

検査案内

2023~2024

がんプレジジョン医療の時代へ
個々のがん患者さんに最適な医療を



個人情報保護方針

当社は、事業活動を通じて取得する個人情報等の保護に対する社会的要請を十分に認識し、以下の基本的な個人情報保護方針（以下「本保護方針」といいます。）を定め、全従業員に個人情報保護に関わる安全管理措置を周知徹底することをもって個人情報の保護に努めてまいります。なお、本保護方針において「個人情報」とは、個人情報の保護に関する法律（以下「個人情報保護法」といいます。）第2条に規定する個人情報をいいます。

1. 事業者の名称

株式会社 Cancer Precision Medicine

2. 個人情報の取得および利用

(1) 当社は、当社が実施する各種解析サービス又は解析業務等達成のために必要な範囲において、適正かつ適法な手段により個人情報を取得し、利用いたします。目的外の利用はいたしません。

(2) 当社は、個人情報保護法その他の法令に定める場合を除き、あらかじめご本人の同意を得ないで、要配慮個人情報を取得いたしません。

3. 個人情報の第三者への提供

当社は、個人情報保護法その他の法令に定める場合を除き、あらかじめご本人の同意を得ることなく、個人情報を第三者へ提供はいたしません。

4. 業務委託等に伴う個人情報の提供

当社は、業務の一部を外部に委託する場合、当該事業者を適切に選定し、委託契約において、安全管理措置、秘密保持、再委託の条件その他の個人情報の適正な取り扱いに必要な事項を定め、適切に監督いたします。

5. 関係法令・ガイドライン等の遵守

当社は、個人情報の取扱いに関する法令、国が定める指針その他の規範を遵守します。

6. 安全管理措置に関する事項

当社は、個人情報の漏洩等を防止するための体制の構築・維持、役職員に対する教育・啓発活動その他の情報セキュリティ施策を講じ、個人情報の安全管理に努めます。

7. 継続的改善について

当社は、個人情報保護体制を継続的に維持・向上させるため、個人情報を保護するための管理体制を継続的に見直し、改善を図ります。

8. 開示請求等の手続

当社は、法令等で定める個人情報に関する利用目的の通知、開示、訂正又は利用停止等のご請求があった場合には、誠実な対応に努めます。

9. お問い合わせ窓口

当社における個人情報の取扱いに関するご質問やご苦情、および前項の個人情報に関するご請求に関しては下記の窓口にて承ります。

株式会社 Cancer Precision Medicine

担当部署：業務マネジメントグループ

電話番号：044-201-8092

なお、本個人情報保護方針の詳細につきましては、当社ホームページに「個人情報の管理について（プライバシーポリシー）」として記載しております。

[URL] https://www.cancerprecision.co.jp/assets/pdf/cpm_privacypolicy.pdf

目次

検査ご利用の手引き	3
略称一覧	9
掲載内容・検査項目欄の見方	10
免疫治療 関連検査	ネオアンチゲン解析 11 がん遺伝子発現解析 15
分子標的治療薬選択 関連検査	がん遺伝子変異解析 19 リキッドバイオプシー(パネル解析) 21
治療効果・再発のモニタリング 関連検査	リキッドバイオプシー(デジタルPCR・cfDNA定量) 23 免疫反応解析(IFN- γ ELISPOT解析) 25
研究検査	免疫反応解析(MHCテトラマー解析) 27 免疫反応解析(TCR/BCRレパトア解析) 28
検体採取方法・検体の取扱い	31
検査概要および検査結果の見方	
はじめに —がんの種類に合わせた治療から、遺伝子異常のタイプに合わせた治療へ—	43
検査項目一覧	44
コラム:リキッドバイオプシー —血液によるがん検査—	46
免疫治療 関連検査	48
ネオアンチゲン解析	48
がん遺伝子発現解析	58
分子標的治療薬選択 関連検査	62
がん遺伝子変異解析	62
Oncomine Pan-Cancerパネル解析	68
リキッドバイオプシー 臨床試験情報レポート	76
治療効果・再発のモニタリング 関連検査	77
デジタルPCR	77
cfDNA定量検査	80
IFN- γ ELISPOT解析	85
研究検査	89
MHCテトラマー解析	89
TCR/BCRレパトア解析	91
検査方法の概略	95
検体容器の取扱い方法	97
研究グレードペプチド 合成サービスについて	99
参考文献一覧	101

検査ご利用の手引き

1. ご契約

検査受託のお申込みの際は、CPMクリニカルラボまでご連絡ください。

当社担当者より、検査委受託のご契約についてご案内いたします。契約締結後、検査受託を開始いたします。

(ご連絡の際は、8ページ「12. 検査に関するお問い合わせ」をご覧ください。)

2. 検査のご依頼方法

2-1. 事前準備

11ページからの各検査項目のページをご確認いただき、各検査における検体の採取方法、必要な資材、設備等をご確認、ご準備ください。

2-2. 検査のご依頼

● 検査依頼書の準備

所定の検査依頼書に、依頼内容をご記入ください。(検査依頼書の記入方法については、7ページ「9. 検査依頼書の記入方法」をご参照ください。)

● 検体の準備

各検査項目指定の方法に従って、検体を採取してください。検体容器には、所定の検体ラベルに必要事項をご記入のうえ貼付してください。(検体ラベルについては、5ページ「5. 検体ラベルについて」をご参照ください。)

● 集荷のご依頼（集荷依頼書の準備，集荷依頼のご連絡）

集荷ご希望日の前営業日の正午までに，所定の検査依頼書および集荷依頼書（下記「記入例」参照）をメール添付のうえ，下記送付先までご連絡ください。担当者より，依頼受付のご連絡をいたします。（月曜日集荷のご連絡は，前週金曜日の17時までお受けいたします。土・日・祝日は集荷および検査のご依頼はお受けしておりません。）

集荷依頼書送付先

support@cancerprecision.co.jp

CPMクリニカルラボ 受付担当宛

集荷依頼書（「検体受領・搬送日誌及び検体受付・仕分作業日誌」） 記入例：

検体受領・搬送日誌及び検体受付・仕分作業日誌		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 15%;">施設担当者</th> <th style="width: 15%;">輸送担当者</th> <th style="width: 15%;">CPM受付担当者</th> <th style="width: 15%;">精度管理責任者</th> <th style="width: 15%;">管理者</th> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"> </td> <td style="text-align: center;">/ /</td> <td style="text-align: center;">/ /</td> <td style="text-align: center;">/ /</td> <td style="text-align: center;">/ /</td> </tr> </table>					施設担当者	輸送担当者	CPM受付担当者	精度管理責任者	管理者		/ /	/ /	/ /	/ /																												
施設担当者	輸送担当者	CPM受付担当者	精度管理責任者	管理者																																								
	/ /	/ /	/ /	/ /																																								
施設コード (もしくは施設名)	受領・搬送 (太枠内を施設にてご記入ください)										受付																																	
	受領時刻★	依頼書枚数	検体数							保存別検体数				照合結果*	検査項目	作業終了時刻																												
ABCクリニック		5	10	細胞	組織	FFPE	血漿	全血	その他	室温	冷蔵	冷凍	超冷凍																															
種類別検体総数								10						*依頼書と検体が一致していれば✓を記入する																														
搬送箱内温度確認 輸送担当者は、集荷時に検体ラベルと検体数を確認後、★の箇所を記入する（詳細はマニュアル参考のこと）																																												
<div style="border: 1px solid green; padding: 5px; color: green; font-weight: bold;"> 太枠内のご記入をお願いいたします。 </div>										<div style="border: 1px solid green; padding: 5px; color: green; font-weight: bold;"> 検体に関して特に附記する事項 </div>																																		
<div style="border: 1px solid green; padding: 5px; color: green; font-weight: bold;"> 【例】下記の依頼内容の場合、記入は赤字の通りとなります 依頼書5枚： 全血 各2本（室温保存） </div>										<div style="border: 1px solid green; padding: 5px; color: green; font-weight: bold;"> ご連絡事項がある場合に、ご利用ください </div>																																		
出発時★																																												
中間地点																																												
CPM到着時																																												
搬入日時											<input type="checkbox"/> (CPM記入) 搬送箱内に検体が残っていないことを確認した。																																	
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th colspan="4" style="text-align: center;">仕分</th> </tr> <tr> <th style="width: 10%;">検査項目</th> <th style="width: 10%;">検体数</th> <th style="width: 10%;">仕分先受領日時</th> <th style="width: 10%;">担当者</th> </tr> <tr> <td>NA</td> <td></td> <td>/ / , :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>PA</td> <td></td> <td>/ / , :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TB</td> <td></td> <td>/ / , :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>EL</td> <td></td> <td>/ / , :</td> <td></td> </tr> <tr> <td>TE</td> <td></td> <td>/ / , :</td> <td></td> </tr> </table>																	仕分				検査項目	検体数	仕分先受領日時	担当者	NA		/ / , :		PA		/ / , :		TB		/ / , :		EL		/ / , :		TE		/ / , :	
仕分																																												
検査項目	検体数	仕分先受領日時	担当者																																									
NA		/ / , :																																										
PA		/ / , :																																										
TB		/ / , :																																										
EL		/ / , :																																										
TE		/ / , :																																										
検査項目： NA：ネオアンチゲン/がん遺伝子変異解析 PA：LB(バネル解析) TB：TCR/BCR EL：ELISPOT TE：MHCテトラマー																																												

● キャンセルについて

ご依頼いただいた検体集荷日の前日18時以降（当日含む）および検体集荷後のキャンセルの場合は，所定のキャンセル料をいただきます。

2-3. 集荷

ご指定の日時に，集荷員が専用輸送ボックスを持参して伺いますので，検体，検査依頼書および集荷依頼書をお渡しくください。（検体は，原則として院内検査室でまとめてご提出ください。）

なお，検査依頼書は1部をコピーのうえ，原本を集荷員にお渡しください。コピー1部は医療機関にて保管をお願いいたします。

2-4. 搬送

お預かりした検体は，CPMクリニカルラボに搬送いたします。

検体受領場所： []

検体平均搬送時間： [約 時間]

3. 特定感染症患者の検体受託について

当社の受託体制および「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」等（その後の改正を含む）により、下記に該当する感染症確定者、疑似症状者、無症状病原体保有者の検体については、受託することが出来ませんので、予めご了承ください。

[特定感染症]

・ 1類感染症

エボラ出血熱、クリミア・コンゴ出血熱、痘そう、南米出血熱およびラッサ熱のウイルス性出血熱、ペスト、マールブルグ病

・ 重症急性呼吸器症候群（SARS）

4. 検体容器について

検体容器については、97ページ「検体容器の取扱い方法」をご参照ください。

5. 検体ラベルについて

検体ラベルには、「施設コード」「患者ID」「材料」および「輸送温度帯」等必要事項を記入し、提出容器に貼付してください。

例

施設コード CL001
患者ID 12345
細菌/組織/全血 その他
冷蔵/冷凍/室温

6. 検体の保管期間および返却

検査終了後の残余検体は、検査結果の納品より30日間保管いたします。保管期間を過ぎた検体につきましては、当社で適正に廃棄させていただきます。検体の返却が必要な場合は、事前にご相談ください（検査費用とは別途費用が発生いたします）。ただし、「残余検体」とは、臨床検査を終了した既存試料のことをいいます。検体から抽出された核酸等、検査により得られた中間産物については、この限りではなく、当社で適正に廃棄させていただきます。

7. 再検査について

再検査が必要と判断される場合には、当社の再検査基準に基づいて再検査を実施いたします。なお、ご提出いただいた検体量が検査必要量に満たない場合は、再検査が実施できないことがありますのでご了承ください。

8. 免責について

ご依頼いただいた検査は、当社の検査実施基準に基づいて実施いたしますが、お預かりした検体の状態や、検査方法の技術的限界等により、適切な検査結果をご提供することが困難な場合があります。その場合は、当社はその検査結果に対し免責とさせていただきます。


当社は科学的専門性に基づき得られた検査結果を提供しております。一方、検査結果は直ちに診断もしくは治療目的等に利用できるものではなく、本検査の結果に基づき行う診断等は医師の責任のもとに行われるものであることにご留意ください。

9. 検査依頼書の記入方法

色の付いている欄 内をご記入ください。

・「患者ID」欄には、患者IDのみをご記入ください。氏名を記入しないようご注意ください。

記入例（ネオアンチゲン解析）

 検査依頼書		検体送付担当者様へ 本依頼書を1部コピーの上、原本を集荷担当者にお渡しください。 コピー1部を貴施設にて保管してください。	CPM管理No.
施設名 ABCクリニック		施設コード CL123	患者ID 123456 <small>※個人名は記載しないようお願いいたします</small>
科名 〇〇科	検査依頼日 2023年 1月 23日	性別 男 ・ 女	生年月日（西暦） 1956年 12月 3日
担当医 〇〇 〇〇	連絡先 03-123-456	検体採取日 時刻 2023年 1月 22日 11時 00分	
<input type="checkbox"/> 英語での検査結果報告を希望する <small>※英語での検査結果報告を希望される場合は、各欄を英語でご記入ください。</small>		【遵守事項のご確認】 検査の実施に際し、関連するガイドライン、指針等の主旨を尊重し、被検者様のインフォームド・コンセントが得られたことを確認された担当医師のご署名をお願いいたします。 2023年 1月 22日 担当医師名（自筆） 〇〇 〇〇	
(依頼内容)			
がん種 大腸がん	採取部位 原発巣	病期 Ⅲ	検体返却 要・不要
<input type="checkbox"/> ネオアンチゲン解析 (1100)			
腫瘍検体	<input checked="" type="checkbox"/> 腫瘍組織（ <input checked="" type="checkbox"/> 核酸安定化試薬・冷蔵 <input type="checkbox"/> 核酸安定化試薬除去後、冷凍 <input type="checkbox"/> 超冷凍）		検体数 2
	<input type="checkbox"/> 腫瘍細胞（ <input type="checkbox"/> 核酸安定化試薬・冷蔵 <input type="checkbox"/> 核酸安定化試薬除去後、冷凍 <input type="checkbox"/> 超冷凍） <input type="checkbox"/> FFPEスライド（冷蔵）		細胞数 (本) 枚 cells/本
FFPE検体の場合		腫瘍部の確認方法 <input type="checkbox"/> HE染色スライドおよび腫瘍部マーキング画像 <input type="checkbox"/> すべて使用する（腫瘍部30%以上） 解析方法 <input type="checkbox"/> RNAシーケンスを実施する（1135） <input type="checkbox"/> RNAシーケンスを実施せず、がんの発現データベースを使用する	
対照検体	<input type="checkbox"/> 正常組織（ <input type="checkbox"/> 核酸安定化試薬・冷蔵 <input type="checkbox"/> 核酸安定化試薬除去後、冷凍 <input type="checkbox"/> 超冷凍）（採取部位： ）		検体数 1
	<input checked="" type="checkbox"/> 血液（超冷凍）		細胞数 (本) 枚 cells/本
ネオアンチゲン解析追加データ解析		<input checked="" type="checkbox"/> 挿入・欠失変異（1133） <input checked="" type="checkbox"/> HLAクラスⅡ拘束性（1134） <input checked="" type="checkbox"/> 遺伝子変異解析（1110） <input type="checkbox"/> 遺伝子発現解析（1120） 解析済みのデータをご利用の場合、該当の検査番号	
<input type="checkbox"/> ネオアンチゲン解析【血液】 (1138) <input type="checkbox"/> ネオアンチゲン解析（Oncomine Pan-cancerパネル解析） (1137)			
<input type="checkbox"/> 血液（ <input type="checkbox"/> 冷蔵 <input type="checkbox"/> 室温）		検体数（血液） 本	検体数（血漿） 本
<input type="checkbox"/> 血漿・パフィーコート（超冷凍）		検体数（パフィーコート） 本	
HLA型（HLA-AおよびB）		<small>※ネオアンチゲン解析（Oncomine Pan-cancerパネル解析）の場合は記載してください。</small>	
ネオアンチゲン解析追加データ解析		<input type="checkbox"/> 挿入・欠失変異（1133） <input type="checkbox"/> HLAクラスⅡ拘束性（1134） <input type="checkbox"/> 遺伝子変異解析（1110） 解析済みのデータをご利用の場合、該当の検査番号	
<small>冷蔵：2℃～8℃ 冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃ 室温：9℃～30℃</small>			
<small>グレー部分は検査No.</small>			
CPM記入欄	検体受領日（8桁） _____ 施設コード _____		連絡事項
	項目 No.	検体No. _____ 保管場所 _____	
	NA	腫瘍T 冷蔵庫・超低温フリーザー	
		対照C 冷蔵庫・超低温フリーザー	
担当者 _____ / _____ ,			

10. 検査結果のご報告

検査結果は、検査委託契約書内の記載内容に準じて、所定の様式にてご報告いたします。

11. 料金の請求とお支払い方法

ご契約に従ってご請求申し上げます（原則として1ヶ月分をまとめてご請求申し上げます）。請求書記載の支払期日までに、指定の銀行口座に請求金額を振込にてお支払いください。

12. 検査に関するお問い合わせ

検査に関するご質問等につきましては、当社CPMクリニカルラボまでお問い合わせください。

お問い合わせ先

CPMクリニカルラボ 検査受付担当

電話番号：044-201-8092

Email（各種お問い合わせ）：support@cancerprecision.co.jp

お問い合わせ対応時間：平日9：00～18：00（土・日・祝日を除く）

13. 倫理指針について

当社では、「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」（日本医学会）および「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」（文部科学省・厚生労働省・経済産業省）等のガイドラインおよび指針を遵守し、検査を受託しています。

略称一覧

略称	正式名称
BCR	B 細胞受容体 (B cell receptor)
cfDNA	セルフリー DNA (Cell free DNA)
cfRNA	セルフリー RNA (Cell free RNA)
CT	コンピューター断層撮影 (Computed Tomography)
CTL	細胞傷害性 T 細胞 (Cytotoxic T lymphocyte)
DNA	デオキシリボ核酸 (Deoxyribonucleic acid)
DPBS	ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水 (Dulbecco's phosphate buffered saline)
FFPE	ホルマリン固定パラフィン包埋 (Formalin fixed paraffin embedded)
HE	ヘマトキシリン・エオシン (Hematoxyrin Eosin)
HLA	ヒト白血球型抗原 (Human leukocyte antigen)
IFN- γ	インターフェロン - ガンマ (Interferon- γ)
Indel	挿入・欠失変異 (insertion/deletion)
MHC	主要組織適合遺伝子複合体 (Major histocompatibility complex)
mRNA	メッセンジャー RNA (messenger RNA)
MRI	磁気共鳴画像 (Magnetic Resonance Imaging)
NGS	次世代シーケンス (Next generation sequencing)
PBMC	末梢血単核球 (Peripheral blood mononuclear cells)
PCR	ポリメラーゼ連鎖反応 (Polymerase chain reaction)
RNA	リボ核酸 (Ribonucleic acid)
SNV	一塩基変異 (Single nucleotide variant)
TCR	T 細胞受容体 (T cell receptor)

掲載内容・検査項目欄の見方

● 検査材料および必要量

「検査材料名（必要量）」を必ずご確認のうえ、必要な検体を採取してください。

必要量は、原則として再検査に応じられるように設定してあります（一部除く）。検体量が必要量を満たさず検査が実施できない場合は、その旨ご連絡いたします。

● 検体容器

検体容器の取扱いについては、下記の例をご参照ください。取扱い方法に条件がある項目もありますので、備考欄もしくは97ページ「検体容器の取扱い方法」もご参照ください。

（例）検体がPBMCの場合

検査材料名 （必要量）	検体 容器
PBMC (1×10^6 cells)	BT7 遠心分離 ↓ CT2

検体容器BT7に血液を採取し、遠心分離後、PBMC 1×10^6 cellsを別容器CT2に移し替えてご提出ください。

● 保存方法および安定性

検体採取後は、指定の「保存方法」に従って保存し、ご提出ください。

冷蔵：2℃～8℃ 冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃ 室温：9℃～30℃

その他、指定の保存温度

「安定性」は、指定の保存方法に従った場合の検体の保存可能期間の目安です。

● 所要期間

原則として、当社に検体を搬入した翌日を起算日とし、結果報告するまでの期間です。

再検査の場合や土・日・祝日の前後、記載されている材料以外での依頼の場合は、さらに日数を要する場合があります。

● 欄外および検体採取方法・検体の取扱い

検体を適正に採取するために、検体採取時に留意していただきたい事項です。欄外および「検体の採取・取扱い方法」をご参照ください。記載の方法と異なる方法で採取した場合は、正確な結果が得られない可能性があります。

● 主な単位

mL	milliliter (=0.001 L)
μ L	microliter (=10 ⁻⁶ L)
mg	milligram (=0.001 g)
ng	nanogram (=10 ⁻⁹ g)

ネオアンチゲン解析

●腫瘍組織（新鮮組織・FFPE）、細胞を用いた検査

「腫瘍検体」および「対照検体（正常検体）」（それぞれ1検体）をセットでご提出ください。

例)「腫瘍検体」の腫瘍組織+「対照検体」の血液

検査項目名	項目コード	検査材料名, 必要量 (採取方法掲載ページ)	検体容器	保存方法 (安定性)	所要期間	実施料	検査方法	検査結果
ネオアンチゲン解析	1100 対照なし	腫瘍組織 3 mm角 4個 もしくは30 mg片 2個程度 ^{※2} (P. 31)	RL2 CT2	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し, 冷蔵(1ヶ月) もしくは冷凍(1年) ・液体窒素で凍結の うえ, 超冷凍(1年)	1ヶ月	未収載	NGS法	<ul style="list-style-type: none"> ・ 遺伝子変異数 ・ アミノ酸置換遺伝子変異数 ・ HLA型 ・ ネオアンチゲンペプチドリスト
		腫瘍細胞 ^{※3} 2×10 ⁶ cells以上 を2本 (P. 33)						
	未染色FFPE スライド ^{※4, ※5} 必要量は ^{※6} (P. 34)	—	冷蔵 (薄切後6週間)					
	1101 対照なし	血液 2 mL (P. 36)	BT2 採血 ↓ CT2	超冷凍(1年)				
1135 FFPE	対照検体(正常検体)	正常細胞 (PBMC等) 2×10 ⁶ cells以上 を2本 (P. 33)	RL2 CT2	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し, 冷蔵(1ヶ月) もしくは冷凍(1年) ・液体窒素で凍結の うえ, 超冷凍(1年)			<ul style="list-style-type: none"> ● 検査対象 HLAクラス I (HLA-AおよびB), アミノ酸置換を伴う SNV 	
正常組織 3 mm角 4個 もしくは30 mg片 2個程度 ^{※2} (P. 31)								

冷蔵：2℃～8℃ 冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃

※1：検体中の腫瘍細胞の割合が30%以上であるものをご提出ください。腫瘍細胞の割合が低いと、腫瘍由来の遺伝子変異を検出できない場合があります。(参考文献：日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」)

※2：検体容器1本あたり、組織片1個を保存してください。

※3：腹水・胸水細胞を使用する場合は、14ページ「腹水・胸水からの検査について」をご参照ください。

※4：FFPE検体からのネオアンチゲン解析方法については、13ページ「FFPE検体からのネオアンチゲン解析について」をご参照ください。

※5：腫瘍部位の確認のため、HE染色標本および原則病理医が腫瘍部位をマーキングした画像(もしくは標本)を合わせてご提出ください。ご提出が難しい場合は、組織全体に占める腫瘍部位の割合が30%以上であるものをご提出ください。腫瘍細胞の割合が低いと、腫瘍由来の遺伝子変異を検出できない場合があります。マーキング画像のご提出、腫瘍部位の割合の確認のいずれも難しい場合は、事前にご相談ください。(参考文献：日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」)

※6：腫瘍部のサイズによる。目安は、切片厚10 μm、腫瘍部1.5 cm × 1.5 cmの場合、スライド10枚以上。スライドの作製が難しい場合は、事前にご相談ください。

●血液を用いた検査（リキッドバイオプシー）

検査項目名	項目コード	検査材料名, 必要量 (採取方法掲載ページ)	検体容器	保存方法 (安定性)	所要期間	実施料	検査方法	検査結果
ネオアンチゲン解析 [血液]	1138	血漿5 mL×3本, および バフィーコート 採取した全量 (P.37)	BT7 遠心分離 ↓ 血漿・ バフィーコート : CT5	超冷凍 (1年)	6週間	未収載	NGS法	<ul style="list-style-type: none"> ・遺伝子変異数 ・アミノ酸置換遺伝子変異数 ・HLA型 ・ネオアンチゲンペプチドリフト
		血液 30 mL以上 (P.39)	RT11	冷蔵もしくは室温 推奨: 18°C~25°C (5日)				
ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)	1137	血漿5 mL×2本, および バフィーコート 採取した全量 (P.37)	BT7 遠心分離 ↓ 血漿・ バフィーコート : CT5	超冷凍 (1年)	1ヶ月	未収載	ターゲット シーケンス法	<ul style="list-style-type: none"> ・cfDNA抽出結果 ・遺伝子変異検出頻度 ・適応薬剤候補 ・ネオアンチゲンペプチドリフト
		血液 20 mL以上 (P.39) HLA-Aおよび-Bの HLA型の情報※を ご提供ください。	RT11	冷蔵もしくは室温 推奨: 18°C~25°C (5日)				

冷蔵: 2°C~8°C

超冷凍: -85°C~-70°C

室温: 9°C~30°C

※4桁表記(「A2402」等)



検体容器には、所定の検体ラベルを貼付してください。(3ページ「ご利用の手引き」参照)

