

第1回 がんのゲノム検査がいよいよ開始される！

(イルミナ株式会社 クリニカル営業本部 佐々木 政人
オンコロジースペシャリスト 北野 敦史)

【Agenda】

- 1、がんパネル検査の実装
- 2、改良されたがんパネル検査、TSO500
- 3、時代は全ゲノム解析へ

がんパネル検査の実装

がんは遺伝子の変化・変異によって発生します。これまでのがん研究により、既に多くのがんに関与する遺伝子が同定されており、がんの成長を加速する遺伝子変異がわかっています。がんの進行には複数の遺伝子が関与することがわかっていますが、これまでの DNA シーケンサーや PCR 法では、臨床検査において、一度に数個の遺伝子の変異しか調べることができませんでした。

このような背景の中、KRAS/NRAS や BRAF といった主要ながん関連遺伝子の変異を持つがんに特異的に有効な治療薬が開発され、その医薬品の効果を判断する遺伝子変異の検出を担う診断（コンパニオンダイアグノスティックス、CDx）と治療を併用する時代がやってきました。同時に、遺伝子配列決定技術の加速度的向上により、更に多くの遺伝子を一度に検査できることが可能になりました（図1）。そこで、オンコマイン検査のような次世代シーケンサー（NGS）を利用した、バイオマーカーのマルチ CDx が利用されはじめています。マルチ CDx では一度に数十種類以上と多くの遺伝子の変異解析が可能です。

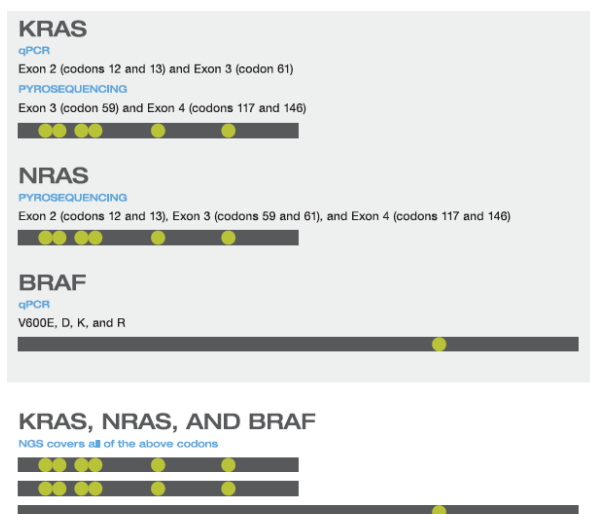




図1 これまでKRAS/NRAS/BRAFの変異（緑円）検出検査はPCR法などによりそれぞれ別々に実施されていた。NGSはこれを包括し、報告もシンプルにすることができる。

<https://jp.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/images/systems/miniseq/takeover/PDF/miniseq-infographic-mobile.pdf>

弊社でも2019年11月、NGSであるMiSeq Dxを医療機器登録し、国内外の企業と共同してCDx開発を支援しています。MiSeq Dxに搭載する最初の体外診断薬として、2020年7月より、ArcherDxのArcher Met CDxの検査が開始されました。



図2 医療機器登録された MiSeq Dx システム
100 遺伝子未満のパネル検査に適している。

一方で、がんに関連する遺伝子の情報が増えてくると、100を超える遺伝子の変異を一度に

網羅的に同定できる検査方法も開発され、特にがんにとって重要と考えられる遺伝子の変異を網羅的に調べるプロファイリング検査が始まりました。OncoGuide NCC オンコパネルは国立がん研究センターとシスメックスが共同開発した製品で、弊社の NGS 医療機器 NextSeqDx を利用して、114 の遺伝子を網羅的に検出します。



図3 医療機器として販売している NextSeq Dx システム
100 遺伝子以上の大きながんパネル検査に適している。

患者さんのがん組織を摘出し、一旦細胞を固定した後、その組織片から得た DNA と、血液から得た個人本来の DNA の塩基配列を詳細に比較して、がんにより特異的に変異した遺伝子を精密に調べて報告します。また、海外へのがん組織検体の送付により検査を実施する FoundationOne CDx (FM1) は更に多くの 320 遺伝子を網羅的に検出することが可能です。

