

ORIGINAL ARTICLE

オンコマイン™ Dx Target Test®の 検査成功に関連する因子の探索

榑原里江¹・本多隆行¹・三ツ村隆弘¹・
桐村 進²・大久保憲一³・宮崎泰成¹

Exploratory Factors Relevant to the Success of the Oncomine™ Dx Target Test®

Rie Sakakibara¹; Takayuki Honda¹; Takahiro Mitsumura¹;
Susumu Kirimura²; Kenichi Okubo³; Yasunari Miyazaki¹

¹Department of Respiratory Medicine, ²Department of Surgical Pathology, ³Department of Thoracic Surgery, Tokyo Medical and Dental University, Japan.

ABSTRACT — **Objective.** The Oncomine™ Dx Target Test® (ODxTT) has emerged as a companion diagnosing system for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) using next generation sequencing. However, the instability of the test results due to the small size of the biopsy samples makes it challenging to use in a clinical setting. **Methods.** From June 2018 to December 2020, NSCLC samples diagnosed in our hospital were evaluated. Fifty-one NSCLC samples were analyzed for BRAF mutations, and 19 biopsy samples were subjected to a multiplex analyses. The correlation between the clinicopathological factors and success rate was analyzed into integration. **Results.** The success rates according to procedure were 100% (25/25) for surgical samples, 100% for excisional biopsy samples, 75% for transbronchial biopsy samples, 78% for endobronchial ultrasound-transbronchial needle aspiration, and 57% for computed tomography-guided biopsy samples. The biopsy samples for which the analysis of BRAF mutations was successful showed a larger quantity of DNA than the failed group (median 279 vs. 18 ng, $p < 0.01$). In a multiplex analysis, the quantity of DNA and RNA in the successful analysis samples showed a larger quantity than the failure samples (median quantity of DNA 198 vs. 45.6 ng, $p < 0.01$; median quantity of RNA 180 vs. 34.2 ng, $p < 0.01$). The number of biopsies in successful transbronchial biopsy cases and the tumor nuclei content in successful multiplex analyses cases were also greater than those in the failed samples (median number of biopsies 6.5 vs. 4, $p < 0.01$, median tumor nuclei content 50% vs. 30%, $p = 0.01$). **Conclusion.** The quantity of nucleic acid was associated with the analysis success rates of ODxTT. The tumor nuclei content and number of punctures for transbronchial biopsies might be associated with analysis success rates for ODxTT.

(JLJC. 2021;61:932-938)

KEY WORDS — Next generation sequencing, Oncomine™ Dx Target Test®, Biopsy samples, The quantity of nucleic acid, Tumor nuclei content

Corresponding author: Rie Sakakibara.

Received January 3, 2021; accepted July 26, 2021.

要旨 — **目的.** オンコマイン™ Dx Target Test® (ODxTT)の検査成功率は不安定なため、ODxTT成功に寄与する因子の同定を目的とした。**方法.** 2018年6月～2020年12月に診断した非小細胞肺癌のうちODxTTを用いてBRAF遺伝子変異を解析した51例、マルチプレックス解析した生検検体19例を対象に、臨床病理学的

因子と検査成功の関連を検討した。**結果.** 検査成功率は手術検体・外科的生検100%、TBB75%、EBUS-TBNA78%、CTGB57%で、生検検体の核酸量は成功群で不成功群に比して有意に多かった(BRAF解析：DNA中央値279 vs 18 ng, $p < 0.01$, マルチ解析：DNA中央値198 vs 45.6 ng, $p < 0.01$, RNA中央値180 vs 34.2 ng, $p < 0.01$)。

東京医科歯科大学¹呼吸器内科, ²診断病理学, ³呼吸器外科.
論文責任者：榑原里江.

受付日：2021年1月3日, 採択日：2021年7月26日.

TBBの生検回数は成功群で多く(中央値6.5回 vs 4回, $p < 0.01$), マルチプレックス解析の腫瘍含有率は成功群で高かった(中央値50% vs 30%, $p = 0.01$). **結論.** 生検検体の核酸量はODxTT成功に関連し, 病理学的には腫瘍

含有率が, 手技的にはTBBの生検回数の多さが, 成功に関連する可能性がある.

