

がん遺伝子パネル検査の実際

The result of Comprehensive genomic profiling

土田 美紀 小原 香織 川崎 隆

Miki TSUCHIDA, Kaori KOHARA, Takashi KAWASAKI

要 旨

2019年6月にがんゲノムプロファイリング（CGP）検査（がん遺伝子パネル検査）が保険適用されてから約6年が経過した。当院においては2020年2月よりCGP検査が開始され、2024年12月までに検査に適していると判断され、その後、腫瘍組織CGP検査と血漿CGP検査に出検したのは計376件あった。腫瘍組織CGP検査に出検する際には、病理医が組織標本の固定条件、腫瘍の大きさ、腫瘍含有割合等について評価を行う。CGP検査に適すると判断され、かつ出検に必要な未染スライドが作製可能なFFPEブロック残量があるものが出検される。2024年12月までに事前に検体評価されたのは404件で、提出に適するとされた358件で、実際に腫瘍組織CGP検査に出検されたのは294件であった。腫瘍組織CGP検査と血漿CGP検査成立は369件（98.1%）、解析不良は7件（1.9%）であった。検査成立には病理医や検査技師が大きな役割を担っており、検査成功の鍵となっている。

1. がん遺伝子パネル検査の種類

がんゲノムプロファイリング検査（CGP検査）には、組織検体を用いる方法と血漿検体を用いる方法がある。固形がん組織を対象とした検査には、FoundationOne® CDxがんゲノムプロファイリング¹⁾、OncoGuide™ NCCオンコパネルシステム²⁾、GenMin eTopがんゲノムプロファイリングシステム³⁾の3種類がある。血漿を対象とした検査には、FoundationOne® Liquid CDxがんゲノムプロファイリング⁴⁾、Guardant360 CDxがん遺伝子パネル⁵⁾の2種類がある。いずれも保険適用となっている。詳細は表1のとおりである。また、2025年3月より造血器腫瘍（血液がん）に対して、造血器腫瘍遺伝子パネル検査へムサイト®が保険適用となっている。

腫瘍組織CGP検査は、腫瘍から採取された検体を用いるため腫瘍細胞の有無を確認することができる。また、形態学的評価とCGP検査による分子生物学的評価を行うことが可能である。デメリットとして、検体採取に侵襲的な処置を要するため、病変の部位によっては採取が困難な場合や身体的負担が大

きい場合など検体採取ができないこともある。また、検体の質や量が十分でない場合、検査結果が得られない可能性がある。血漿CGP検査は、腫瘍細胞から血液中に漏れ出した腫瘍由来のDNA断片（ctDNA）を用いて検査を行うため、一部のがん細胞だけではなく、全身に由来するがん遺伝子の情報を得られる可能性がある。また、検体採取の侵襲性が低いため、必要なタイミングで検査を実施することが可能である。デメリットとして、血漿検体中に存在するctDNA量が少ないと偽陰性となり、正確な検査結果が得られない可能性がある⁶⁾。担当医は、患者の病状・臨床経過、検体の状況等を考慮し最適なCGP検査を選択している。

2. 病理医による検体評価

当院におけるCGP検査の流れは図1のようになっている。担当医により検査の説明が行われ、検体の選択を行いCGP検査に出検する。C-CAT（Center for Cancer Genomics and Advanced Therapeutics：がんゲノム情報管理センター）調査結果を受けてエキスパートパネルで最適な治療薬の有無が検討され、主

