

特集 癌クリニカルシーケンス

# 癌細胞の変異に基づき治療方針 品質確保や偶発的所見などに課題

原発不明癌や希少癌、標準治療不応の進行再発癌にクリニカルシーケンスを行う取り組みが始まった。自由診療で日常的に検査を提供する大学病院も増えており、一部では変異に基づく治療が奏効した例も。検査の品質確保や臨床試験情報の公開、偶発的所見への対応など、課題も浮き彫りになってきた。

近年、癌領域の新たな個別化医療として、クリニカルシーケンスが注目を集めている。クリニカルシーケンスとは、癌細胞の遺伝子を網羅的に解析する検査のことで、見いだされたドライバー遺伝子の変異などに対し、最新のエビデンスを参考に治療方針を決定するゲノム医療に利用される。クリニカルシーケンスができるようになった背景には、次世代シーケンサー（NGS）の登場で遺伝子の網羅的解析が安価にできるようになったことや、シーケンス結果を解析し、ドライバー変異やそれに対する薬剤の情報を導き出すためのインフラが整ってきたことなどが挙げられる。

## クリニカルシーケンスは“多対多”の検査

コンパニオン診断薬（CDx）と分子標的薬が“1対1”の組み合わせであるのに対し、クリニカルシーケンスでは解析対象の変異と治療法が“多対多”の組み合わせとなるため、1度の解析で変異を突き止め、それに合った薬剤を投与することが可能になる。また、解析対象に含まれていれば、まれな変異でも検出が可能だ。こうしたことから、原発不明癌や希少癌、標準治療不応の癌、予後の悪い癌などに対し、個々の患者に適した有効な治療を提供できる可能性があると期待されている。

米国では、スイスRoche社が買収した米Foundation Medicine社をはじめ複数の企業が、自家調整検査法（LDT）として医療機関に対しクリニカルシーケンスの検査を提供している。また、米Memorial Sloan-Kettering Cancer Center（MSKCC）や米University of California, San Diego（UCSD）など一部の癌専門病院や大学病院も、独自のLDTを開発し、検査を実施している。

UCSDでクリニカルシーケンスを手掛けていた東京医科歯科大学医学部附属病院腫瘍センターの池田貞勝特任助教は「外部のLDTを利用する大学病院も出てきており、米国では様々なプラットフォームで検査が実施され

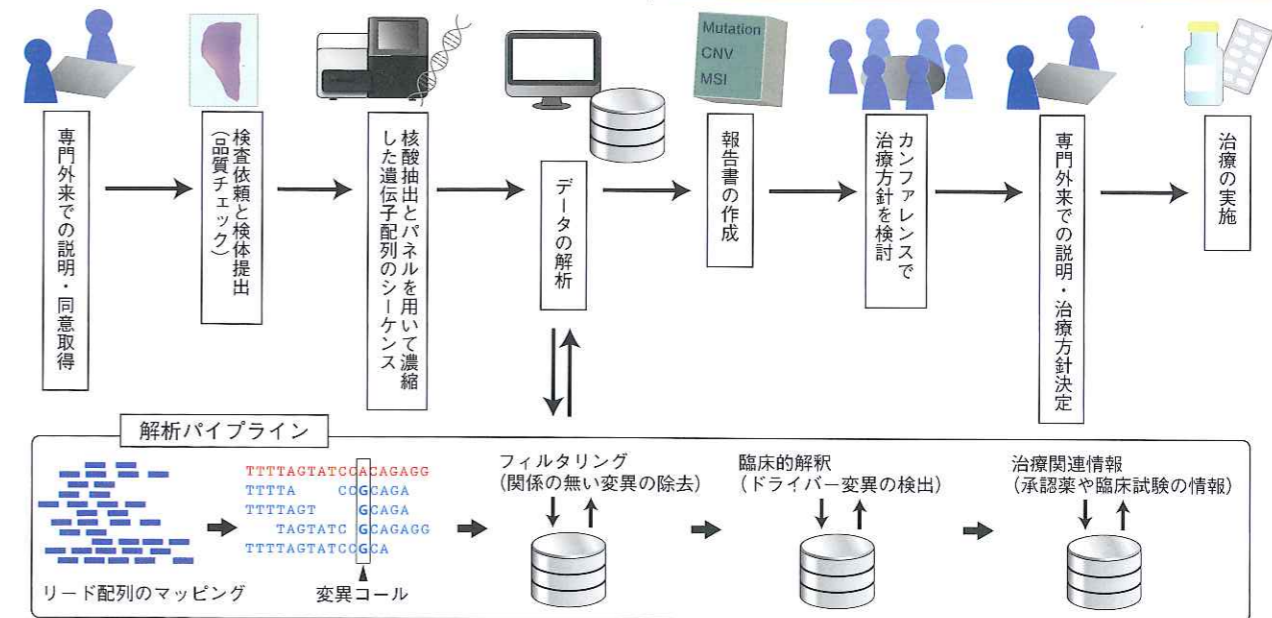
ている」と話す。その結果、ある癌種（臓器）で使われているドライバー変異に対する分子標的薬を、別の癌種で同じ変異を持つ癌患者に投与したところ奏効した、といった症例報告が蓄積されつつある。