索引用語——次世代シーケンシング(NGS), オンコマイン™ Dx Target Test®, 生検検体, 核酸量, 腫瘍含有率

目的

非小細胞肺癌(non-small cell lung cancer: NSCLC)では, EGFR, ALK, ROS1, BRAFなどの治療標的となるドライバー遺伝子異常が認められる.^{1,2} オンコマイン™ Dx Target Test® (ODxTT)は, 国内で初めてコンパニオン診断として承認された次世代シーケンシング(next generation sequencing: NGS)検査で, 同一検体を用いて同時に複数の遺伝子異常の検出が可能となった. ODxTTは, 2018年12月BRAF V600E変異のコンパニオン診断薬として保険収載後, 2019年6月にEGFRエクソン19欠失変異, EGFRエクソン21 L858R変異, ALK融合遺伝子, およびROS1融合遺伝子のマルチプレックスコンパニオン診断薬として適応拡大され, 2019年10月にはT790Mを含む, まれなEGFR遺伝子変異(uncommon mutation)のコンパニオン診断薬としても適応拡大された. しかし, BRAF阻害剤の承認に用いられたE2201試験においてODxTTの解析不能率は28%と高く,³ 本邦でも施設間でODxTTの検査成功率にばらつきがあり,⁴ 臨床上の問題となっている. そこで本研究では, ODxTTの検査成功率と提出した検体の条件を検証することにより, 検査成功に寄与する因子を同定することを目的とした.

対象と方法

2018年6月から2020年12月までに当院で診断した進行再発NSCLCのうち, ODxTTを用いてBRAF遺伝子変異を測定した検体51例およびマルチプレックスコンパニオン診断薬として測定した生検検体19例を対象に, 後方視的に検討した.

ODxTTの成功の定義は, BRAF遺伝子変異を測定した場合はBRAF遺伝子変異の結果, マルチプレックスコンパニオン診断薬として測定した場合はEGFR遺伝子変異, ALK融合遺伝子, ROS1融合遺伝子, BRAF遺伝子変異の4つの遺伝子検査の結果が陽性もしくは陰性であることとし, 不成功の定義は遺伝子検査の結果がinvalidもしくはno callであることとした. 上記の定義による成功例において, 研究用46遺伝子の検査が不成功となった例はなかった.

ODxTTに提出した検体は, ホルマリン固定パラフィ

ン包埋切片(formalin fixed paraffin-embedded: FFPE)を5 μ m厚に薄切した未染スライド5枚を用いた. 検体固定法は, 生検検体・手術検体ともに10%中性緩衝ホルマリンを使用し, 生検検体では24時間以内, 手術検体では72時間以内に固定した. 保管期間については, 生検検体では全例1年以内の検体, 手術検体では3年以内の検体33例と3年以上の検体3例を使用した. また, 生検検体については, 検体採取法, 検体採取時の生検回数, 採取したすべての検体の切片上の組織面積, 腫瘍細胞数, 腫瘍含有率, および抽出した核酸量を評価した.

気管支肺生検(transbronchial biopsy: TBB)には, 通常型気管支鏡(BF-260; Olympus, 外径4.9 mm)もしくは細径気管支鏡(BF-P290; Olympus, 外径4.1 mm)を用いた. 生検鉗子は, 通常型生検鉗子(FB231D; Olympus)を使用し, 通常型で病変に届かない場合にはガイドシース(SG-201C; Olympus)を併用し, ディスポーザブル生検鉗子(K-201; Olympus)を用いた. 超音波気管支鏡下針生検(endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: EBUS-TBNA)には, 22 Gの生検針(ViziShot; Olympus)を用いた. CTガイド下肺生検(computed tomography-guided biopsy: CTGB)には, 18 Gもしくは20 Gの生検針(MISSION™コアニードル; メディコン)を用いた. 組織面積は, バーチャルスライド(NanoZoomer S210; 浜松ホトニクス)の画像閲覧ソフト(NDP.view2; 浜松ホトニクス)を用いて測定した.