表 1 がん遺伝子パネル検査

検査の種類	腫瘍組織CGP検査		
検査名	FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイリング	OncoGuide™NCC オンコパネルシステム	GenMineTop がんゲノムプロファイリングシステム
販売企業	Foundation Medicine 社	シスメックス株式会社	株式会社GenMine Labs
検体	組織	組織 + 血液	組織 + 血液
必要検体量	【組織】 腫瘍割合30%以上(最低20%以上) 表面積25mm ² 以上：4-5μm厚 10枚 表面積25mm ² 未満：合計体積1mm ³ 以上	【組織】 腫瘍割合20%以上 16mm ² /スライド：10μm厚 5枚(5μm厚 10枚) 【血液】 EDTA-2K 2mL	【組織】 腫瘍割合20%以上 16mm ² /スライド：10μm厚 5枚(5μm厚 10枚) 切片の合計体積：0.8mm ³ 以上 【血液】 EDTA-2K 2mL
解析遺伝子数	324	124	737
融合遺伝子数	36	13	455 (RNA)
TMB検出	○	○	○
MSI検出	○	○	×
生殖細胞系列の確定	×	○ (27遺伝子)	○ (40遺伝子)
コンパニオン診断	<ul style="list-style-type: none"> ・ 非小細胞肺癌：活性型EGFR遺伝子変異, EGFRエクソン20 T790M, ALK融合遺伝子, ROS1融合遺伝子, MET遺伝子エクソン14スキッピング変異 ・ 悪性黒色腫：BRAf V600E/K 遺伝子変異 ・ 乳癌：ERBB2コピー数異常, AKT1/PIK3CA/P TEN遺伝子変異 ・ 結腸・直腸癌：KRAS/NRAS遺伝子, 高頻度MSI ・ 固形癌：TMB高スコア, 高頻度MSI NTRK1/2/3融合遺伝子, RET融合遺伝子 ・ 卵巣癌・前立腺癌：BRCA1/2遺伝子変異 ・ 胆道癌：FGFR2融合遺伝子 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 胆道癌：FGFR2融合遺伝子 	×

検査の種類	血漿CGP検査	
検査名	FoundationOne Liquid® CDx がんゲノムプロファイリング	Guardant360 CDx がん遺伝子パネル
販売企業	Foundation Medicine 社	ガーダントヘルスジャパン株式会社
検体	血液	血液
必要検体量	【血液】 セルフリー DNA抽出用採血管 8.5mL 2本	【血液】 Streck採血管 10mL 2本
解析遺伝子数	324	74
融合遺伝子数	36	6
TMB検出	○	×
MSI検出	○	○
生殖細胞系列の確定	×	×
コンパニオン診断	<ul style="list-style-type: none"> ・ 非小細胞肺癌：活性型EGFR遺伝子変異, EGFRエクソン20 T790M, ALK融合遺伝子, ROS1融合遺伝子, MET遺伝子エクソン14スキッピング変異 ・ 固形癌：NTRK1/2/3融合遺伝子 ・ 前立腺癌：BRCA1/2遺伝子変異 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 非小細胞肺癌：KRAS G12C変異, ERBB2 遺伝子変異, EGFRエクソン20挿入変異 ・ 結腸・直腸癌：BRAf V600E遺伝子変異 KRAS/NRAS遺伝子, ERBB2コピー数異常, 高頻度MSI ・ 固形癌：高頻度MSI

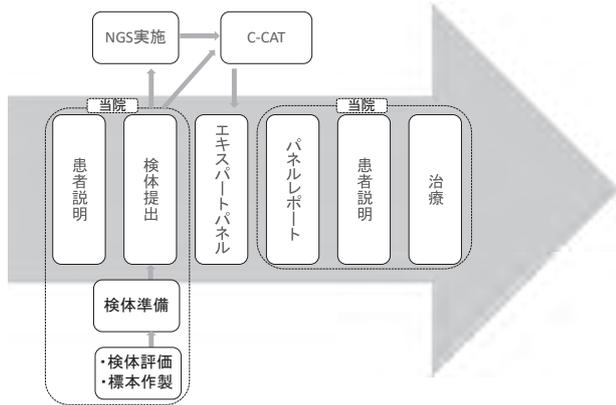


図1 当院におけるCGP検査の流れ

治医が患者に結果の説明をする。さらに必要に応じて遺伝カウンセリングが行われる。

腫瘍組織CGP検査に検体を提出の際には、事前に病理医による検体の評価（CGP検査の適否）が行われる。①検体採取からの期間（年月）、②ホルマリン固定時間、③腫瘍組織の大きさ、④腫瘍含有率（マクロダイセクション必要の有無）等々を評価し、各検査に対して必要な検体量（表1）を算出する。その後、検査技師がパラフィン包埋（FFPE）ブロックの残量を確認し、必要な未染スライド枚数が作製可能かの判断を行う。検体評価の詳細は以下のとおりである⁷⁾。

① 検体採取からの期間

FFPEブロックの核酸品質は経年劣化することが明らかとなっている。経年による影響は使用するCGP検査より異なるが、出検は作製後3年以内のFFPEブロックが望ましいとされている。

