

別添資料 (2) : NGSにおける外部精度評価の参考資料 (検索キーワード: external quality assurance, external quality assessment, external quality assessment scheme, EQA, proficiency testing, PT, quality control, next generation sequencing, NGS, circulating tumour DNA, ctDNA)

No.	論文	論文の概要	EQAの概要	EQAで提供された試料	EQA参加施設	EQAに含まれる分析工程とその測定方法	EQAで求められた品質指標	EQAの結果
1	Verderio P, Ciniselli CM, Gaignaux A, et al. External Quality Assurance programs for processing methods provide evidence on impact of preanalytical variables N Biotechnol. 2022;72:29-37. doi:10.1016/j.nbt.2022.08.006	過去10年間にわたって実施した生物試料のプロセッシング方法についてのEQAIは、分析前プロセスの影響および異なるプロセッシング方法 (キット含む) の比較性能に対して、独自の証拠に基づく洞察を提供するとともに、検査室がプロセッシング方法の妥当性を確認することを支援する。	核酸抽出や末梢血単核細胞 (PBMC) の分離・凍結保存などの処理方法の性能 を6年間10種類のスキームを各施設 (施設数不明、数としては約1000件) で評価し、これまでの散発的なEQAIの結論と概ね一致することを確認した。	・全血DNA: PAXgene Blood DNA チューブ1本 ・全血RNA: PAXgene Blood RNA チューブ1本 ・全血cfDNA: モノナクレオソームが混入された安定化血液のPAXgene Blood ccfDNAチューブ1本 ・FFPE: 厚さ10µmのFFPE切片2枚 ・凍結組織: 10 - 20mgのcryoExtract コア1個 ・saliva: Omnigene, Oral tube ・stool: 安定化便の Omnigene, Gut tube ・PMBC	過去10年間、約1000件分のデータを解析	分析前 ・自動化またはマニュアルでの抽出 ・シリカメンブレンまたは磁気ビーズ	各EQAスキームにおいて、参加者から提供された分類された前処理データおよび生産された検体の関連する品質属性 (スコア) の集中測定に基づいて実施 ・核酸抽出方法と使用キット ・溶出バッファー ・酵素の使用 ・酵素の濃度 ・保存温度 ・遠心分離条件 ・分析前の重要な要因が様々な種類の検体の定量的または定性的属性に与える影響 ・時系列での検査室パフォーマンスパターンを評価	いくつかの例外を除き、これまでの散発的なEQAI実施による結論と概ね一致。 ・FFPE DNAについては、以前はシリカカラムベースの抽出法が磁気ビーズベースの抽出法よりも高い%dsDNAを示したが、後者は前者よりも高いPCR増幅率を示した。
2	Kirchner M, Glade J, Lehmann U, et al. NTRK testing: First results of the QuiP-EQA scheme and a comprehensive map of NTRK fusion variants and their diagnostic coverage by targeted RNA-based NGS assays. Genes Chromosomes Cancer. 2020;59(8):445-453. doi:10.1002/gcc.22853	QuiP-EQAスキームの最初のNTRK検査においてFISH及びNGSとも高い成功率でルーチンの診断が確立できることを示した。	FISHおよびRNA/DNAベースの targeted NGS (tNGS) のNTRK融合遺伝子検出への適合性 を欧州27施設で評価し、事前にチェックした答えと比較してFISHおよびtNGSベースのNTRK検査がルーチン診断環境において十分に確立できることを実証した。	・FISH: 厚さ0.5µmのFFPE ・NGS: 厚さ5µmのFFPE4枚 (ローインプット) と6枚 (ハイインプット)、およびHESスライド1枚	ドイツ (24)、オーストリア (1)、スイス (2) 合計27施設 ※FISH (9施設)、NGS (18施設) NGSでは高と低インプットに分けた	分析前 ・抽出 分析中 ・ライブラリー作製: Multiplex PCRベースのアッセイ(17)、Hybrid Captureベース(1) ・シーケンシング: Illumina(8)、Thermo Fisher Scientific(10) 分析後 ・解析	・検出された変異を事前にとったデータと比較 ・NTRK 検出の経験を持つ 8 つの病理学研究所のエキスパートパネルが、標準 RNA ベースの NGS と FISH により、異なる腫瘍タイプの NTRK 融合遺伝子 14 例と NTRK 融合陰性 10 例の内部パネル試験を事前に実施 ・陰性検体6検体、陽性検体4検体を配布	・NGSに基づく解析の感度は92.2% (65/70)、特異度は100% (105/105) であった。 ・研究室間テストで得られたRNAベースの tNGS解析の感度は95.3% (62/65)、特異度は100% (100/100)