●追加データ解析

検査項目名	項目コード	所要期間	実施料	検査方法	検査結果
ネオアンチゲン解析 (追加データ解析 挿入・欠失変異) 挿入・欠失変異に由来するネオアンチゲンを予測します。	1133	2週間	未収載	データ解析	・ 遺伝子変異数 ・ 挿入・欠失遺伝子変異数 ・ HLA型 ・ ネオアンチゲンペプチドリスト ●検査対象 HLAクラス I (HLA-AおよびB) 拘束性, 挿入・欠失変異 (Indel)
ネオアンチゲン解析 (追加データ解析 HLAクラスII拘束性) HLAクラスII (HLA-DR) 拘束性のネオアンチゲンを予測します。	1134	2週間	未収載	データ解析	・ 遺伝子変異数 ・ アミノ酸置換遺伝子変異数 ・ HLA型 ・ ネオアンチゲンペプチドリスト ●検査対象： HLAクラスII (HLA-DR) 拘束性, アミノ酸置換を伴う SNV
ネオアンチゲン解析 (追加データ解析 遺伝子変異解析) 全遺伝子変異の情報を解析し、適応薬剤等を探索します。	1110	1週間	未収載	データ解析	・ 遺伝子変異リスト ・ DNAミスマッチ修復遺伝子変異 ・ 適応薬剤候補
ネオアンチゲン解析 (追加データ解析 遺伝子発現解析) ネオアンチゲン解析の検査結果を利用し、 オンコアンチゲンや免疫関連分子の遺伝子発現量を解析します。 ※「ネオアンチゲン解析 [血液]」の場合は実施不可	1120	1週間	未収載	データ解析	・ オンコアンチゲンの遺伝子発現量 ・ 免疫関連分子の遺伝子発現量 (解析対象の遺伝子は、17ページ「がん遺伝子発現解析 解析対象遺伝子」をご参照ください。)

上記「追加データ解析」は、検査データ保管期間内(ネオアンチゲン解析の検査結果の納品より2年間)の場合に実施可能です。

FFPE 検体からのネオアンチゲン解析について (項目コード：1135)

FFPE 検体を使用する場合は、FFPE 専用試薬を使用した RNA シーケンス解析を実施し、遺伝子の発現レベルを解析します。ただし、FFPE 検体から抽出した RNA の品質が検査実施基準を満たさない場合は、RNA シーケンス解析を実施せず、がんの遺伝子発現データベースのデータを用いて解析します。RNA の品質が検査実施基準を満たさない場合は、ご連絡いたします。(詳細は、次ページの「検体の品質確認について」および50ページ「FFPE 検体を用いた検査について」をご参照ください。)

ペプチドの販売について

当社では、研究グレードの合成ペプチド(ネオアンチゲンペプチド、オンコアンチゲンペプチド)を販売しております。詳細は、99ページ「研究グレードペプチド 合成サービスについて」をご覧ください。

検体の品質確認について

検体から核酸 (DNA, RNA, cfDNA) を抽出後、抽出した核酸の品質確認を行います。品質確認の結果、以下に該当する場合はご連絡いたします (ご依頼時のご連絡先に、メールにてご連絡いたします)。各検査材料における抽出核酸の品質基準は、下表の通りです。

- DNAもしくはcfDNAの品質が検査実施基準を満たさず、検査が継続できない場合 (品質確認までの費用が発生いたします。)
- RNAの品質が検査実施基準を満たさず、腫瘍検体からのRNAシーケンス解析が実施できない場合 (DNAを用いた全エクソーム解析データのみで検査継続可)
- 検査を継続できるが、いずれかの核酸が品質基準を満たさず、データの信頼性が低下するリスク、および以降の工程で継続不可となる可能性がある場合

〔品質基準〕

腫瘍検体における検査材料	品質基準	検査不可基準
新鮮組織・細胞	DNA：収量200 ng 以上, およびDIN 6.0以上 RNA：収量200 ng 以上, およびRIN 6.0以上	DNA：収量200 ng 未満, もしくはメインピーク300 bp 未満 RNA：収量100 ng 未満, もしくはDV200 30%未満
FFPE	DNA：収量500 ng 以上, およびDIN 3.0 以上もしくは メインピーク1000 bp 以上 RNA：収量20 ng 以上, およびDV200 70%以上	DNA：収量200 ng 未満, もしくはメインピーク300 bp 未満 RNA：収量20 ng 未満, もしくはDV200 30%未満
血液	●ネオアンチゲン解析 [血液] cfDNA：収量100 ng 以上	●ネオアンチゲン解析 [血液] cfDNA：収量100 ng 未満
	●ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析) cfDNA：収量20 ng 以上, およびゲノムDNAの混入5%未満 ゲノムDNA：収量40 ng 以上, およびDIN 6.0以上	●ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析) cfDNA：収量8ng 未満, もしくはゲノムDNAの混入5%以上 ゲノムDNA：収量40 ng 未満, およびDIN 6.0未満

DIN (DNA Integrity Number) / RIN (RNA Integrity Number)：核酸の分解度を示す評価する指標。1～10の値で示します。
 (1=完全に分解された状態、10=ほとんど分解していない状態)

DV200：核酸の分解度を示す評価する指標。200ヌクレオチド以上のRNA断片の割合を示します。

同一患者での再検査について

一度検査を実施した患者について、異なる腫瘍検体で再検査を実施する場合は、検査データ保管期間内 (検査結果の納品より2年間) に再検査を依頼された場合は初回検査の対照検体の検査結果を使用できます。対照検体を再度ご提出いただく必要はありません (項目コード：ネオアンチゲン解析1101, ネオアンチゲン解析 [血液] 1138)。

腹水・胸水からの検査について

腫瘍検体として腹水・胸水中の細胞を用いる場合は、回収した細胞を「腫瘍細胞」としてご提出ください (回収方法の指定は特にありません)。回収した細胞中に腫瘍細胞が30%以上含まれるよう、顕微鏡下で腫瘍細胞の含有率を確認後に遠心するか、フローサイトメトリー等により腫瘍細胞を回収してください。腫瘍細胞の割合が低いと、腫瘍由来の遺伝子変異を検出できない場合があります。(参考文献：日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」)

がん遺伝子発現解析

以下のいずれかをご提出ください。

検査項目名	項目コード	検査材料名, 必要量 (採取方法掲載ページ)	検体容器	保存方法 (安定性)	所要期間	実施料	検査方法	検査結果
がん遺伝子 発現解析	1150	腫瘍組織 3 mm角 4個 もしくは30 mg片 2個程度※ ² (P. 31)	RL2 CT2	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し, 冷蔵 (1ヶ月) もしくは冷凍 (1年) ・液体窒素で凍結の うえ, 超冷凍 (1年)	1ヶ月	未収載	NGS法	<ul style="list-style-type: none"> ・オンコアンチゲンの 遺伝子発現量 ・免疫関連分子の 遺伝子発現量 (解析対象の遺伝子は, 17ページ「がん遺伝子 発現解析 解析対象遺 伝子」をご参照くださ い。)
	FFPE 1155	腫瘍細胞※ ³ 2×10 ⁶ cells 以上 を2本 (P. 33)	—	冷蔵 (薄切後6週間)				
		未染色 FFPE スライド※ ⁴ 必要量は※ ⁵ (P. 34)	—					

冷蔵：2℃～8℃ 冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃

※1：検体中の腫瘍細胞の割合が30%以上であるものをご提出ください。腫瘍細胞の割合が低いと、腫瘍由来の遺伝子変異を検出できない場合があります。(参考文献：日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」)

※2：検体容器1本あたり、組織片1個を保存してください。

※3：腹水・胸水細胞を使用する場合は、次ページ「腹水・胸水からの検査について」をご参照ください。

※4：腫瘍部位の確認のため、HE染色標本および原則病理医が腫瘍部位をマーキングした画像(もしくは標本)を合わせてご提出ください。ご提出が難しい場合は、組織全体に占める腫瘍部位の割合が30%以上であるものをご提出ください。腫瘍細胞の割合が低いと、腫瘍由来の遺伝子変異を検出できない場合があります。

マーキング画像のご提出、腫瘍部位の割合の確認のいずれも難しい場合は、事前にご相談ください。(参考文献：日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」)

※5：腫瘍部のサイズによる。目安は、切片厚10 μm, 腫瘍部1.5 cm×1.5 cmの場合、スライド10枚以上。スライドの作製が難しい場合は、事前にご相談ください。



検体容器には、所定の検体ラベルを貼付してください。(3ページ「ご利用の手引き」参照)

検体の品質確認について

検体から核酸 (RNA) を抽出後、抽出した核酸の品質確認を行います。品質確認の結果、以下に該当する場合はご連絡いたします (ご依頼時のご連絡先に、メールにてご連絡いたします)。各検査材料における抽出核酸の品質基準は、下表の通りです。

- ・ RNAの品質が検査実施基準を満たさず、検査が継続できない場合 (品質確認までの費用が発生いたします。)
- ・ 検査を継続できるが、RNAが品質基準を満たさず、データの信頼性が低下するリスク、および以降の工程で継続不可となる可能性がある場合

〔品質基準〕

腫瘍検体における検査材料	品質基準	検査不可基準
新鮮組織・細胞	RNA：収量200 ng以上, およびRIN 6.0以上	RNA：収量100 ng未満, もしくはDV200 30%未満
FFPE	RNA：収量20 ng以上, およびDV200 70%以上	RNA：収量20 ng未満, もしくはDV200 30%未満

RIN (RNA Integrity Number)：核酸の分解度を示す評価する指標。1～10の値で示します。

(1=完全に分解された状態, 10=ほとんど分解していない状態)

DV200：核酸の分解度を示す評価する指標。200ヌクレオチド以上のRNA断片の割合を示します。

同一患者での再検査について

一度検査を実施した患者について、異なる腫瘍検体で再検査を実施する場合は、検査データ保管期間内 (検査結果の納品より2年間) に再検査を依頼された場合は初回検査の対照検体の検査結果を使用できます。対照検体を再度ご提出いただく必要はありません (項目コード：ネオアンチゲン解析1101, がん遺伝子変異解析1141)。

腹水・胸水からの検査について

腫瘍検体として腹水・胸水中の細胞を用いる場合は、回収した細胞を「腫瘍細胞」としてご提出ください (回収方法の指定は特にありません)。回収した細胞中に腫瘍細胞が30%以上含まれるよう、顕微鏡下で腫瘍細胞の含有率を確認後に遠心するか、フローサイトメトリー等により腫瘍細胞を回収してください。腫瘍細胞の割合が低いと、腫瘍由来の遺伝子変異を検出できない場合があります。(参考文献：日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取り扱い規程」)

ペプチドの販売について

当社では、研究グレードの合成ペプチド (ネオアンチゲンペプチド, オンコアンチゲンペプチド) を販売しております。詳細は、99ページ「研究グレードペプチド合成サービスについて」をご覧ください。

がん遺伝子発現解析 解析対象遺伝子

「がん遺伝子発現解析」の解析対象遺伝子は、以下の通りです。

分類	遺伝子名 (別名)	分類	遺伝子名 (別名)
オンコアンチゲン (がん細胞における発現の亢進 が報告されている遺伝子)	<i>CDC45L (CDC45)</i>	T細胞への抗原提示に関連する 遺伝子	<i>B2M</i>
	<i>CDCA1 (NUF2)</i>		<i>CALR</i>
	<i>CDH3</i>		<i>CANX</i>
	<i>DEPDC1</i>		<i>HLA-A</i>
	<i>ECT2</i>		<i>HLA-B</i>
	<i>FOXM1</i>		<i>HLA-C</i>
	<i>GPC3</i>		<i>HLA-DPA1</i>
	<i>HIG2 (HILPDA)</i>		<i>HLA-DPB1</i>
	<i>HJURP</i>		<i>HLA-DQA1</i>
	<i>KIF20A</i>		<i>HLA-DQA2</i>
	<i>KNTC2 (NDC80)</i>		<i>HLA-DQB1</i>
	<i>KOC1 (IGF2BP3)</i>		<i>HLA-DRA</i>
	<i>MELK</i>		<i>HLA-DRB1</i>
	<i>MPHOSPH1 (KIF20B)</i>		<i>HLA-DRB5</i>
	<i>NEIL3</i>		<i>HLA-E</i>
	<i>RNF43</i>		<i>HLA-F</i>
	<i>SPARC</i>		<i>HLA-G</i>
	<i>TOMM34</i>		<i>HLA-H</i>
	<i>TOPK (PBK)</i>		<i>IFNA1</i>
	<i>UBE2T</i>		<i>IFNA2</i>
<i>URLC10 (LY6K)</i>	<i>IFNB1</i>		
<i>WDRPUH (WDR16)</i>	<i>IFNG</i>		
免疫細胞 (T細胞、B細胞、 抗原提示細胞) に関連する 遺伝子	<i>CD19</i>	<i>IRF1</i>	
	<i>CD28</i>	<i>MICA</i>	
	<i>CD4</i>	<i>MICB</i>	
	<i>CD68</i>	<i>PSMB8 (LMP7)</i>	
	<i>CD80</i>	<i>PSMB9 (LMP2)</i>	
	<i>CD86</i>	<i>TAP1</i>	
	<i>CD8A</i>	<i>TAP2</i>	
	<i>CD8B</i>	<i>TAPBP</i>	
	<i>IL2RA (CD25)</i>		
	T細胞の抗原認識および活性化 に関連する遺伝子	<i>CD247</i>	
<i>CD27 (TNFRSF7)</i>			
<i>CD3D</i>			
<i>CD3E</i>			
<i>CD3G</i>			
<i>GZMA</i>			
<i>GZMB</i>			
<i>ICOS</i>			
<i>LAMP1 (CD107a)</i>			
<i>TNFRSF9 (4-1BB)</i>			

(次ページへつづく)

(つづき)

分類	遺伝子名(別名)	分類	遺伝子名(別名)	
ケモカイン/サイトカイン	CCL17	サイトカイン受容体	TNFRSF10A	
	CCL19		TNFRSF10B	
	CCL2		TNFRSF10C	
	CCL20		TNFRSF10D	
	CCL21		TNFRSF11A	
	CCL22		TNFRSF11B	
	CCL4		TNFRSF12A	
	CCL5		TNFRSF13B	
	CCR10		TNFRSF13C	
	CCR4		TNFRSF14	
	CCR5		TNFRSF16 (NGFR)	
	CCR6		TNFRSF17	
	CCRL2		TNFRSF19	
	CD40 (TNFRSF5)		TNFRSF19L (RELT)	
	CD40LG (CD40L, TNFSF5)		TNFRSF1A	
	CD70 (TNFSF7)		TNFRSF1B	
	CXCL10		TNFRSF21	
	CXCL11		TNFRSF25 (DR3)	
	CXCL13		TNFRSF27 (EDA2R)	
	CXCL9		TNFRSF3 (LTBR)	
	FASLG (TNFSF6)		TNFRSF6 (FAS)	
	IL10		TNFRSF6B (DCR3)	
	IL12A		TNFRSF8 (CD30)	
	IL12RB2		免疫抑制細胞 (制御性T細胞)に関連する 遺伝子	CTLA4
	IL17A			FOXP3
	IL17RB			TGFB1
	IL23A		免疫チェックポイント分子 (T細胞の活性化抑制に関連 する遺伝子)	BTLA
	IL6			C10orf54 (VISTA, VSIR)
	PRF1	CD274 (PD-L1)		
	TBX21	CD276		
	TGFB2	HAVCR2 (TIM3)		
	TGFB3	IDO1 (IDO)		
	TNF (TNFA)	LAG3		
	TNFSF1 (LTA)	PDCD1 (PD-1)		
	TNFSF10	PDCD1LG2 (PD-L2)		
	TNFSF11	TIGIT		
	TNFSF12			
	TNFSF13			
	TNFSF13B			
	TNFSF14			
	TNFSF15			
	TNFSF18 (GITRL)			
	TNFSF3 (LTB)			
TNFSF4 (OX40L)				
TNFSF8				
TNFSF9 (4-1BBL)				

分子標的治療薬選択 関連検査

がん遺伝子変異解析

「腫瘍検体」および「対照検体（正常検体）」（それぞれ1検体）をセットでご提出ください。

例) 「腫瘍検体」の腫瘍組織 + 「対照検体」の血液

検査項目名	項目コード	検査材料名, 必要量 (採取方法掲載ページ)	検体容器	保存方法 (安定性)	所要期間	実施料	検査方法	検査結果
がん遺伝子 変異解析	1140	腫瘍検体※1 腫瘍組織 3 mm角 4個 もしくは30 mg片 2個程度※2 (P. 31) 腫瘍細胞※3 2×10 ⁶ cells 以上を2本 (P. 33) 未染色 FFPE スライド※4 (必要量は※5) (P. 34)	RL2 CT2	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し, 冷蔵(1ヶ月) もしくは冷凍(1年) ・液体窒素で凍結の うえ, 超冷凍(1年)	1ヶ月	未収載	NGS法	<ul style="list-style-type: none"> ・ 遺伝子変異数 ・ アミノ酸置換遺伝子変異数 ・ DNA ミスマッチ修復遺伝子変異 ・ 適応薬割候補
	対照なし 1141	血液 2 mL (P. 36) 対照検体(正常検体) 正常細胞 (PBMC等) 2×10 ⁶ cells 以上 を2本 (P. 33) 正常組織 3 mm角 4個 もしくは30 mg片 2個程度※2 (P. 31)	BT2 採血 ↓ CT2 RL2 CT2	超冷凍(1年) 以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し, 冷蔵(1ヶ月) もしくは冷凍(1年) ・液体窒素で凍結の うえ, 超冷凍(1年)				

冷蔵：2℃～8℃ 冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃

※1：検体中の腫瘍細胞の割合が30%以上であるものをご提出ください。腫瘍細胞の割合が低いと、腫瘍由来の遺伝子変異を検出できない場合があります。(参考文献：日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」)

※2：検体容器1本あたり、組織片1個を保存してください。

※3：腹水・胸水細胞を使用する場合は、次ページ「腹水・胸水からの検査について」をご参照ください。

※4：腫瘍部位の確認のため、HE染色標本および原則病理医が腫瘍部位をマーキングした画像(もしくは標本)を合わせてご提出ください。ご提出が難しい場合は、組織全体に占める腫瘍部位の割合が30%以上であるものをご提出ください。腫瘍細胞の割合が低いと、腫瘍由来の遺伝子変異を検出できない場合があります。

マーキング画像のご提出、腫瘍部位の割合の確認のいずれも難しい場合は、事前にご相談ください。

(参考文献：日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」)

※5：腫瘍部のサイズによる。目安は、切片厚10 μm, 腫瘍部1.5 cm × 1.5 cmの場合、スライド10枚以上。

スライドの作製が難しい場合は、事前にご相談ください。

検体の品質確認について

検体から核酸 (DNA) を抽出後、抽出した核酸の品質確認を行います。品質確認の結果、以下に該当する場合はご連絡いたします (ご依頼時のご連絡先に、メールにてご連絡いたします)。各検査材料における抽出核酸の品質基準は、下表の通りです。

- ・ DNAの品質が検査実施基準を満たさず、検査が継続できない場合 (品質確認までの費用が発生いたします。)
- ・ 検査を継続できるが、DNAが品質基準を満たさず、データの信頼性が低下するリスク、および以降の工程で継続不可となる可能性がある場合

〔品質基準〕

腫瘍検体における検査材料	品質基準	検査不可基準
新鮮組織・細胞	DNA：収量200 ng 以上, およびDIN 6.0以上	DNA：収量200 ng 未満, もしくはメインピーク300 bp 未満
FFPE	DNA：収量500 ng 以上, およびDIN 3.0 以上もしくは メインピーク1000 bp 以上	DNA：収量200 ng 未満, もしくはメインピーク300 bp 未満

DIN (DNA Integrity Number)：核酸の分解度を示す評価する指標。1～10の値で示します。
(1=完全に分解された状態, 10=ほとんど分解していない状態)

同一患者での再検査について

一度検査を実施した患者について、異なる腫瘍検体で再検査を実施する場合は、検査データ保管期間内 (検査結果の検収より2年間) に再検査を依頼された場合は初回検査の対照検体の検査結果を使用できます。対照検体を再度ご提出いただく必要はありません (項目コード：1141)。

腹水・胸水からの検査について

腫瘍検体として腹水・胸水中の細胞を用いる場合は、回収した細胞を「腫瘍細胞」としてご提出ください (回収方法の指定は特にありません)。回収した細胞中に腫瘍細胞が30%以上含まれるよう、顕微鏡下で腫瘍細胞の含有率を確認後に遠心するか、フローサイトメトリー等により腫瘍細胞を回収してください。腫瘍細胞の割合が低いと、腫瘍由来の遺伝子変異を検出できない場合があります。(参考文献：日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」)



検体容器には、所定の検体ラベルを貼付してください。(3ページ「ご利用の手引き」参照)

リキッドバイオプシー (パネル解析)

以下のいずれかをご提出ください。

検査項目名	項目コード	検査材料名, 必要量 (採取方法掲載ページ)	検体容器	保存方法 (安定性)	所要期間	実施料	検査方法	検査結果
Oncomine Pan-cancer パネル解析※1	2100	血漿5 mL×2本, および パフィーコート 採取した全量 (P. 37)	BT7 遠心分離 ↓ 血漿・ パフィーコート : CT5	超冷凍 (1年)	2週間	未収載	ターゲット シーケンス法	<ul style="list-style-type: none"> cfDNA 抽出結果 遺伝子変異検出頻度 偽陽性確認結果 適応薬剤候補 品質確認結果
		血液 20 mL 以上 (P. 39)	RT11	冷蔵 もしくは室温 (5日) 推奨: 18℃~25℃				
Oncomine Pan-cancer パネル解析 cfDNA 定量検査後※2	2152	(不要)※2	—	—	2週間	未収載	ターゲット シーケンス法	<ul style="list-style-type: none"> cfDNA 抽出結果 遺伝子変異検出頻度 偽陽性確認結果 適応薬剤候補 品質確認結果

冷蔵: 2℃~8℃ 超冷凍: -85℃~-70℃ 室温: 9℃~30℃

●追加データ解析

検査項目名	項目コード	所要期間	実施料	検査方法	検査結果
リキッドバイオプシー 臨床試験情報レポート※3 「Oncomine Pan-cancer パネル解析」の検査結果に基づき、関連する臨床試験情報を報告いたします。	2153	2週間	未収載	データ解析	<ul style="list-style-type: none"> 遺伝子変異リスト 関連治療情報 臨床試験情報
追加データ解析 ネオアンチゲン解析 「Oncomine Pan-cancer パネル解析」で取得したデータを用いて、ネオアンチゲンを予測します。HLA-Aおよび-BのHLA型の情報※4をご提供いただけます。	2903	2週間	未収載	データ解析	<ul style="list-style-type: none"> アミノ酸置換遺伝子変異数 ネオアンチゲンペプチドリスト <p>●検査対象 HLAクラス I (HLA-Aおよび-B), SNV</p>

上記「追加データ解析」は、検査データ保管期間内 (Oncomine Pan-cancer パネル解析の検査結果の納品より2年間) の場合に実施可能です。



検体容器には、所定の検体ラベルを貼付してください。(3ページ「ご利用の手引き」参照)

- ※1：抽出したcfDNA量の報告が必要な場合は、「cfDNA定量検査」をご依頼ください。続けてパネル解析を実施する場合は、「Oncomine Pan-cancerパネル解析 cfDNA定量検査後」をご依頼ください。
- ※2：「cfDNA定量検査」実施後、3か月以内に「Oncomine Pan-cancerパネル解析」を行う場合は、「Oncomine Pan-cancerパネル解析 cfDNA定量検査後」をご依頼ください。（検査内容は「Oncomine Pan-cancerパネル解析」と同一です。）
「cfDNA定量検査」で抽出されたcfDNA（既存検体）を利用できる場合、再度検体を提出する必要はありません。既存検体の利用可否がご不明な場合は、お問い合わせください。
- ※3：リキッドバイオプシー 臨床試験情報レポートの作成は、ライフテクノロジーズジャパン株式会社へ解析データを送付して行います。ライフテクノロジーズジャパン株式会社において解析されたデータは、レポート作成業務完了後に適切にサーバーから削除されます。
- ※4：4桁表記（「A2402」等）

検体の品質確認について

核酸（cfDNAおよびゲノムDNA）抽出後、品質確認を行います。品質確認の結果、以下に該当する場合はご連絡いたします（ご依頼時のご連絡先に、メールにてご連絡いたします）。品質基準は下表の通りです。

- ・cfDNAもしくはゲノムDNAの品質が検査実施基準を満たさず、検査が継続できない場合（品質確認までの費用が発生いたします。）
- ・検査を継続できるが、cfDNAもしくはゲノムDNAが品質基準を満たさず、データの信頼性が低下するリスク、および以降の工程で継続不可となる可能性がある場合

【品質基準】

	品質基準	検査不可基準
cfDNA	収量20 ng 以上, ゲノムDNAの混入5%未満	収量8 ng 未満, もしくはゲノムDNAの混入5%以上
ゲノムDNA	収量40 ng 以上, DIN 6.0以上	収量40 ng 未満, DIN 6.0未満

DIN (DNA Integrity Number)：核酸の分解度を示す評価する指標。1～10の値で示します。

(1=完全に分解された状態, 10=ほとんど分解していない状態)

バフィーコートを用いた偽陽性確認について

血漿を用いたパネル解析により検出された遺伝子変異が、その変異が正常細胞に由来する変異（偽陽性）である可能性を確認するため、バフィーコートを用いて同様にパネル解析（偽陽性確認検査）を実施します。詳細は69ページ「偽陽性の確認について」をご参照ください。

治療効果・再発のモニタリング 関連検査

リキッドバイオプシー (デジタルPCR・cfDNA 定量)

以下のいずれかをご提出ください。

検査項目名	項目コード	検査材料名, 必要量 (採取方法掲載ページ)	検体容器	保存方法 (安定性)	所要期間	実施料	検査方法	検査結果
デジタルPCR 検査対象の 遺伝子変異を 選択ください。	2200	血漿 5 mL×2本 (P. 37)	BT7 遠心分離 ↓ CT5	超冷凍 (1年)	2週間	未収載	デジタル PCR法	<ul style="list-style-type: none"> cfDNA 抽出結果 遺伝子変異検出 頻度 品質確認結果
		血液 20 mL以上 (P. 39)	RT11	冷蔵 もしくは室温 (5日) 推奨: 18℃~25℃				
cfDNA 定量 検査※1, ※2	2151	血漿1.5 mL×2本, およびバフィーコート 採取した全量※3 (P. 37)	BT7 遠心分離 ↓ 血漿・バフィーコート : CT5	超冷凍 (1年)	1週間	未収載	分子分光法	<ul style="list-style-type: none"> cfDNA 濃度 品質確認結果
		血液 10 mL以上※4 (P. 39)	RT11	冷蔵 もしくは室温 (5日) 推奨: 18℃~25℃				