② ホルマリン固定時間

ホルマリン固定液は10%中性緩衝ホルマリンを用い、サンプル量の10倍で固定することが推奨されている。ホルマリン固定による核酸品質の影響として、核酸の断片化、核酸塩基の化学修飾等がある。これらの影響は固定時間により増加し、72時間で顕著となることから、6～48時間以内が望ましいとされている。

③ 組織の大きさ

使用するCGP検査によって必要な組織量が異なる。実際の提出に必要な未染スライド枚数は腫瘍含有率と併せて症例毎に判断する。

④ 腫瘍含有率（マクロダイセクションの有無）

腫瘍含有率とは、解析対象となる組織の全有核細胞のうち、腫瘍細胞の核が占める割合を意味する。腫瘍割合が低いと、得られるシークエンスデータにおける変異アリル頻度が低くなり、変異アリル頻度がカットオフ値より低くなり偽陰性を示す可能性がある。腫瘍組織CGP検査の出検条件として、腫瘍含有率は20%以上必要とされている。腫瘍含有割合が

検査に必要な腫瘍面積

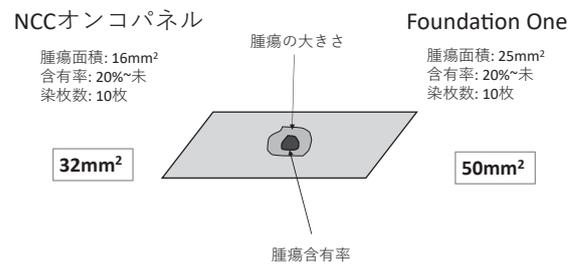


図2 検査に必要な腫瘍面積

低い場合には、CGP検査に提出するHE標本の腫瘍部にマーキングを施したり、未染スライドの非腫瘍部を削り取るマクロダイセクションを実施したりする必要があります。

CGP検査に必要な腫瘍面積について図2に示す。OncoGuide™ NCCオンコパネルシステムは、腫瘍面積16mm²（腫瘍含有率20%）の未染スライドが10枚必要で、実際の腫瘍面積に換算すると32mm²となる。大きさ4x3mmで腫瘍含有率が30%の癌腫があるとすると、提出に必要な未染スライドは、 $32 \div (4 \times 3 \times 0.3) = 8.9$ 枚となる。FoundationOne® CDxも同様で、腫瘍面積25mm²（腫瘍含有率20%）の未染スライドが10枚必要で、実際の腫瘍面積に換算すると50mm²となる。大きさ4x3mmで腫瘍含有率が30%の癌腫があるとすると、提出に必要な未染スライドは、 $50 \div (4 \times 3 \times 0.3) = 13.9$ 枚となる。

3. 出検の準備

検体評価にて適正と判断され、出検に必要なFFPEブロックが残っている検体については、患者から同意取得後、未染スライドが作製され出検となる。NCCオンコパネルとGenMineTopは同時に採血も行われる。

遺伝子検査室では、FFPEブロックより薄切を行い、未染スライドの作製を行う（写真1）。未染スライド作製時には、他検体とのコンタミネーションに十分注意を払わなければならない。そのため、①マスク、グローブの着用、②薄切前にマイクロトームを清掃、③検体毎に刃の交換、④薄切症例毎に新しい水を使用、⑤必要に応じて酒精綿で清掃等を行っている。

また、腫瘍割合が低い症例については、腫瘍部のマーキングや非腫瘍部のダイセクションを実施し、腫瘍割合を高める必要がある（写真1）。未染スライド作製後、各検査システムへ依頼入力を行い、出検を行う。それと同時にC-CATへ検体情報の入力を行う。C-CATは、ゲノム解析の結果得られ



写真 1 未染スライド作製と腫瘍部マーキング・ダイセクション

る配列情報および診療情報を集約・保管し、利活用するための機関である⁸⁾。

4. 検体評価の件数

2020年2月～2024年12月までにCGP検査出検の可否について評価された検体は404件で、院内が354件、院外が50件であった(図3)。そのうち検体評価にてCGP検査に適すると判断された出検されたものは353件(87.4%)で、CGP検査には適さないと判断され提出しなかったものは51件(12.6%)であった。CGP検査には適さないと判断された51件の内訳は、検体残量不足22件(43.1%)、腫瘍組織が小さいまたは腫瘍割合低値20件(39.2%)、検体採取後3年以上経過5件(9.8%)、ホルマリン固定時間72時間以上2件(3.9%)、ホルモン療法治療後のため核酸の質が低下の可能性1件(2.0%)、院外のため理由不明1件(2.0%)であった。

