち、保険要件上、オンコマイン DxTT で解析不成功の場合、単一遺伝子検査での再検査を行う場合は、その費用の全額が病院負担となる。このように実質上、再検査ができない保険診療制度となっているため、効果の高い分子標的治療薬による治療機会を得るという患者権利を守るために、今後の見直しが求められる。

8. FAQ

Q1. 進行再発非小細胞肺癌患者の初回治療前の治療薬選択にはどうしたらよいか？

複数のバイオマーカーを同時に検索できるためオンコマイン DxTT が勧められる。ただし、Q2 に示す点に留意する必要がある。

Q2. 単一遺伝子検査が推奨される場合、遺伝子パネル検査が推奨される場合とは？

Q1 に記したように複数のバイオマーカーを同時に検索できるためオンコマイン DxTT を行うことが勧められるが、以下のような場合は単一遺伝子検査を考慮する必要がある。

- 遺伝子パネル検査に適さない検体しか得られない場合。例えば、組織量が足りないと判断された場合、腫瘍細胞含有率が低い場合、過去の細胞診検体しかない場合など。
- 患者の全身状態が悪く、遺伝子パネル検査の TAT を待てない場合。
- 遺伝子パネル検査で解析不能となった場合、当該患者のバイオマーカー検査に重大な支障をきたす場合。例えば、臨床的に再検査が不可能であったり、いったん使用してしまうと組織量が足りずそれ以上の検査ができないなど。

Q3. 分子標的治療 PD 後の獲得耐性機序に基づく治療薬選択目的には用いられるか？

オンコマイン DxTT は保険上、1 患者 1 回のみとされているため、1 次治療で分子標的治療薬後の EGFR-TKI 耐性変異検出のためには、再検査が保険上も認められている単一遺伝子検査（Cobas EGFR V2 検査）を行う。オンコマイン DxTT ではまれな EGFR 変異として T790M が検出できるが、EGFR T790M 陽性患者に対する二次治療としてのオシメルチニブの適応判定の補助を行う既承認の体外診断用医薬品との同等性は評価されていない。

また、第 1 世代、第 2 世代の EGFR-TKI に対する治療可能な耐性変異は T790M であるが、オシメルチニブの耐性としては T790M が出現することはほとんどなく、最も多い C797S は Cobas EGFR V2 検査でも解析対象遺伝子に入っていない。

ALK 融合遺伝子陽性肺癌では、耐性変異の種類によって薬剤の効果に差があることが報告されているが、実地診療では ALK 変異の検索は保険診療となっていない。

Q4. 複数のコンパニオンパネル検査の使い分けは？

現行の保険制度では、オンコマイン DxTT、F1CDx とともに肺癌の承認された分子標的治療薬のあるすべてのバイオマーカーをカバーしていない。オンコマイン DxTT では MET ex14 skipping 変異および NTRK 融合遺伝子に対するコンパニオン診断が認められておらず、それぞれ対応する別のコンパニオン診断検査が必要である。BRAF V600E、RET 融合遺伝子に対してはオンコマイン DxTT が承認された唯一のコンパニオン診断検査である。また、F1CDx はコンパニオン診断機能もあり、保険診療でオーダーすることはできるが、施設が経済的な負担を担うことになり実質的には行うことが難しい。詳しくは記述の「3.3 保険点数についての留意点」を参照されたい。F1LiquidCDx は組織検査が困難な症例で使用を考慮することができるが、保険診療上の取り扱いには F1CDx と同様の注意を要する。さらに、血液検体と組織検体との結果の一致率は 75%との報告もあることから、その結果の解釈についても注意が必要である²⁰。また、参考までに、DNA キャプチャーによる融合遺伝子検出法（F1CDx、NCC オンコパネル）ではイントロン領域の繰り返し配列などにより検出が難しいことが知られており、ROS1 では intron 31 の検出率が落ちることが知られている²¹。

Q5. 適切な検体とは？

単一遺伝子検査同様に、ホルマリン溶液、固定時間に関しては細心の注意を払う必要がある。そのほか、遺伝子

パネル検査に重要な組織量・腫瘍細胞含有率は検体採取方法によって大きく変動する他、それぞれの腫瘍の特性によっても異なるため、どの検体が解析に適しているということは一概にいうことはできない。しかしながら、一般的に TBLB 検体や EUS-FNA 検体では組織量が、胸水セルブロック、リンパ節検体では腫瘍細胞含有率が問題となることが多い。オンコマイン DxTT では、凍結組織においても検討が可能であり、TBLB・胸水の洗浄残余などの凍結ペレットも検査可能なことが多い。この場合、腫瘍細胞含有率の担保は提出医療機関が請け負うことになっているため、偽陰性を防ぐためには(6.1 腫瘍細胞含有率を参照)、凍結検体の腫瘍細胞含有率の評価を医療機関で行う必要がある。

Q6. 腫瘍細胞含有率はどうに評価すればよい？

経験のある病理診断医による評価が必須となる。評価には面積比ではなく、有核細胞比率になる点に留意する必要がある。一般に、腫瘍細胞含有率は過大評価される傾向が知られており、過大評価によって偽陰性を導く可能性がある。組織内有核細胞を 1 つ 1 つカウントして自分の評価と比較するなど、病理診断医は十分な経験を積む努力が求められる。代表的な腫瘍細胞含有率の評価例を巻末に提示したので参照されたい。