基本的なクリニカルシーケンスの流れは次のようなものだ（図1上）。クリニカルシーケンスを実施する医療機関は、検査を希望する患者に対し、専門外来などで説明を行い、同意を取得する。その上で、手術時に採取した検体（癌組織）を基に、癌細胞が一定程度含まれているかなど検体の品質を病理医が確認。癌細胞の核酸を抽出し、ターゲットシーケンス用パネルを用いてあらかじめ設定してある数十、数百遺伝子の解析対象の領域を濃縮。シーケンスを実施する。中には、正常細胞（生殖細胞系列）についても同様の解析を行い、癌細胞に特異的な変異の絞り込みに役立っているところもある。

その後、NGSから出てきたデータは、解析パイプライン（様々なプログラムを連結し、流れ作業で情報処理ができるシステム）で解析され、ドライバー変異や融合遺伝子、コピー数変異、マイクロサテライト不安定性などを検出して、重み付けされる。さらに検出された変異などの情報を基に、変異に対して承認されている薬剤、臨床試験中の薬剤の情報などを合わせた報告書が作成される。報告書を受けて、担当医や病理医、腫瘍内科医、遺伝カウンセラー、バイオインフォマティシャンなどが、カンファレンスで治療方針について検討。専門外来などで患者へ治療方針を説明した上で、治療を実施する。

中でも肝になるのは、解析パイプラインと呼ばれる情報処理システムだ（図1下）。個々のシステムごとに違いはあるものの、癌のクリニカルシーケンス向けの解析パイプラインでは主に、(1) NGSで読まれたリード配列を既知のゲノム配列を基にマッピング、(2) 変異を検出（変異コール）、(3) 関係のない変異を除外（フィルタリング）、(4) 既存のデータベースを参照してドライ

図1 クリニカルシーケンスの流れ（取材を基に編集部で作成）



肝になるのは、解析パイプラインと呼ばれる情報処理システム。アルゴリズムに基づいて、次世代シーケンサーで解析したリード配列のマッピング、変異の検出（変異コール）、フィルタリングや臨床的解釈、治療関連情報などの付加は、様々なデータベースを参照して行われる

バー変異を検索・重み付け、(5) 変異に応じて承認されている薬剤や臨床試験の情報などを付加する——といった処理が行われる。解析パイプラインは、NGSから出てくる膨大なデータを解釈し、臨床的に有用な情報を自動的に抽出するシステムであり、NGSを診断や治療に使う上で不可欠な存在だ。

## 複数の大学病院が自由診療に踏み切る

国内でもここ数年、クリニカルシーケンスを実施する病院が増えている。家族性腫瘍と血液癌の患者を対象にクリニカルシーケンスを実施している東京大学医学研究所附属病院をはじめ、近畿大学医学部附属病院、京都大学医学部附属病院、岡山大学病院、国立がん研究センター中央病院と同東病院、北海道大学病院、順天堂大学医学部附属順天堂医院などが取り組みを始めた。