検体残量不足22件の材料別内訳は、膵EUS-

FNA10件(45.5%)、気管支生検2件(9.1%)、十二指腸生検2件(9.1%)、肝生検2件(9.1%)、胃生検1件(4.5%)、腎生検1件(4.5%)、大腸生検1件(4.5%)、乳腺生検1件(4.5%)、骨盤内腫瘍EUS-FNA1件(4.5%)、胆管生検1件(4.5%)であった。22件はいずれも生検検体であり採取された検体が小さいものであった。また、ホルマリン固定時間72時間以上の2件は、院外標本、院内標本が各1件であった。院内の1件は2018年の検体であり、ゴールデンウィーク前に採取され休み明けまで処理が行われなかった。現在では、連休(4連休以上)初日の切り出しや休日のホルマリン・アルコール置換を行っておりホルマリン固定時間が超過する事例は生じていない。

5. CGP検査実施件数

2020年2月～2024年12月までに、検体評価にてCGP検査に適すると判断され、その後、出検された

CGP事前評価実施件数: 404件
(2020年2月から2024年12月)

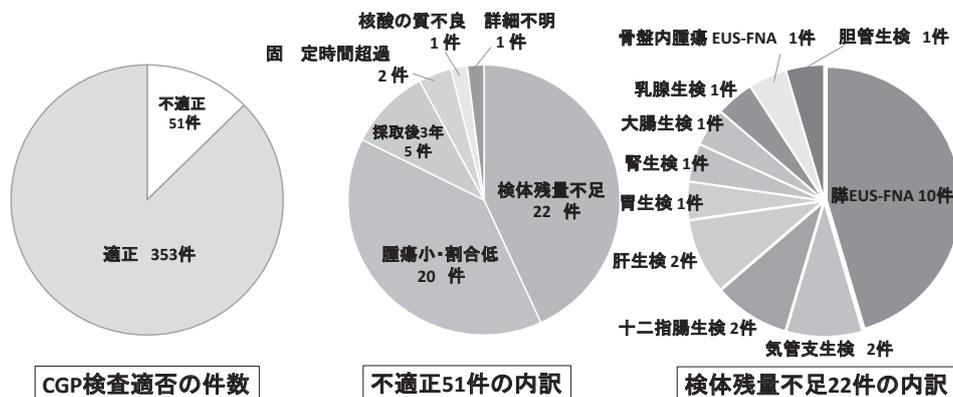


図3 検体評価の件数と内訳

CGP検査実施件数:376件
(2020年2月から2024年12月評価分)

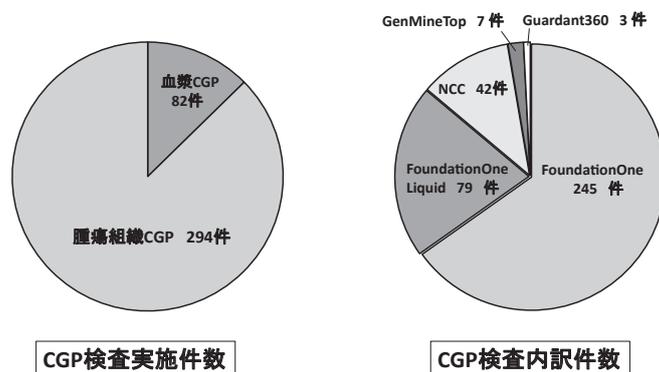


図4 CGP検査実施件数と内訳

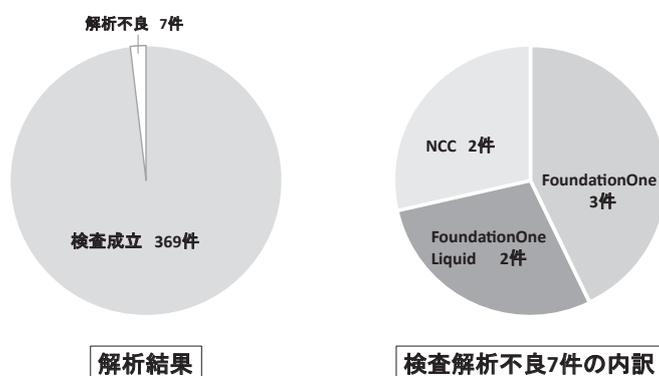


図5 CGP検査成立件数と解析不良内訳

組織CGP検体は294件 (78.2%), 血漿CGP検査は82件 (21.8%)であった (図4)。内訳は, FoundationOne®CDx 245件 (65.2%), NCCオンコパネル42件 (11.2%), GenMineTop 7件 (1.9%), FoundationOne Liquid® CDx 79件 (21.0%), Guardant360 CDx 3件 (0.7%)であった。