Q7. 遺伝子パネル検査が Failure であった場合にする？

遺伝子パネル検査がどのような理由で failure であったかが明らかになり、その原因に沿った対策を立てる。DNA の質が問題であった場合には、固定法に問題があることが多いため、再生検などを考慮する。組織量、腫瘍細胞含有率が問題であった場合には、発生頻度の高い EGFR 単一遺伝子検査が可能であるか検討し、可能であればそれを行う（→ 7.2 解析成功率を参照）。同様にその他のドライバー変異に対する単一検査を実施する。ただし、ROS1 および BRAF V600E については、不適となった同一検体を単一遺伝子検査に用いることはできない。ROS1 のコンパニオン診断テストである OncoGuide[®] AmoyDx[®] ROS1 融合遺伝子検出キットにおいても 30%の腫瘍細胞含有率が要求されており、BRAF V600E 変異に対する単一遺伝子コンパニオン診断テストは存在しないためである。これらについては再生検などによって異なる検体を用いる必要がある。承認された検査ではないが、ROS1 IHC, BRAF V600E IHC をスクリーニングとして用いることも臨床的に有用な示唆を与える^{22, 23}。MET ex14 skipping 変異、NTRK 融合遺伝子に対してオンコマイン DxTT はコンパニオン診断検査となっていないが、要望に応じて研究目的の参考情報として返却される。検体不良等によりこれらの情報が得られない場合でも、MET ex14 skipping 変異のコンパニオン診断テストである Archer[®] MET は腫瘍含有率 10%以上、検体の総面積 20mm² 以上であれば使用可能であり、オンコマイン DxTT で failure になった検体も用いることができる。また、この条件にも満たない検体の場合には感度が低いことに十分に留意しつつ血漿での Archer[®] MET 検査を考慮できる（肺癌患者における MET ex14 skipping 検査の手引き参照）。NTRK のコンパニオン診断テストである F1CDx はオンコマイン DxTT より多くの核酸量が要求されることから、同一検体を F1CDx に用いることはできないが、NTRK IHC によるスクリーニングの結果は再生検について検討する上で有用な情報となる。尚、前述のように現行の保険制度では、単一検査で再検査を行う場合には保険請求ができないことに留意が必要である。

Q8. 現在の遺伝子パネル検査を含めた実用的なアルゴリズムとは？

臨床的な治療緊急性の評価のほか、十分な経験を持った病理医による検体の評価（腫瘍細胞含有率、検体量、固定方法・時間、保存状態）を行うことが必須である。具体的なアルゴリズムの例について図 9 に示した。治療開始の緊急性や採取された検体の状態に応じて遺伝子パネル検査実施の是非を判断し（Q1 参照）、施行された遺伝子パネル検査が Failure となった場合には、その原因によって再生検や単一検査でのドライバー遺伝子検査を検討する（Q7 参照）。オンコマイン DxTT で結果が得られた場合には、それに基づいて治療選択を行う。