特に、東大医科研病院や近畿大病院、国立がん研究センターが臨床研究の枠組みで実施しているのに対し、京都大病院や岡山大病院、北海道大病院、順天堂医院は、自由診療（保険外診療）として日常的に検査を実施する体制を整えた（表1）。具体的には、病院で患者説明と同意取得、検査の依頼、検体（癌組織）の扱いなどの手続きを統一化したり、専門外来を設置したり、多職種によるカンファレンスを定期的に開催するなど、院内のフローを設定。自由診療のため、検査にかかる費用や、その後、保険適用外の治療にかかる費用は患者が負担する。

京都大大学院医学研究科腫瘍薬物治療学講座の武藤学教授は、「分子標的薬は特定の癌種に対して開発される。そのため見いだされた変異に対する分子標的薬があっても、臓器（癌種）が違えば使用できないのが実情だ。まれなドライバー変異を有する原発不明癌や希少癌、治療法のない進行再発癌の患者が治療に行きつかない状況を変えたかった」と話す。別の病院の医師は、自由診療を始めた理由について「研究費が取れてクリニカルシーケンスを臨床研究として実施しても、それが永続的に続けられるわけではなく、また、研究対象から希少癌が外される可能性が高い。自由診療であれば、日常的に検査を実施し、治療に還元する体制を確立できる」と説明する。

国内では、NGSによる解析など検査を全て施設内（in house）で行うところから、検査を外部に委託しているところまで様々だ。

京都大病院や北海道大病院、岡山大病院が導入している「OncoPrime」という検査は、米Quintiles社と米Quest Diagnostics社の合弁会社である米Q2 Solution社が提供しているクリニカルシーケンスだ。癌組織から、融合遺伝子も含め合計223遺伝子を解析できる、Q2 Solution社が独自開発したターゲットシーケンス用パネルを用いて解析を実施し、解析パイプラインに基づき、ドライバー変異などを検出する。報告書には、見いだされた変異に対する承認薬の情報、臨床試験の情報、見いだされた変異の情報などがまとまっている。国内への導入



に当たっては、三井物産の子会社である三井情報が、国内で承認されている薬剤や臨床試験の情報を付加するなど支援。日本の医療機関が海外企業と契約するのは煩雑なため、書類の収集や臨床現場のサポート、国内情報の付加などを行っている。

順天堂医院が始めた「MSK-IMPACT」という検査は、MSKCCで開発され、既に1万例以上で実施された実績を持つ。癌組織から癌細胞と正常細胞の核酸を抽出し、融合遺伝子を含め、合計428遺伝子を対象としたMSKCC独自のターゲットシーケンス用パネルを用いて解析を実施。MSKCCの解析パイプラインに基づき報告書が作成される。MSKCCで検査に関わった経験を持つ順天堂大医学部整形外科教室の末原義之准教授は、「クリニカルシーケンスでは、データの解釈が難しい。この検査はMSKCCのバイオインフォマティクスが臨床的意義付けをし、その後必ず、病理医が最終的なチェックを行い検査結果が出てくる。これまで蓄積された症例の情報が反映される強みもある」と話す。正常細胞の遺伝子も解析するため、癌細胞にのみ見られる体細胞変異を高い精度で検出できるのも売りだ。国内導入を仲介したのはテラーメッド（東京・文京、関根智子社長）で、同社は検体の送付や報告書の和訳などを担っている。

北海道大学病院では、Q2 Solution社の検査以外に、「治療関連遺伝子パネル検査」と「腫瘍特異的パネル検査」という2種類の施設内検査も用意。治療関連遺伝子パネル検査は、ドイツQIAGEN社の「Human Clinically Relevant Tumor Panel」を用いて24遺伝子を検索するもので、腫瘍特異的パネル検査は、QIAGEN社の「Human

Comprehensive Cancer Panel」などを用いて160遺伝子を調べる検査だ。いずれも病院内の生体試料管理室でシーケンスを行い、三菱スペース・ソフトウェアが開発した解析パイプラインを使ってデータ解析を実施する。