解析に成功したものは369件 (98.1%), 解析不良は7件 (1.9%)であった (図5)。解析不良の内訳は, FoundationOne®CDx 3件, NCCオンコパネル 2件, FoundationOne Liquid® CDx 2件であった (表2)。不良内容は, Second DNA signature (他者由来のDNA) 検出 3件, NGSの検出感度低下 1件, DNA収量不足 2件, Human error (Foundation Medicine (FMI) 社) 1件であった。以下に解析不良の3件を示す。

① Second DNA signature検出

FoundationOne®CDxでは1枚のスライドに複数の切片をのせることができないため前立腺生検 (他院標本) のコア6本を同一のFFPEブロックに包埋し直して出検を行った (写真2)。検体の腫瘍の大きさは5x2 mm, 腫瘍含有率60%で, 未染スライド30枚を提出した。出検後, Second DNA signature検出されたと (FMI社) より連絡があった。担当医と相談して検査を続行することとし, Qualified reportとして報告され推奨治療薬が提案された。

表2 検査解析不良詳細

検体	検査種	不良内容	対応	結果
前立腺生検 (他院標本)	FoundationOne	Second DNA signature検出	続行	○
血液	FoundationOne Liquid	NGSの検出感度低下	中止	-
血液	FoundationOne Liquid	Second DNA signature検出	再採血	○
前立腺生検	FoundationOne	Second DNA signature検出	続行	○
EBUS-TBNA	FoundationOne	Human error (FMI社)	F1 Liquidに変更	○
EUS-FNA	NCCオンコパネル	DNA収量不足	F1 Liquidに変更	○
前立腺生検 (他院標本)	NCCオンコパネル	DNA収量不足	続行	○

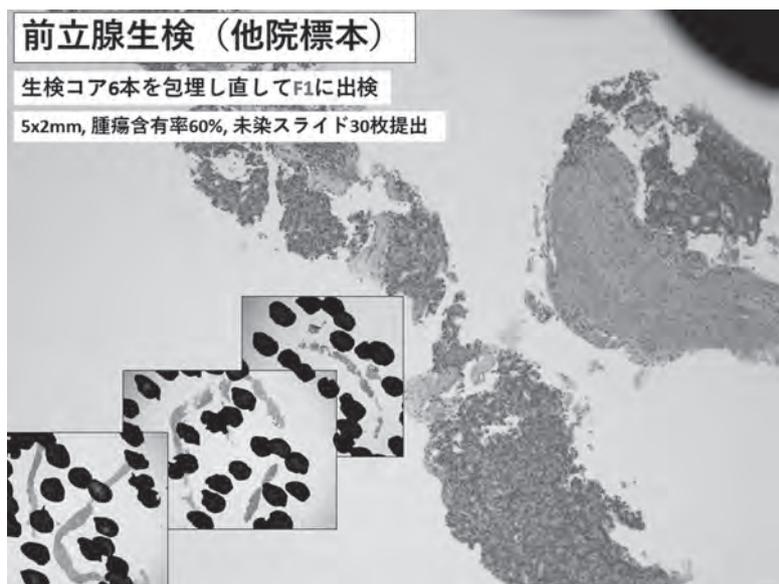


写真2 解析不良となった一例 (前立腺生検:他院標本)

