

# がん関連におけるリキッドバイオプシーの現状と 包括的ゲノムプロファイリング

Current topics and issues related to liquid biopsy and comprehensive genomic profiling for cancer

かき しま ひろ き す なみ く に こ まつ した ひろ みち や た べ やすし  
柿 島 裕 樹<sup>1)</sup> : 角 南 久仁子<sup>1)</sup> : 松 下 弘 道<sup>1)</sup> : 谷 田 部 恭<sup>2)</sup>  
Hiroki KAKISHIMA Kuniko SUNAMI Hiromichi MATSUSHITA Yasushi YATABE

## <キーワード>

リキッドバイオプシー、コンパニオン診断、がんゲノム医療、包括的ゲノムプロファイリング

## < Key words >

Liquid Biopsy, Companion Diagnostics, Cancer Genomic Medicine, Comprehensive Genome Profile

## はじめに

現在、がん関連の分野では、患者血液の血漿中に存在しているがん由来の核酸をターゲットにしたリキッドバイオプシーが注目されており、すでにコンパニオン診断として保険収載された検査が存在し、診療に用いられている。ここでは、がん関連において血漿を検体としたリキッドバイオプシーの現状と、包括的ゲノムプロファイリング (Comprehensive Genome Profile : CGP) 検査の実施に向けた国内の状況について述べていきたい。

## I. リキッドバイオプシー

リキッドバイオプシーとは、腫瘍組織検体が得られ難い際の代替えとして、主にPCRや次世代シーケンサー (Next-Generation Sequencing : NGS) 解析に利用するために低侵襲で得られる液性検体 (体液や血液など) の細胞・核酸などの検体採取を意味する。がん患者では、アポトーシスやネクロシ

スをきっかけとして、血中や体液中に放出されたがん細胞由来の核酸がセルフリー (cell-free) の状態で存在することが以前より知られており、近年解析対象として注目されている。なお、リキッドバイオプシーの検体中に含まれるセルフリー状態のDNA全般を cell-free DNA (cfDNA)、その中で特にがん細胞由来の cfDNA を circulating tumor DNA (ctDNA) と呼ぶ。リキッドバイオプシーにおける ctDNA を対象とする検査は、腫瘍の不均一性 (heterogeneity) の影響を受けず、患者がもつ腫瘍全体としての遺伝子異常の評価が可能で<sup>1)</sup> Clonal Evolution の経時的な情報を得れば、がんの進行度、治療薬への反応や耐性化についての詳細な患者状態を把握することが可能である。

全血を用いた場合、リキッドバイオプシーで得られる cfDNA 中に含まれるがん由来の ctDNA の割合は非常に少ない。このため、検体としては処理過程で血液有核細胞である白血球から DNA が放出される血清は利用しにくく、通常血漿を用いる。採血管は、抗凝固剤に加え細胞の保存剤によりアポトーシスを防止するなど、工夫がなされている。また、cfDNA には半減期が存在し<sup>2)</sup>、検体処理の手技が解析の成功率に大きく影響する。それゆえに、遠心条件や遠心までの制限時間が決められており、メーカーに準じたプロトコルを厳密に守って血漿分離の処理がなされる必要がある。

## II. 診療に用いられるリキッドバイオプシー

がん関連において診療に用いられるリキッドバイオプシーは、分子標的療法の適応を調べる目的で行

1) 国立研究開発法人 国立がん研究センター中央病院 臨床検査科  
2) 国立研究開発法人 国立がん研究センター中央病院 病理診断科  
〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1

1) Division of Clinical Laboratories, National Cancer Hospital  
2) Department of Diagnostic Pathology  
(5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku Tokyo, 104-0045 Japan)

われる。現状では、血漿検体中の ctDNA を解析して、対象遺伝子の変異を検出する検査が実施されている。採取された検体は、主に PCR あるいは NGS を用いて解析される。一般に、前者は検出する遺伝子変異が少数で限定されている場合で、コンパニオン診断による個別化医療に対し、後者は検出する遺伝子変異が多数もしくは CGP 検査の場合で、コンパニオン診断のほかがん遺伝子パネル検査の CGP による精密医療に対し用いられる。

### 1. コンパニオン診断としてのリキッドバイオプシー

コンパニオン診断のリキッドバイオプシーにおいて PCR ベースで実施されている例として、肺非小細胞肺癌の *EGFR* 遺伝子変異の有無を調べるコバス® *EGFR* 変異検出キット v2.0 がある。当初は、T790M の耐性変異の検出を目的としていたが、現在は 1 次変異の検出に用いるものに変更されている。検出試薬と機材は病理組織検体で用いるものと同様であり、解析メソッドを変更するだけで検査を実施することが可能である (図 1)。また、OncoBEAM™ RAS CRC キットではデジタル PCR 法を用いている。一方、肺非小細胞肺癌の ArcherMET コンパニオン診断システムでは、*MET* エクソン 14 スキッピングなどの検出に NGS が用いられるようになってきている (表 1)。分子標的薬の数は年々増加しており、今後目まぐるしく追加・更新が行われると考えられる。