これらの検査の結果、これまでに検出できなかったがんの遺伝子変異が患者さんのがんに見つかり、その変異に基づく新たな治療方法が適用できることが期待されています。

改良されたがんパネル検査、TSO500

がんの原因として、遺伝子が他の遺伝子と組み換えを起こし、その結果として、異常に活性化された融合遺伝子が創造され、がん化が促進されることがわかっています。ALK 遺伝子などで発見されたその例は、現在その他のがんでも報告されています。このような場合には既知の遺伝子の DNA 配列の確認だけでは無く、組み換えの結果として得られる新規の融合 RNA を検出することが重要です。弊社のがんパネル TSO500 では、特殊な技術と RNA Library の使用により、融合 DNA 由来の新規融合 RNA を効率的に検出することが可能です（図4）。



図4 TSO500 で利用されているキャプチャー法の特徴

アンプリコン (Amplicon) 法の場合、上流 (EML4) と下流 (ALK) の両方の融合パートナーに対する PCR プライマー設計が必須となる。新規遺伝子 (この場合 X) が融合した場合、既知の上流プライマーは対応できない。キャプチャー法の場合、プローブが一方の融合パートナーにのみ結合した場合でもキャプチャーし、その後の処理によりシーケンスする事が可能となる。

また、がんは進行していくとその遺伝子に非常に多くの変異を蓄積していくことが知られています。このような変異の蓄積量 (Tumor mutation burden, TMB といいます) は一度にある程度の範囲の遺伝子配列を決めないと正確に把握できないことがわかっています。TSO500 はその配列決定領域が大きいことから TMB を正確に判断できます。TMB はがん免疫療法のトピックである免疫チェックポイント阻害剤の効果予測に利用できると考えられています (図5)。

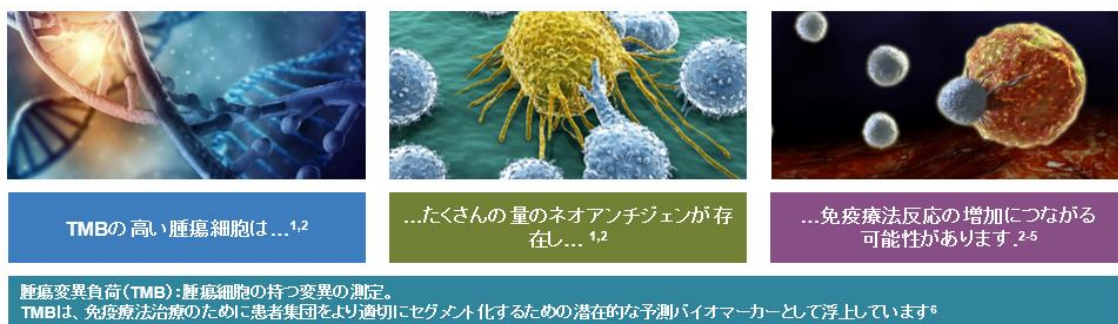
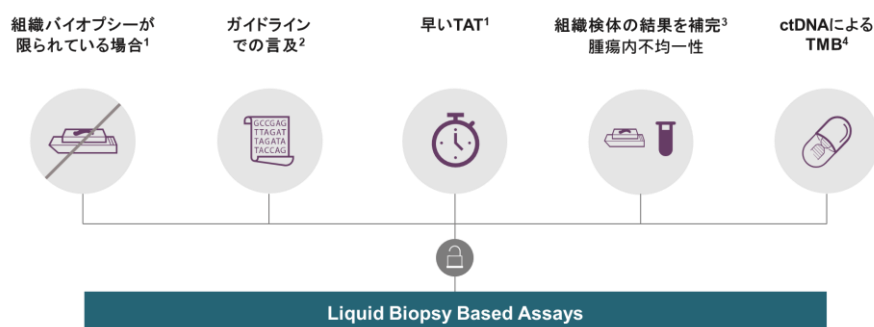


図5 TMBの検出

TMB はがん免疫療法の効果予測バイオマーカーとして注目されている。

弊社は現在、日本において TSO500 を診断薬として申請すべく準備を始めています。2020年12月から、岡山大学主導による先進医療が開始されました。TSO500 は将来的に血液中に浮遊するがん由来の微量 DNA (Circulating tumor DNA、ctDNA) を利用した検査も可能になる予定です (図6)。血液中の ctDNA を利用した検査は組織の摘出に比べ、患者さんに負担をかけずに実施できます。NGS を利用することで高感度かつ多くの遺伝子変異情報を得ることができ、TMB にも対応できることから今後広く普及すると考えられています。ctDNA の検出感度を更に向上させ、がんの早期スクリーニングにも対応できるように開発を継続しています。

ctDNA によるテストの利点



1. Roffo et al. Tissue biopsy limitations... *Journal Thoracic Onc.* 2018
 2. Inclusion in NCCN Guidelines... *NSCLC NCCN Guidelines v3.2019* - Jan 2019
 3. Leigh et al. Complement and Concordance with Tissue Results... *Clin Cancer Res.* 2019
 4. Kim ES, Velcheti V, et al. Emergence of liquid biomarkers such as bTMB... *LBA55-ESMO Abstract.* 2018