冷蔵: 2℃~8℃ 超冷凍: -85℃~-70℃ 室温: 9℃~30℃

※1: 「cfDNA 定量検査」実施後, 3か月以内に「Oncomine Pan-cancerパネル解析」を行う場合は, 「Oncomine Pan-cancerパネル解析 cfDNA 定量検査後」をご依頼ください。(検査内容は「Oncomine Pan-cancerパネル解析」と同一です。)

「cfDNA 定量検査」で抽出されたcfDNA (既存検体) を利用できる場合, 再度検体を提出する必要はありません。既存検体の利用の可否がご不明な場合は, お問い合わせください。

※2: 以下の場合には検査結果が高値となる場合があります, 正確な結果が得られない可能性があります。

妊娠中の方, 移植を受けた方, 炎症・糖尿病・組織外傷・敗血症・自己免疫疾患・心疾患のある方, 激しい運動

※3: 「cfDNA 定量検査」に続けて「Oncomine Pan-cancerパネル解析」を予定されている場合は, 血漿: 5 mL×2本, バフィーコート: 採取した全量 をご提出ください。

※4: 「cfDNA 定量検査」に続けて「Oncomine Pan-cancerパネル解析」を予定されている場合は, 血液 20 mL以上 (リキッドバイオプシー専用採血管 2本) をご提出ください。



検体容器には, 所定の検体ラベルを貼付してください。(3ページ「ご利用の手引き」参照)

デジタルPCR 検査対象遺伝子変異

「デジタルPCR」では、検査依頼時に検査対象の遺伝子変異を以下より選択してください。記載のない遺伝子変異での検査をご希望の場合は、ご相談ください。

遺伝子	塩基変異	アミノ酸置換
APC	c.4216C>T	p.Q1406Ter
BRAF	c.1799T>A	p.V600E
FGFR3	c.742C>T	p.R248C
GNAS	c.602G>A	p.R201H
IDH1	c.394C>T	p.R132C
	c.394C>A	p.R132S
IDH2	c.419G>A	p.R140Q
KRAS	c.34G>T	p.G12C
	c.35G>A	p.G12D
	c.34G>A	p.G12S
	c.35G>T	p.G12V
	c.38G>A	p.G13D
	c.183A>C	p.Q61H
	c.182A>T	p.Q61L
MAP2K1	c.370C>T	p.P124S
NRAS	c.35G>A	p.G12D
PIK3CA	c.263G>A	p.R88Q
	c.1624G>A	p.E542K
	c.1633G>A	p.E545K

遺伝子	塩基変異	アミノ酸置換
SF3B1	c.2098A>G	p.K700E
TP53	c.517G>A	p.V173M
	c.536A>G	p.H179R
	c.569C>T	p.P190L
	c.584T>C	p.I195T
	c.586C>T	p.R196Ter
	c.659A>G	p.Y220C
	c.701A>G	p.Y234C
	c.734G>A	p.G245D
	c.733G>A	p.G245S
	c.742C>T	p.R248W
	c.817C>T	p.R273C
	c.818G>A	p.R273H
	c.818G>T	p.R273L
	c.838A>G	p.R280G
	c.844C>T	p.R282W

検体の品質確認について

核酸 (cfDNA) 抽出後、品質確認を行います。品質確認の結果、以下に該当する場合はご連絡いたします（ご依頼時のご連絡先に、メールにてご連絡いたします）。品質基準は下表の通りです。

- ・ cfDNAの品質が検査実施基準を満たさず、検査が継続できない場合（品質確認までの費用が発生いたします。）
- ・ 検査を継続できるが、cfDNAが品質基準を満たさず、データの信頼性が低下するリスク、および以降の工程で継続不可となる可能性がある場合

〔品質基準〕

検査項目	核酸	品質基準	検査不可基準
デジタルPCR	cfDNA	収量20 ng 以上, ゲノムDNAの混入5%未満	収量8 ng 未満, もしくはゲノムDNAの混入5%以上
cfDNA 定量検査	品質基準なし		

免疫反応解析 (IFN- γ ELISPOT 解析)

検査項目名	項目コード	検査材料および試料名 必要量 (採取方法掲載ページ)	検体 容器	保存方法 (安定性)	所要 期間	実施料	検査方法	検査結果
IFN- γ ELISPOT 解析 [ネオアンチゲン]	3200	PBMC 抗原ペプチド 1種類 あたり 3×10^6 cells (P. 40)	BT7 分離 ↓ CT2	細胞保存液を添加し, 液体窒素保存もしくは 超冷凍 (1年)	1ヶ月	未収載	IVS 法 ELISPOT 法	<ul style="list-style-type: none"> 抗原ペプチド特異的免疫反応判定 抗原ペプチド特異的スポット数
		抗原ペプチド※ ¹ 1採血ポイントあたり 粉末 1 mg	MT2	冷凍※ ² (各ペプチドの 安定性に従う)				
IFN- γ ELISPOT 解析 [オンコアンチゲン]	各種	PBMC 抗原ペプチド 1種類 あたり 3×10^6 cells (P. 40)	BT7 分離 ↓ CT2	細胞保存液を添加し, 液体窒素保存もしくは 超冷凍 (1年)	6週間	未収載	IVS 法 ELISPOT 法	<ul style="list-style-type: none"> 抗原ペプチド特異的免疫反応判定 抗原ペプチド特異的スポット数 <ul style="list-style-type: none"> ●検査対象 次ページ参照

冷凍：-25℃~-15℃ 超冷凍：-85℃~-70℃

※1：凍結乾燥粉末，純度95%以上

※2：別途適切な保存条件がある場合は，その条件に従って保存，ご提出ください。

[品質基準]

	品質基準	検査不可基準
PBMC	生細胞数 3×10^6 cells 以上	細胞生存率 50% 以下， および生細胞数 2×10^6 cells 未満



検体容器には，所定の検体ラベルを貼付してください。(3ページ「ご利用の手引き」参照)

IFN- γ ELISPOT解析 [オンコアンチゲン] 検査対象ペプチド

抗原名	HLA型						
	A2402	A0201	A0206	A1101	A3303	A0101	A0301
CDC45L	○						
CDCA1	○	○		○	○	○	○
CDH3	○	○					
DEPDC1	○	○	○	○	○	○	
ECT2		○					
FOXM1	○	○			○	○	
GPC3	○	○	○				
HIG2		○	○				
HJURP	○	○					
KIF20A	○	○					
KNTC2		○					
KOC1	○			○	○	○	○
MELK	○	○					
MPHOSPH1	○	○	○	○	○		
NEIL3	○	○	○				
RNF43	○	○					
SPARC	○						
TOMM34	○	○					
TOPK	○	○					
UBE2T	○						
URLC10	○	○	○	○			○
WDRPUH	○	○					
VEGFR1	○						
VEGFR2	○						

○：検査可能なオンコアンチゲンペプチド

免疫反応解析 (MHC テトラマー解析)

研究検査は、研究を目的とした検査であり、当社の通常受託の検査項目と異なります。基準値および臨床的意義が明確にならない項目もございますので、内容をご理解のうえご依頼いただくようお願いいたします。

検査項目名	項目コード	検査材料名, 必要量 (採取方法掲載ページ)	検体容器	保存方法 (安定性)	所要期間	実施料	検査方法	検査結果
MHC テトラマー 解析※1	3300	PBMC 抗原ペプチド 1種類あたり 6×10 ⁶ cells (P.40)	BT7 ↓ CT2	細胞保存液を添加し, 液体窒素保存もしくは 超冷凍(1年)	1ヶ月	未収載	IVS法 フローサイト メトリー法	MHCテトラマー 陽性細胞の検出頻度 (%) ●検査対象 HLA-A*24:02 HLA-A*02:01
		抗原ペプチド※2 1採血ポイントあたり 粉末 1 mg	MT2	冷凍※3 (各ペプチドの安定性に 従う)				

冷凍: -25℃~-15℃ 超冷凍: -85℃~-70℃

※1: ご提供いただいた抗原ペプチドを用いて、解析に使用する蛍光標識MHCテトラマーをカスタムで作製します。ペプチドのHLAに対する結合親和性が低い場合、MHCテトラマーを作製できないことがあります。

※2: 凍結乾燥粉末, 純度95%以上

※3: 別途適切な保存条件がある場合は、その条件に従って保存, ご提出ください。

〔品質基準〕

	品質基準	検査不可基準
PBMC	生細胞数 6×10 ⁶ cells以上	細胞生存率 50% 以下, および生細胞数 3×10 ⁶ cells未滿



検体容器には、所定の検体ラベルを貼付してください。(3ページ「ご利用の手引き」参照)

免疫反応解析 (TCR/BCR レパトア解析)

研究検査は、研究を目的とした検査であり、当社の通常受託の検査項目と異なります。基準値および臨床的意義が明確にならない項目もございますので、内容をご理解のうえご依頼いただくようお願いいたします。

検査項目名	項目コード	検査材料名, 必要量 (採取方法掲載ページ)	検体容器	保存方法 (安定性)	所要期間	実施料	検査方法	検査結果
TCR レパトア解析 [血液]	3101	PBMC 5~10×10 ⁶ cellsを2本 (P. 41)	BT7 分離 ↓ RL2 CT2	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を添加し, 冷蔵(1ヶ月)もしくは冷凍(1年) ・液体窒素で凍結のうえ, 超冷凍(1年)	1ヶ月	未収載	ターゲットシーケンス法	<ul style="list-style-type: none"> ・シーケンス結果 ・T細胞受容体レパトア情報(多様度指数, 上位10クローンの遺伝子情報および頻度分布円グラフ)
TCR レパトア解析 [組織]	3102	組織 3 mm角 4個もしくは30 mg片2個程度 ^{※2} (P. 31)	RL2 CT2					
BCR レパトア解析 ^{※1} [血液]	要問合せ	PBMC 5~10×10 ⁶ cellsを2本 (P. 41)	BT7 分離 ↓ RL2 CT2	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を添加し, 冷蔵(1ヶ月)もしくは冷凍(1年) ・液体窒素で凍結のうえ, 超冷凍(1年)	1ヶ月	未収載	ターゲットシーケンス法	<ul style="list-style-type: none"> ・シーケンス結果 ・B細胞受容体レパトア情報(多様度指数, 上位10クローンの遺伝子情報および頻度分布円グラフ)
BCR レパトア解析 ^{※1} [組織]	要問合せ	組織 3 mm角 4個もしくは30 mg片2個程度 ^{※2} (P. 31)	RL2 CT2					

冷蔵：2℃～8℃ 冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃

※1：以下の解析項目から選択してください。

BCR：重鎖・・・IgG, IgM, IgA, IgD, IgE
軽鎖・・・IgL, IgK

※2：検体容器1本あたり、組織片1個を保存してください。



検体容器には、所定の検体ラベルを貼付してください。(3ページ「ご利用の手引き」参照)

検体の品質確認について

核酸 (RNA) 抽出後、品質確認を行います。品質確認の結果、以下に該当する場合はご連絡いたします (ご依頼時のご連絡先に、メールにてご連絡いたします)。各検査材料における抽出核酸の品質基準は、下表の通りです。

- ・ RNAの品質が検査実施基準を満たさず、検査が継続できない場合 (品質確認までの費用が発生いたします。)
- ・ 検査を継続できるが、RNAが品質基準を満たさず、データの信頼性が低下するリスク、および以降の工程で継続不可となる可能性がある場合

〔品質基準〕

検査材料	品質基準	検査不可基準
PBMC	RNA：収量200 ng以上, およびRIN 6.0以上	RNA：収量100 ng未満, もしくはRIN 6.0未満
組織	RNA：収量200 ng以上, およびRIN 6.0以上	RNA：収量100 ng未満, もしくはRIN 6.0未満

RIN (RNA Integrity Number)：核酸の分解度を示す評価する指標。1～10の値で示します。

(1=完全に分解された状態, 10=ほとんど分解していない状態)

検体採取方法・検体の取扱い

● 組織検体

【該当検査項目】

検査項目	検査要綱掲載ページ
ネオアンチゲン解析 (腫瘍組織・正常組織)	P. 11
がん遺伝子発現解析 (腫瘍組織)	P. 15
がん遺伝子変異解析 (腫瘍組織・正常組織)	P. 19
TCRレパトア解析 [組織]	P. 28
BCRレパトア解析 [組織]	P. 28

【採取方法】

以下の① (推奨) もしくは②の方法で保存してください。

①核酸安定化試薬を用いた検体保存 (推奨)

遺伝子解析に必要な核酸を安定化させるため、以下の保存方法を推奨いたします。

試薬・資材	<ul style="list-style-type: none">核酸安定化試薬入りマイクロチューブ (検体容器RL2) もしくは核酸安定化試薬* ※以下の製品を推奨いたします。 RNAprotect Tissue Reagent (QIAGEN, Cat. No. 76104もしくは76106) もしくはRNAprotect Tissue Tubes (QIAGEN, Cat. No. 76154)RNase-free ピペットチップ (推奨)
手順	<ol style="list-style-type: none">採取した組織を3 mm角に細断してください。 (提出する検体量の目安: 重量30 mg 以上を2個, もしくは3 mm角を4個程度)組織を核酸安定化試薬入りマイクロチューブ (もしくは核酸安定化試薬500 μL 以上を添加した検体容器CT2) に移し、完全に浸漬させてください。検体容器1本あたり、組織片1個を保存してください。冷蔵で一晩浸漬してください。一晩浸漬後、検体提出まで冷蔵で保存, もしくは溶液を除去し冷凍で保存してください。 (保存期間: 冷蔵にて1ヶ月, 冷凍にて1年間)

② 液体窒素凍結による検体保存

試薬・ 資材	<ul style="list-style-type: none">・液体窒素・滅菌クライオチューブ (検体容器CT2)
手順	<p>組織を採取後，滅菌クライオチューブ (検体容器CT2) に移し，すみやかに液体窒素にて凍結してください。</p> <p>凍結させた組織は，提出まで超冷凍にて保存してください (保存期間：1年間)。</p>

【該当検査項目】

検査項目	検査要綱掲載ページ
ネオアンチゲン解析 (腫瘍細胞・正常細胞)	P. 11
がん遺伝子発現解析 (腫瘍細胞)	P. 15
がん遺伝子変異解析 (腫瘍細胞・正常細胞)	P. 19

【採取方法】

以下の① (推奨) もしくは②の方法で保存してください。

①核酸安定化試薬を用いた検体保存 (推奨)

遺伝子解析に必要な核酸を安定化させるため、以下の保存方法を推奨いたします。

試薬・資材	<ul style="list-style-type: none"> 核酸安定化試薬※ ※以下の製品を推奨いたします。 RNAprotect Tissue Reagent (QIAGEN, Cat. No. 76104もしくは76106) もしくはRNAprotect Tissue Tubes (QIAGEN, Cat. No. 76154) RNase-free ピペットチップ (推奨)
手順	<ol style="list-style-type: none"> 採取した細胞を滅菌クライオチューブ (検体容器CT2) に移し、500 μL 以上の核酸安定化試薬を添加してください。 冷蔵で一晩浸漬してください。 一晩浸漬後、検体提出まで冷蔵で保存、もしくは溶液を除去し冷凍で保存してください。 (保存期間：冷蔵にて1ヶ月、冷凍にて1年間)

②液体窒素凍結による検体保存

試薬・資材	<ul style="list-style-type: none"> 液体窒素 滅菌クライオチューブ (検体容器CT2)
手順	<p>細胞を採取後、滅菌クライオチューブ (検体容器CT2) に移し、すみやかに液体窒素にて凍結してください。</p> <p>凍結させた検体は、提出まで超冷凍にて保存してください (保存期間：1年間)。</p>

● FFPE 検体

遺伝子関連検査に用いるFFPE検体は、以下に記載する方法での作製・保管が推奨されています。当社で実施する遺伝子検査についても、以下に準じた方法で検体を作製・保管することを推奨いたします。

(参考文献：日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」)

【該当検査項目】

検査項目	検査要綱掲載ページ
ネオアンチゲン解析 (腫瘍組織)	P. 11
がん遺伝子発現解析 (腫瘍組織)	P. 15
がん遺伝子変異解析 (腫瘍組織・正常組織)	P. 19

【採取方法】

I. 組織検体の固定方法

採取した組織は、以下に従って固定してください。

固定までの時間	手術による採取 摘出後すみやかに冷蔵保存し、1時間～遅くとも3時間以内に固定開始 (摘出後30分以上室温保持は回避) 内視鏡・生検による採取 採取後すみやかに固定
固定溶液	中性緩衝ホルマリン溶液 (ホルマリン濃度 10% (3.7% ホルムアルデヒド)) 組織重量の約10倍量
固定温度・時間	室温, 6~48時間 ^{※1}
固定後の保管	冷蔵が望ましい
注意事項	固定時間短縮のため、組織を4~5 mm角程度の大きさに細断するか、 組織が大きい場合は1 cm間隔で入割して固定することが望ましい

※1：ホルマリン過固定による検体の品質低下について

ホルマリン固定による核酸品質への影響として、核酸の断片化や核酸塩基の化学修飾^{※2}等が知られています。過固定によりこれらの反応が進んだ場合、核酸の収量不足や品質低下により検査を継続できない可能性や、検査を継続しても過固定に起因する塩基置換が遺伝子変異として多数検出され、検査結果の精度が低下する可能性があります。

※2：特に、シトシン (C) の加水分解に伴う脱アミノ化によりウラシル (U) に置換し、その後のPCR増幅反応によってチミン (T) が生成 (C>T置換) されることが知られています。

II. 未染色FFPEスライドの準備

- ・可能な限り作製後3年以内のブロックを使用し、出血、壊死、炎症細胞 (非腫瘍細胞) が多いブロックは避けてください。
- ・核酸分解を防止するため、グローブを着用してください。
- ・標本作製時は、他検体のコンタミネーション (混入) を防止するため、検体ごとにマイクローム刃を交換してください。
- ・切片の伸展・乾燥のための加熱は避けてください。

- HE染色標本および原則病理医が腫瘍部をマーキングした画像（もしくは標本）を合わせてご提出ください。
HE染色標本およびマーキング画像の提出が難しい場合は、腫瘍割合が30%以上の標本をご提出ください。
腫瘍細胞の割合が低いと、腫瘍由来の遺伝子変異を検出できない場合があります。
- 提出枚数は、腫瘍部の大きさにより異なります。
提出枚数の目安：切片厚10 μm，腫瘍部 1.5 cm × 1.5 cm の場合，10枚以上
- 可能な限り薄切後6週間以内の標本を，冷蔵にて保存し，ご提出ください。
(薄切後6週間以上経過した検体は解析に適しません。)

● 血液（対照検体用）

【該当検査項目】

検査項目	検査要綱掲載ページ
ネオアンチゲン解析（対照検体）	P.11
がん遺伝子変異解析（対照検体）	P.19

【採取方法】

試薬・資材	<ul style="list-style-type: none"> ・真空採血管 EDTA-2Na 入り 2 mL 用（検体容器 BT2） 1 本 （EDTA-2K 真空採血管も使用可） ・滅菌クライオチューブ（検体容器 CT2） 1 本
手順	<p>真空採血管（EDTA-2Na 入り 2 mL 用，検体容器 BT2）で採血後，採取した血液を滅菌クライオチューブ（検体容器 CT2）に移してください。</p> <p>検体はすみやかに超冷凍にて凍結し，提出まで保存してください（保存期間：1年間）。</p>

【ご注意】

真空採血管のまま凍結を行う場合は，採血管が破損する恐れがあるため，可能な限り上記手順でご準備ください。

● 血漿および Buffy コート (リキッドバイオプシー用)

【該当検査項目】

検査項目	検査要綱掲載ページ
ネオアンチゲン解析 [血液]	P. 12
ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)	P. 12
Oncomine Pan-Cancer パネル解析	P. 21
デジタルPCR	P. 23
cfDNA 定量検査	P. 23

【採取方法】

試薬・資材	<ul style="list-style-type: none"> ・ 真空採血管 EDTA-2Na 入り 7 mL 用 (検体容器 BT7) : 血液採取用 <ul style="list-style-type: none"> ネオアンチゲン解析 [血液] …… 4~5本 ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析) …… 3本 Oncomine Pan-Cancer パネル解析 …… 3本 デジタルPCR …… 3本 cfDNA 定量検査 …… 2本 ・ 滅菌クライオチューブ 5 mL 用 (検体容器 CT5) ※ Buffy コート 分取用は 2 mL 用でも代用可 <ul style="list-style-type: none"> ネオアンチゲン解析 [血液] …… 血漿分取用 3~4本, Buffy コート分取用 1本 ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析) …… 血漿分取用 2本, Buffy コート分取用 1本 Oncomine Pan-Cancer パネル解析 …… 血漿分取用 2本, Buffy コート分取用 1本 デジタルPCR …… 血漿分取用 2本 (Buffy コートは不要) cfDNA 定量検査 …… 血漿分取用 2本, Buffy コート分取用 1本
-------	---

1. 採血

真空採血管 (EDTA-2Na 入り, 検体容器 BT7) にて必要量の血液を採取してください。

- 採血量
 - ネオアンチゲン解析 [血液] …… 30 mL 以上
 - ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析) …… 20 mL 以上
 - Oncomine Pan-Cancer パネル解析 …… 20 mL 以上
 - デジタルPCR …… 20 mL 以上
 - cfDNA 定量検査 …… 10 mL 以上

- 採血管に規定量の血液を採取してください。採血量が採血管の規定量に満たない場合, ゲノム DNA 混入の原因となり, 正確な結果が得られない可能性があります。



冷蔵で6時間以内に2. へ

2. 遠心分離

2,000 G, 4℃にて10分間遠心してください。

●遠心機回転数の計算式

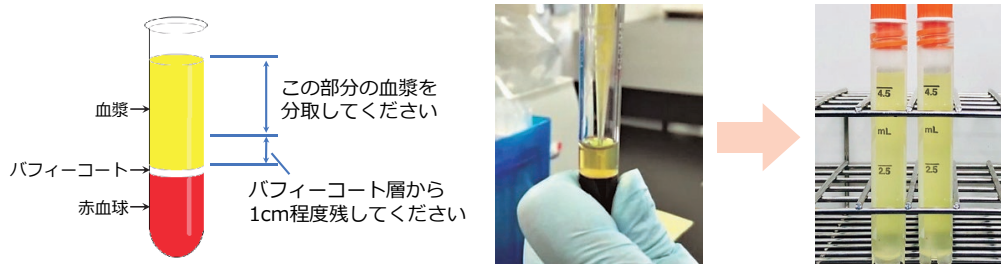
$$G = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times n^2$$

r：遠心機のローター半径 (cm)

n：1分間あたりの回転数 (rpm)

3. 血漿の分取

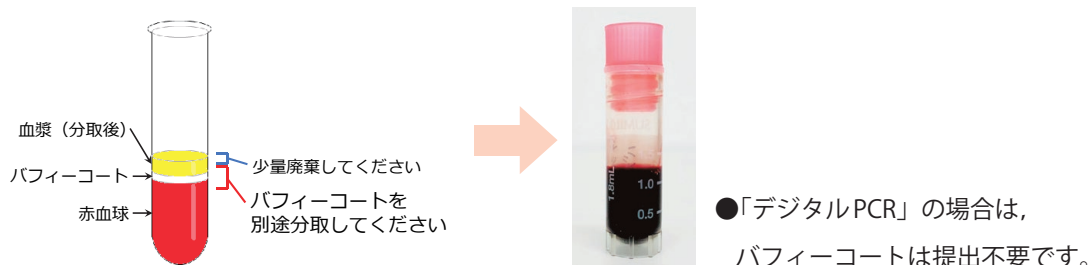
ピペットの先端がバフィーコートに触れないように血漿を分取し、必要本数の滅菌クライオチューブ (検体容器CT5) に移してください。



●バフィーコートが混入しないよう、十分注意してください。もしバフィーコートが混入してしまった場合は、血漿を採血管に戻し、再度2. の遠心からやり直してください。

4. バフィーコートの分取

血漿を分取後、さらにバフィーコートを分取し、滅菌クライオチューブ (検体容器CT2) に移してください。



5. 検体の保存

分取した血漿およびバフィーコートは、検体提出まで超冷凍 (-85℃~-70℃) で保存してください。

【ご注意】

採血後6時間以内に血漿分離ができなかった場合や、血漿にバフィーコートの混入があった場合は、正確な結果が得られない可能性がありますので、十分注意してください。

● 血液（リキッドバイオプシー用）

【該当検査項目】

検査項目	検査要綱掲載ページ
ネオアンチゲン解析 [血液]	P. 12
ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)	P. 12
Oncomine Pan-Cancer パネル解析	P. 21
デジタルPCR	P. 23
cfDNA 定量検査	P. 23

【採取方法】

試薬・資材	<ul style="list-style-type: none"> ・リキッドバイオプシー専用採血管 PAXgene（検体容器 RT11, 10 mL用） <li style="padding-left: 20px;">ネオアンチゲン解析 [血液]・・・3本 <li style="padding-left: 20px;">ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)・・・2本 <li style="padding-left: 20px;">Oncomine Pan-Cancer パネル解析・・・2本 <li style="padding-left: 20px;">デジタルPCR・・・2本 <li style="padding-left: 20px;">cfDNA 定量検査・・・1本
-------	---

1. 採血

リキッドバイオプシー専用採血管 PAXgene（検体容器 RT11）を室内温度（15℃～25℃）になじませた後、必要量の血液を採取してください。

※採血管の詳細な使用方法は、製品添付文書をご参照ください。

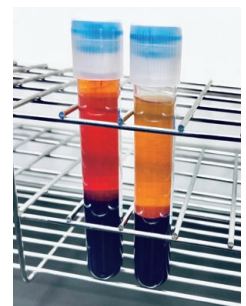
採血には、BDバキュティナ® セーフティロック™ ブラッドコレクションセット（ホルダー付）の使用が推奨されています。異なる製品を使用すると、採血ができない場合があります。

- 採血量 ネオアンチゲン解析 [血液]・・・30 mL以上
- ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)・・・20 mL以上
- Oncomine Pan-Cancer パネル解析・・・20 mL以上
- デジタルPCR・・・20 mL以上
- cfDNA 定量検査・・・10 mL以上