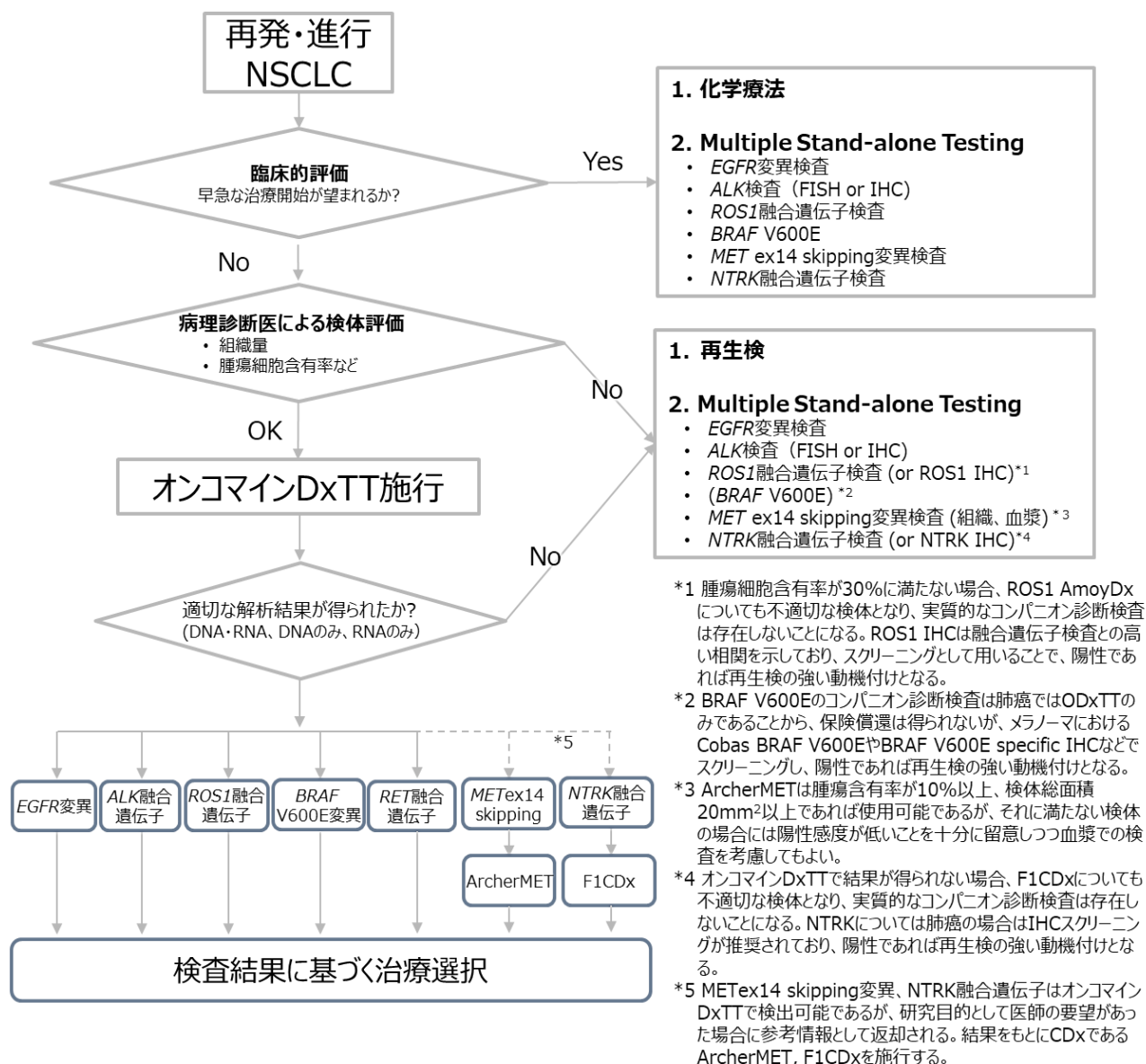


図9 遺伝子パネル検査を用いる場合の実用的なアルゴリズムの例

前述のように *MET* ex14 skipping 変異および *NTRK* 融合遺伝子はオンコマイン DxTT で陽性所見が得られた場合にも Archer[®]MET および F1CDx での確認が必要となっており、これによって治療開始までに時間を要する上、F1CDx は病院の経済的な面から現実的に施行困難な状況である。このためオンコマイン DxTT での *MET*, *NTRK* の検査結果をもって治療開始が出来るような保険制度の見直しを求める意見が強いが、その一方でオンコマイン DxTT とこれらのコンパニオン CDx の同等性が証明されていない点には十分な注意が必要である。実際に、*MET* ex14 skipping 変異の検出に関してはオンコマイン DxTT と Archer[®]MET の間に少なからず不一致が含まれ、中でも *MET* ex14 skipping リード数と関連していることが示されている (800 以下の場合には不一致が生じやすい)²⁴。このような事実を踏まえると現時点では承認されているコンパニオン診断薬の結果をもって投与の可否を判断せざるを得ないが、現行の保険制度の中では適切な治療の機会を逃してしまう可能性があるのも事実である。科学的なエビデンスに基づいて患者が適切な治療を受けられるような体制を整備し、より実用的なアルゴリズムを構築していく姿勢が求められる。

9. 最後に

次世代シーケンサーを用いた遺伝子パネル検査は分子標的薬による個別化医療を支える大きな原動力となっており、低頻度の遺伝子変化に対する分子標的薬のさらなる増加に伴い、肺癌診療におけるバイオマーカー検査は今後さらに遺伝子パネル検査に移行していくと考えられる。治療効果の高い分子標的薬を適切な患者に確実かつ効率的に届けるためには、より検査の精度を高める必要があり、そのためには検体採取、検体作製、検体選別および検査結果の解釈のすべてを適切に行う必要がある。また、検査の効率や費用の問題から、治療の適応となる患者が不利益を被ることのないような保険診療制度の整備など今後解決すべき課題も多く、これには臨床でのデータの積み重ねや問題提起なども重要となるであろう。本手引きが実地臨床における遺伝子パネル検査の一助になれば幸いである。