図 1 PCR ベースによる *EGFR* 変異検索

院内の組織検体による解析の様子、リキッドバイオプシーも解析アルゴリズムを切り替えれば同様の試薬と機器で検査が可能である

### 2. CGP 検査としてのリキッドバイオプシー

2021 年 3 月 22 日、FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイルが、国内で初めて血液検体を用いた固形がんに対する CGP 検査として承認された。本検査は既に 2019 年 6 月より病理組織検体を検体として保険収載されている FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイルと同様に 324 のがん関連遺伝子を対象としており、コンパニオン診断を併せ持ち検査は米国にあるファウンデーションメディシン社で実施される。

承認された解析プログラムは、医療機器プログラ

表 1 リキッドバイオプシーとして承認されているコンパニオン診断 (2021 年 3 月 23 日現在)

試薬名	対象遺伝子	適応	治療薬成分名
OncoBEAM™ RAS CRCキット	<i>KRAS/NRAS</i>	結腸・直腸	セツキシマブ パニツムマブ
コバス® <i>EGFR</i> 変異検出キット v2.0 (組織、血漿)	<i>EGFR</i>	非小細胞肺癌	ゲフィチニブ アファチニブマレイン酸塩 オシメルチニブメシル酸塩 エルロチニブ塩酸塩
<i>EGFR</i> リキッド遺伝子解析ソフトウェア (組織、血漿)	<i>EGFR</i>	非小細胞肺癌	ゲフィチニブ アファチニブマレイン酸塩 エルロチニブ塩酸塩
ArcherMETコンパニオン診断システム	<i>MET</i>	非小細胞肺癌	テボチニブ
FoundationOne® Liquid CDxがんゲノムプロファイル	<i>EGFR</i>	非小細胞肺癌	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>ALK</i>		アレクチニブ塩酸塩 クリゾチニブ セリチニブ
	<i>ROS1</i>		エストレクチニブ
	<i>NTRK1/2/3</i>	固形癌	エストレクチニブ

ムの疾病診断用プログラムに該当し、CGP 検査で用いる遺伝子変異解析プログラム（がんゲノムプロファイリング検査用）とコンパニオン診断として用いる体細胞遺伝子変異解析プログラム（抗悪性腫瘍薬適応判定用）である。

### Ⅲ. 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（日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会の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・日本癌学会の3学会合同ゲノム医療推進タスクフォースは、国内におけるリキッドバイオプシー CGP 検査の承認・保険収載を見据えて2021年1月20日に「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」を発出している。本タスクフォースは、既に2017年11月に病理組織検体における CGP 検査についての3学会ガイダンスが発出（最新版は2020年5月の第2.1版）しているが、今回は新たにリキッドバイオプシーに対応する形となった。主に血漿 CGP 検査の現状と提言内容が記載されている<sup>3)</sup>。

以下にその概要をまとめた。

#### 1. 血漿 CGP 検査の現状

組織 CGP 検査に比べてエビデンスが十分とは言えない部分が存在するとしながら、検査の実施で参考となる情報が紹介されている。内容は(1)血漿検体の取り扱い、(2)血漿 CGP 検査の技術面、(3)検

査所要時間 (Turnaround time : TAT)、(4)複数回検査に関して、(5)治療へのつながりについてであり、参考文献の情報などが付加されて記載されている。血漿は組織検体に比べて検体採取が容易であることに目が向きがちであるが、技術的にはNGS解析時に偽陰性の可能性が高い、などを留意する必要がある。

#### 2. 提言

進行固形がんに対する血漿 CGP 検査の保険診療下での実施についての基本的考え方が提言として示されている。血漿検体は腫瘍検体と比べ偽陰性率が高いことから、腫瘍検体の CGP 検査を優先することが合理的であるが、患者の状況に合わせて総合的に適切な検体を選択することが重要としている。

提言の項目は、(1)エキスパートパネルについて、(2)血漿検体、組織検体を用いた CGP 検査の利点と注意点、(3)組織検査に比して血漿検体を用いることが優先される状況、(4)血漿検体に比して組織検体を用いることが優先される状況、(5)血漿 CGP 検査の複数回検査における考え方、の5つから構成されている。(2)の血漿検体、組織検体を用いた CGP 検査の利点と注意点では、検体選択の際に留意すべき点が記載されている(表2)<sup>3)</sup>。それらの中に、CHIP (clonal hematopoiesis of indeterminate potential) がある<sup>4)</sup>。CHIPとは加齢に伴い出現・増加するクローン性造血のことで、CHIPが存在する場合には遺伝子変異が血漿 CGP 検査の検査結果に含まれる可能性がある。ゲノムワイドの解析特有の注意点として留意する必要があり、CHIPの可能性が考えられる場合は(4)血漿検体に比して組織検体を用いることが優先される状況となる。