2. 転倒混和

採血管をゆっくり8～10回程度転倒混和してください。

採取した検体は、立てた状態で提出まで冷蔵もしくは室温（推奨：18℃～25℃）で保存してください。



● **PBMC (免疫反応解析用)**

【該当検査項目】

検査項目	検査要綱掲載ページ
IFN- γ ELISPOT 解析 [ネオアンチゲン], [オンコアンチゲン]	P. 25
MHCテトラマー解析	P. 27

【採取方法】

リンパ球比重分離液を用いた密度勾配遠心法により、PBMCを分離してください。

試薬・資材	<ul style="list-style-type: none"> リンパ球比重分離液：Ficoll液もしくはLymphoprep™ 緩衝生理食塩水 (DPBS 等) 細胞凍結保存溶液 50 mL 遠心チューブ 凍結処理容器
手順	<ol style="list-style-type: none"> 真空採血管 (EDTA-2Na 入り) にて血液を採取した後、室温保存のうえ、30時間以内に2.以降の操作を実施してください。 50 mL 遠心チューブにリンパ球比重分離液を分注し、緩衝生理食塩水にて2倍希釈した血液を重層してください。(血液：リンパ球比重分離液=1：1～2：1) 900 G, 20℃にて30分間遠心後 (アクセル・ブレーキはSlow, 可能であればスイングローター推奨), 緩衝生理食塩水を20 mL分注した50 mL 遠心チューブにPBMC層を回収してください。 回収したPBMCに緩衝生理食塩水を添加して50 mLにし、PBMCを懸濁後、550 G (もしくは600 G), 20℃にて10分間遠心してください。 上清を除去後、ペレットを30 mLの緩衝生理食塩水に懸濁し、400 G, 20℃にて5分間遠心してください。 上清を除去後、ペレットを30 mLの緩衝生理食塩水に懸濁し、細胞数を計測後、400 G, 20℃にて5分間遠心してください。 上清を除去し、ペレットを細胞凍結保存溶液で懸濁してください。 凍結処理容器を用いて超冷凍 (-85℃～-70℃) にて一晚程度予備凍結後、液体窒素中もしくは超冷凍にて保存してください。(保存期間：1年間)
備考	<p>●採血量の目安</p> <p>血液1 mLあたりPBMC 1×10^6 cells程度 (分離できるPBMC数には個人差がありますので、ご注意ください。)</p> <p>→必要細胞数 3×10^6 cellsの場合、採血量3 mLが目安になります。</p>

遠心機回転数の計算式

$$G = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times n^2$$

r：遠心機のローター半径 (cm)

n：1分間あたりの回転数 (rpm)

● PBMC (遺伝子解析用)

【該当検査項目】

検査項目	検査要綱掲載ページ
TCRレパトア解析 [血液]	P. 28
BCRレパトア解析 [血液]	P. 28

【採取方法】

リンパ球比重分離液を用いた密度勾配遠心法によりPBMCを分離後、遺伝子解析に必要な核酸を安定化させるため、核酸安定化試薬を使用して保存（もしくは液体窒素凍結により保存）してください。

I . PBMCの分離

試薬・資材	<ul style="list-style-type: none"> リンパ球比重分離液：Ficoll液もしくはLymphoprep™ 緩衝生理食塩水 (DPBS等) 50 mL遠心チューブ
手順	<ol style="list-style-type: none"> 真空採血管 (EDTA-2Na入り) にて血液を採取した後、室温保存のうえ、30時間以内に2.以降の操作を実施してください。 50 mL遠心チューブにリンパ球比重分離液を分注し、緩衝生理食塩水にて2倍希釈した血液を重層してください。(血液：リンパ球比重分離液=1：1~2：1) 900 G, 20℃にて30分間遠心後、緩衝生理食塩水を20 mL分注した50 mL遠心チューブにPBMC層を回収してください。 回収したPBMCに緩衝生理食塩水を添加して50 mLにし、PBMCを懸濁後、550 G, 20℃にて10分間遠心してください。 上清を除去後、ペレットを緩衝生理食塩水の30 mLに懸濁し、400 G, 20℃にて5分間遠心してください。 上清を除去後、ペレットを緩衝生理食塩水の30 mLに懸濁し、細胞数を計測後、400 G, 20℃にて5分間遠心してください。 上清を除去後、分離したPBMCを「II . PBMCの保存」に従って保存してください。
備考	<p>●採血量の目安 血液1 mLあたりPBMC 1×10^6 cells程度 (分離できるPBMC数には個人差がありますので、ご注意ください。) →必要細胞数 $5 \sim 10 \times 10^6$ cellsの場合、採血量 $5 \sim 10$ mLが目安になります。</p> <p>●単核球分離用採血管は使用いただけません。</p>

遠心機回転数の計算式

$$G = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times n^2$$

r：遠心機のローター半径 (cm)

n：1分間あたりの回転数 (rpm)

II . PBMCの保存

①核酸安定化試薬を用いた検体保存 (推奨)

遺伝子解析に必要な核酸を安定化させるため、以下の保存方法を推奨いたします。

試薬・資材	<ul style="list-style-type: none"> ・核酸安定化試薬※ <ul style="list-style-type: none"> ※以下の製品を推奨いたします。 RNAprotect Tissue Reagent (QIAGEN, Cat. No. 76104もしくは76106) もしくはRNAprotect Tissue Tubes (QIAGEN, Cat. No. 76154) ・RNase-free ピペットチップ (推奨)
手順	<ol style="list-style-type: none"> 1. 採取した細胞を滅菌クライオチューブ (検体容器CT2) に移し、500 μL以上の核酸安定化試薬を添加してください。 2. 冷蔵で一晩浸漬してください。 3. 一晩浸漬後、検体提出まで冷蔵で保存、もしくは溶液を除去し冷凍で保存してください。 (保存期間：冷蔵にて1ヶ月、冷凍にて1年間)

②液体窒素凍結による検体保存

試薬・資材	<ul style="list-style-type: none"> ・液体窒素 ・滅菌クライオチューブ (検体容器CT2)
手順	<p>細胞を採取後、滅菌クライオチューブ (検体容器CT2) に移し、すみやかに液体窒素にて凍結してください。</p> <p>凍結させた検体は、提出まで超冷凍にて保存してください (保存期間：1年間)。</p>

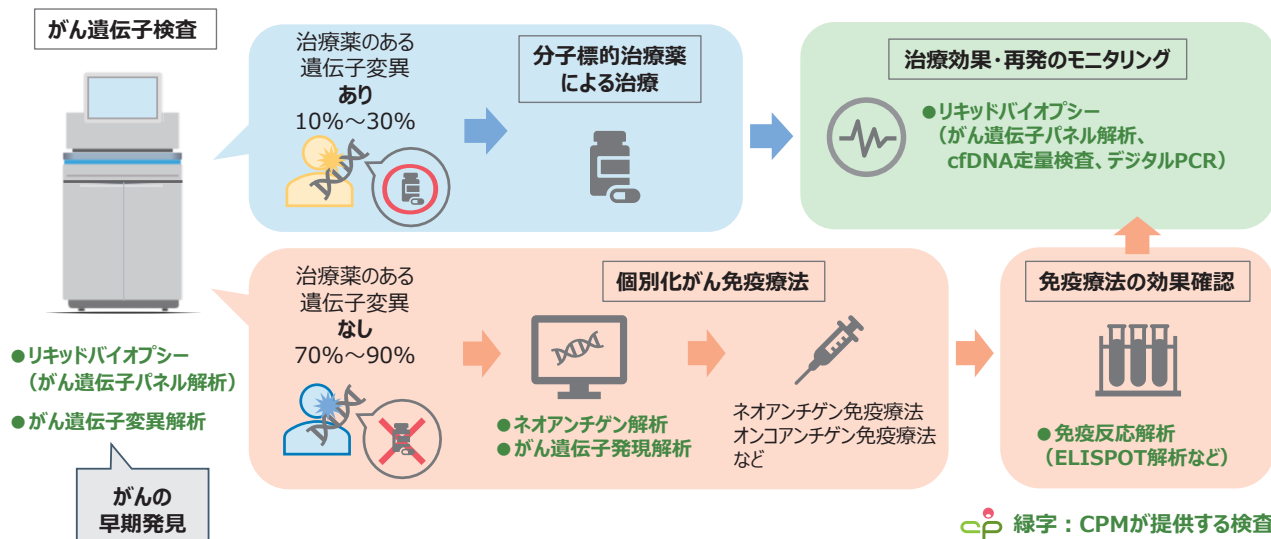
検査概要および検査結果の見方

はじめに—がんの種類に合わせた治療から、遺伝子異常のタイプに合わせた治療へ—

「がんプレジジョン*医療」は、個々のがん患者さんに、最適な医療を、最適なときに提供する医療です。当社は、がんの診断（分子標的治療薬を適用できる遺伝子変異の検出）や個別化がん免疫療法のための検査から、治療効果・再発の確認まで、「がんプレジジョン医療」におけるがんの治療をサポートする検査を提供します。

*プレジジョン (precision)：英語で「精密な」「正確な」という意味。

2015年1月20日に米国のオバマ大統領（当時）が行った一般教書演説の中で、「プレジジョン・メディシン・イニシアティブ（精密医療計画）」という言葉を用いたことで、「がんプレジジョン医療」が日本でも知られるようになりました。



遺伝子解析による個別化医療と当社で実施する検査

● 個別化がん免疫療法について

一般的に、治療薬（分子標的薬）を選択するために行われる遺伝子検査（がん遺伝子パネル検査等）では、がんの異常に合った既存の治療薬が見つかる患者さんはおよそ10%~30%といわれています。治療薬が見つからない場合には、ネオアンチゲンやオンコアンチゲン等のがん特異的な抗原を用いて、個別化がん免疫療法を行うことができます。（参考文献：Morisaki, et al. Immunol Invest. 2020;1-18.）

➤ がん遺伝子パネル検査

患者さんの腫瘍組織や血液をつかって、がんに関連する多数の遺伝子変異を同時に調べる検査。一般的に数十~数百の遺伝子について解析し、見つかった遺伝子変異の情報から、がんの異常に合った治療薬（分子標的薬）を選択することをおもな目的として行われます。

➤ ネオアンチゲン

がん細胞で起こった遺伝子異常によって作られる新たながんの抗原。正常なタンパク質と性質が異なることから、強い免疫反応を引き起こし、がん免疫療法の理想的なターゲットと考えられています。（参考文献：Hacohen, et al. Cancer Immunol Res. 2013;1 (1):11-5.）

➤ オンコアンチゲン

がん細胞で特異的に高発現し、正常細胞ではほとんど発現が認められないタンパク質。免疫反応を引き起こす抗原性を有しており、免疫治療に利用することができます。（参考文献：Mizukami, et al. Cancer Sci. 2008;99 (7):1448-54.）

検査項目一覧

● 免疫治療 関連検査

次世代シーケンス技術を用いたがん遺伝子の網羅的解析により、がん免疫療法の標的候補を探索する検査

検査項目名	検査内容	概要掲載ページ
ネオアンチゲン解析	ネオアンチゲン免疫治療に利用できるネオアンチゲン候補を探索する検査	P. 48
がん遺伝子発現解析	オンコアンチゲンや免疫チェックポイント分子等、免疫に関連する分子の発現量を解析する検査	P. 58

● 分子標的治療薬選択 関連検査

次世代シーケンス技術を用いたがん遺伝子の網羅的解析により、分子標的治療薬（適用薬剤）候補を探索する検査

検査項目名	検査内容	概要掲載ページ
がん遺伝子変異解析	がん組織中の全遺伝子変異の情報を解析し、DNAミスマッチ修復遺伝子変異の情報や、検出された遺伝子変異に適応する分子標的薬候補を探索する検査	P. 62
Oncomine Pan-cancer パネル解析	血液中に流れ出したがん由来の遺伝子を解析することにより、遺伝子の異常（変異等）、検出された遺伝子変異のタイプに合った分子標的薬を選択するためのリキッドバイオプシーがん遺伝子パネル検査	P. 68

● 治療効果・再発のモニタリング 関連検査

治療の効果や経過をモニタリング（追跡）する検査。再発の兆候の確認にも利用できます。

検査項目名	検査内容	概要掲載ページ
デジタルPCR	特定された遺伝子変異について、高感度にモニタリングする検査（リキッドバイオプシー）	P. 77
cfDNA 定量検査	血液（血漿）中に含まれるcfDNAの量を測定し、がんの有無や治療効果・再発をモニタリングする検査（リキッドバイオプシー）	P. 80
IFN- γ ELISPOT解析	免疫治療に利用した抗原（ネオアンチゲンペプチド、オンコアンチゲンペプチド等）に対する免疫応答を確認する検査	P. 85

● 研究検査

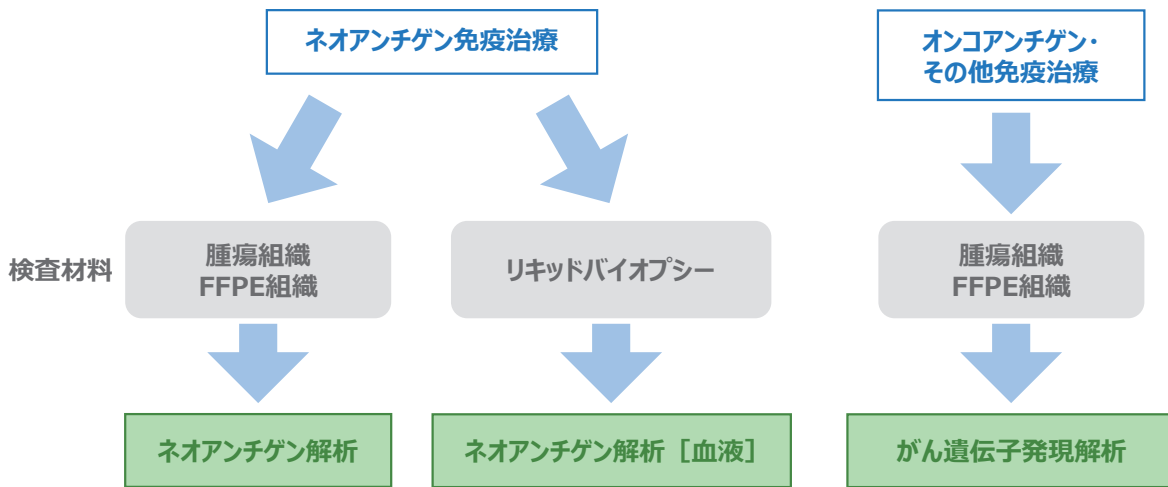
研究を目的とした検査であり、当社の通常受託の検査項目と異なります。基準値および臨床的意義が明確にならない項目もございますので、内容をご理解のうえご依頼ください。

検査項目名	検査内容	概要掲載ページ
MHCテトラマー解析	フローサイトメトリーにより、抗原ペプチドに対する抗原特異的T細胞を検出する検査	P. 89
TCR/BCRレパトア解析	次世代シーケンス解析により、検体中に存在するT/B細胞受容体（TCR/BCR）の遺伝子情報を網羅的に解析する検査	P. 91

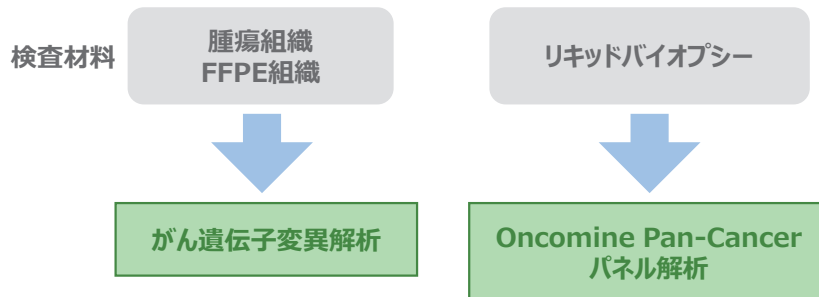
※「リキッドバイオプシー」については、46ページをご参照ください。

検査目的・検査材料による検査選択ガイド

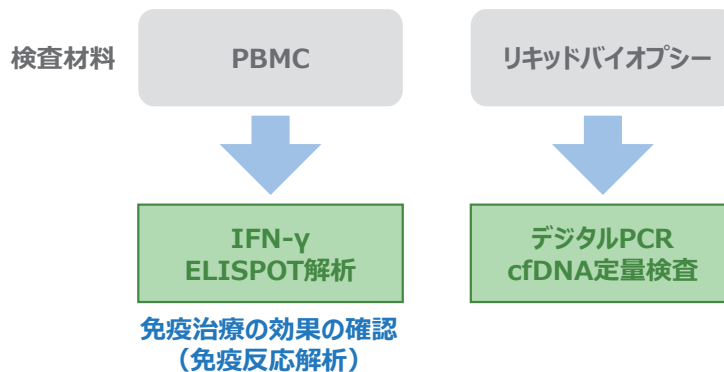
「免疫治療」のための検査



「分子標的薬剤治療」のための検査



「治療効果・再発モニタリング」のための検査

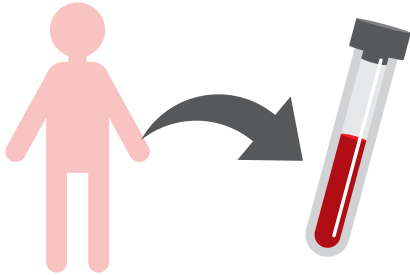
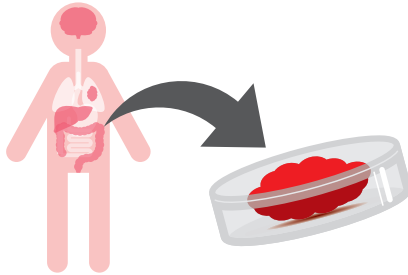




リキッドバイオプシー — 血液によるがん検査 —

リキッドバイオプシーとは

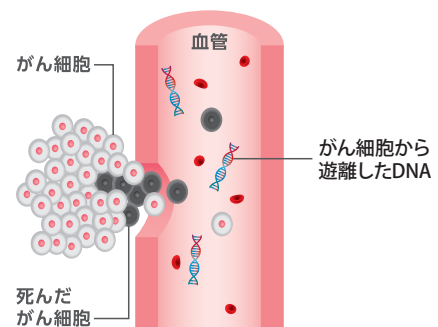
血液等の体液を用いて、診断や治療法の選択や治療効果の予測等を行う手法を、リキッドバイオプシーといいます。リキッドバイオプシーでは、内視鏡や針によりがんの組織を採取する従来の組織生検にくらべて体に負担をかけることなく、くり返し検査を行うことができます。また、組織生検では採取した組織の一部の情報しか得られないのに対し、リキッドバイオプシーでは体全体に存在するがんの情報を把握することができることも特長のひとつです。

リキッドバイオプシー	生検
 <p>血液などの体液の情報から、病気の有無や性質を調べること</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 患者さんの負担が小さい ■ 病変部位が採取できない場合でも実施できる ■ 適切なタイミングで、くり返し検査できる 	 <p>手術や内視鏡、針などによって組織の一部を採取し、顕微鏡で病変について調べること</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 患者さんの負担が大きい ■ 病変部位によっては採取が難しい ■ 病状によって実施できないこともある

リキッドバイオプシーと生検のちがい

血液によるがん検査・がんの早期発見とモニタリング

血液には、がん細胞や、がん組織から遊離した核酸 (Cell-free DNA/RNA ; cfDNA/cfRNA) が流れ出しています。当社のリキッドバイオプシー検査では、血液中に流れ出したがん由来のDNAおよびRNAを検出することで、がんのスクリーニング (健康診断)、再発モニタリングや、適用できる分子標的薬の選択を行います。



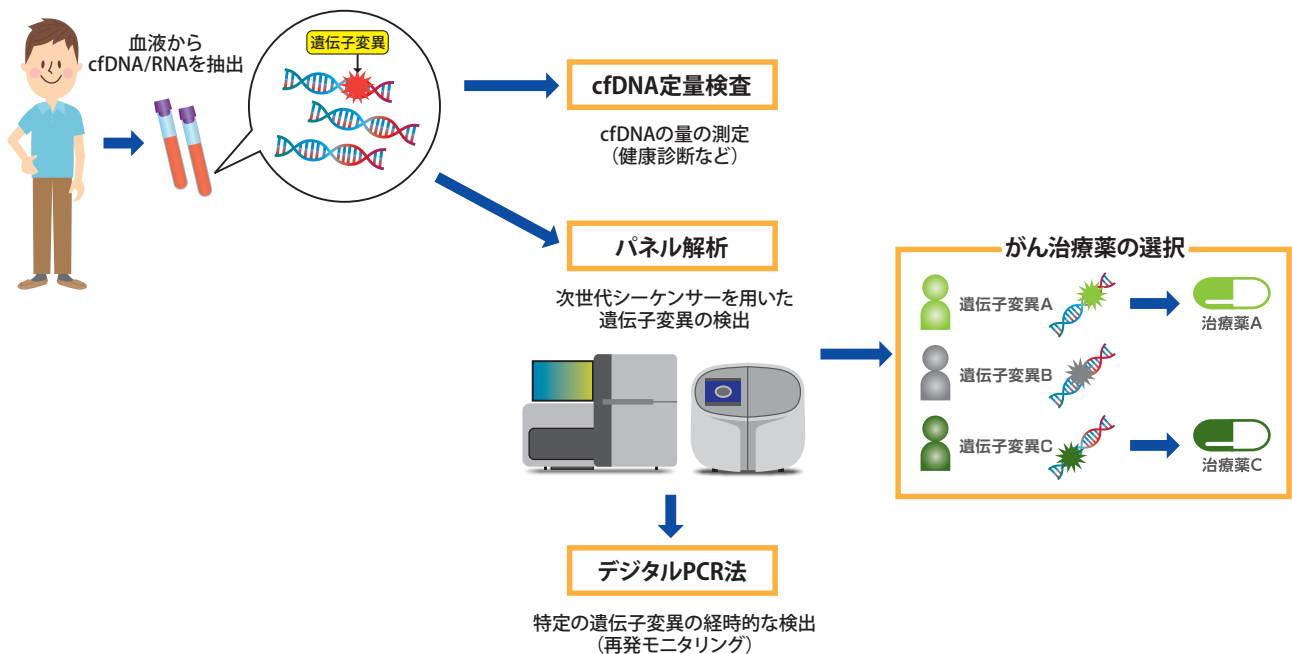
cfDNA/RNAによるリキッドバイオプシー検査では、ごく微量ながんの遺伝子異常を検出できるため、MRIやCT等の画像診断より早期にがんの兆候を発見できることが報告されており、がんの早期診断への応用が期待されています。(参考文献：Tang, et al. Cell Biosci. 2016;6:32.)

がんの進行	正常	がんの兆候	がんの進行	治療	再発の兆候	再発
画像診断	-	-	+	-	-	+
リキッドバイオプシー	-	+	++	-	+	++

リキッドバイオプシーによるがんの早期検出とモニタリング

当社のリキッドバイオプシー検査

当社では、リキッドバイオプシーとして、目的別に「Oncomine Pan-cancerパネル解析」、「デジタルPCR」、「cfDNA定量検査」の3種類の検査を提供しています。



免疫治療 関連検査

ネオアンチゲン解析

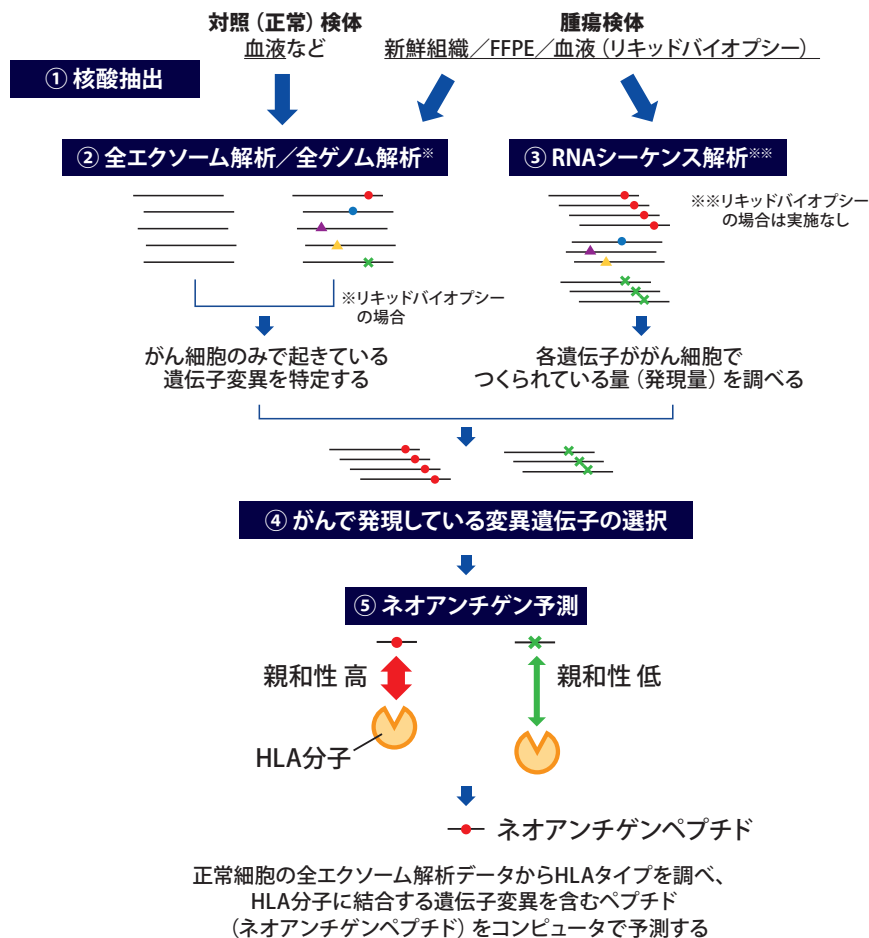
「ネオアンチゲン解析」は、腫瘍検体と対照（正常）検体の遺伝子解析により、がん細胞でのみ起こっている遺伝子変異とネオアンチゲン候補を見つけ出す検査です。ネオアンチゲンとは、がん細胞で起こった遺伝子変異によって新たに作られるがん特異的な抗原のことをいいます。ネオアンチゲンは、正常なタンパク質と性質が異なることから強い免疫反応を引き起こすことが期待され、がん免疫療法の理想的なターゲットと考えられています。

(参考文献：Hacohen, et al. Cancer Immunol Res. 2013;1 (1) :11-5.)