10. 参考文献

1. 日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会合同. 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 (第 1.0 版). Available at <https://www.jca.gr.jp/researcher/topics/2017/171013.html>.
2. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol* 2018;13:323-358.
3. 日本肺癌学会. オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システムのまれな EGFR 遺伝子変異に関する取扱いについて. Available at https://www.haigan.gr.jp/uploads/files/%E3%82%AA%E3%83%B3%E3%82%B3%E3%83%9E%E3%82%A4%E3%83%B3%EGFR%20uncommon%20mutation%E5%8F%96%E6%89%B1%E3%81%84%E3%83%AC%E3%82%BF%E3%83%BC%20190712_%E7%A4%BE%E5%8D%B0_r%281%29.pdf.
4. Pinto A, Nose V, Rojas C, et al. Searching for mammary analogue [corrected] secretory carcinoma of salivary gland among its mimics. *Mod Pathol* 2014;27:30-37.
5. Schram AM, Chang MT, Jonsson P, et al. Fusions in solid tumours: diagnostic strategies, targeted therapy, and acquired resistance. *Nature reviews Clinical oncology* 2017;14:735-748.
6. Skalova A, Vanecek T, Majewska H, et al. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands with high-grade transformation: report of 3 cases with the ETV6-NTRK3 gene fusion and analysis of TP53, beta-catenin, EGFR, and CCND1 genes. *Am J Surg Pathol* 2014;38:23-33.
7. Kalia SS, Adelman K, Bale SJ, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med* 2017;19:249-255.
8. 日本医療研究開発機構(AMED). ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言-その 1 : がん遺伝子パネル検査を中心に (改訂第 2 版). Available at <https://www.amed.go.jp/content/000056785.pdf>, <https://www.amed.go.jp/content/000056448.pdf>.
9. 厚生労働省保険局医療課. 遺伝子パネル検査の保険適用に係る留意点について. Available at <https://ajhc.or.jp/siryo/20190531-2.pdf>.
10. 3 学会合同ゲノム医療推進タスクフォース(日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会). 血中循環腫瘍 DNA を用いたがんゲノムプロファイリング検査の適正使用に関する政策提言. Available at http://www.jsco.or.jp/jpn/user_data/upload/File/20210120.pdf.
11. Udagawa H, Kirita K, Naito T, et al. Feasibility and utility of transbronchial cryobiopsy in precision medicine for lung cancer: Prospective single-arm study. *Cancer Sci* 2020;111:2488-2498.
12. Dooms C, Vander Borgh S, Yserbyt J, et al. A Randomized Clinical Trial of Flex 19G Needles versus 22G Needles for Endobronchial Ultrasonography in Suspected Lung Cancer. *Respiration; international review of thoracic diseases* 2018;96:275-282.
13. He X, Wu Y, Wang H, et al. Slow-pull capillary technique versus suction technique in endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for diagnosing diseases involving hilar and mediastinal lymph node enlargement. *Therapeutic advances in respiratory disease* 2020;14:1753466620907037.
14. Smits AJ, Kummer JA, de Bruin PC, et al. The estimation of tumor cell percentage for molecular testing by pathologists is not accurate. *Mod Pathol* 2014;27:168-174.
15. Viray H, Li K, Long TA, et al. A prospective, multi-institutional diagnostic trial to determine pathologist accuracy in estimation of percentage of malignant cells. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:1545-1549.
16. Mikubo M, Seto K, Kitamura A, et al. Calculating the Tumor Nuclei Content for Comprehensive Cancer Panel Testing. *J Thorac Oncol* 2019.
17. 吉田達哉. PD3-2 がん専門病院における肺癌ゲノム診療の現状. 第 17 回 日本臨床腫瘍学会学術集会. 京都:

2019.

18. Takeyasu Y, Yoshida T, Motoi N, et al. Feasibility of next-generation sequencing (OncoPrint™ DX Target Test) for the screening of oncogenic mutations in advanced non-small-cell lung cancer patients. *Japanese journal of clinical oncology* 2021.

19. Fukui T, Sakai K, Sasaki J, et al. Implementation of clinical sequencing for molecular profiling in patients with advanced cancer. *Cancer biomarkers : section A of Disease markers* 2021.

20. Shu Y, Wu X, Tong X, et al. Circulating Tumor DNA Mutation Profiling by Targeted Next Generation Sequencing Provides Guidance for Personalized Treatments in Multiple Cancer Types. *Sci Rep* 2017;7:583.

21. Benayed R, Offin M, Mullaney K, et al. High Yield of RNA Sequencing for Targetable Kinase Fusions in Lung Adenocarcinomas with No Mitogenic Driver Alteration Detected by DNA Sequencing and Low Tumor Mutation Burden. *Clin Cancer Res* 2019;25:4712-4722.

22. Conde E, Hernandez S, Martinez R, et al. Assessment of a New ROS1 Immunohistochemistry Clone (SP384) for the Identification of ROS1 Rearrangements in Non-Small Cell Lung Carcinoma Patients: the ROSING Study. *J Thorac Oncol* 2019.

23. Ilie M, Long E, Hofman V, et al. Diagnostic value of immunohistochemistry for the detection of the BRAFV600E mutation in primary lung adenocarcinoma Caucasian patients. *Ann Oncol* 2013;24:742-748.

24. Teishikata T, Shiraishi K, Shinno Y, et al. An alert to possible false positives with a commercial assay for METex14 skipping. *J Thorac Oncol* 2021.

11. 用語解説

・次世代シーケンサー

2000 年代半ばに登場した、DNA 塩基配列を解析する装置。イルミナ社とサーモフィッシャー社の次世代シーケンサーがあり、前者は F1CDx と NCC オンコパネル、後者はオンコマイン DxTT に用いられる。

ライブラリー調製で得られた多数の DNA 断片（リード）の塩基配列を同時並行して読み取る技術により、従来のシーケンサーよりも長い領域の解析が短時間で可能である。

・Hot Spot パネル

がん細胞において変異が多く報告されている部分は hot spot と呼ばれ、がんの biology への関与が示唆される。Hot spot の部分に対象を絞った遺伝子パネル検査が Hot Spot パネルであり、アンプリコンシーケンス法が用いられることが多い。

・Comprehensive Genomic Profiling (CGP)