3	Haselmann V, Ahmad-Nejad P, Geilenkeuser WJ, et al. Results of the first external quality assessment scheme (EQA) for isolation and analysis of circulating tumour DNA (ctDNA). Clin Chem Lab Med. 2018;56(2):220-228. doi:10.1515/ccim-2017-0283	今回のEQAでは、検体量、cfDNA定量法、ジェノタイププラットフォームの選択などに基づき多くの臨床的影響が大きかった。品質保証のために手順とワークフローの調和が必要。	ctDNAの臨床検査診断における分析品質の問題を解決 することを目的に 欧州10か国36施設から遺伝子判定のEQAを実施し、検体量、定量法、ジェノタイプのプラットフォームの選択によりばらつきや臨床的影響が出るのがわかった。	KRASコドン12/13およびBRAF V600Eの9つの既知の配列変異を分析するために、変異アレルの頻度が0%から10%の範囲で断片化したゲノムDNAを添加した2mLのEDTA-血漿3検体	欧州10か国42施設に送付され、37施設が参加。うち35施設が抽出手順を詳しく報告し、36施設が遺伝子型判定結果を提出 ※ドイツ (12)、ベルギー (5)、オーストリア (4)、フランス (4)、他	分析前 ・抽出: 自動または手動抽出で数種類のキットを使用 分析中 ・ライブラリー作製 ・シーケンシング 分析後 ・解析	・抽出を実施したタイミング、保存方法 ・抽出キットと使用血漿量 ・QC方法 ・核酸量 (添加量との比較) ・解析方法の比較 (NGSやサンガーなど) ・標準検体のDNA濃度は、LINE1-79bp-qPCR assayによる実測値により決定 ・標準検体のBRAF V600EのMAFは BEAMING (digital droplet PCR) と allele-specific amplification-PCRによる実測値により決定。 ・標準検体のKRASコドン12/13の一般的な変異のMAFは、cold-PCRと pyrosequencingによる実測値により決定。	・このEQAスキームは、cfDNAの処理と解析の複数の段階における現在のばらつきを示しており、その結果、全体のエラー率は6.09%であった。最もばらつきが大きく、臨床的影響が大きいのは、検体量、cfDNA定量法、ジェノタイププラットフォームの選択などであった。品質保証に関しては、手順とワークフローの調和が急務である。 ・NGSにおいては、マイナーアレル頻度 (MAF) 0.01%の同定に必要な分析感度を達成するためには、少なくとも2mL血漿から分離したcfDNAの全量を下流分析に使用する必要がある。 ・NanoDrop による分光光度法の標準偏差が大きいため、PicoGreenと標的遺伝子に反応したqPCR (35) が定量に最も適していることが判明。
4	Zhong Q, Wagner U, Kurt H, et al. Multi-laboratory proficiency testing of clinical cancer genomic profiling by next-generation sequencing. Pathol Res Pract. 2018;214(7):957-963. doi:10.1016/j.prp.2018.05.020	NGSに基づく検査、特に検査結果が臨床的診断に影響を与える場合に、その基準を確立することが重要であり、その基準を推測するために複数の異なるラボからのデータセットを系統的に解析する必要がある。	臨床的NGSの標準化の確立 のため、研究室間の比較を欧州15施設で評価し、異なる手法で検出された変異結果は、研究室間で非常に高い一致を示すことを確認した。	8つの肺がんおよび8つの大腸がんのFFPEから抽出されたDNA	ヨーロッパの15の分子診断研究所 ※スイスから11、ドイツから2、オーストリアから2	分析前 ・抽出 分析中 ・ライブラリー作製: アンプリコンまたはキャプチャー法 ・シーケンシング: Illumina又はThermo Fisher Scientific 分析後 ・解析	・各参加者のバリアントコールフォーマット (VCF) ファイルのバリアントを、University Hospital Zurich (USZ) のそれと比較 ・サンガーによる検証 ・インフォマティクスパイプラインの検証 ・統計解析: 318チップ上でAmpliSeq Library Kit 2.0, Ion PGM Template OT2 200 Kit, Ion PGM Sequencing 200 Kit v2。