京都大病院では、クリニカルシーケンスの対象患者を原発不明癌、希少癌、標準治療不応の進行再発癌に限定している。それ以外の病院では明確に患者を限定してはいないものの、基本的には希望者には検査を行い、標準治療を終えた後に再発した時点などで検査の結果を治療に生かす方針を取るところが多い。治療に当たっては、見いだされた変異に対する承認薬があり、癌種も合っていれば保険診療で承認薬を投与する。変異に対する臨床試験が行われていて、患者が被験者の要件に適合していれば臨床試験を紹介する。変異に対し有効性が期待できる薬剤があるものの、癌種が適応外だったり、そもそも承認されていなかったりすれば、自由診療で治療を行う。

**検査結果に基づいた治療が著効する例も**

2016年7月までに、京都大病院で70数例、岡山大病院で数例、順天堂医院で1例、北海道大病院で30数例で解析を終了したところ。中には、FGFR2融合遺伝子が見いだし、国内で実施されているFGFR阻害薬のフェーズIIに組み入れられたケースや、直腸癌でマイクロサテライト不安定性（MSI）の頻度が高いと判明し、抗PD1抗体「オプジーボ」（ニボルマブ）の投与を始めたケース、希少癌でHER2遺伝子のまれな変異が検出され、EGFRチロシナーゼ阻害薬の「ジオトリフ」（アファチニブ）が投与されたケースなどがある。



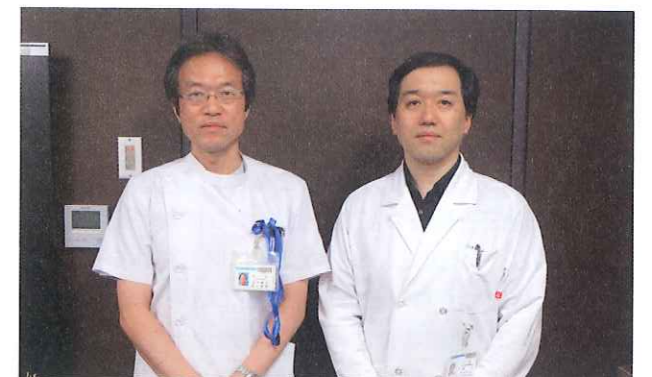
順天堂大医学部附属順天堂医院でMSK-IMPACT検査に関わっている末原義之准教授（左）、同大学院医学系研究科臨床腫瘍学の加藤俊介教授（中央）、病理診断科の林大久生准教授

検査結果を基にした治療が奏効した例も出始めている。その1例は、京都大の以下のような症例だ。原発不明癌の50歳代・女性。肺や骨、甲状腺、脳に腫瘍が多発していたものの、画像検査では診断が付かなかった。そこで、京都大でクリニカルシーケンスの検査を実施。その結果、EGFR遺伝子の変異が見つかった。「それに対して、EGFRチロシナーゼ阻害薬の『タルセバ』（エルロチニブ）の単剤投与と、その後、抗VEGF抗体の『アバスタチン』（ベバシズマブ）との併用投与を行ったところ、肺の腫瘍が縮小する効果が見られた」（京都大大学院医学研究科腫瘍薬物治療学講座の金井雅史特定准教授）。

もっとも、クリニカルシーケンスを実施しても明確なドライバー変異が全く見つからなかったり、変異が見つかっていても承認薬も臨床試験も行われていないといったケースもある。また、承認薬や臨床試験が見つかっていても、全身状態が悪化し、治療を受けるに至らないケースもある。北海道大学病院臨床研究開発センター研究開発推進部門生体試料管理室室長の西原広史特任教授は、「これまでのところ検査を受けた症例のうち、30



北海道大学病院は2016年4月からクリニカルシーケンスをスタートさせた。北海道大病院生体試料管理室室長の西原広史特任教授は、バイオバンクの運営にも尽力している



京都大医学部附属病院にOncoPrimeを導入した金井雅史特定准教授と武藤学教授。原発不明癌、希少癌、標準治療不応の進行再発癌を対象に70例超のクリニカルシーケンスを実施した

%ぐらいが治療に行き着く印象だ」と話す。京都大病院や岡山大病院、北海道大病院などは今後、それぞれで積み重ねた症例について、検査結果に加え、治療内容、予後の情報共有するデータベースを構築する計画だ。「現時点では検査の結果、意義不明の変異（variant of uncertain significance：VUS）が見つかることも少なくない。しかし、治療内容や予後のデータを合わせて蓄積することで、VUSだった変異の意義が明らかになったり、この変異にはこの治療が有効だと把握できる可能性がある」と西原特任教授は話す。