腫瘍細胞数と腫瘍含有率は病理医が目視で評価し, 腫瘍含有率は組織切片上における有核細胞数中の腫瘍細胞の核が占める割合を算定した. 本研究の対象例にレーザーマイクロダイセクションを使用した症例はない. FFPEサンプルからの核酸抽出は, AllPrep DNA/RNA FFPE Kit(QIAGEN, Hilden, Germany)を用いたカラム法で行い, 核酸定量は, Qubit®3.0(Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)を用いて測定した. カラムからの溶出液量は, DNA, RNAともに30 μ lのため, 蛍光光度計で読み取った濃度($\text{ng}/\mu\text{l}$) \times 30 μl =取量(ng)とした.

統計解析はExcel 2016 software(Microsoft, Redmond, USA)を使用した. 2群間の連続変数の比較には

Table 1. Results of an Analysis According to the Sample Collection Procedure for ODxTTs for BRAF Mutations (n = 51) and Multiplex Analyses (n = 19)

Procedures	ODxTT for BRAF mutations (n = 51)			ODxTT for multiplex analyses (n = 19)			Total (n = 34)		
	Success n	Failure n	Success rate %	Success n	Failure n	Success rate %	Success n	Failure n	Success rate %
Surgery	25	0	100						
Excisional biopsy	11	0	100						
TBB	7	1	88	5	3	63	12	4	75
EBUS-TBNA	4	1	80	3	1	75	7	2	78
CTGB	1	1	50	3	2	60	4	3	57
EUS-FNA	0	0	NE	1	0	100	1	0	100
Cell block	0	0	NE	1	0	100	1	0	100
Total	48	3	94	13	6	68	25	9	74

ODxTT, Oncomine™ Dx Target Test®; TBB, transbronchial biopsy; EBUS-TBNA, endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration; CTGB, computed tomography-guided biopsy; EUS-FNA, endoscopic ultrasound-fine needle aspiration; NE, not evaluated.

Table 2. Results of a Comparison Between the Groups with Successful or Failed Sample Collection for the ODxTT for BRAF Mutations with Biopsy Samples (n = 15)

	Success n (%) or median (range)	Failure n (%) or median (range)	p-value
Total (cases)	12	3	
1 Age (years)	69 (52-76)	66 (54-76)	0.72
2 Sex			0.50
Male	8 (66.7)	2 (66.7)	
Female	4 (33.3)	1 (33.3)	
3 Histological type			0.34
Adenocarcinoma	10 (83.3)	2 (66.7)	
NSCLC	2 (16.7)	1 (33.3)	
4 Number of biopsies	5 (2-10)	3 (3-4)	0.01
5 Sample area (mm ²)	33.6 (9.28-129)	20.2 (9.4-68.8)	0.41
6 Tumor nuclei content (%)	40 (5-70)	40 (10-80)	0.80
7 Number of tumor cell	1255 (370-5290)	530 (450-1770)	0.22
8 Quantity of DNA (ng)	279 (45.0-696)	18 (15-27)	<0.01
9 Quantity of RNA (ng)	215 (102-1035)	NE	NE

ODxTT, Oncomine™ Dx Target Test®; NSCLC, non-small cell lung cancer; NE, not evaluated.

t 検定を、2 群間の比率の比較には χ^2 検定を用いた。相関係数は、Pearson の相関係数を用いた。p 値は 0.05 未満の場合を有意差ありとした。

なお、本研究は東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会の承諾を得た（受付番号：M2016-131）。

結 果

BRAF 遺伝子変異解析に提出した手術検体および外科的生検検体は全例成功したが、BRAF 遺伝子変異解析

に提出した生検検体 15 例のうち 3 例と、マルチプレックス解析に提出した生検検体 19 例のうち 6 例に、不成功例を認めた。検体採取法別の検査成功率は、手術検体 100% (25/25)、外科的生検 100% (11/11)、TBB 75% (12/16)、EBUS-TBNA 78% (7/9)、CTGB 57% (4/7) であった (Table 1)。