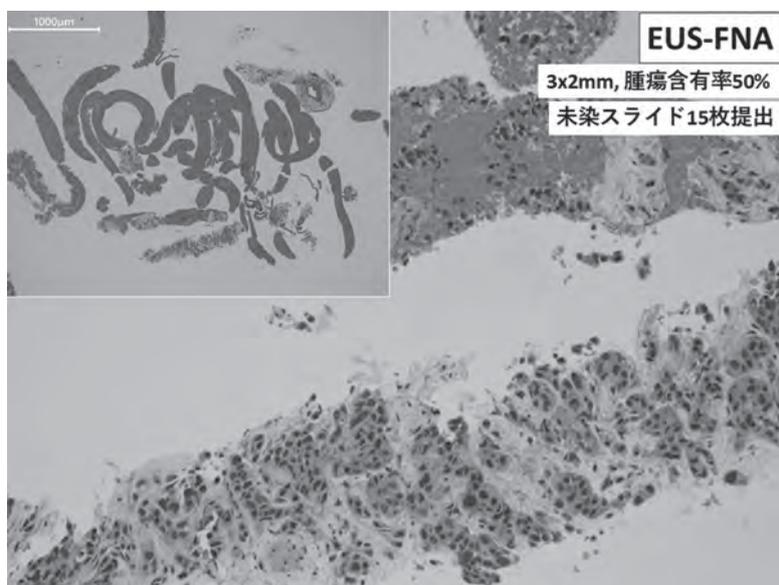


写真3 解析不良となった一例 (EUS-FNA)

② DNA収量不足

膵臓のEUS-FNA検体(写真3)は腫瘍の大きさ3x2 mm, 腫瘍含有率50%, 未染スライド15枚をNCCオンコパネルに提出した。出検後, シスメックス株式会社よりDNA収量不足であると連絡があった。DNA濃度は144.9 ngであり, 検査基準の200 ngを下回っていた。担当医と相談をし, 検査を中止した。その後, FoundationOne Liquid® CDxに提出し推奨治療薬なしの結果であった。

③ 検出感度低下

FoundationOne Liquid® CDxに血液を提出し, second DNA signature検出による検出感度低下で検査中止となった。FMI社に問い合わせたが, 発生場所や原因を特定するのは非常に難しいとの回答であった。

6. おわりに

2020年2月~2024年12月までの期間において, 検体評価された件数, CGP実施件数について報告した。当院で検体評価された404件で, 出検に適すると判断されたのは353件(87.4%)で, 実際に腫瘍組織CGP検査に出検された件数は294件であった。CGP検査出検不適または不可と判断された件数は51件(12.6%)であった。

また, 当院におけるCGP検査成功率は98.1%と高く, 解析不良は1.9%であった。特に, 腫瘍組織CGP検査において, 検査成立となるためのキーポイントとして, 検査に適した質の高い組織試料を準備すること, 検体がCGP検査に適切であるかを評価する

ことが重要であると考えられた。病理部では質の高い組織を提供し、検査成功率を高めるために、ISO15189認定の維持やゲノム医療を念頭に置いた検体の取扱いの教育等を行っている。今後も新潟県がん診療連携拠点病院、がんゲノム連携病院の役割を果たしていきたい。

文献

- 1) 中外製薬.FoundationOne®CDx.
<https://chugai-pharm.jp/pr/npr/fl/flt/index/> [引用2025-09-10].
- 2) シスメックス社. OncoGuide™ NCCオンコパネル システム.
<https://products.sysmex.co.jp/products/genetic/AK401170/index.html>[引用2025-09-10].
- 3) GenMine Labs. GenMineTOP®がんゲノムプロファイリングシステム.
<https://genmine-labs.jp/jp/genminetop/index.html>[引用2025-10-10].
- 4) 中外製薬.FoundationOne® Liquid CDx.
<https://chugai-pharm.jp/pr/npr/fl/fl1/index/> [引用2025-09-10].
- 5) ガーダントヘルスジャパン.Guardant360 CDxがん遺伝子パネル.
<https://guardanthealthjapan.com/hcp/guardant360cdx/> [引用2025-09-10].
- 6) 中外製薬.組織CGP検査と血漿CGP検査の特徴.
<https://chugai-pharm.jp/contents/cb/034/02/> [引用2025-09-13]
- 7) 日本肺癌学会バイオマーカー委員会編.肺癌患者におけるバイオマーカー検査の手引き.
- 3.バイオマーカー検査に用いる検体とその取扱い(2024年4月改版) p2-6.
- 8) 国立がん研究センターがんゲノム情報管理センター .がんゲノム情報管理センター (C-CAT)の役割
https://www.ncc.go.jp/jp/c_cat/kaisetsu/yakuwari/index.html [引用2025-09-10].