検査方法

腫瘍検体（新鮮組織等）と対照検体（血液等）からDNAを、さらに腫瘍検体からRNAを抽出し、それぞれシーケンシング（DNA：全エクソーム解析，RNA：RNAシーケンス解析）を行います。血液から検査するリキッドバイオプシーの場合は、セルフリーDNA（cell-free DNA；cfDNA）を抽出して全ゲノム解析を行うとともに、対照として血液中の正常細胞（バフィーコート）から抽出したゲノムDNAを用いて全エクソーム解析を行います。腫瘍検体（もしくは血中cfDNA）と対照検体のシーケンスデータの比較により、がん細胞のみで起きている遺伝子変異を特定し、さらに変異した遺伝子のがんでの発現量を確認します。変異遺伝子の発現量およびHLA分子への結合力の強さ等から、免疫治療に有効と考えられるネオアンチゲンペプチドを見つけ出し、検査結果として報告します。

(参考文献：Kato, et al. Oncotarget. 2018;13;9 (13) :11009-11019.)



ネオアンチゲン解析 解析フロー

①核酸抽出・品質確認

各検体から核酸を抽出します。それぞれ品質を確認し、品質基準を満たさない場合はご連絡いたします。
(14ページ「検体の品質確認について」参照)

②全エクソーム解析／全ゲノム解析

腫瘍検体（新鮮組織／細胞／FFPE）と対照検体から抽出したDNAを用いて、全エクソームのシーケンシングを行います。腫瘍検体として血液を利用する場合は、cfDNAを用いて全ゲノム解析を行います。得られた両検体のシーケンズデータを比較することにより、がん細胞のみで起きている遺伝子変異を特定します。

解析対象の遺伝子は、ヒトの全遺伝子（約2万遺伝子）※1です。

※1：全エクソーム解析ではヒトゲノムのうちタンパク質をコードするエクソン領域のみ、全ゲノム解析ではヒトゲノムを構成するDNAの塩基配列全てを解析します。

③RNAシーケンス解析

腫瘍検体から抽出したRNAのシーケンシングを行います。得られたRNAシーケンズデータより、各遺伝子の発現量を確認します。

④がんで発現している変異遺伝子の選択

全エクソーム／全ゲノムシーケンズデータとRNAシーケンズデータを比較することにより、がん細胞のみで発現している遺伝子変異を特定します。

⑤ネオアンチゲン予測

対照検体の全エクソームシーケンズデータから患者さんの持つHLA型を調べ、HLA分子に結合しがん特異的な免疫反応を誘導するペプチド（ネオアンチゲンペプチド）を予測します※2。

※2：ネオアンチゲン予測方法

ネオアンチゲンの予測方法は、以下の通りです。

1. 免疫細胞の標的を同定する
 - ・ アミノ酸置換を伴う（正常細胞にはない変異タンパク質を生成する）遺伝子変異を選択する
 - ・ HLAに強く結合するアミノ酸置換を含むペプチドを予測する
 - ・ 変異遺伝子の発現を確認し、がんでの発現量が多いペプチドを選択する
2. がん細胞に特異的な抗原を選択する
 - ・ がん細胞に特異的な（正常細胞にはない新規の）ペプチド配列のみを抽出する
 - ・ アミノ酸置換位置がT細胞受容体もしくはHLAいずれとの結合にも影響しないと予測されるペプチドを除く

[検査対象]

検査項目名	HLA型	変異タイプ
ネオアンチゲン解析 （[FFPE]，[血液]，[Oncomine Pan-Cancerパネル解析]を含む）	HLAクラスI拘束性 （HLA-AおよびB）	アミノ酸置換を伴う一塩基変異（SNV）
追加データ解析 挿入・欠失変異		挿入・欠失変異（Indel）
追加データ解析 HLAクラスII拘束性	HLAクラスII拘束性 （HLA-DR）	アミノ酸置換を伴う一塩基変異（SNV）

FFPE検体を用いた検査について

FFPE検体は、FFPEの特性や作製方法、保存期間・保存状態等により、検体の品質が低下している場合があります。特にRNAは非常に壊れやすい物質であるため、FFPE検体からのRNAシーケンス解析が実施できないケースが多くみられます。そのため、FFPE検体を検査に使用する場合は、FFPE検体解析用の試薬でRNAシーケンス解析を実施します。RNAの品質が検査実施基準を満たさない場合は、RNAシーケンス解析を実施せず、がんの遺伝子発現データベース^{※3}のデータを用いて解析を行います（RNAシーケンス解析によるデータを用いた場合と比較し、検査結果の精度が低下します）。

検査に使用するFFPE検体の作製においては、組織を採取後可及的速やかに10%中性緩衝ホルマリン溶液にて固定し、（経年劣化の点で）作製後3年以内のブロックを使用することが推奨されます。推奨されるFFPE検体の作製方法の詳細については、34ページ「検体採取方法・検体の取扱い（FFPE検体）」をご参照ください。

※3：The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベース

追加データ解析について

ネオアンチゲン解析では、取得したシーケンスデータを用いて、以下のデータ解析を追加で行うことができます。

<p>挿入・欠失変異</p>	<p>挿入・欠失による遺伝子変異に由来するネオアンチゲンを予測します。 通常の「ネオアンチゲン解析」では、アミノ酸置換を伴う一塩基変異 (SNV) を対象としているため、挿入・欠失変異に由来するネオアンチゲン候補が新たに見つかる可能性があります。</p>
<p>HLAクラスII拘束性</p>	<p>HLAクラスII (HLA-DR) 拘束性のネオアンチゲンを予測します。 HLAクラスII拘束性ペプチドは、CTLやマクロファージ、ナチュラルキラー (NK) 細胞を活性化させるヘルパーT細胞を誘導する役割を持っています。</p>
<p>遺伝子変異解析</p>	<p>ネオアンチゲン解析で取得したデータ（全エクソーム／全ゲノムシーケンスデータ）を利用して全遺伝子変異の情報を解析し、DNAミスマッチ修復遺伝子変異の情報や、見つかった遺伝子変異に適応する分子標的治療薬候補を探索します。 （解析の詳細は、62ページ「がん遺伝子変異解析」と同様です。）</p>
<p>遺伝子発現解析</p>	<p>RNAシーケンスデータを用いて、オンコアンチゲンおよび免疫に関連する分子の遺伝子発現量を解析します。（解析の詳細は、58ページ「がん遺伝子発現解析」と同様です。） ※「ネオアンチゲン解析 [血液]」の場合は実施不可</p>

● 検査結果報告の内容

「ネオアンチゲン解析」では、以下の結果を報告いたします。

（「追加データ解析 遺伝子変異解析」の結果報告内容は「がん遺伝子変異解析」と、「追加データ解析 遺伝子発現解析」の結果報告内容は「がん遺伝子発現解析」と同様です。それぞれ63ページおよび61ページ「検査結果報告の内容」をご参照ください。）

報告例1：

解析結果

遺伝子変異数 ^{*1}	アミノ酸置換遺伝子変異数 ^{*2}	ネオアンチゲンペプチド数 ^{*3}	治療候補ペプチド数 ^{*4}	HLA型			
110	69	33	4	A2402	B5201	C1202	

①

*1 挿入・欠失、サイレンス・ミスセンス変異を含む遺伝子変異数

*2 アミノ酸置換を含む遺伝子変異数。

アミノ酸置換遺伝子変異数 (TMB ; Tumor Mutation Burden) は、免疫チェックポイント阻害薬の有効性と相関があることが報告されています。全がん種におけるTMBが102.5以上の場合、PD-1抗体が有効であることが示されています。
(参考文献：Cristescu R, et al. Science. 2018;362(6411).)

*3 HLAクラス I (HLA-A, BおよびC) への結合が予測される遺伝子変異を含むペプチド数 (同一変異由来の異なるペプチド配列を含む)

*4 ペプチド選択フローにより選択された治療候補ペプチド数

コメント：

ネオアンチゲンペプチドリスト

No.	遺伝子名	アミノ酸置換 ^{*1}	ネオアンチゲンペプチド情報			正常型ペプチド情報		HLA型 ^{*4}	腫瘍検体			対照検体	
			アミノ酸長 ^{*2}	アミノ酸置換位置 ^{*3}	アミノ酸配列	HLA親和性 [nM]	アミノ酸配列		HLA親和性 [nM]	ネオアンチゲン発現量 ^{*5}	変異の検出頻度 ^{*6}	変異の検出頻度 ^{*6}	
1	TDRD6	A2026P	9	6	TYTLKPFVT	83	TYTLKAFTV	169	HLA-A24:02	2	134,25,0.157	181,0,0.000	
2	RIT1	R105H	10	7	CYSITDHRSF	107	CYSITDRRSF	182	HLA-A24:02	47	127,52,0.291	135,0,0.000	
3	PAPL	V257A	11	7	HYGRHLAQRQF	138	HYGRHLVQRQF	135	HLA-A24:02	1	98,83,0.459	113,0,0.000	
4	TOP2B	I157V	11	7	VYVPAFLVFGQL	203	VYVPAIFGQL	234	HLA-A24:02	54	38,25,0.397	64,0,0.000	

②

ネオアンチゲンペプチドのHLA親和性の強い順に表示しています。

*1 全長タンパク質内のアミノ酸置換の位置 例) G400E→400番目のG (正常型) がEに置換

*2 ネオアンチゲンペプチドのアミノ酸長

*3 変異ペプチドのアミノ酸置換位置 (N末端が1)

*4 ネオアンチゲンペプチドのHLA拘束性

*5 RNAシーケンス結果：腫瘍組織における変異遺伝子の発現量

*6 エクソームシーケンス結果：正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の検出頻度

例) 35,6,0.146→正常型のリード数:35, 変異型のリード数: 6, 変異の検出頻度:0.146 (14.6%)

①解析結果

解析の結果として、以下の項目を示します。

項目	内容
遺伝子変異数	挿入・欠失、サイレンス・ミスセンス変異を含むすべての遺伝子変異数を示します。
アミノ酸置換遺伝子変異数	すべての遺伝子変異のうち、アミノ酸置換を伴う遺伝子変異数を示します。アミノ酸置換遺伝子変異数 (TMB ; Tumor Mutation Burden) は、免疫チェックポイント阻害薬の有効性と相関があることが報告されています。全がん種におけるTMBが102.5以上の場合、PD-1抗体が有効であることが示されています。 (参考文献：Cristescu R, et al. Science. 2018;362 (6411).)
ネオアンチゲンペプチド数	アミノ酸置換ペプチドのうち、HLAクラス I (HLA-A, BおよびC) に結合すると予測されるペプチドの数を示します。(同一の変異に由来する、異なるペプチド配列も含む)

項目	内容
治療候補ペプチド数	予測されたネオアンチゲンペプチドの中から、次項「②ネオアンチゲンペプチドリスト」の基準に従って選択されたペプチドの数を示します。予測された全ネオアンチゲンペプチドのうち、より治療に適していると考えられるペプチドの数を示しています。
HLA型	全エクソーム/全ゲノムシーケンスデータから解析されたHLA型を示します。ネオアンチゲンペプチドの予測にHLA型が必要であるほか、免疫療法を行ううえでも有用な情報になります。

②ネオアンチゲンペプチドリスト

予測された全ネオアンチゲンペプチドより選択されたネオアンチゲンペプチド（治療候補ペプチド）の情報を、HLA親和性の高い順に示します。

治療候補ペプチドは、以下の基準に従って選択されます。

ネオアンチゲン（治療候補ペプチド）選択基準

項目	基準値	説明
結合するHLA型	HLA-Aもしくは-B	予測された全ネオアンチゲンペプチドのうち、HLA-AもしくはHLA-Bに結合するペプチドのみを選択します。一般的にHLA-Cは発現量が低いことから、対象から除外しています。
ネオアンチゲン発現量	≥5 (20,000,000リード中)	遺伝子変異を含むmRNAの発現量から、発現の高いネオアンチゲンを選択します。腫瘍検体のRNAシーケンス解析を行わなかった場合（FFPE検体を用いた場合等）は、がんの遺伝子発現データベース（The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベース）におけるmRNA発現量（中央値）を用いて選択します。（対象がん種のデータセットを使用、標準基準値：≥100） ≥5で選択されるネオアンチゲンペプチドがなかった場合、≥1にて解析を行います。
ネオアンチゲンペプチドのHLA親和性	≤50 nM	HLAとの親和性の高いネオアンチゲンペプチドを選択します。 ≤50 nMで選択されるネオアンチゲンペプチドがなかった場合、≤500 nMにて解析を行います。 (≤50 nMは強い親和性、50~500 nMは弱い親和性を示します。)
同一変異由来のペプチドがあった場合	最もHLA親和性の強い1種を選択	同一の遺伝子変異に由来する、異なるペプチド配列（アミノ酸数の違いや、HLA拘束性の違い等）が複数ある場合に、最もHLA親和性の高い一種を選択します。 (同一変異由来のペプチドもネオアンチゲンとして有用であると考えられますが、より多様なT細胞を誘導するという観点で、このような選択を行っています。)

報告例2 (検査中止時) :

DNA/RNAのQC結果

	収量 (μg)	分解度 (DIN/RIN)	メインピーク (bp)	分解指標 (DV200 (%))
基準値 FFPE以外	DNA 0.2 以上 RNA 0.2 以上	DNA DIN 6.0 以上 RNA RIN 6.0 以上	—	—
基準値 FFPE	DNA 0.5 以上 RNA 0.02以上	DNA DIN 3.0 以上* RNA —	DNA 1000 以上* RNA —	DNA — RNA 70 以上
腫瘍検体 DNA	7.74	7.9	-	-
腫瘍検体 RNA	10.38	6.3	-	49.59
対照検体 DNA	5.09	8.1	-	-

*DINもしくはメインピークのいずれかを基準値とする。

③

③ DNA/RNAのQC結果 (核酸の品質)

検体から抽出した核酸 (DNA/RNA) の品質が検査実施基準を満たさず、検査を中止した場合は、品質データを報告いたします。

項目	内容
収量 (μg)	検体より抽出した核酸 (DNA もしくは RNA) の量
分解度	核酸の分解度を、DNA は DNA Integrity Number (DIN)、RNA は RNA Integrity Number (RIN) で示します。DIN/RIN はアジレント社の核酸品質測定システムで得られたプロファイルから核酸の分解度を客観的に評価する指標で、1~10の値で示します。 (1=完全に分解された状態、10=ほとんど分解していない状態)
メインピーク (bp) (FFPE 検体の場合)	検体より抽出したDNA中の、主要な断片のサイズを示します。
分解指標 DV200 (%) (FFPE 検体の場合)	200ヌクレオチド以上のRNA断片の割合を示します。

報告例3 (追加データ解析 挿入・欠失変異):

解析結果

挿入・欠失 遺伝子変異数 ^{*1}	ネオアンチゲン ペプチド数 ^{*2}	治療候補 ペプチド数 ^{*3}	HLA型					
5	112	6	A2603	A3101	B4002	B5401	C0102	C0304

④

*1: アミノ酸置換を含む遺伝子変異数。
アミノ酸置換遺伝子変異数 (TMB ; Tumor Mutation Burden) は、免疫チェックポイント阻害薬の有効性と相関があることが報告されています。
全がん種におけるTMBが102.5以上の場合は、PD-1抗体が有効であることが示されています。
(参考文献: Cristescu R, et al. Science. 2018;362(6411).)

*2 HLAクラスI (HLA-A, BおよびC) への結合が予測される遺伝子変異を含むペプチド数 (同一変異由来の異なるペプチド配列を含む)

*3 ペプチド選択フローにより選択された治療候補ペプチド数

コメント:

ネオアンチゲンペプチドリスト

No.	遺伝子名	アミノ酸 置換 ^{*1}	ネオアンチゲンペプチド情報 ^{*2}			HLA型 ^{*4}	腫瘍検体		対照検体
			アミノ酸 長 ^{*3}	アミノ酸配列	HLA 親和性 [nM]		ネオアンチゲン 発現量 ^{*5}	変異の 検出頻度 ^{*6}	変異の 検出頻度 ^{*6}
1	CEP152	Q1364fs	9	LTKAVRELRL	12	HLA-A31:01	5	126,20,0.137	173,0,0.000
2	HECTD4	L2766fs	11	IPAIRDITPGA	37	HLA-B54:01	12	87,13,0.130	117,0,0.000
3	UBR3	W584fs	9	QPMWGFYHI	90	HLA-B54:01	2	59,9,0.132	100,0,0.000

⑤

ネオアンチゲンペプチドのHLA親和性の強い順に表示しています。

- *1 全長タンパク内のフレームシフト突然変異の位置 例) V2001fs...2001番目 (正常型) のVにフレームシフト突然変異が生じている
- *2 塩基の挿入・欠失変異 (INDEL) によって、それ以降の全てまたは一部のアミノ酸配列が異なるため、正常型ペプチドの情報はありません
- *3 ネオアンチゲンペプチドのアミノ酸長
- *4 ネオアンチゲンペプチドのHLA拘束性
- *5 RNAシーケンス結果: 腫瘍組織における変異遺伝子の発現量
- *6 エクソームシーケンス結果: 正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の検出頻度
例) 35,6,0.146...正常型のリード数:35, 変異型のリード数: 6, 変異の検出頻度:0.146 (14.6%)

④解析結果

解析の結果として、以下の項目を示します。

項目	内容
挿入・欠失遺伝子変異数	すべての遺伝子変異のうち、挿入・欠失を伴う遺伝子変異数を示します。
ネオアンチゲンペプチド数	挿入・欠失遺伝子変異によるアミノ酸置換ペプチドのうち、HLAクラス I (HLA-A, BおよびC) に結合すると予測されるペプチドの数を示します。 (同一の変異に由来する、異なるペプチド配列も含む)
治療候補ペプチド数	予測された、挿入・欠失遺伝子変異に由来するネオアンチゲンペプチドの中から、次項「⑤ネオアンチゲンペプチドリスト」の基準に従って選択されたペプチドの数を示します。予測された全ネオアンチゲンペプチドのうち、より治療に適していると考えられるペプチドの数を示しています。
HLA型	全エクソーム/全ゲノムシーケンスデータから解析されたHLA型を示します。 ネオアンチゲンペプチドの予測にHLA型が必要であるほか、免疫療法を行ううえで有用な情報になります。

⑤ネオアンチゲンペプチドリスト

予測された全ネオアンチゲンペプチドより選択されたネオアンチゲンペプチド（治療候補ペプチド）の情報を、HLA親和性の高い順に示します。

治療候補ペプチドは、以下の基準に従って選択されます。

ネオアンチゲン（治療候補ペプチド）選択基準

項目	基準値	説明
結合するHLA型	HLA-Aもしくは-B	予測された全ネオアンチゲンペプチドのうち、HLA-AもしくはHLA-Bに結合するペプチドのみを選択します。一般的にHLA-Cは発現量が低いことから、対象から除外しています。
ネオアンチゲン発現量	≥5 (20,000,000リード中)	遺伝子変異を含むmRNAの発現量から、発現の高いネオアンチゲンを選択します。腫瘍検体のRNAシーケンス解析を行わなかった場合（FFPE検体を用いた場合等）は、がんの遺伝子発現データベース（The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベース）におけるmRNA発現量（中央値）を用いて選択します。（対象がん種のデータセットを使用、標準基準値：≥100） ≥5で選択されるネオアンチゲンペプチドがなかった場合、≥1にて解析を行います。
ネオアンチゲンペプチドのHLA親和性	≤50 nM	HLAとの親和性の高いネオアンチゲンペプチドを選択します。 ≤50 nMで選択されるネオアンチゲンペプチドがなかった場合、≤500 nMにて解析を行います。 (≤50 nMは強い親和性、50~500 nMは弱い親和性を示します。)
同一変異由来のペプチドがあった場合	最もHLA親和性の強い1種を選択	同一の遺伝子変異に由来する、異なるペプチド配列（アミノ酸数の違いや、HLA拘束性の違い等）が複数ある場合に、最もHLA親和性の高い一種を選択します。（同一変異由来のペプチドもネオアンチゲンとして有用であると考えられますが、より多様なT細胞を誘導するという観点で、この選択を行っています。)

報告例4 (追加データ解析 HLAクラスII拘束性)：

解析結果

アミノ酸置換 遺伝子変異数 ^{*1}	ネオアンチゲン ペプチド数 ^{*2}	治療候補ペプチド数 ^{*3}	HLA型
6	30	0	DRB1:1502

*1：アミノ酸置換を含む遺伝子変異数。
アミノ酸置換遺伝子変異数(TMB;Tumor Mutation Burden)は、免疫チェックポイント阻害薬の有効性と相関があることが報告されています。全がん種におけるTMBが102.5以上の場合は、PD-1抗体が有効であることが示されています。
(参考文献：Cristescu R, et al. Science. 2018;362(6411).)

*2 HLAクラスII (HLA-DR) への結合が予測される遺伝子変異を含むペプチド数 (同一変異由来の異なるペプチド配列を含む)

*3 ペプチド選択フローにより選択された治療候補ペプチド数

コメント：

ネオアンチゲンペプチドリフト

No.	遺伝子名	アミノ酸置換 ^{*1}	ネオアンチゲンペプチド情報			正常型ペプチド情報			HLA型 ^{*4}	腫瘍検体		対照検体
			アミノ酸置換位置 ^{*2}	アミノ酸置換位置 ^{*3}	アミノ酸配列	HLA親和性 [nM]	アミノ酸配列	HLA親和性 [nM]		ネオアンチゲン発現量 ^{*5}	変異の検出頻度 ^{*6}	変異の検出頻度 ^{*6}
1	FERMT3	R513Q	15	13	LNPYGLVAPRF QQKF	329	LNPYGLVAPRF QRKF	272	DRB1:1502	1	138,21,0.132	138,0,0.000
2	TP53	Y220C	15	14	DDRNTFRHSV VVPCE	440	DDRNTFRHSV VVPYE	216	DRB1:1502	7	96,14,0.127	125,0,0.000

ネオアンチゲンペプチドのHLA親和性の強い順に表示しています。

*1 全長タンパク内のアミノ酸置換の位置 例) G400E…400番目のG (正常型) がEに置換

*2 ネオアンチゲンペプチドのアミノ酸長

*3 変異ペプチドのアミノ酸置換位置 (N末端が1)

*4 ネオアンチゲンペプチドのHLA拘束性

*5 RNAシーケンス結果：腫瘍組織における変異遺伝子の発現量

*6 エクソームシーケンス結果：正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の検出頻度

例) 35,6,0.146…正常型のリード数:35, 変異型のリード数: 6, 変異の検出頻度:0.146 (14.6%)

⑥解析結果

解析の結果として、以下の項目を示します。

項目	内容
アミノ酸置換遺伝子変異数	すべての遺伝子変異のうち、アミノ酸置換を伴う遺伝子変異数を示します。 アミノ酸置換遺伝子変異数 (TMB ; Tumor Mutation Burden) は、免疫チェックポイント阻害薬の有効性と相関があることが報告されています。全がん種におけるTMBが102.5以上の場合は、PD-1抗体が有効であることが示されています。 (参考文献：Cristescu R, et al. Science. 2018;362 (6411).)
ネオアンチゲンペプチド数	アミノ酸置換ペプチドのうち、HLAクラスII (HLA-DR) に結合すると予測されるペプチドの数を示します。 (同一の変異に由来する、異なるペプチド配列も含む)
治療候補ペプチド数	予測されたネオアンチゲンペプチドの中から、次項「⑦ネオアンチゲンペプチドリフト」の基準に従って選択されたペプチドの数を示します。予測された全ネオアンチゲンペプチドのうち、より治療に適していると考えられるペプチドの数を示しています。
HLA型	全エクソーム/全ゲノムシーケンスデータから解析されたHLA型を示します。 ネオアンチゲンペプチドの予測にHLA型が必要であるほか、免疫療法を行ううえでも有用な情報になります。

⑦ネオアンチゲンペプチドリスト

予測された全ネオアンチゲンペプチドより選択されたネオアンチゲンペプチド（治療候補ペプチド）の情報を、HLA親和性の高い順に示します。

治療候補ペプチドは、次の基準に従って選択されます。

ネオアンチゲン（治療候補ペプチド）選択基準

項目	基準値	説明
結合するHLA型	HLA-DR	検出された遺伝子変異情報から、HLA-DRに結合するネオアンチゲンペプチドを解析します。
ネオアンチゲン発現量	≥5 (20,000,000リード中)	遺伝子変異を含むmRNAの発現量から、発現の高いネオアンチゲンを選択します。腫瘍検体のRNAシーケンス解析を行わなかった場合（FFPE検体を用いた場合等）は、がんの遺伝子発現データベース（The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベース）におけるmRNA発現量（中央値）を用いて選択します。（対象がん種のデータセットを使用，標準基準値：≥100） ≥5で選択されるネオアンチゲンペプチドがなかった場合，≥1にて解析を行います。
ネオアンチゲンペプチドのHLA親和性	≤50 nM	HLAとの親和性の高いネオアンチゲンペプチドを選択します。 ≤50 nMで選択されるネオアンチゲンペプチドがなかった場合，≤500 nMにて解析を行います。 (≤50 nMは強い親和性，50～500 nMは弱い親和性を示します。)
同一変異由来のペプチドがあった場合	最もHLA親和性の強い1種を選択	同一の遺伝子変異に由来する，異なるペプチド配列（アミノ酸数の違いや，HLA拘束性の違い等）が複数ある場合に，最もHLA親和性の高い1種を選択します。（同一変異由来のペプチドもネオアンチゲンとして有用であると考えられますが，より多様なT細胞を誘導するという観点で，このような選択を行っています。）

がん遺伝子発現解析

腫瘍検体の遺伝子解析により、オンコアンチゲンおよび免疫チェックポイント分子等免疫に関連する分子の発現量を解析する検査です。

オンコアンチゲンは、がん細胞で特異的に高発現し、正常細胞ではほとんど発現が認められないタンパク質で、がん細胞の生存や増殖に必須の機能を持ち、免疫反応を引き起こす抗原性を有しています。オンコアンチゲンに由来するペプチドを免疫治療に用いることにより、がん細胞を傷害するT細胞を誘導することができます。

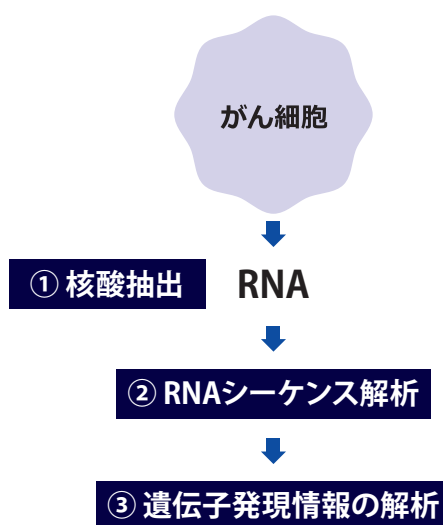
また、免疫治療の効果は免疫チェックポイント分子やHLAの発現量等の影響を受けると考えられており^{※1}、これらの分子の発現量を確認することで、免疫チェックポイント阻害剤の併用や抗原 (HLA 拘束性) の選択等、治療の選択に役立てることができます。

(参考文献：Mizukami, et al. Cancer Sci. 2008;99 (7) :1448-54.)