生検検体の各検査における検査成功群と不成功群別の、患者背景、組織型、検体採取法、検体採取時の生検回数、切片上の組織面積、腫瘍細胞数、腫瘍含有率およ

Table 3. Results of a Comparison Between the Groups with Successful or Failed Sample Collection for the ODxTT for a Multiplex Analyses with Biopsy Samples (n = 19)

	Success n (%) or median (range)	Failure n (%) or median (range)	p-value
Total (cases)	13	6	
1 Age (years)	71 (55-83)	72 (37-83)	0.68
2 Sex			0.63
Male	7 (53.8)	4 (66.7)	
Female	6 (46.2)	2 (33.3)	
3 Histological type			0.29
Adenocarcinoma	8 (61.5)	2 (33.3)	
NSCLC	5 (38.5)	4 (66.7)	
4 Number of biopsies	3 (1-9)	3 (2-5)	0.43
5 Sample area (mm ²)	15.5 (2.93-91.0)	7.86 (0.91-16.8)	0.09
6 Tumor nuclei content (%)	50 (20-90)	30 (10-40)	0.01
7 Number of tumor cell	668 (207-5620)	406 (168-878)	0.13
8 Quantity of DNA (ng)	198 (73.8-393)	45.6 (6.6-93)	<0.01
9 Quantity of RNA (ng)	180 (71.4-780)	34.2 (30.6-37.8)	<0.01

ODxTT, Oncomine™ Dx Target Test®; NSCLC, non-small cell lung cancer.

Table 4. Results of a Comparison Between the Groups with Successful or Failed Biopsy Sample Collection for the ODxTT (n = 16)

Procedure	Success median (range)	Failure median (range)	p-value
TBB (cases)	12	4	
Number of biopsies	6.5 (4-10)	4 (2-5)	<0.01
Sample area (mm ²)	14.5 (2.93-52.9)	8.11 (0.91-20.2)	0.10
Tumor nuclei content (%)	40 (15-80)	30 (20-80)	0.79
EBUS-TBNA (cases)	7	2	
Number of biopsies	3 (2-5)	2.5 (2-3)	0.51
Sample area (mm ²)	21.3 (9.86-129)	42.8 (16.8-68.8)	0.88
Tumor nuclei content (%)	70 (5-90)	40 (40)	0.21
CTGB (cases)	4	3	
Number of biopsies	3 (1-4)	3 (2-4)	0.80
Sample area (mm ²)	14.6 (7.1-39.1)	9.4 (4.34-10.7)	0.25
Tumor nuclei content (%)	30 (20-50)	10 (10-30)	0.79

TBB, transbronchial biopsy; EBUS-TBNA, endobronchial ultrasound-transbronchial needle aspiration; CTGB, computed tomography-guided biopsy; ODxTT, Oncomine™ Dx Target Test®.

び核酸量の結果を Table 2, Table 3 に示す. ここでの生検回数と採取した検体の個数はすべて一致していた.

Table 2 は, BRAF 遺伝子変異解析に提出した生検検体 (n=15) を対象とした成功群と不成功群の比較であり, 生検回数と DNA 量において, 成功群が不成功群に比して有意に多い結果であった (生検回数中央値 5 回 vs 3 回, $p=0.01$, DNA 中央値 279 ng vs 18 ng, $p<0.01$). Table 3 は, マルチプレックス解析に提出した生検検体 (n=19) を対象とした成功群と不成功群の比較であり, 腫瘍含有率, DNA 量, RNA 量において成功群が不成功群に比して有意に多い結果であった (腫瘍含有率中央値 50%

vs 30%, $p=0.01$, DNA 中央値 198 ng vs 45.6 ng, $p<0.01$, RNA 中央値 180 ng vs 34.2 ng, $p<0.01$).

Table 4 に, 生検の手技別の成功群と不成功群の比較を示す. TBB 検体において, 成功群における生検回数は不成功群に比して有意に多かった (生検回数中央値 6.5 回 vs 4 回, $p<0.01$).

