

2022年3月10日

## リキッドバイオプシーによる循環血中の腫瘍由来 DNA (circulating tumor DNA; ctDNA) 検査の質保証に関する見解

臨床検査振興協議会  
遺伝子関連検査に関する小委員会

### はじめに

2018年12月1日に改正された医療法・臨床検査技師法で、医療機関において検体検査の質保証の確保が求められるようになり、遺伝子関連検査も同様に質保証の重要性が指摘されるに至った。一方、がんゲノム医療は法改正前から大きく進展し、同様に検査の質保証の重要性が改めて議論されるようになった。そこで、臨床検査振興協議会では医療政策委員会に「ゲノム検査に関する小委員会」が結成され、「がんゲノム検査に関して品質・精度の確保に関する基本的考え方」を2018年10月30日に第1版、さらに関連団体から頂戴した意見も参考にして第2版を2019年5月31日に発出した<sup>1)</sup>。「基本的考え方」では、改正医療法やISO 15189を参考にして作成した総論的な基本的原則と、各論としての品質基準と品質保証の具体例から編成した。そして、2020年度からは守備範囲を拡げ、「遺伝子関連検査に関する小委員会」としてがんゲノムに限定せず、遺伝子関連検査の質保証に関する考え方をまとめることとした。ただし、病原体核酸検査については、「感染症対策に関する小委員会」で検討されているため、それ以外の体細胞遺伝子検査と遺伝学的検査を対象を絞って検討することとした。特に、本稿では循環血中の腫瘍由来 DNA 検査を行うにあたって、検査のプロセスごとの質保証を行うための留意事項についてまとめることとした。

### 背景

がんゲノム医療として、特定の遺伝子やバリエーションに特化した検出法と、がん遺伝子パネル検査に始まった次世代シーケンサー (NGS) を使用した網羅的な解析法の 2 通りがリアルワールドでのがん診療で活用されている。これらはいずれも病理標本 (ホルマリン固定パラフィン包埋組織; FFPE) が主に用いられてきた。一方、がん細胞由来の循環血中腫瘍 DNA (ctDNA) を対象としたリキッドバイオプシーの活用ががんゲノム医療に期待されてきた。

ctDNA の最も大きな利点は、採血という比較的侵襲の小さな操作で検体が得られ、定量的に扱い、時系列でみることができることである。そして、カットオフ値を患者ごとに設定することで、個別化医療にも強力なツールとなる。すなわち、がん組織そのものが取れない場合でも、血中の腫瘍由来 DNA の遺伝子バリエーションごとの定量によって、緻密ながん細胞の増殖と治療効果が判定でき、個体ごと、かつがん細胞の種類別 (遺伝子型別) の治療反応性をモニタリングできるので、抗腫瘍薬の精細な投与計画の立案が期待できる。一方、欠点・限界として、量が非常に少なく断片化されているため、たくさんの DNA 断片を

深く読み取る必要があること、低いアレル頻度のバリエーションも読み取れるバイオインフォマティクスパイプラインが必要であること、腫瘍サイズや転移数などによっては、組織内では遺伝子バリエーションがあっても血液中には十分量存在しないための偽陰性もあることを理解しておく必要がある。

現在、遺伝子・バリエーション特化型の検出法として、リアルタイム PCR(コバス EGFR 変異検出キット v2.0)やデジタル PCR(OncoBEAM RAS CRC キット) 、NGS(FoundationOne Liquid CDx、ArcherMET コンパニオン診断システム、EGFR リキッド遺伝子解析ソフトウェア、Guardant360 CDx\*)がコンパニオン診断に用いられている。また、プロファイリング検査システムとして、NGS を用いた測定系( FoundationOne liquid CDx、Guardant360 CDx\*)が使用可能となっている。特に、血液検体を用いた固形がんに対する包括的ゲノムプロファイリング「FoundationOne Liquid CDx がんゲノムプロファイル」は 2021 年 8 月から保険償還されるに至った(Guardant360 CDx\*は申請中)。

## スコープ

先述したように、リキッドバイオプシーはがんゲノム医療、プレジジョン医療としての期待が大きいですが、欠点や限界がある。特に循環血中腫瘍 DNA 量が極めて微量であることを踏まえると、腫瘍組織の DNA を調べる以上に検査の質保証、分析的妥当性の確保が重要である。そこで、ctDNA 検査の質保証においても、検査のプロセスごとに整理することとした。これは、一般的な検体検査に共通することでもあり、また「がんゲノム検査に関して品質・精度の確保に関する基本的考え方」でも論じたことである。プロセスごと、操作ごとに留意点を考えることで、遺伝子特化型の検出法でもプロファイリング検査でも共通するプロセスは同様に質保証を考えることができる。そして、予期しない結果が得られた時は、どのプロセスで過誤が発生したか、原因追及もしやすくなると考える。

米国では、リキッドバイオプシー検査の開発とバリデーション(分析的妥当性確認)を進めて早く臨床応用できるように、またFDAの申請を円滑に行えるように、Blood Profiling Atlas Consortium (BloodPAC)が産学の協力で結成され、データ収集と解析、分析前プロセスと分析プロセスの変動要因、患者状況の変動要因、保険償還などに関する研究を指揮している<sup>2)</sup>。

たとえば、分析前プロセスとしては、いかに正常型アレルの混入を減らすかが重要で、白血球由来のゲノム DNA 混入を減らす必要があり、検体採取の重要性を物語るものである。分析プロセスの変動要因では、非腫瘍細胞由来に比べて ctDNA が極めて少ないのが大きな課題であり、十分量の ctDNA を得るための指針作成が必要である。また、非腫瘍由来の生殖細胞系列の遺伝子バリエーション、clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP; 加齢によって生じる血液中のクローン性造血)等の体細胞バリエーション、臓器移植に伴う体細胞モザイクは偽陽性の原因となり、感度・特異度に影響する。従って、それらのフィルタリングにも留意する必要がある。

以上より、ctDNA を標的としたリキッドバイオプシーを適切に診療に活用するために、検査適応の検討など検査前確認を含めた分析前プロセスから始まる各プロセスで行われる作業内容と、そこで考えられる留意事項をまとめた資料を作成した。妥当性確認がとれた分析法を導入・実施する際、質保証された正確な ctDNA 検査を行うために、本資料を活用され、臨床的有用性が最大となることを願う次第である。

## 参考資料

- 1) 臨床検査振興協議会、医療政策委員会のゲノム検査に関する小委員会. がん遺伝子パネル検査の品質・精度の確保に関する基本的考え方(第2.1版). (2019年6月)  
[https://www.jpclt.org/common/upload\\_data/websta00000301/file/%E3%80%90%E7%A2%BA%E5%AE%9A%E7%89%88%E3%80%91%E5%9F%BA%E6%9C%AC%E7%9A%84%E8%80%83%E3%81%88%E6%96%B9\\_ver2.1.pdf](https://www.jpclt.org/common/upload_data/websta00000301/file/%E3%80%90%E7%A2%BA%E5%AE%9A%E7%89%88%E3%80%91%E5%9F%BA%E6%9C%AC%E7%9A%84%E8%80%83%E3%81%88%E6%96%B9_ver2.1.pdf) (アクセス日:2022.2.21)
- 2) Godsey JH, et al. Generic Protocols for the Analytical Validation of Next-Generation Sequencing-Based ctDNA Assays: A Joint Consensus Recommendation of the Blood PAC's Analytical Variables Working Group. Clin Chem 66: 1156-1166, 2020.