網羅的ゲノムプロファイリングと訳される。変異が多く報告されている hot spot だけでなく、対象とする遺伝子を網羅的に解析する検査法。

12. 関連 Web リンク

がんゲノム医療について（厚生労働省）：<https://www.mhlw.go.jp/content/12404000/000504302.pdf>

厚生労働省保険局長通知

遺伝子パネル検査の保険適用に係る留意点について：<https://ajhc.or.jp/siryo/20190531-2.pdf>

厚生労働省保険局医療課

疑義解釈資料（その 15）：<https://www.mhlw.go.jp/content/12400000/000502733.pdf>

疑義解釈資料（その 16）：http://www.hospital.or.jp/pdf/14_20190826_02.pdf

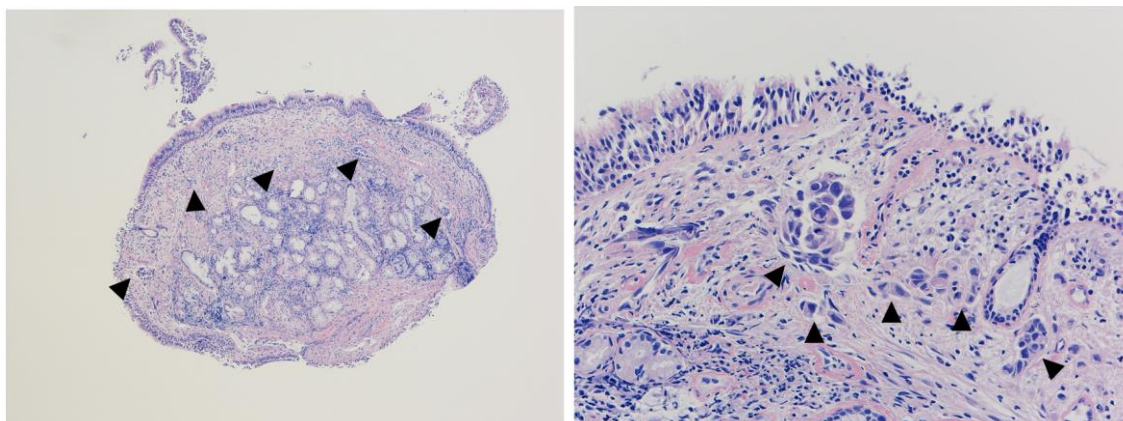
OncoPrint Dx Target Test: <https://www.oncoprint.com/dx/testing-jp>

OncoGuide NCC OncoPanel: <http://lifescience.sysmex.co.jp/products/oncoguide/>

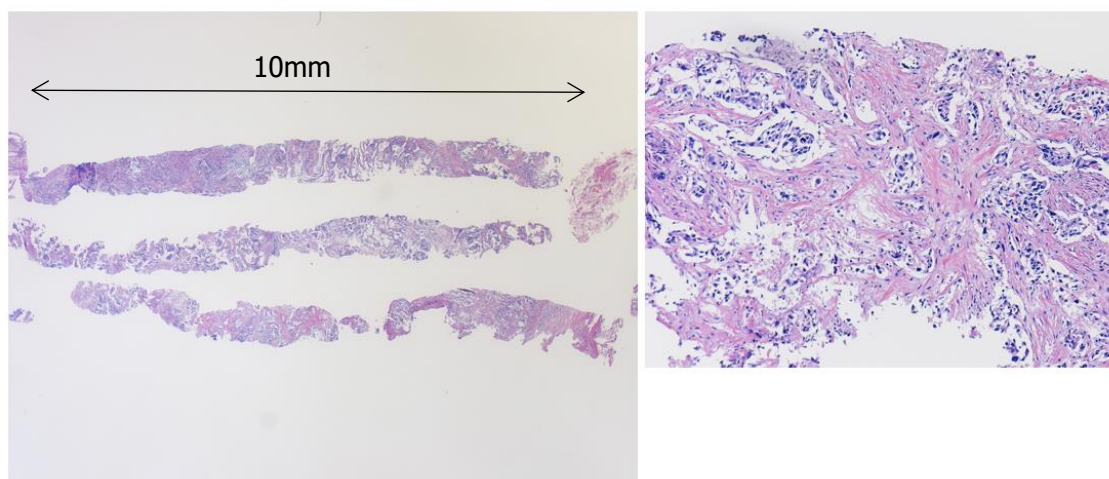
Foundation One CDx/Foundation One Liquid CDx: <https://f1cdx.jp>

13. 追補

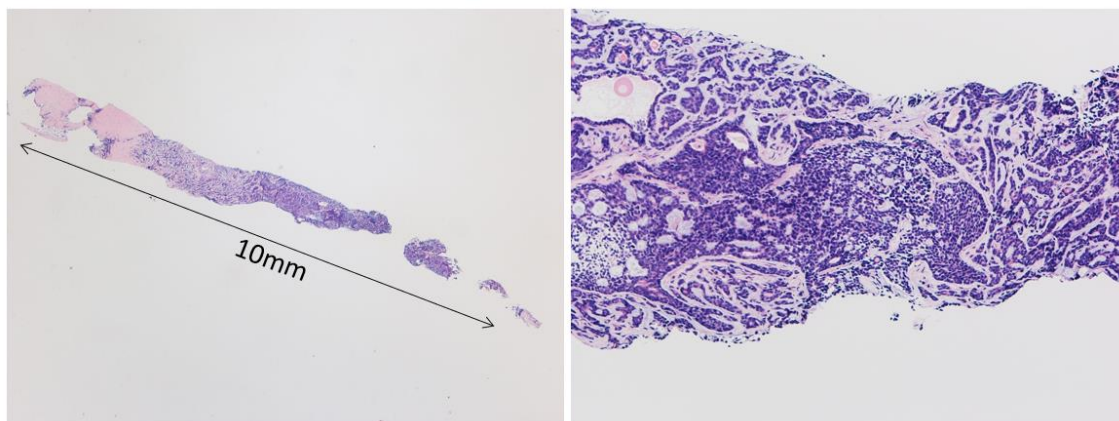
13.1 腫瘍細胞含有率の例



追補 図1 TBLB生検組織の例。主としてリンパ管内に存在する腫瘍細胞を▲で示した。このような場合においても診断としては腺癌とされるため、腫瘍細胞含有率の確認は重要である。