不成功 9 例の詳細を Figure 1A に示す. このうち 6 例は腫瘍含有率が 30% 以下もしくは組織面積が 10 mm² 以下の微小検体であった. 腫瘍含有率 40% 以上でも不成功の症例は 3 例あり, このうち 2 例は EBUS-TBNA 検体, 1 例は TBB 検体で, 3 例とも検体中に腫瘍細胞の壊

A	Case	Age	Sex	Histological type	Procedure	Number of punctures	Sample area (mm ²)	Tumor content (%)	Number of tumor cells	Quantity of DNA (ng)	Quantity of RNA (ng)	Results of ODxTT
	1	76	M	NSCLC	TBB	4	20.2	80	1770	15	NE	Invalid
	2	54	F	Ad	EBUS-TBNA	3	68.8	40	530	27	NE	No call
	3	66	M	Ad	CTGB	3	9.4	10	450	18	NE	Invalid
	4	67	F	Ad	EBUS-TBNA	2	16.8	40	361	58.2	37.8	Invalid
	5	79	M	Ad	CTGB	2	10.7	10	168	6.6	NE	Invalid
	6	77	M	NSCLC	TBB	4	11.2	30	878	33.0	NE	Invalid
	7	37	M	NSCLC	TBB	5	5.02	30	532	60.6	30.6	Invalid
	8	66	M	NSCLC	CTGB	4	4.34	30	451	93.0	NE	Invalid
	9	83	F	NSCLC	TBB	2	0.91	20	146	14.1	NE	Invalid

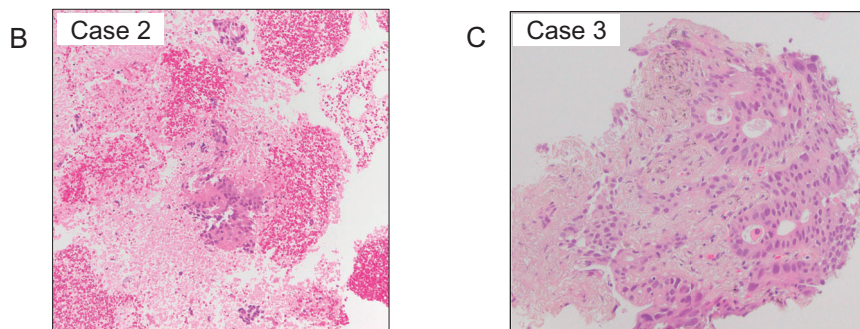


Figure 1. (A) Summary of failed cases of ODxTT for BRAF mutations and multiplex analyses (n=9). (B) Representative pathological images (HE) of failed sample collecting using EBUS-TBNA (Case 2 in A). (C) Representative pathological images (HE) of failed sample collecting using a CTGB (Case 3 in A). ODxTT, Oncomine™ Dx Target Test®; M, male; F, female; NSCLC, non-small cell lung cancer; TBB, transbronchial biopsy; Ad, adenocarcinoma; EBUS-TBNA, endobronchial ultrasound-transbronchial needle aspiration; CTGB, computed tomography-guided biopsy; NE, not evaluated.

死を多く認めた。Figure 1B, Figure 1Cに代表的な不成功例のHE所見を示す。EBUS-TBNA検体の不成功例 (Figure 1A, Case 2)は、DNA 27 ng, RNAは測定不能であり、解析可能と考えられるDNA規定量 (DNA濃度 0.83 ng/μl, DNA収量 24.9 ng)を超えたため検査を実施したが、壊死やリンパ球の成分が多く増幅不良となり判定不能となった (Figure 1B)。CTGB検体の不成功例 (Figure 1A, Case 3)は、腫瘍含有率10%, 腫瘍細胞数450個と少量であり、DNA 18 ng, RNAは測定不能のため、核酸量不足により検査中止となった (Figure 1C)。