解析に要する費用がさらに低減し、スパコンなど膨大な情報を処理できるインフラが整えば、という条件付きではあるものの、「将来的にクリニカルシーケンスは、数百遺伝子を対象としたターゲットシーケンスから、ホールゲノムシーケンス（WGS）に移行するだろう」（武藤教授）と見る向きが多い。ドライバー変異が見つからない症例もある中、患者が適した治療にたどり着けるように、あらゆる変異をあぶり出したいというのが動機だ。その際は、変異のフィルタリングや重み付けなどに人工知能が活用されると見られており、人工知能にいかにも過去の検査結果や治療内容、予後に関する良質なデータを入力・学習させるかが勝負になる。

**品質確保、治験情報の公開など課題多く**

国内でも臨床実装が始まったクリニカルシーケンスだが、課題も少なくない。

まず、癌のクリニカルシーケンスを含む、遺伝子検査の分析学的妥当性や臨床的妥当性といった品質を管理する仕組みが無いことだ。米国で実施されているFoundation Medicine社やQ2 Solutions社、MSKCCの検査などはいずれも、米国のClinical Laboratory Improvement Amendments（CLIA）法に基づき、臨床検査の品質を

**表1 クリニカルシーケンスを自由診療として実施している主な病院（取材を基に編集部で作成）**

病院名	検査名	シーケンス・解析実施機関	NGSの種類	パネルの種類	解析遺伝子数	検体の種類	検査期間	価格	開始時期
京都大学医学部附属病院	OncoPrime	米Q2 Solutions社、三井情報	HiSeq	Q2 Solutions社の独自パネル	223遺伝子（融合遺伝子含む）	癌細胞	約1カ月	80万円台	2015年4月
北海道大学病院	治療関連遺伝子パネル検査	北大病院生体試料管理室、三菱スペース・ソフトウェア	MiSeq	Human Clinically Relevant Tumor Panel	24遺伝子	癌細胞血液	約2週間	40万円台	2016年4月
	腫瘍特異的パネル検査	北大病院生体試料管理室、三菱スペース・ソフトウェア	MiSeq	Human Comprehensive Cancer Panelなど	160遺伝子（融合遺伝子含む）	癌細胞血液	約2週間	70万円台	2016年4月
岡山大学病院	OncoPrime	米Q2 Solutions社、三井情報	HiSeq	Q2 Solutions社の独自パネル	223遺伝子（融合遺伝子含む）	癌細胞	約5週間	100万円台	2016年4月
	OncoPrime	米Q2 Solutions社、三井情報	HiSeq	Q2 Solutions社の独自パネル	223遺伝子（融合遺伝子含む）	癌細胞	約1カ月	90万円台	2015年8月
順天堂大学医学部附属順天堂医院	MSK-IMPACT検査	米Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC)	HiSeq	MSKCCの独自パネル	428遺伝子（融合遺伝子含む）	癌細胞正常細胞	約1カ月	60万円台	2016年6月



保証する CLIA 認定を受けている。日本では、臨床検査室の品質を認定する ISO 15189 を取得する大学病院が増えているものの、遺伝子検査は認定の対象外。施設内検査を実施している北海道大の生体試料管理室も、やむを得ず、ISO 15189 に準じた運用をしているのが実情だ。

また、遺伝子検査の品質を認定する体制が整っても、課題は残る。「米国でも複数の企業に同じ検体を出して、検査を実施してもらおうと、企業ごとに結果が違うことが少なくない」(池田特任助教)。その理由として、癌組織に含まれる癌細胞は遺伝的にヘテロであり、検査に用いる検体や癌細胞が違えば異なる結果が出てしまうことや、検査ごとに解析パイプラインが違うため何を変異と判断するかのアルゴリズムが異なることなどが考えられる。武藤教授は「今後、品質を管理するための枠組みが必要になるだろう」と話す。