データはIon Reporter (IR) ソフトウェアにより、Ion AmpliSeq Cancer Hotspot Panel v2 (CHP2) およびIon AmpliSeq Colon and Lung Cancer Research Panel v2 (CLP2) の標準ワークフローのデフォルト設定で標的Amplicon領域で処理	・異なるNGSサイトによって検出された変異の結果は、非常に高い研究室間の一致を示した。 ・欧州の15の研究室でPTを実施し、標準的アンプリコンシーケンシングの堅牢性、再現性、精度を裏付けること、固形がんの詳細な分子特性を高い診断感度で評価できるようになった。
5	Maekawa M, Taniguchi T, Nishio K, et al. Precision cancer genome testing needs proficiency testing involving all stakeholders. Sci Rep. 2022;12(1):1494. Published 2022 Jan 27. doi:10.1038/s41598-022-05589-x	今回の患者検体を用いた技能試験のバリアント研究により、参加施設のがんゲノム検査の現状を垣間見ることができ、現地におけるPTの実施は情報共有の場として貴重であった。さらなるがんゲノム検査の充実を図るためには、現地でPTの実施や、関係者が主催者・参加者として参加することが重要である。	検査施設で普及している次世代シーケンサー (NGS) プラットフォームやがんゲノム検査の品質を調査 するため、15施設で患者検体を用いたバリアントPTを実施し、一部を除いて病原性のバリアント検出に成功した。	浜松医科大学病院診断病理学部より入手した肺がん、大腸がん患者5名のFFPE組織と、末梢血から得られた正常試料	15施設 (12の病院臨床検査室と3の登録臨床検査室)	分析中 ・ライブラリー作製: ハイブリッドキャプチャーベース法(5)、アンプリコンベース法(10) ・腫瘍組織 (T) と正常血球 (N) におけるマッチドペアアンプリコン解析(7)、腫瘍組織のみ(8) 分析後 ・解析プラットフォーム: 遺伝子パネル (対象遺伝子、エクソンまたはホットスポットのみ) ・バイオインフォマティクス: 解析パイプライン、報告可能範囲などは各研究所によって異なる。	・同定したバリアント結果	・参加した研究室のほとんどが、密接に位置する2つのKRAS変異とEGFRの25bp欠損挿入変異を除いて、病原性バリアントの同定に成功した。逆に、EGFR L858R変異体の同定には成功し、その対立遺伝子頻度はすべての研究室で同様であった。
6	Deveson IW, Gong B, Lai K, et al. Evaluating the analytical validity of circulating tumor DNA sequencing assays for precision oncology. Nat Biotechnol. 2021;39(9):1115-1128. doi:10.1038/s41587-021-00857-z	ctDNAアッセイの標準化された技能試験のための独自の標準物質と注釈のセットおよび分析的枠組みを確立し、SEQC2 Oncopanel Sequencing Working Groupは、そのような将来の研究のための基盤作りを貢献した。	ctDNAアッセイの分析性能 を、マルチサイト、クロスプラットフォーム12施設で評価し、高い感度、精度、再現性で変異を検出した。	人工的なワイルド型DNAサンプル	米国・英国・中国・オーストラリアの12の検査室	分析中 ・ライブラリー作製: ハイブリッドキャプチャーベース法、アンプリコンベース法 ・シーケンシング: Illumina又はThermo Fisher Scientific 分析後 ・情報解析: インフォマティクスの部分は特に規定せず、ベンダーごとの内部パイプラインを使用	・カバレッジ深度と不均一性 ・感度 ・正確性 ・アッセイごとの再現性 ・インプットctDNA量と血漿からの抽出の影響 ・アンプリコン法とハイブリッドキャプチャー法の比較 ※合成コントロールDNAの配列は、予め商業ベンダー (Thermo Fisher Scientific, GeneArt) により合成され、検証された。	参加したすべてのアッセイで、約0.5%のVAFを超える変異が高い感度、精度、再現性で検出された。