また、生検検体におけるDNA量と組織面積, DNA量と腫瘍細胞数, DNA量と腫瘍含有率, DNA量とRNA量の相関の解析では、DNA量と組織面積には相関を認め (Figure 2A), DNA量と腫瘍細胞数には弱い相関を認めた (Figure 2B)が、DNA量と腫瘍含有率には相関を認めなかった (Figure 2C)。DNA量とRNA量には強い相関を認めたが、DNA量とRNA量の乖離を生じる検体をEBUS-TBNA検体とEUS-FNA検体に1例ずつ認めた (Figure 3)。

考察

肺癌診療ガイドライン2020年版では、治療方針を決めるために、進行・再発非扁平上皮NSCLCの場合は、

EGFR遺伝子変異検査, ALK融合遺伝子検査, ROS1融合遺伝子検査, BRAF遺伝子変異検査, MET遺伝子エクソン14スキッピング検査, PD-L1免疫組織化学染色検査 (immunohistochemistry: IHC)を行うよう推奨されている。⁵ 治療開始までの時間を短縮するために、また最適な治療薬の投与機会を逸さないために、初回診断時にこれらのドライバー遺伝子検査をPD-L1 IHCと同時にすべて行うことが望まれる。⁵ 一方で、検査エラーは診断, 治療の遅延に直結するため、検査成功に必要な検体の条件を明らかにし、検査成功率を改善することが喫緊の課題である。

本研究では、ODxTTにおいて手術検体と外科的生検検体を用いた症例は全例成功した結果から、生検検体を対象に詳細な解析を行った。さらに、生検検体における核酸の質は固定法や固定時間が同条件であったため、核酸量およびその他の因子について検討した。BRAF遺伝子変異解析とマルチプレックス解析に提出した生検検体は核酸量が多ければ検査が成功した結果から、核酸量がODxTTの検査成功に関連し、TBB検体においては既報⁶と同様に生検回数がODxTTの検査成功に関連した。