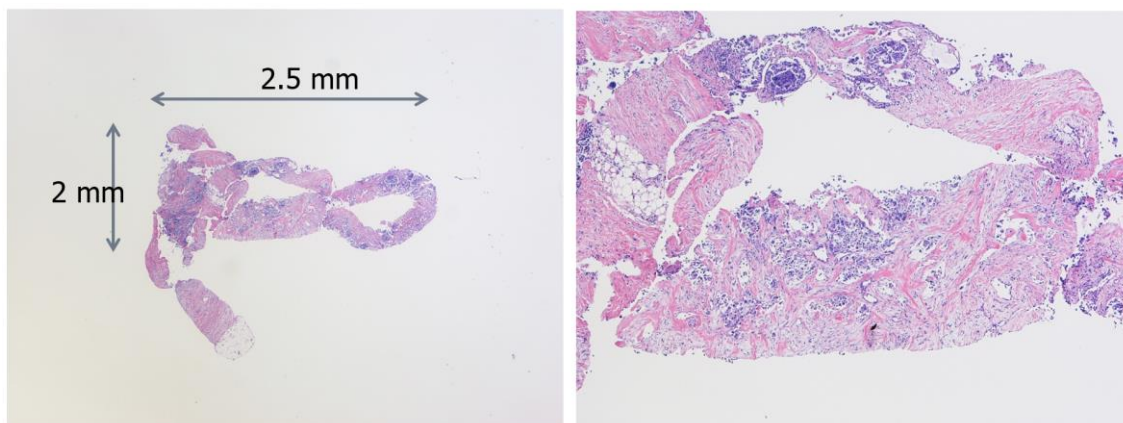


追補 図2 肺腫瘍針生検組織の例。ほぼ均一に右拡大像のように腫瘍細胞が分布している。おおむね 30%程度の腫瘍細胞含有率である。また、組織量としても $10\text{mm} \times 1\text{mm} \times 3\text{本} = 30\text{mm}^2$ となり、5mm厚未染標本 10枚で、オンコマイン DxTT, NCCオンコパネル、F1CDxのいずれに対しても解析に適した検体と言える。



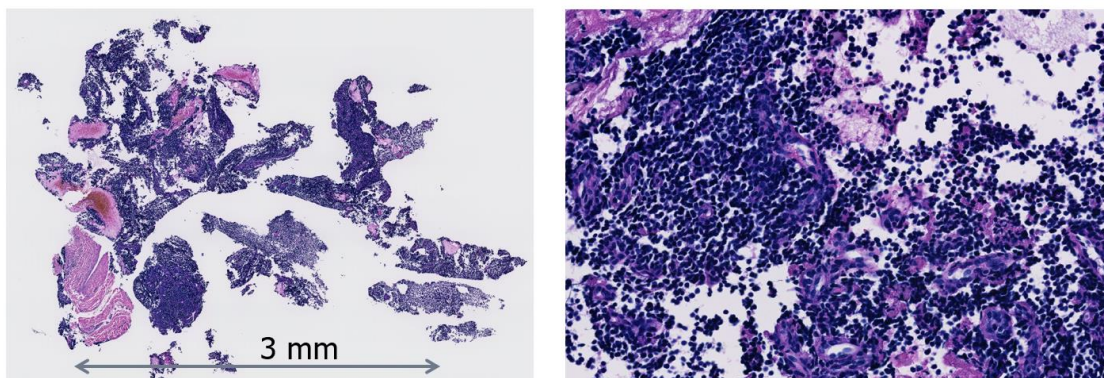
追補 図3 肺腫瘍針生検組織の例。唾液腺腺様嚢胞癌の転移。10mm大の針生検組織であり、太さ 1mmと考えると 10mm^2 の面積を有することになる。間質成分には有核細胞が少ないため、ほぼ右図の腫瘍組織からなっており、腫瘍細胞含有率は 70%と評価される。このような例では、5mm厚未染 10枚でオンコマイン DxTT, NCC オンコパネルは解析可能であるが、F1CDxの場合は基準である