図6 ctDNA 検査のメリット

プロファイリング検査において、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織からの DNA は十分な量が得られない場合がある。また、組織の固定処理などに時間を要し、腫瘍の不均一性により、臨床と関連のある変異を検出できない場合がある。組織に代わり血液検体を代用する事が、これらの問題の解決として期待されている。

時代は全ゲノム解析へ

このようなパネル検査の流れと並行して、海外では既のがんの全ゲノム検査が始まりました。DNAの構造を解き明かした歴史を持つイギリスによる国家プロジェクトは弊社との共同にて、先駆的な10万人規模の研究を行い、既に全ゲノム検査の医療実装を開始しています。

同様なプロジェクトがアジアを含め世界中で開始されており、弊社はイギリスで学んだ経験をフルに生かして、各国のプロジェクトを支援しています。

それは単なるDNA配列決定のみではなく、NGSに最適な検体の採取保管方法、DNA配列決定の品質管理方法、塩基配列データの正確・高速解析手法の開発、データの高いセキュリティー下での保管・共有方法の構築など多岐にわたり、全ゲノム検査の総合的ソリューションを提供しており、これらはクリニカルシーケンシングの国際的な標準化につながっています。

これまでの研究ではまだその原因が解明できない、原因不明のがんがあります。そのようながんの原因がゲノムのどこかに潜んでいると考えられ、それらを発見すべく、精力的に研究が進められています。それは例えば、ゲノム上で遺伝子としての情報を持つ領域ではなく、遺伝子の機能調節領域であったり、染色体そのものの構造を支える骨組みの構築に関わっていたりする可能性があります。全長1.8 mにもおよぶDNAがたった10 μ m径程の細胞の核に閉じ込められ、細胞の中で完璧に機能している環境は全くの未知の世界です。

2019年、全ゲノムの情報を臨床情報と共に蓄積・分析し、その結果を医療に実装していくという方針が日本の骨太プランに組み込まれました。2020年からはいよいよ日本でもがんと希少疾患を対象として、10万人規模という、ヒト全ゲノムデータが患者さんの臨床データと共に蓄積される大規模プロジェクトが複数年にわたり開始されています。日本人の基本となるビッグデータを蓄積し、そのデータの利活用により、日本人に特異的ながんの遺伝子変異や新しいがんの原因が発見され、新たながんの予防法・治療法が開発されることを期待しています。

(2021年2月4日改訂版)

佐々木 政人

イルミナ株式会社 営業本部 Large Scale Genomics Project Manager

1989年より1998年、全薬工業株式会社研究所にて乳がんの基礎研究に従事

1998年より2009年、ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社にてPCR開発本部技術者、MD(Molecular Diagnostics)カスタマーサポート本部部長およびMDマーケティング本部部長

2009年より2016年、株式会社キアゲンにてマーケティング部部長

2016年よりイルミナ株式会社にてクリニカル営業本部部長

2020年より同イルミナ営業本部 Large Scale Genomics Project Manager

「がんと遺伝子」を主軸として、30年以上にわたり研究ならびに遺伝子解析技術の臨床応用に従事。臨床検査技師、薬剤師、薬学博士

北野 敦史

イルミナ株式会社 オンコロジースペシャリスト

1994年より2001年、フナコシ株式会社にてテクニカルサポートに従事

2001年より2019年、株式会社キアゲンにて、テクニカルサポート、マーケティング部およびアプリケーションサポートに従事

2019年よりイルミナ株式会社にて技術営業部に従事

■■■会社案内■■■

イルミナ株式会社

～ゲノムのパワーを解き放ち、人びとの健康をより豊かにすることを目指します～

イルミナは、遺伝子変異や遺伝子機能の大規模解析のためのライフサイエンスツールや統合システムの開発、製造、販売を手がけるリーディングカンパニーです。革新的なだけでなく柔軟性と拡張性をも兼ね備えたソリューションを提供します。

<お問い合わせ連絡先>

TEL : 0800-111-5011

Contact : <https://jp.illumina.com/company/contact-us.html>

URL : <https://jp.illumina.com/>

以上