一般的にNGS検査に必要なDNA量は10~1000 ng, 腫瘍含有率は30%以上との報告があり,⁷ ODxTTに必

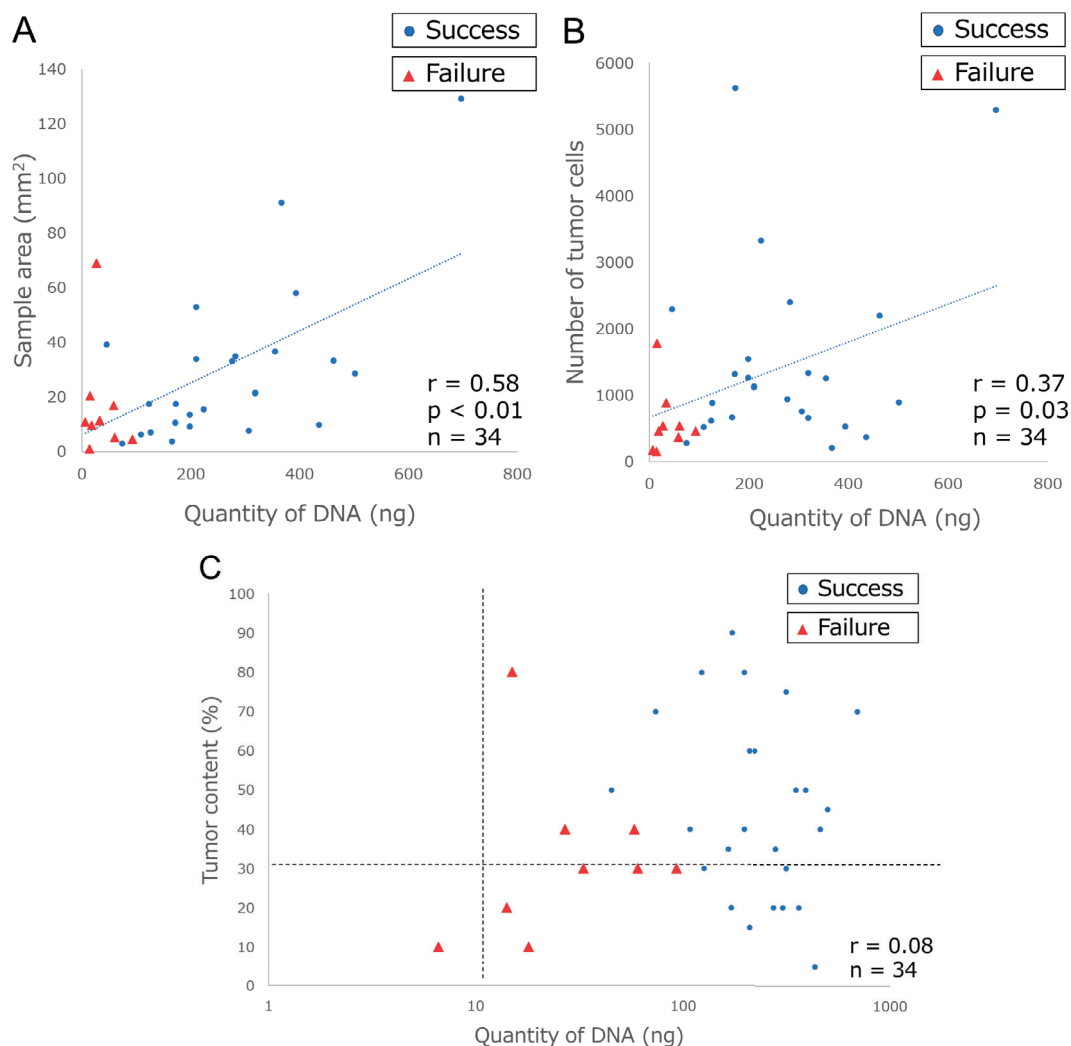


Figure 2. (A) Graph of the correlation between the sample area and the quantity of DNA (n = 34). (B) Graph of the correlation between the number of tumor cells and the quantity of DNA (n = 34). (C) Graph of the correlation between the tumor content and the quantity of DNA (n = 34).

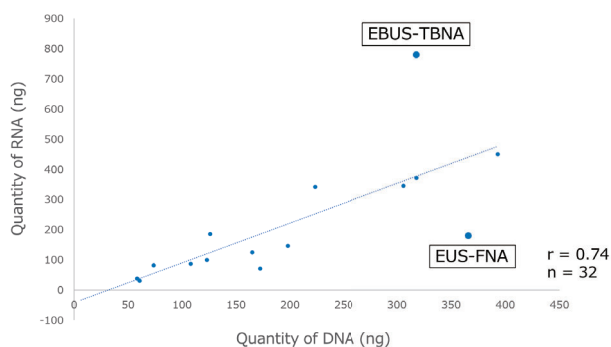


Figure 3. Graph of the correlation between the quantity of DNA and the quantity of RNA (n = 32).

要な DNA 量は 10 ng 以上^{7,8}で、僅少な生検検体の場合は 15~20 枚のスライドの提出⁹が求められている。ま

た、腫瘍含有率 30% 未満の症例では、変異があっても変異リード数が低く検出されてしまうため結果が偽陰性となることがあり、結果の解釈には注意が必要である。⁸

核酸量が検査成功に重要であるものの、DNA 量と組織面積には相関を、DNA 量と腫瘍細胞数には弱い相関を認めた。しかし、検査成功群と不成功群の比較では、組織面積や腫瘍細胞数には有意差を認めなかった。一方、マルチプレックス解析の検討からは腫瘍含有率というパラメーターに有意差を認めた。したがって、診療現場で入手可能という制限で考えるならば、腫瘍含有率が検査成功のサロゲートマーカーの候補となると考えられた。以上を踏まえ、病理医と連携し、病理医による評価において腫瘍含有率 30% 以上を守ること¹⁰⁻¹²が、ODxTT 成功を導くための必要条件である可能性が示唆された。