1mm^3 の組織量を満たすため、20枚の未染標本が必要となる。

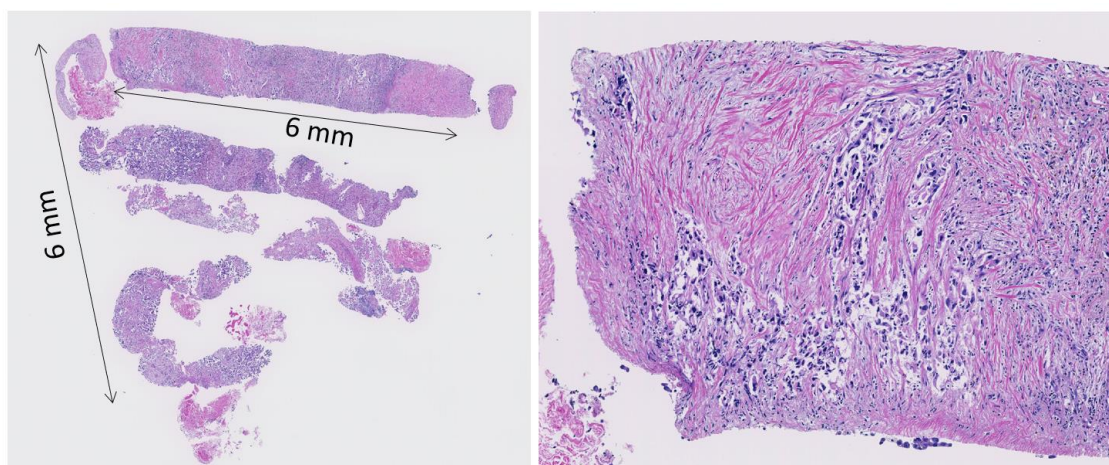


追補 図4 肺腫瘍針生検組織の例。組織量としては 5mm^2 であるが、腫瘍細胞含有率は 15% であり、オンコマイン DxTT, NCC オンコパネル, FICDx いずれも解析に適さない。単一遺伝子検査が推奨されるが、30% 以上の腫瘍細胞含有率が求められる *ROS1* *AmoyDx* 融合遺伝子キットにおいても不適切検体となり、*ROS1* のコンパニオン診断においてもこの検体は不可能と評価される。

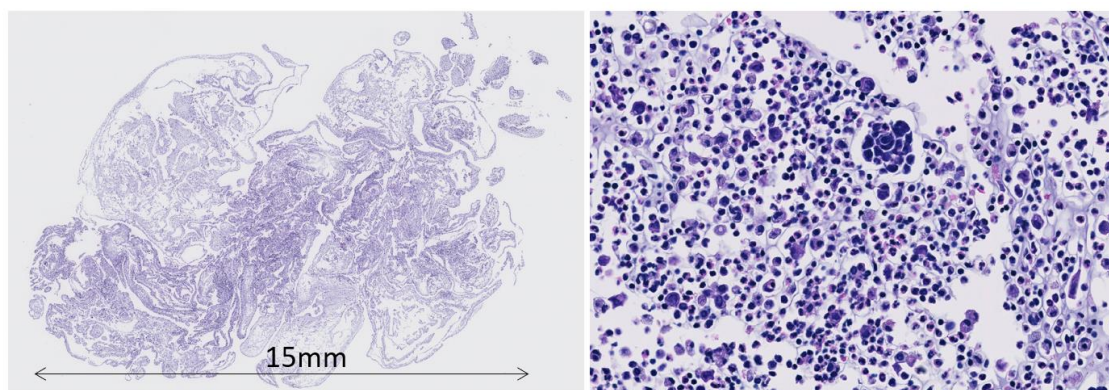
13.2 標本から採取される DNA 量の例



追補 図5 軟部転移巣針生検組織の例。3mm大の小さな組織であり、6mm²大のサイズしかないが、80%の腫瘍細胞含有率で腫瘍細胞が密に集簇している。そのため、1288ngのDNAが抽出され、いずれの遺伝子パネル検査も施行可能である。



追補 図6 肺腫瘍針生検組織の例。組織量としては20mm²程度、腫瘍細胞含有率は30%であり、オンコマイン DxTT, NCCオンコパネル, FICDxいずれも解析可能である。しかしながら、腫瘍細胞に変性傾向が見られ、DNAとしては10.3ngしか抽出されず、解析に足りるDNAが得られなかった。



追補 図7 小細胞癌の悪性胸水に対してのセルブロックの例。細胞量としては十分にあり、DNAも408.5ng抽出されたが、腫瘍細胞含有率は1%以下であり、パネル検査には適さない。胸水ではしばしば多数の炎症細胞やマクロファージが混在し、マイクロディセクションもできないことから、適切な腫瘍細胞含有率を得るのが難しい。