7	Jones W, Gong B, Novorodovskaya N, et al. A verified genomic reference sample for assessing performance of cancer panels detecting small variants of low allele frequency. Genome Biol. 2021;22(1):111. Published 2021 Apr 16. doi:10.1186/s13059-021-02316-z	10種類のがん細胞株から作成した新しいリファレンスサンプルとその混合物は、小規模から大規模のオンコパネルの品質管理、分析精度、およびリキッドバイオアッセイのバリデーションを行うための優れた機能を備えている。	オンコパネルの解析性能を適切に評価 するために、既知のポジティブおよびネガティブな (バリアント) コーディングボジションを適切に数で有する参照サンプルを開発し、6施設で評価し、オンコパネルの品質管理、分析精度、およびリキッドバイオアッセイのバリデーションを行うための優れた機能を備えていることを確認した。	10種類のがん細胞株をプールしたもの、Agilent OneSeq Human Reference DNA (PN 5190-8848)、これらの2種類を割合を変えて混合したもの	テキサス大学サウスウェスタン医療センター、Novogene, Agilent, Thermo Fisher Scientific, コーネル大学、国立心臓血液研究所 ・WES1、2: テキサス大学サウスウェスタン医療センター、Novogene ・WES3: Novogene, Agilent ・WES4: Thermo Fisher Scientific ・WGS1: コーネル大学、国立心臓血液研究所	ddPCRとの比較	・ddPCRとの比較	個々の細胞株およびサンプル A の ddPCR と WES コンセンサス VAF 推定値を比較すると、異なるクラスからのバリアントの 100% が陽性として検証され、99.65% が一致した。ddPCR解析の結果、WESの結果にはわずかなリファレンスバイアスが検出された。このバイアスは、サンプルAで測定されたバリアントのタイプランゲージの中央部で最も大きく、一般にSNVよりもindelが大きくなった。
8	Gutowska-Ding MW, Deans ZC, Roos C, et al. One byte at a time: evidencing the quality of clinical service next-generation sequencing for germline and somatic variants. Eur J Hum Genet. 2020;28(2):202-212. doi:10.1038/s41431-019-0515-1	3回のEQA結果から、臨床診断施設の高品質のNGSサービスを提供し、バリアントコーリングの能力が向上していることが示されたが、EQAの提供が直面する課題はまだ複数ある。	生殖細胞変異と体細胞変異を検査する臨床診断施設の現在の要件から将来の要件まで拡張できるように設計された、NGS用のプラットフォームおよび遺伝子学的に依存しない独自のEQAスキームの開発について説明。 3回のEQA結果から、臨床診断施設はますます高品質のNGSサービスを提供し、バリアントコーリングの能力が向上していることが示された。	生殖細胞系スキーム: 塩析法で抽出したリンパ芽球系細胞株 (Coriell Cell Repositories, Camden, New Jersey, USA; 2015-cell line NA00536; 2016-cell line NA06926; 2017-cell line NA21070) からゲノムDNA (g.DNA) 10 µg。 体細胞系スキーム: Horizon Discovery Plc, Cambridge, UKが製造した体細胞変異体を含む遺伝子操作細胞株、または患者由来材料から得られた同一の基準細胞株。2015年には、FFPE細胞株製品 (3種類の細胞株/バックグラウンド-SW48、RKO、HCT116) におけるバリアントのマルチプラットフォームを含むHD200) から抽出したDNA 5µg。 2016年には、体細胞変異を有する細胞株 (Horizon Discovery Plc, 細胞株 HD301-KRAS Gene-Specific Multiplex Reference Standard) を含む10µm FFPE切片が、マッチした正常対照の10µm FFPE切片 (Horizon Discovery Plc, 細胞株 HD320-PI3KCA Wild Type Reference Standard) と共に提供。2017年には、乳房腫瘍FFPE切片から抽出した150ngのDNAと、マッチした正常リンパ節から抽出した150ngのDNAが提供。	3年間で合計48か国から423の異なる研究室が参加し、大部分 (75.6%) が11か国から参加	分析前 ・抽出 分析中 ・ライブラリー作製: illumina, Thermoなど ・シーケンシング: Illumina, Thermo Fisher Scientificなど 分析後 解析: 参加者の大部分 (91%) は社内のバイオインフォマティクス・パイプライン (自作または市販のソフトウェアを使用) を使用	・Agree (true positives: TP): 期待されるバリアントと一致。