「臨床試験の情報が公開されておらず、治験にアクセスができない」との指摘も多い。クリニカルシーケンスを実施している病院や解析パイプラインを開発している企業は、日本医薬情報センター (JAPIC) のデータベースや東京大が管理する医療従事者向けデータベースの UMIN、製薬企業が公開している開発品目などを参照し、臨床試験の情報を入手している。しかし、「そもそも新薬のフェーズ I については、情報を公開していない製薬企業が少なくない。治験の情報がデータベースに登録されていても、実施拠点や担当医の情報までは公開されておらず、治験に参加したくともアクセスできない」(西原特任教授)。また、データベースの情報も頻繁に更新されているわけではないため、「製薬企業に問い合わせると、『治験は終了しています』というケースも珍しくない」(金井特定准教授)。

### 偶発的所見をどこまで返すか苦慮する現場

さらに、生殖細胞系の偶発的所見 (incidental findings: IF) が見つかった際の対応も悩ましい。基本的に病院は、検査前の段階で副次的所見について説明し、患者がそれを知りたいかどうか、あらかじめ意向を確認した上で、IF が見つかった場合に認定遺伝カウンセラーなどが説明を行っている。ただし、「一口に IF といっても、臨床的意義が明確なものからそこまで明確でないものまで様々。現在の医療でどこまで対応できるかも色々で、希望する患者にどこまで返すか苦慮している」(西原特任教授)。

米国では米臨床遺伝学会 (ACMG) が 2013 年 6 月、臨床現場で行われるエクソーム解析やゲノム解析の際に生じる IF に関して、医療上対応が可能な 28 疾患・56 遺

伝子については原則公開を推奨した。国内でも日本人類遺伝学会などが IF への対応について検討しているが、今のところ推奨などは出ていない。

クリニカルシーケンスの結果を、抗癌剤の併用療法や癌免疫療法にいかに関わりつけるかも課題になる。現在は、ドライバー変異が見いだされると、それに対する分子標的薬の単剤療法を行うことが少なくないが、治療を続けると耐性が生じ、長期的に効果が得られない可能性がある。検査の結果から、長期的に効果が得られる併用療法や有効な免疫療法を導き出せれば、治療の選択肢も広がる。特に免疫療法に関しては、マイクロサテライト不安定性を引き起こすミスマッチ修復機構の欠損 (deficient mismatch repair) がある腫瘍に抗 PD1 抗体が効きやすいことが分かっている程度。ある製薬企業の研究者は、「今後はクリニカルシーケンスに加え、腫瘍微小環境への T 細胞の浸潤、T 細胞受容体 (TCR) の抗原認識の多様性 (レパトア)、遺伝子変異によって生じたネオ抗原なども合わせて解析し、治療方針を決定するようになるのではないか」と予想する。

クリニカルシーケンスを汎用化するための方策も求められる。米国の CLIA 認定の LDT のように、国内では病院の施設内検査や企業が提供する LDT を保険償還する枠組みはなく、検査の保険適用には NGS やパネル、解析パイプラインを開発・販売する企業が医療機器の承認を得ることが必要になる。2016 年 4 月、厚生労働省が「遺伝子検査システムに用いる DNA シークエンサー等を製造販売する際の取扱いについて」(薬生機発 0428 第 1 号、薬生監麻発 0428 第 1 号) との通知を発出し、遺伝子検査に NGS を用いる際、NGS とターゲットシーケンス用パネル、解析パイプラインをまとめて 1 つの医療機器として承認するとの考えを示した。関連企業の多くは、クリニカルシーケンスを「将来成長する可能性のある市場」(ある研究用機器・試薬企業の関係者) と認識しているものの、承認取得を目指す動きは活発化していない。

抗癌剤の適応外使用も課題だ。抗癌剤の適応外使用が比較的しやすい米国とは違い、国内では、検査で見いだされたドライバー変異に対する薬剤が、別の癌種に承認されていても保険診療では使えない。それ以前に、病院で適応外の薬剤を投与するには、1 例ごとに倫理委員会 (IRB) の承認を得るなど、煩雑な手続きが必要になる。

クリニカルシーケンスは、癌領域の究極の個別化医療となるか——。「今は検査が確立され、やっと臨床実装が始まったところ。有用性を評価するのはこれからだ」と順天堂大学院医学系研究科臨床腫瘍学の加藤俊介教授は話している。

(久保田文) 