※1：免疫チェックポイント分子が発現していると、免疫が抑制され、免疫治療の効果が抑えられることが知られています (参考文献：Ohaegbulam, et al. Trends Mol Med. 2015;21 (1) :24-33.)。また、HLA分子の発現が低い場合、がん細胞が抗原提示をできず、免疫細胞によるがん細胞の攻撃が期待できないと考えられています (参考文献：Hicklin, et al. Mol Med Today. 1999;5 (4) :178-86.)。

検査方法

腫瘍検体 (腫瘍組織等) から RNA を抽出してシーケンスを行い、オンコアンチゲンおよび免疫に関連する分子のがん細胞での遺伝子発現量を解析します。



がん遺伝子発現解析 解析フロー

①核酸抽出・品質確認

腫瘍検体 (がん細胞) から RNA を抽出し、品質を確認します。品質確認の結果、品質基準を満たさない場合はご連絡いたします。(16ページ「検体の品質確認について」参照)

②RNAシーケンス解析

腫瘍検体から抽出した RNA を用い、RNA のシーケンシングを行います。

③遺伝子発現情報の解析

得られた腫瘍検体の RNA シーケンスデータから、オンコアンチゲンおよび免疫に関連する分子のがん細胞での遺伝子発現量を解析します。

解析対象遺伝子

解析対象の遺伝子は、以下の通りです。

分類	遺伝子名 (別名)	分類	遺伝子名 (別名)
オンコアンチゲン (がん細胞における発現の亢進が報告されている遺伝子)	<i>CDC45L (CDC45)</i>	T細胞への抗原提示に関連する 遺伝子	<i>B2M</i>
	<i>CDCA1 (NUF2)</i>		<i>CALR</i>
	<i>CDH3</i>		<i>CANX</i>
	<i>DEPDC1</i>		<i>HLA-A</i>
	<i>ECT2</i>		<i>HLA-B</i>
	<i>FOXM1</i>		<i>HLA-C</i>
	<i>GPC3</i>		<i>HLA-DPA1</i>
	<i>HIG2 (HILPDA)</i>		<i>HLA-DPB1</i>
	<i>HJURP</i>		<i>HLA-DQA1</i>
	<i>KIF20A</i>		<i>HLA-DQA2</i>
	<i>KNTC2 (NDC80)</i>		<i>HLA-DQB1</i>
	<i>KOC1 (IGF2BP3)</i>		<i>HLA-DRA</i>
	<i>MELK</i>		<i>HLA-DRB1</i>
	<i>MPHOSPH1 (KIF20B)</i>		<i>HLA-DRB5</i>
	<i>NEIL3</i>		<i>HLA-E</i>
	<i>RNF43</i>		<i>HLA-F</i>
	<i>SPARC</i>		<i>HLA-G</i>
	<i>TOMM34</i>		<i>HLA-H</i>
	<i>TOPK (PBK)</i>		<i>IFNA1</i>
	<i>UBE2T</i>		<i>IFNA2</i>
<i>URLC10 (LY6K)</i>	<i>IFNB1</i>		
<i>WDRPUH (WDR16)</i>	<i>IFNG</i>		
免疫細胞 (T細胞、B細胞、 抗原提示細胞) に関連する 遺伝子	<i>CD19</i>	<i>IRF1</i>	
	<i>CD28</i>	<i>MICA</i>	
	<i>CD4</i>	<i>MICB</i>	
	<i>CD68</i>	<i>PSMB8 (LMP7)</i>	
	<i>CD80</i>	<i>PSMB9 (LMP2)</i>	
	<i>CD86</i>	<i>TAP1</i>	
	<i>CD8A</i>	<i>TAP2</i>	
	<i>CD8B</i>	<i>TAPBP</i>	
	<i>IL2RA (CD25)</i>		
	<i>CD247</i>		
T細胞の抗原認識および活性化 に関連する遺伝子	<i>CD27 (TNFRSF7)</i>		
	<i>CD3D</i>		
	<i>CD3E</i>		
	<i>CD3G</i>		
	<i>GZMA</i>		
	<i>GZMB</i>		
	<i>ICOS</i>		
	<i>LAMP1 (CD107a)</i>		
	<i>TNFRSF9 (4-1BB)</i>		

(次ページへつづく)

(つづき)

分類	遺伝子名(別名)	分類	遺伝子名(別名)	
ケモカイン/サイトカイン	CCL17	サイトカイン受容体	TNFRSF10A	
	CCL19		TNFRSF10B	
	CCL2		TNFRSF10C	
	CCL20		TNFRSF10D	
	CCL21		TNFRSF11A	
	CCL22		TNFRSF11B	
	CCL4		TNFRSF12A	
	CCL5		TNFRSF13B	
	CCR10		TNFRSF13C	
	CCR4		TNFRSF14	
	CCR5		TNFRSF16 (NGFR)	
	CCR6		TNFRSF17	
	CCRL2		TNFRSF19	
	CD40 (TNFRSF5)		TNFRSF19L (RELT)	
	CD40LG (CD40L, TNFSF5)		TNFRSF1A	
	CD70 (TNFSF7)		TNFRSF1B	
	CXCL10		TNFRSF21	
	CXCL11		TNFRSF25 (DR3)	
	CXCL13		TNFRSF27 (EDA2R)	
	CXCL9		TNFRSF3 (LTBR)	
	FASLG (TNFSF6)		TNFRSF6 (FAS)	
	IL10		TNFRSF6B (DCR3)	
	IL12A		TNFRSF8 (CD30)	
	IL12RB2		免疫抑制細胞 (制御性T細胞)に関連する 遺伝子	CTLA4
	IL17A			FOXP3
	IL17RB			TGFB1
	IL23A		免疫チェックポイント分子 (T細胞の活性化抑制に関連 する遺伝子)	BTLA
	IL6			C10orf54 (VISTA, VSIR)
	PRF1	CD274 (PD-L1)		
	TBX21	CD276		
	TGFB2	HAVCR2 (TIM3)		
	TGFB3	IDO1 (IDO)		
	TNF (TNFA)	LAG3		
	TNFSF1 (LTA)	PDCD1 (PD-1)		
	TNFSF10	PDCD1LG2 (PD-L2)		
	TNFSF11	TIGIT		
	TNFSF12			
	TNFSF13			
	TNFSF13B			
	TNFSF14			
	TNFSF15			
	TNFSF18 (GITRL)			
	TNFSF3 (LTB)			
TNFSF4 (OX40L)				
TNFSF8				
TNFSF9 (4-1BBL)				

● 検査結果報告の内容

「がん遺伝子発現解析」では、以下の結果を報告いたします。

(「ネオアンチゲン解析 追加データ解析 遺伝子発現解析」でも、同様の結果を報告いたします。)

報告例1：

遺伝子発現情報			
No.	分類	遺伝子名	TPM
1	オンコアンチゲン	CDC45L	3.00
2	がん細胞における発現の亢進が報告されている遺伝子)	CDCA1	2.91
3		CDH3	0.35
4		DEPDC1	1.36
5		ECT2	9.17
6		FOXM1	29.00
7		GPC3	47.90
8		HIG2	6.39
9		HJURP	2.82
10		KIF20A	5.90
11		KNTC2	3.35
12		KOC1	13.27
13		MELK	6.30
14		MPHOSPH1	1.57
15		NEIL3	0.89
16		RNF43	4.29
17		SPARC	520.00
18		TOMM34	10.63
19		TOPK	2.37
20		UBE2T	7.23
21		URLC10	0.02
22		WDRPUH	0.08
23		T細胞への抗原提示に関連する遺伝子	B2M
24	CALR		547.32
25	CANX		264.11
		⋮	

①

① 遺伝子発現情報

解析対象の各遺伝子の発現量を、TPM^{※3}で示します。

※3：TPM (transcripts per million) 値

遺伝子の発現量を示す。遺伝子の長さや解析のばらつきに関わらず、遺伝子間の比較ができるように補正された値。

報告例2 (検査中止時)：P. 53 「ネオアンチゲン解析」報告例2 (検査中止時) と同様

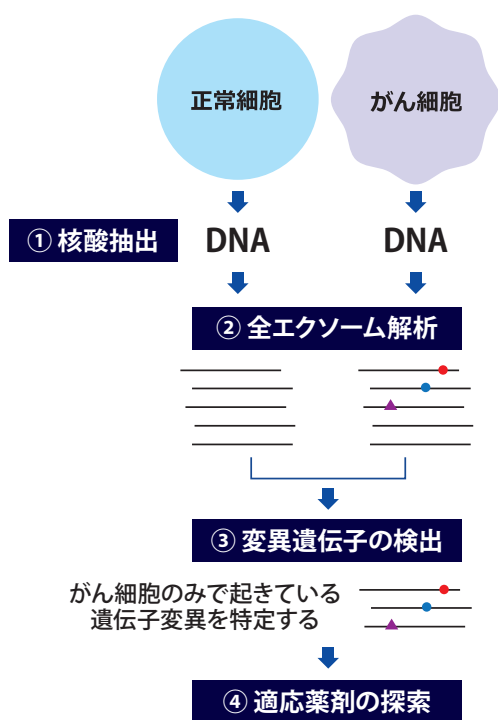
分子標的治療薬選択 関連検査

がん遺伝子変異解析

腫瘍検体と対照（正常）検体の遺伝子解析により、すべての遺伝子の中からがん細胞で起こっている遺伝子変異を解析する検査です。見つかった遺伝子変異のリスト、DNA ミスマッチ修復遺伝子の変異の情報、および見つかった遺伝子変異に適応する分子標的治療薬候補を報告いたします。がん遺伝子パネルでは特定の遺伝子領域のみを確認するのに対し、がん遺伝子変異解析では全遺伝子領域を網羅的に解析します。（本検査では、遺伝性のがんに見られる遺伝子変異を対象とした解析は実施いたしません。）

検査方法

腫瘍検体（腫瘍組織等）と対照検体（血液等）からDNAを抽出してシーケンスを行い、それぞれのシーケンスデータの比較解析により、がん細胞で起きている遺伝子変異（DNA ミスマッチ修復遺伝子の変異を含む）を特定します。さらに、特定された遺伝子変異のデータから、適応する分子標的治療薬候補を探索します。



がん遺伝子変異解析 解析フロー

①核酸抽出・品質確認

腫瘍検体（がん細胞）と対照検体（正常細胞）からDNAを抽出します。それぞれ品質を確認し、品質基準を満たさない場合はご連絡いたします。

（20ページ「検体の品質確認について」参照）

②全エクソーム解析

腫瘍検体と対照検体から抽出したDNAを用いて、全エクソームのシーケンシングを行います。

全エクソーム解析による解析対象の遺伝子は、ヒトの全遺伝子（約2万遺伝子）です。

③変異遺伝子の検出

腫瘍検体と対照検体の全エクソームシーケンスデータを比較することにより、がん細胞でのみ起きている遺伝子変異（DNA ミスマッチ修復遺伝子の変異も含む）を特定します。

④適応薬剤の探索

分子標的治療薬のデータベースから、検出された遺伝子変異に適応する分子標的治療薬を探索します。対象のエビデンスレベルはレベル1～4です。

（詳細は65ページ「検査結果報告の内容 ③ OncoKBにおける適応薬剤候補」および「④適応薬剤候補」をご参照ください。）

● 検査結果報告の内容

「がん遺伝子変異解析」では、以下の結果を報告いたします。

(「ネオアンチゲン解析 追加データ解析 遺伝子変異解析」でも、同様の結果を報告いたします。)

報告例1：

解析結果

遺伝子変異数 ^{*1}	アミノ酸置換 遺伝子変異数 ^{*2}	HLA 型					
		A0201	A0206	B1301	B5502	C0102	C0304
150	94	A0201	A0206	B1301	B5502	C0102	C0304

①

*1：挿入・欠失、サイレンス・ミスセンス変異を含む遺伝子変異数


*2：アミノ酸置換を含む遺伝子変異数。

アミノ酸置換遺伝子変異数 (TMB; Tumor Mutation Burden) は、免疫チェックポイント阻害薬の有効性と相関があることが報告されています。

全がん種におけるTMBが102.5以上の場合は、PD-1抗体が有効であることが示されています。

(参考文献：Cristescu R, et al. Science. 2018;362(6411).)

DNAミスマッチ修復遺伝子の変異検出

遺伝子名	検出された 変異	変異タイプ	詳細
PMS1	p.R871C	nonsynonymous SNV	 <p>この変異により、全長932アミノ酸からなるタンパク質(図1)の、871番目のアミノ酸配列が置換され、PMS1タンパク質の機能に影響を及ぼす可能性が示唆されます。</p>

②

OncoKBにおける適応薬剤候補

検出された遺伝子変異に対する薬剤と、その薬剤に対応する日本国内の医薬品 (PMDAにより承認された医療用医薬品) の情報 (品名、薬効分類、効能効果) のうち、OncoKB (<http://www.oncokb.org/>) によるエビデンスレベル1および2に該当する薬剤を示します。

各レベルの定義は以下の通りです。

レベル1：当該がん種において、FDA承認を受けた治療薬への応答を予測するFDAが認めたバイオマーカー。

レベル2：当該がん種において、FDA承認を受けた治療薬への応答を予測する標準治療バイオマーカー。もしくは、異なるがん種において、

FDA承認を受けた治療薬への応答を予測する標準治療バイオマーカー。

(参考文献：「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン」)

遺伝子名	遺伝子変異		薬剤名と 組み合わせ	国内における医療用医薬品 ^{*3}		
	検出された 変異 ^{*1}	データベース上 の表記 ^{*2}		品名	薬効分類	効能効果
BRAF	p.V600E	V600E	Binimetinib + Encorafenib	メクトビ (Binimetinib)	抗悪性腫瘍剤 MEK阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫
				ピラフトビ (Encorafenib)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫
			Cetuximab + Encorafenib	アーピタックス (Cetuximab)	抗悪性腫瘍剤 抗ヒトEGFRモノク ローナル抗体	・RAS遺伝子正常型の治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌、頭頸部癌
				ピラフトビ (Encorafenib)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫
			Cobimetinib	— (Cobimetinib)	—	—
			Cobimetinib + Vemurafenib	— (Cobimetinib)	—	—
				ゼルボラフ (Vemurafenib)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫
			Dabrafenib	タフィンラー (Dabrafenib)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する悪性黒色腫 ・BRAF遺伝子変異を有する切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌
			Dabrafenib + Trametinib	タフィンラー (Dabrafenib)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する悪性黒色腫 ・BRAF遺伝子変異を有する切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌
				メキニスト (Trametinib)	抗悪性腫瘍剤 MEK阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する悪性黒色腫 ・BRAF遺伝子変異を有する切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌
Panitumumab + Encorafenib	ヘクティピックス (Panitumumab)	抗悪性腫瘍剤 抗ヒトEGFRモノク ローナル抗体	・RAS遺伝子正常型の治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌、頭頸部癌			
	ピラフトビ (Encorafenib)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫			

③

その他の情報

検出された遺伝子変異に対する薬剤と、その薬剤に対応する日本国内の医薬品（PMDAにより承認された医療用医薬品）の情報（品名、薬効分類、効能効果）のうち、OncoKBによるエビデンスレベル3および4に該当する薬剤を示します。
各レベルの定義は以下の通りです。

- レベル3：説得力のある臨床的エビデンスが、当該がん種において治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。もしくは、説得力のある臨床的エビデンスが、異なるがん種において治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。
- レベル4：説得力のある生物学的エビデンスが治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。

（参考文献：「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン」）

遺伝子名	遺伝子変異		発がん性及び変異の影響	この変異のエビデンスレベル	薬剤名と組み合わせ
	検出された変異 ^{*1}	データベース上の表記 ^{*2}			
KRAS	p.G12D	G12D	機能獲得型がん遺伝子変異	3	Cobimetinib

④

*1：全エクソームシーケンス解析で得られた遺伝子変異

*2：検出された変異に対応する、参照データベースにおける変異情報

コメント：

遺伝子変異リスト

別紙参照

[ご報告は以上です]

⑤

遺伝子変異リスト 一塩基変異 (SNV)					
	遺伝子名	全長タンパク内のアミノ酸置換位置	遺伝子変異タイプ	エクソームシーケンス結果: 腫瘍組織における 正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の頻度	エクソームシーケンス結果: 正常組織における 正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の頻度
No.	Gene	amino_acid	ExonicFunc.refGene	tumor_exome(ref,var,freq)	normal_exome(ref,var,freq)
1	ACAN	p.P475S	nonsynonymous SNV	39, 8, 0.170	71, 0, 0.000
2	ADAMTS17	p.R319Q	nonsynonymous SNV	117, 59, 0.335	131, 0, 0.000
3	ATP4A	p.G985S	nonsynonymous SNV	165, 45, 0.214	183, 0, 0.000
4	BAI2	p.V392M	nonsynonymous SNV	29, 21, 0.420	99, 0, 0.000
5	BEIND3	p.G438S	nonsynonymous SNV	106, 24, 0.185	156, 0, 0.000
6	BTF1	p.V790M	nonsynonymous SNV	59, 15, 0.203	98, 0, 0.000
7	C17orf70	p.E299D	nonsynonymous SNV	179, 54, 0.232	233, 0, 0.000
8	CLCN2	p.P694L	nonsynonymous SNV	162, 56, 0.257	186, 0, 0.000
9	CLDN22	p.A192T	nonsynonymous SNV	210, 53, 0.202	253, 0, 0.000
10	COL6A5	p.R1180C	nonsynonymous SNV	42, 7, 0.143	68, 0, 0.000

遺伝子変異リスト 一塩基変異 (SNV)					
	遺伝子名	全長タンパク内のアミノ酸置換位置	遺伝子変異タイプ	エクソームシーケンス結果: 腫瘍組織における 正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の頻度	エクソームシーケンス結果: 正常組織における 正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の頻度
No.	Gene	amino_acid	ExonicFunc.refGene	tumor_exome(ref,var,freq)	normal_exome(ref,var,freq)
71	SLC9A3	p.T358T	synonymous SNV	143, 65, 0.316	183, 0, 0.000
72	SYNPO2	p.L288L	synonymous SNV	84, 30, 0.263	110, 0, 0.000
73	TNEM130	p.D66D	synonymous SNV	255, 43, 0.144	226, 0, 0.000
74	TRIM72	p.P472P	synonymous SNV	125, 14, 0.101	101, 0, 0.000
75	ACTN3	UNKNOWN	unknown	36, 24, 0.400	66, 0, 0.000

遺伝子変異リスト 挿入・欠失 (INDEL)					
	遺伝子名	全長タンパク内のアミノ酸置換位置	遺伝子変異タイプ	エクソームシーケンス結果: 腫瘍組織における 正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の頻度	エクソームシーケンス結果: 正常組織における 正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の頻度
No.	Gene	amino_acid	ExonicFunc.refGene	tumor_exome(ref,var,freq)	normal_exome(ref,var,freq)
1	APC	p.L1939fs	frameshift insertion	41, 34, 0.453	119, 0, 0.000
2	LMNB1	p.A177delinsDAA	nonframeshift insertion	93, 58, 0.384	166, 0, 0.000

備考
"unknown"と記されている遺伝子変異は、タンパク質に翻訳される領域が不明確であるため、変異による詳細な影響（アミノ酸置換位置など）をお示しすることができません。

①解析結果

解析の結果として、以下の項目を示します。

項目	内容
遺伝子変異数	挿入・欠失，サイレンス・ミスセンス変異を含むすべての遺伝子変異数
アミノ酸置換遺伝子変異数	すべての遺伝子変異のうち，アミノ酸置換を伴う遺伝子変異数 アミノ酸置換遺伝子変異数 (TMB ; Tumor Mutation Burden) は，免疫チェックポイント阻害薬の有効性と相関があることが報告されています。全がん種におけるTMBが102.5以上の場合は，PD-1抗体が有効であることが示されています。 (参考文献：Cristescu R, et al. Science. 2018;362 (6411).)
HLA型	全エクソームシーケンスデータから解析されたHLA型を示します。免疫療法を行ううえで有用な情報になります。

②DNAミスマッチ修復遺伝子変異

検出された全遺伝子変異のうち，DNAミスマッチ修復遺伝子MLHs，MSHs，PMSsにおける遺伝子変異を示します。

DNAミスマッチ修復について

DNAミスマッチ修復とは，DNAを複製する時に生じた塩基配列のミスマッチ(間違い)を修正する機構です。DNAミスマッチ修復遺伝子に変異すると，DNAの複製ミスを修復できなくなるため，複製のたびにミスが蓄積される結果，遺伝子変異が増加し，細胞のがん化を引き起こします。また，マイクロサテライト(1～数塩基の塩基配列が繰り返す部分)の変異が起こりやすくなり，腫瘍組織と正常組織でマイクロサテライトの反復回数の違い(マイクロサテライト不安定性(MSI))が生じる原因となります。

遺伝子変異数やDNAミスマッチ修復遺伝子変異は，免疫チェックポイント阻害薬の有効性と相関があることが報告されています(参考文献：Cristescu R, et al. Science. 2018;362 (6411).)。

③OncoKBにおける適応薬剤候補

検出された遺伝子変異に対する薬剤(分子標的治療薬)と，その薬剤に対応する日本国内の医薬品(PMDA^{※1}により承認された医療用医薬品)の情報(品名，薬効分類，効能効果)を示します。

検出された遺伝子変異に対する薬剤は，知識ベースOncoKB^{※2}によるエビデンスレベル1および2に該当する薬剤より示します。各レベルの定義は以下の通りです。

(参考文献：「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドンス」)

レベル1：当該がん種において，FDA^{※3}承認を受けた治療薬への応答を予測するFDAが認めたバイオマーカー。

レベル2：当該がん種において，FDA承認を受けた治療薬への応答を予測する標準治療バイオマーカー。

もしくは，異なるがん種において，FDA承認を受けた治療薬への応答を予測する標準治療バイオマーカー。

※1：医薬品医療機器総合機構

※2：米国メモリアル・スローン・ケタリングがんセンターで開発された，がんプレジジョン医療に関する知識ベース。がんのゲノム変化に関する生物学的および臨床の情報が含まれています。

※3：米国食品医薬品局

④その他の情報（適応薬剤候補）

検出された遺伝子変異に対する薬剤（分子標的治療薬）と、その薬剤に対応する日本国内の医薬品（PMDAにより承認された医療用医薬品）の情報（品名、薬効分類、効能効果）について、知識ベース OncoKB によるエビデンスレベル3および4に該当する薬剤を示します。各レベルの定義は以下の通りです。

（参考文献：「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドンス」）

レベル3：説得力のある臨床的エビデンスが、当該がん種において治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。もしくは、説得力のある臨床的エビデンスが、異なるがん種において治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。

レベル4：説得力のある生物学的エビデンスが治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。

⑤遺伝子変異リスト

検出された遺伝子変異について、以下の結果を示します。

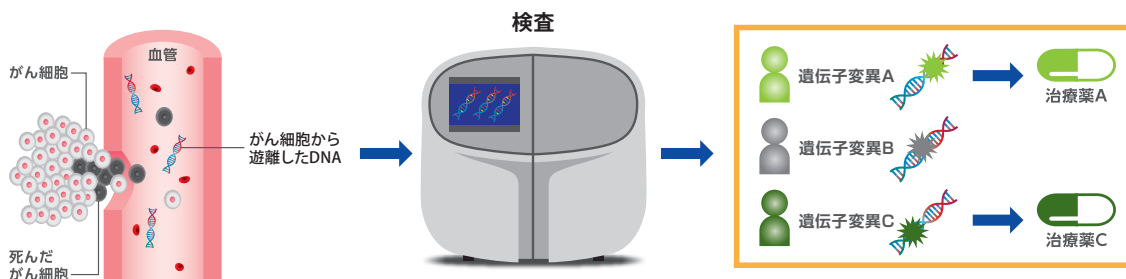
項目	内容
遺伝子名	変異が検出された遺伝子の名称
全長タンパク質内のアミノ酸置換位置	<p>全長タンパク質においてアミノ酸の変化している位置とアミノ酸の種類を示します。</p> <p>例) p.E545K・・・アミノ酸配列の545番目のE（グルタミン酸）がK（リシン）に置換されている</p> <p>p.E545X・・・アミノ酸配列の545番目のE（グルタミン酸）が終止コドン（X）に置換されている</p> <p>p.E545fs・・・アミノ酸配列の545番目のE（グルタミン酸）にフレームシフト変異が起きている</p> <p>p.545_550del・・・545～550番目のアミノ酸が欠失している</p> <p>UNKNOWN・・・タンパク質に翻訳される領域が不明瞭であるため、変異による詳細が不明である場合</p>
遺伝子変異タイプ	<p>遺伝子変異のタイプを示します。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ nonsynonymous SNV：アミノ酸が置換され、タンパクの性質が変わる一塩基変異（SNV） ・ synonymous SNV：アミノ酸が置換されず、タンパクの性質が変わらない一塩基変異（SNV） ・ splicing：イントロンとエクソンのスプライシング部位に起こる変異 ・ stopgain：アミノ酸のコドンを終止コドンに変える変異 ・ stoploss：終止コドンが消失する変異 ・ frameshift insertion：塩基の挿入によるフレームシフト変異 ・ nonframeshift insertion：フレームシフトの起こらない塩基の挿入 ・ frameshift deletion：塩基の欠失によるフレームシフト変異 ・ nonframeshift deletion：フレームシフトの起こらない塩基の欠失 ・ unknown：タンパク質に翻訳される領域が不明瞭であるため、変異による詳細が不明である場合