13.3 各検査法における報告対象バリエーション一覧

追補：表 1 各検査法における報告対象バリエーション一覧

Exon 領域	COSMIC ID	塩基変化	アミノ酸変化	Cobas	Therascreen	Oncomine DxTT
Exon18	12988	c.2125G>A	p.E709K			○
	12371	c.2126A>T	p.E709V			○
	13009	c.2126A>G	p.E709G			○
	13427	c.2126A>C	p.E709A			○
	6253	c.2155G>T	p.G719C	○	○	○
	6252	c.2155G>A	p.G719S	○	○	○
	6239	c.2156G>C	p.G719A	○	○	○
	18425	c.2156G>A	p.G719D			○
	26038	c.2233_2247del15	p.K745_E749del	○		○
	1190791	c.2234_2248delAGGAATTAAGAGAAGp.K745_A750delinsT				○
	28517	c.2235_2246delGGAATTAAGAGA	p.E746_E749del			○
	13550	c.2235_2248>AATTC	p.E746_A750>IP	○		
	6223	c.2235_2249del15	p.E746_A750del	○	○	○
	13552	c.2235_2251>AATTC	p.E746_T751>IP	○		
	13551	c.2235_2252>AAT	p.E746_T751>I	○	○	○
	12385	c.2235_2255>AAT	p.E746_S752>I	○		
	6225	c.2236_2250del15	p.E746_A750del	○	○	○
	12728	c.2236_2253del18	p.E746_T751del	○	○	○
	12678	c.2237_2251del15	p.E746_T751>A	○	○	○
	12386	c.2237_2252>T	p.E746_T751>V	○		
Exon19	12416	c.2237_2253>TTGCT	p.E746_T751>VA	○		○
	12367	c.2237_2254del18	p.E746_S752>A	○	○	
	12384	c.2237_2255>T	p.E746_S752>V	○	○	○
	18427	c.2237_2257>TCT	p.E746_P753>VS	○		
	6220	c.2238_2255del18	p.E746_S752>D	○	○	○
	12422	c.2238_2248>GC	p.L747_A750>P	○	○	○
	12419	c.2238_2252>GCA	p.L747_T751>Q	○	○	○
	23571	c.2238_2252del15	p.L747_T751del	○		
	6218	c.2239_2247del9	p.L747_E749del	○	○	○
	12382	c.2239_2248TTAAGAGAAG>C	p.L747_A750>P	○	○	○
	12383	c.2239_2251>C	p.L747_T751>P	○	○	○
	6254	c.2239_2253del15	p.L747_T751del	○	○	
	12403	c.2239_2256>CAA	p.L747_S752>Q	○		
	6255	c.2239_2256del18	p.L747_S752del	○	○	○
	12387	c.2239_2258>CA	p.L747_P753>Q	○	○	○
	6210	c.2240_2251del12	p.L747_T751>S	○	○	○
	12369	c.2240_2254del15	p.L747_T751del	○	○	○
	12370	c.2240_2257del18	p.L747_P753>S	○	○	○
	13556	c.2253_2276del24	p.S752_I759del	○		
	12376	c.2307_2308ins9GCCAGCGTG	p.V769_D770insASV	○	○	
Exon20	13558	c.2309_2310AC>CCAGCGTGGAT	p.V769_D770insASV	○		
	12378	c.2310_2311insGGT	p.D770_N771insG	○	○	
	13428	c.2311_2312ins9GCGTGGACA	p.D770_N771insSVD	○		
	12377	c.2319_2320insCAC	p.H773_V774insH	○	○	
	6241	c.2303G>T	p.S768I	○	○	○
	6240	c.2369C>T	p.T790M	○	○	○
	12366	c.2572C>A	p.L858M			○
Exon21	6224	c.2573T>G	p.L858R	○	○	○
	12429	c.2573_2574TG>GT	p.L858R	○		
	6213	c.2582T>A	p.L861Q	○	○	○
	12374	c.2582T>G	p.L861R			○

14. 第 1.1 版から第 2.0 版への主な改訂点

1. Page 5

表 2. FoundationOne Liquid CDx についての情報を加え、NCC オンコパネルの対象遺伝子数(114→124)、融合遺伝子数(12→13)、MSI 検査(X→○)、FoundationOne CDx のコンパニオン Dx の適応疾患(胆道癌、卵巣癌、前立腺癌を追加)についてアップデートを行った。

2. Page 6

「FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル(F1CDx)/ FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル(F1LiquidCDx)」F1LiquidCDx についての情報を加え、F1CDx のコンパニオン診断については、適応となる癌腫や対象遺伝子、対応する薬剤の適応拡大に伴って記載の改訂を行った。これに対応する表 5 (Page8) も同様に改訂した。

3. Page 8

「OncoGuide NCC オンコパネル(NCC オンコパネル)」NCC オンコパネルの変更承認により、対象遺伝子数、融合遺伝子数が増え、MSI が検査可能となったためこれを記載した。生殖細胞系列遺伝子変異の結果の報告対象となる遺伝子も 6 遺伝子(MEN1, MSH6, NF2, PALB2, PMS2)が追加になりこれを記載した。これに対応する表 6、表 7 (Page9)も同様に改訂を行った。

4. Page 10

「3.1 がんゲノム医療の概要」がんゲノム中核病院、拠点病院、連携病院の施設数についてアップデートした。

5. Page 11

「3.3 保険点数についての留意点」F1CDx でのコンパニオン診断の対象に ROS1、MET、NTRK の 3 遺伝子が追加され、コンパニオン診断分の保険点数が変更となったためこれを改訂した。F1LiquidCDx の保険上の留意点について記載した。これらに対応する図 3 も改訂を行った。

6. Page 12

表 8. ROS1 融合遺伝子に対するエヌトレクチニブ、RET 融合遺伝子に対するセルベルカチニブを関連する医薬品として追加。

7. Page 16

「6.2 標本組織量」データを最新のものにアップデート。

8. Page 17

「7.2. 解析成功率」第 1.1 版の発刊以降、各施設での遺伝子パネル検査の解析成功率は向上してきているため、最近の報告を引用し、現状に合わせて情報をアップデートした。

9. Page 19

「Q7 遺伝子パネル検査が Failure であった場合について」現行の保険制度上、オンコマイン DxTT はコンパニオン診断として MET、NTRK 遺伝子をカバーしていないが、検出は可能であり研究目的として医師の要望があった場合に参考情報として返却され、その結果はコンパニオン診断薬である ArcherMET, F1CDx を施行する際の参考となる。このことから、コンパニオン診断としての対象遺伝子には含まれていないが、オンコマイン DxTT が Failure した場合の MET、NTRK 遺伝子検査への対応を追記した。

10. Page 19

「Q8 現在の遺伝子パネル検査を含めた実用的なアルゴリズムについて」Q7 での遺伝子パネル検査が Failure した場合の対応を含め、MET ex14 skipping 変異、NTRK 融合遺伝子検査、RET 融合遺伝子検査についての内容をアルゴリズムに加えて図のアップデートを行った。また、現行のアルゴリズムの問題点と今後の課題についても明記した。