表2 CGP 検査における血漿検体と組織検体の利点と注意点

	利点(変更)	注意点(変更)
血漿検体	<ul style="list-style-type: none"> <li>・検体採取が低侵襲的で容易</li> <li>・現時点でのプロファイルが得られる</li> <li>・検査所要日数が短い</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・組織検体に比べると偽陰性の可能性がある</li> <li>・CHIP検出の可能性がある</li> <li>・コピー数変化、遺伝子融合の評価が困難な場合がある</li> </ul>
組織検体	<ul style="list-style-type: none"> <li>・病理組織診断された検体を直接評価できる</li> <li>・対象とした部位の腫瘍プロファイルが得られる</li> <li>・腫瘍内での空間的な評価が可能である</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ホルマリン固定の影響により核酸が劣化する</li> <li>・年数の経っているパラフィンブロックの場合核酸が劣化する</li> <li>・腫瘍細胞割合が低い場合には偽陰性の可能性がある</li> <li>・過去の検体の場合、プロファイルが変化し現時点の遺伝子異常を反映していない可能性がある</li> <li>・検査所要日数が血漿検体に比して長い</li> </ul>

CGP: 包括的ゲノムプロファイリング (Comprehensive Genome Profile)

CHIP: 正常細胞内のクローン造血由来の遺伝子変異 (Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential)

(文献3)を基に作成)

表 3 同一患者における組織検体と血漿検体との解析比較の例

		組織検体	
		METex14 +	METex14 -
血漿検体	METex14 +	18	1
	METex14 -	19	58

VISION試験で使用した検体でのArcherMET分析学的・臨床的妥当性を検討した際に、同一患者での血漿検体および組織検体が解析された96検体での比較

(文献6)を基に作成)

## おわりに

血漿検体を用いたCGP検査は、従来の組織検体にとって代わるものではなく、両者の検体が持つ特性を十分理解して検体が選択される必要がある。特にCGP検査は、遺伝子変異情報やアノテーション情報も使用検体の特性を十分留意して検討する必要がある。リキッドバイオプシーは特異度が高いものの、感度については80%程度と十分とは言えない<sup>5)</sup>。表3<sup>6)</sup>に承認されているArcherMETコンパニオン診断システムでの臨床試験における同一腫瘍での組織検体と血漿検体の比較を示したが、およそ組織検体で検出された異常が血漿検査では半分程度しか検出されていない<sup>7)</sup>。組織検体はRNA、血漿検体はctDNAを用いる検査であり核酸種別の違いも反映されていると思われるが、血漿検体で陰性であった場合にはその異常が確定的に陰性とは言い切れないことを心にとめる必要がある。

リキッドバイオプシーが診療の検査として用いられる一方、腫瘍細胞そのものであるCTCs (Circulating Tumor Cells)、発現の調節因子としての機能をもつmiRNA、細胞外小胞 (Extracellular Vesicles; EV) などについても、臨床応用を目指してバイオマーカーを含めた臨床的意義について研究が進められている。多数のバイオマーカーによるリキッドバイオプシーの将来像を捉えつつ、間もなく診療の検

査として開始されるであろうがん関連の血漿検体CGP検査の展開について注目していきたい。

## 文 献

- 1) Parikh AR, Leshchiner I, Elagina L, et al . Liquid versus tissue biopsy for detecting acquired resistance and tumor heterogeneity in gastrointestinal cancers. *Nat Med.* 2019; **25**(9): 1415-1421.
- 2) Diehl F, Schmidt K, Choti MA, et al . Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med.* 2008; **14**: 985-990.
- 3) 日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会の3学会合同ゲノム医療推進タスクフォース. 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. 2021年1月20日
- 4) David P. Clinical consequences of clonal hematopoiesis of indeterminate potential. *Blood Adv.* 2018; **2**(22): 3404-3410.
- 5) 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 Mar; **13**(3): 323-358.
- 6) 添付文書 ArcherMETコンパニオン診断システム. <https://archermet.jp/wp-content/uploads/2020/06/%E6%B7%BB%E4%BB%98%E6%96%87%E6%9B%B8.pdf>. (引用2021/4/27)
- 7) 日本肺癌学会バイオマーカー委員会. MET検査の手引き. 2020年9月15日