Disagree (false positives: FP, false negatives: FN): 期待されるバリアントと不一致。Extra (FP): 予想されない箇所のバリアントであった。Missing (FN): 期待されるバリアントが見つからなかった。 ・ddPCRとイルミナHi-SeqプラットフォームのWESを用いてメーカーにより独自に検証	NGSワークフローのためのEQAスキームを確立した。これは汎用的で、技術や検査状況にとらわれず、新しいプロセスやアレルを導入する新たな検査パイプラインやバイオインフォマティクス解析とシームレスに統合することができる。したがって、このEQAは、単一遺伝子検査から全ゲノム解析までの全範囲をカバーする生殖細胞系および体細胞系 (バリアント) 検査の認定に適している。 2015年には、74%の研究所がバリアント結果のコールに対して80%以上の感度を得て、同じ遺伝子を検査したときに大多数の研究所が同じバリアントを検出した (示さず)。これは2016年に改善され、89%の検査室がバリアント結果のコールに対して80%以上の感度を得ていた (図4a)。生殖細胞系2016/2017のFスコア>0.80は83%/93%の検査室、体細胞系は43%/71%であった。生殖細胞系のFスコア>0.95は2016/2017年それぞれ65%/82%の検査室、体細胞系は33%/43%であった。

9	<p>Kofanova O, Bellora C, Garcia Frasco S, et al. Standardization of the preanalytical phase of DNA extraction from fixed tissue for next-generation sequencing analyses. N Biotechnol. 2020;54:52-61. doi:10.1016/j.nbt.2019.07.005</p>	<p>NGS解析におけるFFPEからのDNA抽出の標準化のため、抽出とサンプルに於いた前処理のレビューと、品質指標の観点から異なる方法でサンプル調整したFFPE抽出結果を比較した。</p>	<p>(1) DNA抽出と固定組織サンプルの適格性に特に焦点を当てた固定組織DNA前処理に関するレビューと、(2) NGS指標と異なるDNA品質指標の観点から、異なる方法で固定または安定化した組織サンプルからのDNA抽出を比較した結果について紹介</p>	<p>・乳房腫瘍3例、正常結腸3例、正常皮膚3例、腫瘍2例と正常腎臓1例、腫瘍1例と正常子宮2例について、15個のFFPE組織ブロック、15個のペーパーFFPE組織ブロック、および15個のペーパーRNA Later安定化サンプルを用意して使用。 ・6つの腫瘍組織サンプルについて、腫瘍面積は40-90%、正常組織面積は5-10%、壊死は最大20% ・FFPE切片は、20µmを2-3枚。</p>		<p>分析前 ・抽出:使用機体に合わせて4種類のキットを使用</p> <p>分析中 ・ライブラリー作製:TruSeq Amplicon Cancer Panel ・シーケンシング:illumina</p> <p>分析後 ・解析:MiSeq reporter</p>	<p>・DNAの濃度と純度 ・DNA Integrity Number(DIN値) ・全ゲノム増幅法(WGA)によるDNA integrity評価 ・TruSeq NGSによるバリエーションの同定結果</p>	<p>・すべての重要な分析前段階の標準化と文書化とは別に、抽出方法が一貫して実行されることを保証するために、工程内QC材料を使用することが重要である。 ・固定された組織からの最も良質なDNAは、FFPEからのPAXgene Tissue DNAキットで、FFPE組織からはQIAamp DNA FFPEキットで抽出されたものであることがわかった。 ・multiplex PCRで評価した固定材料からの最も良質なDNAは、FFPEまたはFFPE組織からChemagic DNA Tissue Kitで抽出されたDNAであった。 ・whole genome amplification(WGA)によって評価された固定材料からの最高の品質のDNAは、FFPE組織からChemagic DNA Tissue kitを使用したものであった。 ・すべてのサンプルで総複製率が80%以上、カバレッジが1000倍である。</p>