項目	内容
腫瘍組織における正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の頻度 (全エクソーム解析結果)	全エクソーム解析によって得られた、腫瘍組織における正常型のリード数 および変異型のリード数、変異の検出頻度を順に示します。 例) 35,6,0.146・・・正常型のリード数：35, 変異型のリード数：6, 変異の検出頻度：0.146 (14.6%)
正常組織における正常型のリード数, 変異型のリード数, 変異の頻度 (全エクソーム解析結果)	全エクソーム解析によって得られた、正常組織における正常型のリード数 および変異型のリード数、変異の検出頻度を順に示します。 例) 35,0,0.000・・・正常型のリード数：35, 変異型のリード数：0, 変異の検出頻度：0.000 (0%)

報告例2 (検査中止時) : P.53 「ネオアンチゲン解析」報告例2 (検査中止時) と同様

Oncomine Pan-Cancer パネル解析

主要ながん種に関連する遺伝子変異を含む、52遺伝子のリキッドバイオプシーパネルOncomine™ Pan-Cancer Cell-Free Assay (Thermo Fisher Scientific) による検査です。がん細胞から血液中に遊離した核酸(cfDNAおよびcfRNA)を抽出し、がんに関連する遺伝子変異を検出します。検出された遺伝子変異の情報に加え、遺伝子変異に適応する分子標的治療薬を報告いたします。オプションの「リキッドバイオプシー 臨床検査情報レポート」では、検出された遺伝子変異に関連する臨床試験情報を報告します。



● 検査対象の遺伝子

がんに関連する遺伝子のうち、主要ながん種の遺伝子変異を網羅した全52遺伝子、900以上の変異箇所を対象とし、患者さんごとにどの遺伝子に変異があるかを検出するがん遺伝子パネル検査です。適応する分子標的治療薬^{※1}がある遺伝子変異 (actionable mutation) も含んでおり、治療効果が期待できる分子標的治療薬を見つけることができます。あらかじめ分離した血漿を検体とする場合は、核酸としてcfDNAに加えcfRNAを利用できるため、より多くの遺伝子変異について解析ができます。

※1：FDA (米国食品医薬品局) 承認薬および/もしくは日本国内においてPMDA (医薬品医療機器総合機構) により承認された医療用医薬品

おもな対象がん種

膀胱がん、大腸がん、食道がん、胃がん、頭頸部がん、その他脳・中枢神経系がん、乳がん、子宮頸がん、子宮内膜がん(子宮体がん)、卵巣がん、腎がん、肝がん、肺がん、悪性黒色腫、膵がん、前立腺がん、肉腫、甲状腺がん 等

標的遺伝子

900以上の変異箇所(ホットスポット^{※2}、挿入・欠失)やTP53等のがん抑制遺伝子^{※3}等を含む、全52遺伝子。

※2：遺伝子変異の多発域

※3：細胞のがん化を防ぐためにはたらく遺伝子

ホットスポット遺伝子 (1塩基変異, 短い挿入・欠失)			がん抑制 遺伝子	コピー数 変異遺伝子	融合遺伝子	METエキソン 14スキッピング変異
AKT1	FGFR3	MTOR	APC	CCND1	ALK	MET
ALK	FGFR4	NRAS	FBXW7	CCND2	BRAF	
AR	FLT3	NTRK1	PTEN	CCND3	ERG	
ARAF	GNA11	NTRK3	TP53	CDK4	ETV1	
BRAF	GNAQ	PDGFRA		CDK6	FGFR1	
CHEK2	GNAS	PIK3CA		EGFR	FGFR2	
CTNNB1	HRAS	RAF1		ERBB2	FGFR3	
DDR2	IDH1	RET		FGFR1	MET	
EGFR	IDH2	ROS1		FGFR2	NTRK1	
ERBB2	KIT	SF3B1		FGFR3	NTRK3	
ERBB3	KRAS	SMAD4		MET	RET	
ESR1	MAP2K1	SMO		MYC	ROS1	
FGFR1	MAP2K2					
FGFR2	MET					

← 「血液」検体の場合、検出可能な遺伝子変異 →

← 「血漿」検体の場合、検出可能な遺伝子変異 →

赤字：FDA承認薬のある標的遺伝子

● 検査方法

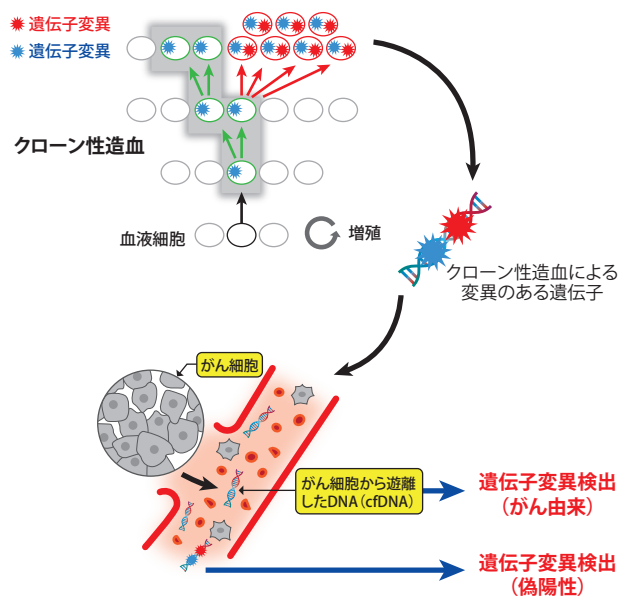
血液中に遊離した核酸（血漿検体の場合はcfDNAおよびcfRNA，血液検体の場合はcfDNA）を血漿より抽出し，品質確認を行います。抽出した核酸を用いて，がん遺伝子パネル「Oncomine™ Pan-Cancer Cell-Free Assay」（Thermo Fisher Scientific）で解析を行います。同時に， BuffyコートからゲノムDNAを抽出し，同様のパネル検査を行います（偽陽性確認検査）。取得した遺伝子情報よりデータ解析を行い，結果を報告いたします。偽陽性確認検査は，血漿を用いたパネル検査で検出された遺伝子変異がクローン性造血（clonal hematopoiesis：CH）由来の変異（偽陽性）である可能性を確認するために行います。偽陽性確認検査においても同一の変異が検出された場合は，その遺伝子変異の検出は偽陽性と考えられるため，その旨を報告いたします。



リキッドバイオプシー（パネル解析）のながれ

偽陽性の確認について

リキッドバイオプシー検査では，がん由来ではないクローン性造血による遺伝子変異も，がん由来と同じくひとつの遺伝子変異として検出される場合があります。その場合，検査結果は偽陽性となり，一般的にリキッドバイオプシーの検査を行ううえで大きな懸念点とされています。（参考文献：Acuna-Hidalgo, et al. Am J Hum Genet. 2017 6;101 (1) :50-64.）



当社では，正常細胞（白血球等が含まれる Buffyコート）を用いて同様の検査をすることにより，検出された遺伝子変異がクローン性造血由来の変異であるかどうかを確認しています。それにより，がん由来の遺伝子変異のみを報告することができます。

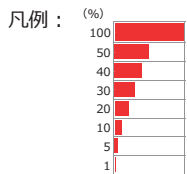
（参考文献：Chang, et al. Mol Oncol. 2020; doi: 10.1002/1878-0261.12727.）

●クローン性造血（clonal hematopoiesis：CH）
血液細胞が増えるときに，加齢等によって遺伝子変異を持った血液細胞が増えていく現象。

検査対象の遺伝子変異の検出率について

本検査の対象となる遺伝子変異について、がん種別の検出頻度は以下の通りです。

遺伝子	脳・中枢神経系	頭頸部	甲状腺	肺	乳	食道	胃	大腸	肝	膵	腎	膀胱	前立腺	子宮頸	子宮内膜	卵巣	悪性黒色腫	肉腫
ホットスポット・がん抑制遺伝子																		
AKT1																		
ALK																		
APC																		
AR																		
ARAF																		
BRAF																		
CHEK2																		
CTNNB1																		
DDR2																		
EGFR																		
ERBB2																		
ERBB3																		
ESR1																		
FBXW7																		
FGFR1																		
FGFR2																		
FGFR3																		
FGFR4																		
FLT3																		
GNA11																		
GNAQ																		
GNAS																		
HRAS																		
IDH1																		
IDH2																		
KIT																		
KRAS																		
MAP2K1																		
MAP2K2																		
MET																		
MTOR																		
NRAS																		
NTRK1																		
NTRK3																		
PDGFRA																		
PIK3CA																		
PTEN																		
RAF1																		
RET																		
ROS1																		
SF3B1																		
SMAD4																		
SMO																		
TP53																		
コピー数変異																		
ERBB2																		
融合遺伝子																		
ALK																		
ROS1																		
NTRK																		



例：
 APC 遺伝子変異：大腸がん症例の約70%に APC 遺伝子変異が確認されている
 KRAS 遺伝子変異：膵がん症例の約60%に KRAS 遺伝子変異が確認されている
 BRAF 遺伝子変異：悪性黒色腫症例の約50%に BRAF 遺伝子変異が確認されている

参照データベースおよび文献：

- 遺伝子変異
The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベース (<https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>)
- ERBB2 コピー数変異
HER2 がんの特徴と治療戦略 (乳がん, 胃がん, 胆管がん, 肺がん等) 医学のあゆみ 269 (3), 199-202, 2019-04-20
- ALK 融合遺伝子
Morris, et al. Science. 267(5196): 316-317, 1995, Lin, et al. Mol. Cancer Res. 7: 1466-1476, 2009,
日本肺癌学会「肺癌患者における ALK 融合遺伝子検査の手引き」(2021年10月20日 第4.0版)
- ROS1 融合遺伝子
Charest, et al. Genes Chromosomes Cancer. 37(1): 58-71, 2003,
Rikova, et al. Cell. 131(6): 1190-1203, 2007, Lee, et al. Cancer 119: 1627-1635, 2013,
Birch, et al. PLoS One 6: e28250, 2011
- NTRK 融合遺伝子
Jones, et al. Nat Genet 45(8): 927-932, 2013, Stransky, et al. Nat Commun 5: 4846, 2014,
Leeman-Neill, et al. Cancer 120(6): 799-807, 2014, Laé, et al. Mod Pathol 22(2) : 291-98, 2009,
Vaishnavi, et al. Nat Med 19(11): 1469-72, 2013, Créancier, et al. Cancer Lett 365(1): 107-111, 2015,
Zehir, et al. Nat Med 23(6): 703-713, 2017, Wiesner, et al. Nat Commun 5: 3116 791-798, 2014.

追加解析について

OncoPrint Pan-Cancer パネル解析では、以下の解析を追加で行うことができます。

リキッドバイオプシー 臨床試験情報レポート	OncoPrint Pan-Cancer パネル解析の検査結果に基づき、関連する臨床試験情報を報告いたします。
追加データ解析 ネオアンチゲン解析	「OncoPrint Pan-cancer パネル解析」で取得したデータを用いて、ネオアンチゲンを予測します。 検査対象：HLAクラス I (HLA-Aおよび-B), SNV

検査の限界について

- リキッドバイオプシーによる検査は、体内に存在するがんをすべて検出できるものではありません。がん細胞から血液中に流れ出ている cfDNA 量が十分でない場合（低腫瘍量や粘液がん等）や、がんの遺伝子異常のタイプによって、検出できない場合があります。
- リキッドバイオプシーで検出される遺伝子変異から、がんの部位を特定することはできません。

検査結果報告の内容

報告例1：

核酸の品質 (cfDNA抽出結果)

cfDNA量 (ng/mL)*	88.2
-----------------	------

※血漿1mLあたりから抽出されたcfDNA量

遺伝子変異検出結果

遺伝子名	遺伝子変異		変異タイプ	検出頻度 (%)	偽陽性確認検査検出頻度 (%)	備考	デジタルPCR法実施可否*
	塩基変異	アミノ酸置換					
BRAF	c.1799T>A	p.V600E	SNV	0.94	-		要相談
TP53	c.524G>A	p.R175H	SNV	0.38	-		要相談
GNAS	c.602G>A	p.R201H	SNV	0.18	0.10	クローン性造血由来の変異の可能性があります。	要相談

遺伝子変異検出基準

- 検出頻度：≥0.07%

項目の説明

- 遺伝子変異：遺伝子に変異している箇所を示します。
例) 遺伝子名：KRAS、塩基変異：c.35G>A の場合、アミノ酸置換：p.G12D …KRAS 遺伝子の塩基配列の35番目のGがAに変異し、アミノ酸配列の12番目のGがDに置換している
- 変異タイプ SNV：一塩基変異 CNV：コピー数多型 INDEL：塩基挿入/欠失
- 偽陽性確認検査：検査実施フローを参照ください。

※本検査で検出された遺伝子変異について、検査項目「リキッドバイオプシー（デジタルPCR法）」によって経時的な変化をモニタリングすることができます。
可：当該検査実施可能です。 要相談：当該検査の実施をご希望の場合はご相談ください。

各遺伝子変異の検出頻度と偽陽性確認結果の比較

遺伝子名	検出頻度 (%)	偽陽性確認検査検出頻度 (%)
BRAF	0.94	0
TP53	0.38	0
GNAS	0.18	0.10

コメント

OncoKBにおける適応薬剤候補

検出された遺伝子変異に対する薬剤と、その薬剤に対応する日本国内の医薬品（PMDAにより承認された医療用医薬品）の情報（品名、薬効分類、効能効果）のうち、OncoKB（<http://www.oncokb.org/>）によるエビデンスレベル1および2に該当する薬剤を示します。各レベルの定義は以下の通りです。（参考文献：「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン」）

レベル1：当該がん種において、FDA承認を受けた治療薬への応答を予測するFDAが認めたバイオマーカー。

レベル2：当該がん種において、FDA承認を受けた治療薬への応答を予測する標準治療バイオマーカー。

もしくは、異なるがん種において、FDA承認を受けた治療薬への応答を予測する標準治療バイオマーカー。

遺伝子名	遺伝子変異		薬剤名と組み合わせ	国内における医療用医薬品 ^{*3}		
	検出された変異 ^{*1}	データベース上の表記 ^{*2}		品名	薬効分類	効能効果
BRAF	p.V600E	V600E	Dabrafenib	タフィンラー (Dabrafenib)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する悪性黒色腫 ・BRAF遺伝子変異を有する切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌
			Dabrafenib + Trametinib	タフィンラー (Dabrafenib) + メキニスト (Trametinib)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する悪性黒色腫 ・BRAF遺伝子変異を有する切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌
			Encorafenib + Binimetinib	ピラフトビ (Encorafenib) + メクトビ (Binimetinib)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する悪性黒色腫 ・BRAF遺伝子変異を有する切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌
			Encorafenib + Binimetinib	ピラフトビ (Encorafenib)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫
			Encorafenib + Binimetinib + Cetuximab	ピラフトビ (Encorafenib) + メクトビ (Binimetinib) + アービタックス (Cetuximab)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫
			Encorafenib + Binimetinib	メクトビ (Binimetinib)	抗悪性腫瘍剤 MEK阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫
			Encorafenib + Binimetinib + Cetuximab	ピラフトビ (Encorafenib) + メクトビ (Binimetinib) + アービタックス (Cetuximab)	抗悪性腫瘍剤 BRAF阻害剤	・BRAF遺伝子変異を有する根治切除不能な悪性黒色腫
			アビタックス (Cetuximab)	抗ヒトEGFRモノクローナル抗体	・RAS遺伝子野生型の治療切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌・頭頸部癌	

③

*1 パネル解析で得られた遺伝子変異

*2 検出された変異に対応する、参照データベースにおける変異情報

*3 日本国内において医薬品医療機器総合機構（PMDA）によって承認された医療用医薬品情報を記載しています。

その他の情報

検出された遺伝子変異に対する薬剤と、その薬剤に対応する日本国内の医薬品（PMDAにより承認された医療用医薬品）の情報（品名、薬効分類、効能効果）のうち、OncoKBによるエビデンスレベル3および4に該当する薬剤を示します。

各レベルの定義は以下の通りです。（参考文献：「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン」）

レベル3：説得力のある臨床的エビデンスが、当該がん種において治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。もしくは、説得力のある臨床的エビデンスが、異なるがん種において治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。

レベル4：説得力のある生物学的エビデンスが治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。

遺伝子名	遺伝子変異		発がん性及び変異の影響	薬剤名と組み合わせ
	検出された変異 ^{*1}	データベース上の表記 ^{*2}		
-	-	-	-	-

該当する薬剤はありませんでした。

④

*1： パネル解析で得られた遺伝子変異

*2： 検出された変異に対応する、参照データベースにおける変異情報

コメント:

適応薬剤候補はありませんでした。

品質確認結果

核酸抽出				
血漿量	cfDNA濃度	cfDNAサイズ / gDNA混入	cfRNA検出	判定
✓	✓	✓	✓	✓

シーケンス解析			
ライブラリー作製	シーケンスリード数	データ解析	判定
✓	✓	✓	✓

⑤

✓: 品質に問題なし

検査実施項目

ホットスポットがん遺伝子 (全40遺伝子)											
遺伝子	検査	結果	遺伝子	検査	結果	遺伝子	検査	結果	遺伝子	検査	結果
AKT1	✓	-	ERBB3	✓	-	HRAS	✓	-	NTRK1	✓	-
ALK	✓	-	ESR1	✓	-	IDH1	✓	-	NTRK3	✓	-
AR	✓	-	FGFR1	✓	-	IDH2	✓	-	PDGFRA	✓	-
ARAF	✓	-	FGFR2	✓	-	KIT	✓	-	PIK3CA	✓	-
BRAF	✓	-	FGFR3	✓	-	KRAS	✓	-	RAF1	✓	-
CHEK2	✓	-	FGFR4	✓	-	MAP2K1	✓	-	RET	✓	-
CTNNB1	✓	-	FLT3	✓	-	MAP2K2	✓	-	ROS1	✓	-
DDR2	✓	-	GNA11	✓	-	MET	✓	-	SF3B1	✓	-
EGFR	✓	-	GNAQ	✓	-	MTOR	✓	-	SMAD4	✓	-
ERBB2	✓	-	GNAS	✓	-	NRAS	✓	-	SMO	✓	-

✓: 検査実施 -: 遺伝子変異検出なし NT: 検査未実施
 ○: 遺伝子変異検出あり (詳細は1ページをご参照ください)

⑥

①核酸 (cfDNA) 抽出結果

血漿1 mLあたりから抽出されたcfDNAの量を示します。

cfDNA量によるがんのモニタリングの基準値については、80ページ「cfDNA定量検査」をご参照ください。

②遺伝子変異検出結果

変異が検出された*⁴遺伝子について、以下の情報を示します。

項目	内容
遺伝子名	変異の検出された遺伝子名
遺伝子変異	遺伝子変異している箇所を示します。 例) 塩基変異: c.35G>A・・・当該遺伝子の塩基配列35番目のGがAに変異 アミノ酸置換: p.G12D・・・アミノ酸配列の12番目のG (グリシン) が D (アスパラギン酸) に置換されている
変異タイプ	遺伝子変異のタイプを示します。 SNV: 一塩基変異 Indel: 挿入・欠失変異
検出頻度 (%)	各遺伝子において変異が検出された頻度を示します (各遺伝子全リード数中の変異の割合)。
偽陽性確認検査での検出頻度 (%)	バフィーコートを用いた偽陽性確認検査における、各遺伝子変異の検出頻度を示します。 バフィーコートから変異が検出された場合 (=クローン性造血由来の変異 (偽陽性) の可能性が考えられる場合) は、備考欄に「クローン性造血由来の変異の可能性があります」と表示されます。

項目	内容
各遺伝子変異の検出頻度と偽陽性確認検査結果の比較	<p>検出された遺伝子変異について、血漿での検出頻度とバフィーコートを用いた偽陽性確認検査での検出頻度をグラフで示します。各遺伝子変異について、偽陽性であることを確認できます。</p> <p>例) 報告例1において、</p> <p style="padding-left: 40px;">BRAF (左), TP53 (中央)・・・バフィーコートからの遺伝子変異の検出なし (がん由来の遺伝子変異)</p> <p style="padding-left: 40px;">GNAS (右)・・・バフィーコートからの遺伝子変異の検出あり (クローン性造血由来の偽陽性)</p>

※4：遺伝子変異の陽性基準値(カットオフ値)は以下の通りです。

項目	陽性基準値
検出カウント	≥3
検出頻度	≥0.07%

③ OncoKBにおける適応薬剤候補

検出された遺伝子変異に対する薬剤(分子標的治療薬)と、その薬剤に対応する日本国内の医薬品(PMDA^{※5}により承認された医療用医薬品)の情報(品名、薬効分類、効能効果)を示します。検出された遺伝子変異に対する薬剤は、知識ベースOncoKB^{※6}によるエビデンスレベル1および2に該当する薬剤より示します。各レベルの定義は以下の通りです。

(参考文献:「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドンス」)

レベル1: 当該がん種において、FDA^{※7}承認を受けた治療薬への応答を予測するFDAが認めたバイオマーカー。

レベル2: 当該がん種において、FDA承認を受けた治療薬への応答を予測する標準治療バイオマーカー。

もしくは、異なるがん種において、FDA承認を受けた治療薬への応答を予測する標準治療バイオマーカー。

※5: 医薬品医療機器総合機構

※6: 米国メモリアル・スローン・ケタリングがんセンターで開発された、がんプレジジョン医療に関する知識ベース。がんのゲノム変化に関する生物学的および臨床の情報が含まれています。

※7: 米国食品医薬品局

④ その他の情報(適応薬剤候補)

検出された遺伝子変異に対する薬剤(分子標的治療薬)と、その薬剤に対応する日本国内の医薬品(PMDAにより承認された医療用医薬品)の情報(品名、薬効分類、効能効果)について、知識ベースOncoKBによるエビデンスレベル3および4に該当する薬剤を示します。各レベルの定義は以下の通りです。

(参考文献:「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドンス」)

レベル3: 説得力のある臨床的エビデンスが、当該がん種において治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。もしくは、説得力のある臨床的エビデンスが、異なるがん種において治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。

レベル4: 説得力のある生物学的エビデンスが治療薬への応答を予測するバイオマーカーであることを支持しているが、バイオマーカーも治療薬も標準治療ではない。

⑤ 品質確認結果

検査工程での品質確認の結果を示します。

⑥検査実施項目

検査を実施した項目（遺伝子）を示します。

報告例2（検査中止時）：

cfDNA抽出結果

cfDNA量 (ng/mL) [※]
88.2

⑦

※ 血漿1mLあたりから抽出されたcfDNA量

⑦核酸の品質（検査中止時のみ）

核酸の品質が検査実施基準を満たさなかった場合に、検体から抽出した核酸（血漿検体の場合はcfTNA、血液検体の場合はcfDNA）の品質データを報告いたします。

報告例3（追加データ解析 ネオアンチゲン解析）：P.51 「ネオアンチゲン解析」報告例1と同様

|| リキッドバイオプシー 臨床試験情報レポート

「Oncomine Pan-Cancerパネル解析」の検査結果に基づき、関連する分子標的治療薬や臨床試験の情報を報告いたします。

レポート作成は、ライフテクノロジーズジャパン株式会社へ解析データを送付して行います。解析データは、レポート作成業務完了後に破棄もしくはサーバーから削除されます。

①関連するバイオマーカー

検出された遺伝子変異に関連する承認薬の情報（関連治療情報、臨床試験数）を示します。

②変異の詳細

検出された遺伝子変異の詳細な情報（遺伝子名、アミノ酸変化、コーディング、変異ID、遺伝子座、アレル頻度、転写産物、変異の影響）を示します。（遺伝子変異のタイプにより、一部の項目は表示されない場合があります。）

③関連治療情報（概要・詳細）

検出された遺伝子変異に関連する治療（分子標的治療薬）について、各国の承認状況※と、日本国内を含む各国の臨床試験の進行状況（詳細は④）を示します。

※米国 … FDA（米国食品医薬品局）、NCCN（全米総合癌センターネットワーク）
欧州 … EMA（欧州医薬品庁）、ESMO（欧州臨床腫瘍学会）

④臨床試験情報

検出された遺伝子変異に関連する治療（分子標的治療薬）について、日本国内を含む各国の臨床試験の詳細を示します。

治療効果・再発のモニタリング 関連検査 (デジタルPCR・cfDNA定量・IFN- γ ELISPOT解析)

デジタルPCR

パネル解析等によりあらかじめ特定された遺伝子変異について、簡便かつ高感度に検出する検査で、検査対象の遺伝子変異の検出頻度を報告いたします。血液中に存在するcfDNAの遺伝子変異の検出頻度は、手術や治療等ががんが縮小すると数値が下がり、がんの進行や再発により増大すると数値が上がる傾向があります。そのため、定期的にデジタルPCRの検査を行うことで、がんの治療効果やがんの進行・再発をモニタリングすることができます。(参考文献：Suzuki, et al. Oncotarget. 2020; 11:3198-3207.)