さらに、我々の不成功例の検討からは、腫瘍含有率が

低いことや組織面積が微小であることの他に、腫瘍細胞の壊死やリンパ球の混在が不成功に影響する可能性も示されたため、検体採取前に画像所見から壊死のないバイアブルな細胞を含む病変を標的病変に選択すること、外科的生検や手術検体ではマイクロダイセクションを実施することも、検討する必要がある¹³。これはNGS解析のため腫瘍含有率を高め、ひいては腫瘍核酸濃度を濃縮することに相当する操作であり、我々の解析からも重要性が示唆される。これらの工夫でもODxTTに適した検体が得られない場合には、固定法と保管期間を遵守した過去の手術検体を使用することや、他部位からの再生検を考慮する必要がある。また、緊急の治療導入が必要な症例では、既存の単一遺伝子のコンパニオン診断検査の使い分けも検討する必要がある。

また、成功した生検検体の中にはDNA量とRNA量に乖離を生じた検体も認められた。原因として、一般的にDNAは分解しがたくRNAは分解しやすいため、EUS-FNA検体では処理過程における分解によってRNA量が低くなった可能性が考えられる。EBUS-TBNA検体のDNA量が低くなった原因は不明であり、原因の検索にはさらなる症例の集積が必要である。

本研究は、対象例が限られた後方視的研究であるが、生検検体における核酸量がODxTTの成功に関連した。しかし、核酸量の情報は臨床現場ではすぐに得られないため、検査成功のサロゲートマーカーの候補として、腫瘍含有率やTBBの生検回数を利用できる可能性が示唆された。今後の肺癌診療において、遺伝子異常を有する患者に適切な治療を提供するため、NGS検査の成功が求められる。臨床医は、病理医との密な連携で腫瘍含有率を確認することも重要となる可能性が考えられた。

結 語

生検検体における核酸量はODxTTの成功に関連した。また、ODxTTの成功のサロゲートマーカーとして、病理学的には腫瘍含有率が、手技的にはTBBにおける生検回数が、候補となる可能性が示唆された。

本論文内容に関連する著者の利益相反：なし

謝辞：2018年6月から2018年11月までのODxTTは、ノバルティスファーマ株式会社による「ODxTTシステムによるBRAF V600E検査結果提供プログラム」を用いて実施した。なお核酸量は、H.U.フロンティア株式会社、株式会社LSIメ

ディエンスおよびサーモフィッシャーテクノロジー株式会社によって計測した値を用いた。ノバルティスファーマ株式会社、H.U.フロンティア株式会社、株式会社LSIメディエンス、サーモフィッシャーテクノロジー株式会社よりご協力をいただきましたことを、心より感謝申し上げます。

REFERENCES

1. Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, Yasuda K, Hiramoto M, Nammo T, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nat Med*. 2012;18:375-377.
2. Saito M, Shiraishi K, Kunitoh H, Takenoshita S, Yokota J, Kohno T. Gene aberrations for precision medicine against lung adenocarcinoma. *Cancer Sci*. 2016;107:713-720.
3. 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.
4. 吉田達哉. 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.
5. 日本肺癌学会, 編集. EBMの手法による肺癌診療ガイドライン. 2020年版. 東京:金原出版;2020.
6. 渡辺恭孝, 加藤泰裕, 山根由紀, 水谷英明, 栗本太嗣, 酒井 洋. 当院におけるオンコマイン™ Dx Target Test CDx システム実施症例の検討. 第61回日本肺癌学会学術集会. 岡山:2020.
7. 日本病理学会. ゲノム研究用・診療用病理組織検体取扱規程. 2019.
8. 日本肺癌学会バイオマーカー委員会. 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. 日本肺癌学会;2019.
9. 潤岡美佐, 橋本仁峻, 佐藤碧海, 細矢美奈, 別府弘規. オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム検査における検査成功率向上に向けた取り組み. 第27回日本遺伝子診療学会. 2020.
10. Mikubo M, Seto K, Kitamura A, Nakaguro M, Hattori Y, Maeda N, et al. Calculating the Tumor Nuclei Content for Comprehensive Cancer Panel Testing. *J Thorac Oncol*. 2020;15:130-137.
11. 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.
12. Viray H, Li K, Long TA, Vasalos P, Bridge JA, Jennings LJ, 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.
13. 岡山直子, 西岡光昭, 中原由紀子, 宮原悠太. 遺伝子検査の変遷—核酸抽出からみた過去から未来—. 医学検査. 2015;64:666-674.