10	<p>Richman SD, Fairley J, Hall JA, et al. Results of the UK NEQAS for Molecular Genetics reference sample analysis. J Clin Pathol. 2018;71(11):989-994. doi:10.1136/jclinpath-2018-205277</p>	<p>100以上の検査室が「教育用標準試料」を検査する機会を得て、検査プラットフォームの検証をさらに進めようとする意欲が示されたが、バリエーションの報告は解釈の余地があるため、臨床的関連性またはバリエーションのいずれかによって、検査施設がバリエーションを選択的に報告しているかどうかを明らかにすることが必要である。</p>	<p>ジェノタイプとバリエーション頻度の結果を101の検査室から収集し、最も多く検査に使用されたNGSにおいて、7遺伝子の5-27の有効なバリエーションのうち8施設がNRASの5つのバリエーションを、2施設が8つのBRAFのバリエーションをすべてを正しく報告した。</p>	<p>ホルムリン固定パラフィン包埋(FFPE)細胞系材料の切片(厚さ10µm)1枚 ※Thermo Fisher Scientific社 AcroMatrix製品</p>	101施設	<p>分析前 ・抽出:任意の方法</p> <p>分析中 ・ライブラリー作製:アンプリコンまたはキャプチャー法 ・シーケンシング:illumina又はThermo Fisher Scientific</p> <p>分析後 ・解析:-</p>	<p>・バリエーションとバリエーション頻度(最も一般的に検査される7つの遺伝子について) ・変異体の有無に関する検査の精度 ・ddPCRと比較</p>	<p>ここで報告した7つの遺伝子には、5~27の有効なバリエーションがあった。8施設が5つのNRASバリエーションすべてを正しく報告し、2施設が8つのBRAFバリエーションすべてを正しく報告した。検証された平均バリエーション頻度は、参加した検査室が決定した頻度よりも低く、単一遺伝子の検査方法は、NGSプラットフォームよりも推定頻度のばらつきが少ないことが示された。検査室は、臨床的に関連するバリエーションを正しく同定する可能性がより高かった。</p>
11	<p>Elsink K, Huibers MMH, Hollink IHM, et al. National external quality assessment for next-generation sequencing-based diagnostics of primary immunodeficiencies. Eur J Hum Genet. 2021;29(1):20-28. doi:10.1038/s41431-020-0702-0</p>	<p>次世代シーケンサーを用いた原発性免疫不全症診断の遺伝学的データから適切な結論を導き出すためには、専門医による臨床的・免疫学的データが必要である。</p>	<p>先天性免疫不全症のNGSベースの診断におけるバリエーションフィルタリング、解釈、報告の均一性を分析するために、外部品質評価をオランダ4施設で評価し、遺伝学的データから適切な結論を導き出すためには、専門医による臨床的・免疫学的データが必要となることがわかった。</p>	<p>1施設あたり2件の先天性免疫不全症患者の解析の注釈なしバリエーションコントロールフォーマット(VCF)ファイル4つのDutch genome diagnostic centers(GDC)に配布し、解析、解釈した(計8件の解析)</p>	<p>オランダの4つの主要なゲノム診断センターが参加 すべての臨床検査室はISO15189の認証と認定を受けている</p>	<p>分析前 ・抽出</p> <p>分析中 ・ライブラリー作製 ・シーケンシング</p> <p>分析後 ・解析:独自の解析パイプラインと標準ワークフローで解析</p>	<p>・バリエーションの分類と報告 ・オランダの異なるGDC間でのその均一性 ・臨床検査技師の経験に関する調査。遺伝子解析の最終的な解釈と結論は、参加した4つの遺伝子センターで統一された</p>	<p>PathogenicまたはLikely pathogenicに分類されるバリエーションの大部分は、正しく同定され、記載されていた。 ・EQA実施時の臨床検査技師の経験の評価するため、本調査の参加者全員にアンケートを送付 ・アプローチと解析の多様性にもかかわらず、専門医に送られる診断報告書に含まれる変異は、8つの変異を除いて、4つのセンターで一貫していた。</p>
12	<p>Keppens C, Dequeker EMC, Patton SJ, et al. International pilot external quality assessment scheme for analysis and reporting of circulating tumour DNA. BMC Cancer. 2018;18(1):804. Published 2018 Aug 9. doi:10.1186/s12885-018-4694-x</p>	<p>ctDNA EQAスキームの実現可能性と、臨床的に重要な低頻度バリエーション検出での高いエラー率に起因するEQAスキームの必要性が実証された。</p>	<p>ctDNA中の臨床的に重要な変異の検出を評価するEQA実施可能性の調査と、報告様式を分析するために、32施設で評価し、EQAの結果の見直しとエラーが発生していないことの確認が必要であることがわかった。</p>	<p>Horizon Discovery社からの購入機体 ・ヒト血漿に変異を含む細胞由来ゲノムDNAを添加した機体を使用 ・血漿量は3ml ・4機体がEGFR変異有、4機体がRAS変異有、2機体が正常機体 ・MAFは1%又は5% ※機体は、5つのreference labにて、2つの異なるctDNA抽出方法、及び6つの検出方法→Cobas, NGS (illumina, Ion Torrent), Therascreen, ddPCR, BEAMingによって検証された</p>	<p>16ヶ国から32施設参加 主にEU施設</p>	<p>分析前 ・QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (Qiagen) ・Cobas cDNA Sample Preparation Kit (Roche) ・MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit(Thermo Fisher Scientific) ・Maxwell® RSC ccfDNA Plasma Kit (Promega) ・Nucleospin Plasma XS (Macherey-Nagel) ・QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (Qiagen) version 2</p> <p>分析中 ・NGS-アンプリコン法:Ampliseq 50 gene hotspot panel, Ion Proton (LifeTechnologies) ・NGS-キャプチャー法:SureSelect (Agilent), MiSeq (illumina) ・OncoBEAM@RAS CRC IVD KIT (Sysmex-Inostics) ・Cobas® EGFR Mutation Test v2 (Roche) ・Therascreen®EGFR Plasma RGQ PCR Kit(Qiagen) ・QX200 Droplet Digital PCR System (Bio-rad)</p> <p>分析後 ・解析</p>	<p>・変異検出性有無を評価。VAF返却は求められなかった ・Horizaon機体をreference labで測定した結果が真値</p>	<p>・全機体と全施設を総合した変異検出エラー率は20.1%。 ・RAS変異の方がEGFR変異よりも変異検出エラー率が高い。 ・1%MAF機体の方が、5%MAF機体よりも変異検出エラー率が高い。 ・複数変異を含む機体の方が、1つの変異を含む機体よりも、変異検出エラー率が高い。</p>
13	<p>Sunami K, Naito Y, Aiono E, et al. The initial assessment of expert panel performance in core hospitals for cancer genomic medicine in Japan [published correction appears in Int J Clin Oncol. 2021 May;26(5):1007]. Int J Clin Oncol. 2021;26(3):443-449. doi:10.1007/s10147-020-01844-1</p>	<p>日本のがんゲノム医療中核拠点病院におけるエキスパートパネルのパフォーマンスに関する初期評価は、臨床現場におけるプレシジョン・オンコロジーの応用のための参考データを提供する。臨床アノテーションの標準化に関しさらなる調査が必要である。</p>	<p>2つの模擬症例を用いてエキスパートパネルのパフォーマンスを11施設のがんゲノム医療中核拠点病院に対して評価し、各施設で推奨治療が異なるため、エキスパートのさらなる標準化が必要であることが確認された。</p> <p>※上記2症例の臨床所見、CGPテスト結果、C-CAT findingsが参加施設に送付され、エキスパートを実施した。</p>	<p>2症例 ・Case1: 男性、進行性大腸癌、標準化学療法奏功無し、BRAF, ATM, NF1, TP53, APC, ARAF, NTRK2に体細胞変異有、BRCA2遺伝子生殖細胞系列変異有、NCCオンコパネルによる測定結果 ・Case2: 女性、進行性乳がん、標準治療で増悪、PIK3CA, ERBB2, CCND1遺伝子増幅有、FoundationOneCDxによる測定結果</p>	<p>がんゲノム医療中核拠点病院(11施設: 2020年1月時点)</p>	<p>エキスパートパネル ・NCC Oncopanelで測定された結果 ・FoundationOne CDxで測定された結果</p>	<p>エキスパートパネルで推奨された治療法(各施設での比較のみ)</p>	<p>[Case 1] ・9/11施設でBRAF V600Eを標的とした dabrafenib+ trametinibを推奨。 ・2/11施設で encorafenib+binimetinib+cetuximabを推奨。 [Case 2] ・4/11施設で everolimus+exemestaneを推奨。 ・3/11施設で Alpelisibを推奨。 ・2/11施設で Trastuzumab deruxtecanを推奨。 ・2/11施設で推奨薬剤無し。</p>