● 検査対象の遺伝子変異

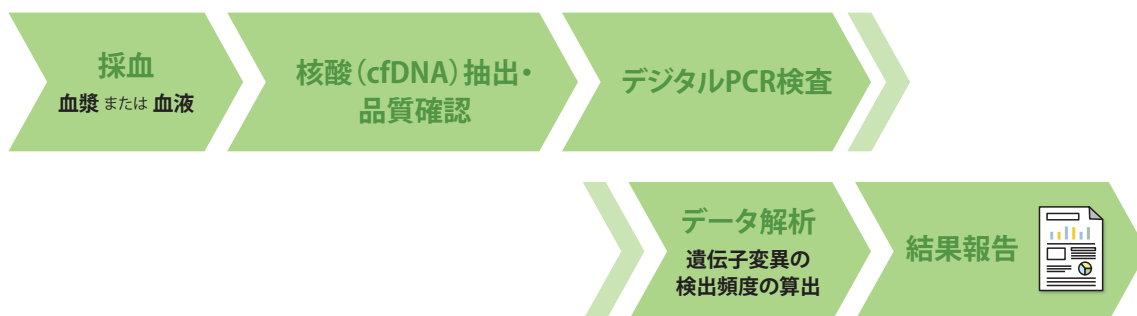
「デジタルPCR」では、パネル解析等によりあらかじめ特定されている遺伝子変異の中から、モニタリングする遺伝子変異を選択します。解析が可能な遺伝子変異は、以下の通りです。(掲載のない遺伝子変異での検査をご希望の場合は、ご相談ください。)

遺伝子	塩基変異	アミノ酸置換
<i>APC</i>	c.4216C>T	p.Q1406Ter
<i>BRAF</i>	c.1799T>A	p.V600E
<i>FGFR3</i>	c.742C>T	p.R248C
<i>GNAS</i>	c.602G>A	p.R201H
<i>IDH1</i>	c.394C>T	p.R132C
	c.394C>A	p.R132S
<i>IDH2</i>	c.419G>A	p.R140Q
<i>KRAS</i>	c.34G>T	p.G12C
	c.35G>A	p.G12D
	c.34G>A	p.G12S
	c.35G>T	p.G12V
	c.38G>A	p.G13D
	c.183A>C	p.Q61H
	c.182A>T	p.Q61L
<i>MAP2K1</i>	c.370C>T	p.P124S
<i>NRAS</i>	c.35G>A	p.G12D
<i>PIK3CA</i>	c.263G>A	p.R88Q
	c.1624G>A	p.E542K
	c.1633G>A	p.E545K

遺伝子	塩基変異	アミノ酸置換
<i>SF3B1</i>	c.2098A>G	p.K700E
<i>TP53</i>	c.517G>A	p.V173M
	c.536A>G	p.H179R
	c.569C>T	p.P190L
	c.584T>C	p.I195T
	c.586C>T	p.R196Ter
	c.659A>G	p.Y220C
	c.701A>G	p.Y234C
	c.734G>A	p.G245D
	c.733G>A	p.G245S
	c.742C>T	p.R248W
	c.817C>T	p.R273C
	c.818G>A	p.R273H
	c.818G>T	p.R273L
c.838A>G	p.R280G	
c.844C>T	p.R282W	

● 検査方法

血液，もしくは血液から分離した血漿より，がん細胞やがん組織から遊離した核酸（cfDNA）を抽出し，品質確認を行います。抽出した核酸を用いて，デジタルPCR法を用いて検査対象の遺伝子変異を検出し，その頻度を算出します。



● 検査結果報告の内容

「デジタルPCR」では，以下の結果を報告いたします。

報告例1： 検査対象の遺伝子変異

遺伝子名	塩基変異*	アミノ酸置換*
KRAS	c.35G>T	p.G12V

※遺伝子変異している箇所を示します。

例) 遺伝子名：KRAS，塩基変異：c.35G>A，アミノ酸置換：p.G12Vの場合

…KRAS 遺伝子の塩基配列の35番目のGがTに変異し，アミノ酸配列の12番目のGがVに置換している。

【今回の結果】

核酸の品質 (cfDNA抽出結果)

cfDNA量 (ng/mL)*
88.2

※血漿1mLあたりから抽出されたcfDNA量

遺伝子変異検出結果

遺伝子名	塩基変異	アミノ酸置換	検出カウント		検出頻度 (%)
			正常型	変異型	
KRAS	c.35G>T	p.G12V	2588	8	0.31

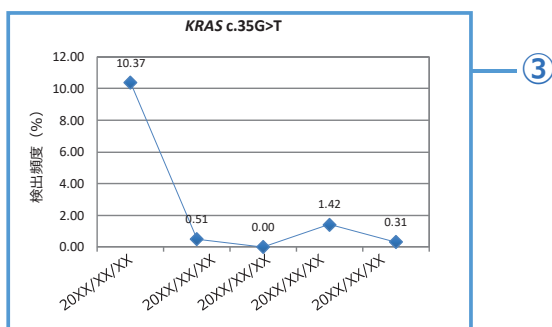
コメント

【前回までの結果】

遺伝子変異検出結果

検査依頼日	遺伝子名	塩基変異	アミノ酸置換	検出カウント		検出頻度 (%)
				正常型	変異型	
今回	20XX/XX/XX KRAS	c.35G>T	p.G12V	2588	8	0.31
	20XX/XX/XX KRAS	c.35G>T	p.G12V	3063	44	1.42
	20XX/XX/XX KRAS	c.35G>T	p.G12V	2867	0	0.00
	20XX/XX/XX KRAS	c.35G>T	p.G12V	2553	13	0.51
	20XX/XX/XX KRAS	c.35G>T	p.G12V	2680	310	10.37

遺伝子変異検出頻度の経時変化



品質確認結果

核酸抽出			
血漿量	cfDNA濃度	cfDNAサイズ / gDNA混入	判定
✓	✓	✓	✓
ddPCR解析			
ドロップレット作製	ドロップレット測定	データ解析	判定
✓	✓	✓	✓

✓：品質に問題なし

【ご報告は以上です】

①検査対象の遺伝子変異

検査対象の遺伝子変異について、以下の情報を示します。

項目	内容
遺伝子名	検査対象の遺伝子の名称
塩基変異	検査対象とする塩基変異を示します。 例) c.35G>T…塩基配列の35番目のG (グアニン) がT (チミン) に変異している
アミノ酸置換	塩基変異によってアミノ酸が置換している箇所を示します。 例) p.G12V…アミノ酸配列の12番目のG (グリシン) がV (バリン) に置換している

②核酸 (cfDNA) 抽出結果

血漿1 mLあたりから抽出されたcfDNAの量を示します。

cfDNA量によるがんのモニタリングの基準値については、80ページ「cfDNA定量検査」をご参照ください。

③遺伝子変異検出結果

検査対象の遺伝子変異について、今回および過去の計10回まで(最長5年間)の検出結果を示します。以下の情報を示します。

項目	内容
検出カウント	検査対象の遺伝子について、正常型と変異型の検出カウントをそれぞれ示します。
遺伝子変異の検出頻度 (%)	検査対象の遺伝子変異が検出された頻度(正常型と変異型の合計カウント数中の変異型検出カウントの割合)を示します。
遺伝子変異検出頻度の経時変化	遺伝子変異の検出頻度の経時変化をグラフで示します。

④品質確認結果

検査工程での品質確認の結果を示します。

報告例2 (検査中止時) : P. 75 「Oncomine Pan-Cancer パネル解析」報告例2 (検査中止時) と同様

cfDNA 定量検査

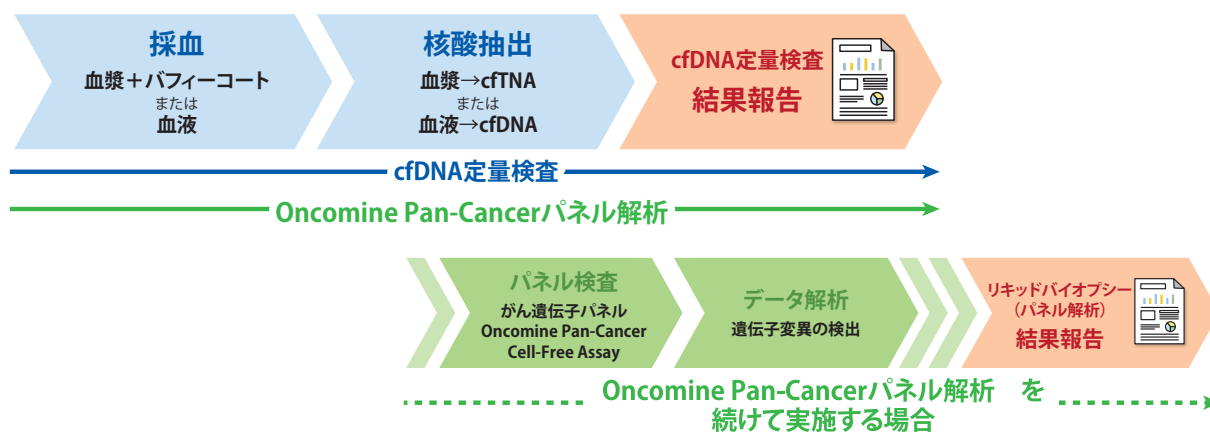
一定量の血液中に含まれる、がん細胞やがん組織から遊離した核酸 (cfDNA) の量を測定することで、がんの有無や治療効果・再発をモニタリングする検査です。

血液中に流れ出したcfDNAの量は、健常人では少なく、がん患者さんでは多くなることが知られています。また、体内に存在する腫瘍が大きくなるほど、血液中に流れ出すcfDNAの量が増加する傾向があり、cfDNA量を測定することによって、がんの健康診断やモニタリングに利用することができます。

(社内データ、および参考文献：Newman, et al. Nat Med. 2014;20 (5) :548-54, Kustanovich, et al. Cancer Biol Ther. 2019;20 (8) :1057-1067.)

● 検査方法

血液、もしくは血液から分離した血漿より、がん細胞やがん組織から遊離した核酸 (cfDNA) を抽出し、血漿1 mLあたりのcfDNA濃度を測定します。



「cfDNA 定量検査」で抽出した核酸を使用して、続けて「Oncomine Pan-cancer パネル解析 cfDNA 定量検査後」を実施することができます。検査内容は「Oncomine Pan-cancer パネル解析」と同一です。

● 検査結果報告の内容

報告例：

核酸 (cfDNA) 測定結果 (血漿1mLあたりから抽出されたcfDNA量)

検査依頼日	cfDNA濃度 (ng/mL)	レベル ^{※1}	前回比 ^{※2} (%)	コメント
(今回) 2020/1/23	18.92	L3	+51	+50%以上の増加が認められました。
2019/12/23	12.51	L3	+19	
2019/11/23	10.51	L3	+46	
2019/10/23	7.21	L2	+75	+50%以上の増加が認められました。
2019/9/23	4.11	L1	-25	
2019/8/23	5.51	L2	+65	+50%以上の増加が認められました。
2019/7/23	3.33	L1	+12	
2019/6/23	2.97	L1	-15	
2019/5/23	3.51	L1	+9	
2019/4/23	3.21	L1	—	

①

※1 cfDNAレベルについて

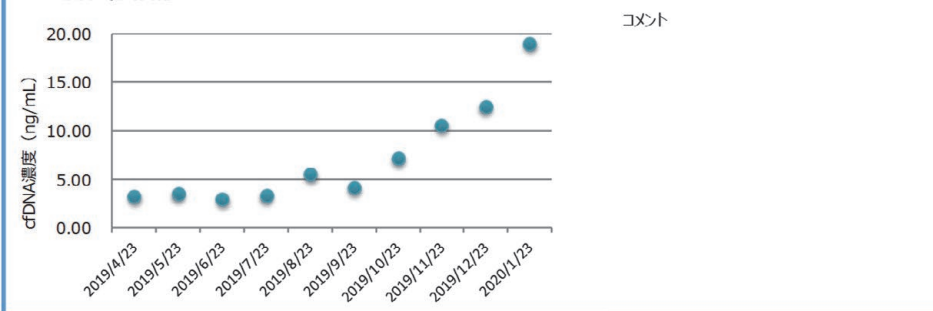
L1	4.20 ng/mL未満：健常者の67.5%が示すレベルです。
L2	4.20～7.40 ng/mL：健常者の21.5%、ステージI/IIのがん罹患している方の32.2%が示すレベルです。
L3	7.41 ng/mL以上：健常者の11.0%、ステージI/IIのがん罹患している方の51.3%が示すレベルです。

cfDNA濃度には個人差があります。このため、L2、L3であっても、継続的な増加が認められない場合は、がん起因するものではないと考えられます。

※2 前回比の見方

50%以上	前回より+50%以上の増加が認められます。精密検査の実施が推奨されます。
±50%未満	前回と比較して、大きな変動は認められません。継続して増加が認められる場合は、精密検査の実施が推奨されます。
-50%以下	前回より-50%以上の減少が認められます。治療を受けている場合は、治療の効果を反映していると考えられます。

cfDNA濃度の経時変化



コメント

品質確認結果

核酸抽出

品質確認項目	品質確認
cfDNA濃度 (ng/μL)	品質に問題なし
cfDNAサイズ	品質に問題なし
gDNA混入 ^{※3}	品質に問題なし
cfDNA量 ^{※4}	8 ng以上：パネル解析が可能です

②

※3 gDNAの混入を認めた場合、オプションとしてがんの遺伝子変異を検出する「リキッドバイオプシー（パネル解析）」を実施するためには再度採血が必要です。

※4 cfDNA量 8 ng以上の場合、オプションとしてがんの遺伝子変異を検出する「リキッドバイオプシー（パネル解析）」を実施することが可能です。

cfDNA量 8 ng未満の場合、「リキッドバイオプシー（パネル解析）」を実施するためには再度採血が必要となります。

[ご報告は以上です]

①核酸 (cfDNA) 測定結果

抽出された核酸 (cfDNA) について、以下の情報を示します。検査結果は、今回および過去の計10回まで (最長5年間) の結果を示します。

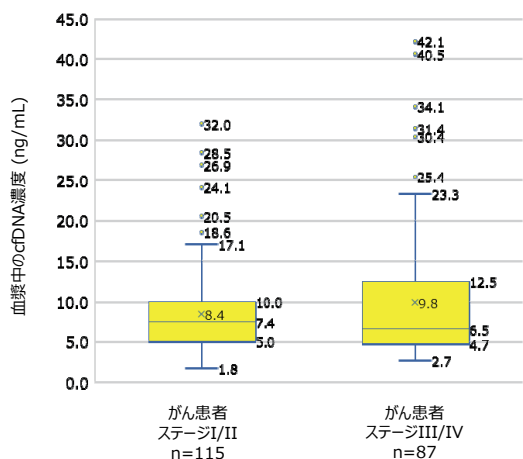
項目	内容												
cfDNA 濃度 (ng/mL)	血漿1 mLあたりから抽出されたcfDNAの量を、数値および経時変化のグラフで示します。												
cfDNA レベル	<p>cfDNA 濃度から区分したレベルを示します。(根拠データは、次ページ「参考データ」をご参照ください。)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>レベル</th> <th>cfDNA 濃度</th> <th>説明</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>L1</td> <td>4.20 ng/mL 未満</td> <td>健常者の67.5%が示すレベルです。</td> </tr> <tr> <td>L2</td> <td>4.20 ~7.40 ng/mL</td> <td>健常者の21.5%，ステージI/IIのがんに罹患している人の32.2%が示すレベルです。</td> </tr> <tr> <td>L3</td> <td>7.41 ng/mL 以上</td> <td>健常者の11.0%，ステージI/IIのがんに罹患している人の50.4%が示すレベルです。</td> </tr> </tbody> </table> <p>L2, L3の場合は、定期的な検査によるモニタリングをご検討ください。 ただし、cfDNA 濃度には個人差があるため、L2やL3であっても継続的な増加が認められない場合は、がん起因するものではないことが考えられます。(継続的な増加については、以下の「前回比」を参照してください。)</p>	レベル	cfDNA 濃度	説明	L1	4.20 ng/mL 未満	健常者の67.5%が示すレベルです。	L2	4.20 ~7.40 ng/mL	健常者の21.5%，ステージI/IIのがんに罹患している人の32.2%が示すレベルです。	L3	7.41 ng/mL 以上	健常者の11.0%，ステージI/IIのがんに罹患している人の50.4%が示すレベルです。
レベル	cfDNA 濃度	説明											
L1	4.20 ng/mL 未満	健常者の67.5%が示すレベルです。											
L2	4.20 ~7.40 ng/mL	健常者の21.5%，ステージI/IIのがんに罹患している人の32.2%が示すレベルです。											
L3	7.41 ng/mL 以上	健常者の11.0%，ステージI/IIのがんに罹患している人の50.4%が示すレベルです。											
前回比 (%)	<p>前回値からの変化の割合を示します。 体内に存在するがんが大きくなるほど、血液中に流れ出すcfDNAの量が増加することが知られています。そのため、cfDNA 濃度をモニタリングすることによって、がんの有無や大きさの変化をモニタリングすることができます。 前回と比較して50%以上の増加が認められる場合や、50%未満であっても継続して増加傾向が認められる場合、がんが存在している可能性が考えられます。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>前回比</th> <th>説明</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>+50%以上</td> <td>前回より50%以上の増加が認められます。精密検査の実施をご検討ください。</td> </tr> <tr> <td>±50%未満</td> <td>前回と比較して、数値に大きな変動は認められません。 以前より継続して増加があった場合は、精密検査の実施をご検討ください。</td> </tr> <tr> <td>-50%以下</td> <td>前回より50%以上減少しています。治療を受けている場合は、治療の効果を反映していると考えられます。</td> </tr> </tbody> </table>	前回比	説明	+50%以上	前回より50%以上の増加が認められます。精密検査の実施をご検討ください。	±50%未満	前回と比較して、数値に大きな変動は認められません。 以前より継続して増加があった場合は、精密検査の実施をご検討ください。	-50%以下	前回より50%以上減少しています。治療を受けている場合は、治療の効果を反映していると考えられます。				
前回比	説明												
+50%以上	前回より50%以上の増加が認められます。精密検査の実施をご検討ください。												
±50%未満	前回と比較して、数値に大きな変動は認められません。 以前より継続して増加があった場合は、精密検査の実施をご検討ください。												
-50%以下	前回より50%以上減少しています。治療を受けている場合は、治療の効果を反映していると考えられます。												
cfDNA 濃度の経時変化	cfDNA 濃度の経時変化をグラフで示します。												

②品質確認結果

検査工程での品質確認の結果を示します。

● 参考データ (当社データ)

がん患者におけるcfDNA濃度

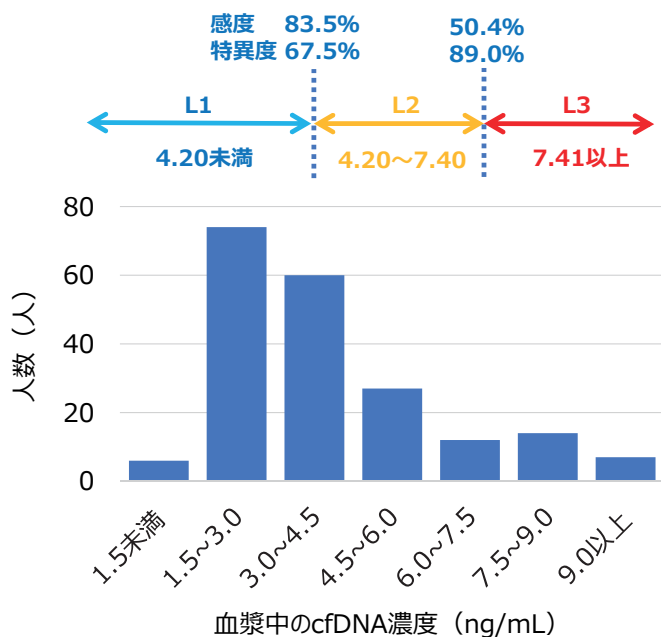


図aはがん患者さん202名(胃がん・大腸がん ステージI/II 115名, ステージIII/IV 87名)のcfDNA濃度を示します。がんが進行するとcfDNA濃度も上昇する傾向が見られます。また, 健常者200名のcfDNA濃度の中央値3.53 ng/mL (社内データ)に対し, ステージI/IIのがん患者さんでは7.41 ng/mLであり, 顕著な差が認められています。(P<0.0001)

(参考文献: Suzuki, et al. Oncotarget. 2020; 11:3198-3207.)

がん患者における血漿中のcfDNA濃度 (図a)

cfDNAレベルの基準値



感度…ある疾患を持つ人のうち, 検査で陽性と正しく判定される割合

特異度…ある疾患を持たない人のうち, 検査で陰性と正しく判定される割合

健常者200名のcfDNA濃度の分布 (図b)

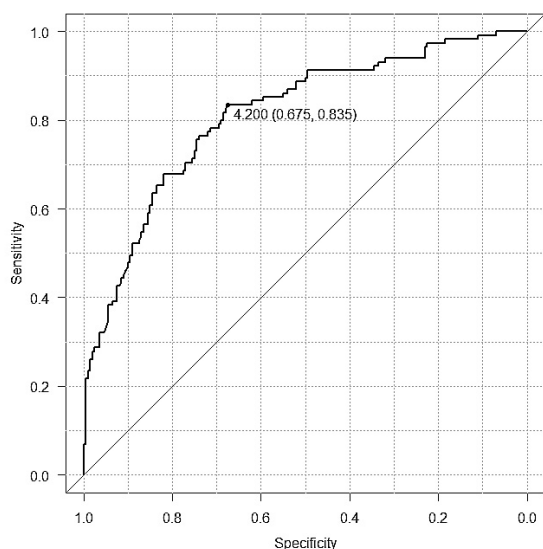
健常者200名のcfDNA濃度を測定した結果, 図bに示す通りに分布していました。各cfDNA濃度に対応するcfDNAレベル(L1~L3)は図中に示す通りです。

「感度」はステージI/IIのがん患者さん115名(胃がん・大腸がん)のcfDNA濃度測定値より算出しており(図aおよび次ページ「補足」参照), 基準値を上回るステージI/IIのがん患者さんの割合を示します。「特異度」は基準値を下回る健常者の割合を示します。図bに示す通り, L1の基準値 cfDNA濃度4.20 ng/mLを上回るステージI/IIのがん患者さんの割合は83.5%, 4.20 ng/mLを下回る健常者は67.5%となり, 同様にL3の基準値7.41 ng/mLを上回るステージI/IIのがん患者さんの割合は50.4%, 7.41 ng/mLを下回る健常者は89.0%となります。

以上のデータより、各レベルに属する健常者およびステージI/IIのがん患者さんの割合は、以下の通りとなります。

レベル	cfDNA濃度	説明
L1	4.20 ng/mL未満	健常者の67.5%が示すレベルです。
L2	4.20~7.40 ng/mL	健常者の21.5%，ステージI/IIのがんに罹患している人の32.2%が示すレベルです。
L3	7.41 ng/mL以上	健常者の11.0%，ステージI/IIのがんに罹患している人の50.4%が示すレベルです。

(補足) 健常者200名と、ステージI/IIのがん患者115名(胃がん・大腸がん)のcfDNA濃度のROC曲線*
cfDNAレベルの基準値 4.20 ng/mLおよび感度，特異度は，検査や診断薬の性能を示すROC曲線により算出しています。



カットオフ値：4.20 ng/mL

感度：83.5%

特異度：67.5%

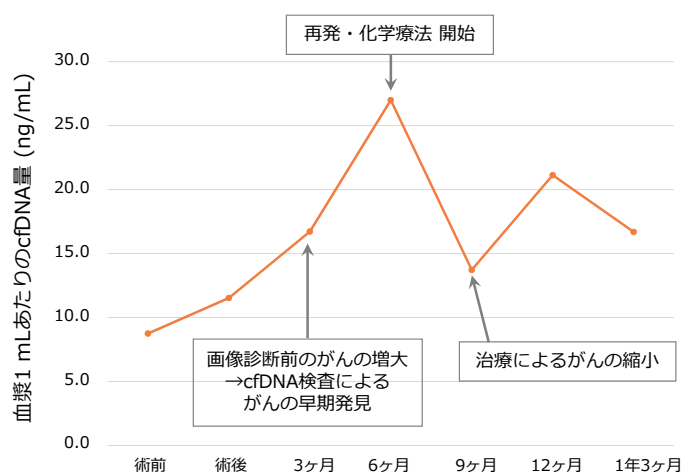
AUC：0.811

95%信頼区間：0.762~0.861

* ROC曲線 (Receiver Operating Characteristic curve) とは

検査や診断薬の性能をグラフに表したものです。検査における異常と正常を区別するカットオフポイントごとに真陽性率(感度)と偽陽性率(特異度)を計算し、縦軸に感度、横軸に特異度をプロットして表す。ROC曲線の下の部分の面積をAUC (Area Under the Curve) といい、値が1に近いほど判別能が高いことを示す。

cfDNA量の変化によるがんの再発モニタリング



がん患者さんにおいて血漿中のcfDNA量の変化をモニタリングしたところ、図cのように、がんの再発前にcfDNA量が上昇し、化学療法による治療後に低下がみられました。

血漿中cfDNA量のモニタリング (図c)

IFN- γ ELISPOT解析 (免疫反応解析)

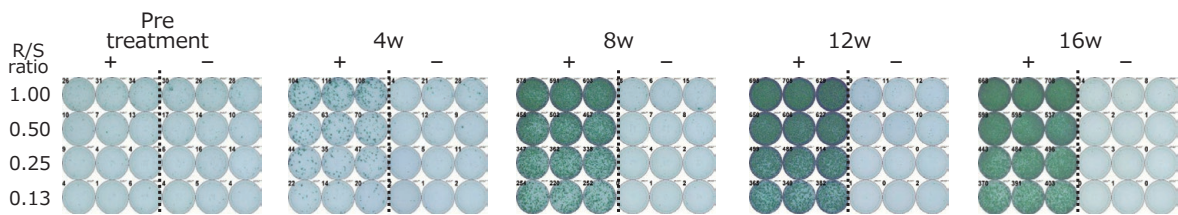
末梢血から分離した末梢血単核細胞 (Peripheral Blood Mononuclear Cells ; PBMC) を検体とし、患者さんの体内におけるペプチド特異的な細胞性免疫応答を解析する検査です。ペプチド刺激によって活性化されたT細胞が産生するインターフェロン (IFN) - γ をELISPOT法によって検出することにより、抗原特異的な免疫応答を評価します。検査対象は、ネオアンチゲンペプチド (HLAクラス I およびクラス II 拘束性) およびオンコアンチゲンペプチド (HLAクラス I 拘束性) です。HLAクラス I 拘束性ペプチドの場合は細胞傷害性T細胞 (CTL) の、HLAクラス II 拘束性ペプチドの場合はヘルパーT細胞の抗原特異的な活性化を解析します。

がん免疫療法は免疫細胞の働きを高めることでがん細胞を排除する治療法で、治療に利用した薬剤自体ががん細胞に作用するのではなく、利用した薬剤によって教育され活性化した体内の免疫細胞ががん細胞を攻撃することが特徴です。そのため、がん免疫療法の効果は、体内の免疫細胞の活性化 (免疫応答) を確認することによって評価することができます。

(参考文献：Kono, et al. J Transl Med. 2012;10: 141.)

ELISPOT (Enzyme-Linked ImmunoSpot) 法とは

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) をベースとして、特定の抗体やサイトカインを生成・分泌する免疫細胞を単一細胞レベルで検出する高感度な免疫モニタリング手法です。特定の免疫応答で見られるような存在比率の低い細胞の解析に特に有用で、がんや自己免疫疾患、感染症、アレルギー等の様々な疾患において、抗原特異的な免疫応答を研究するために、幅広く利用されています。がん免疫療法においては、治療に利用した抗原ペプチドに対する特異的なCTLの誘導を確認することができ、抗腫瘍効果との関連を検討することができます。



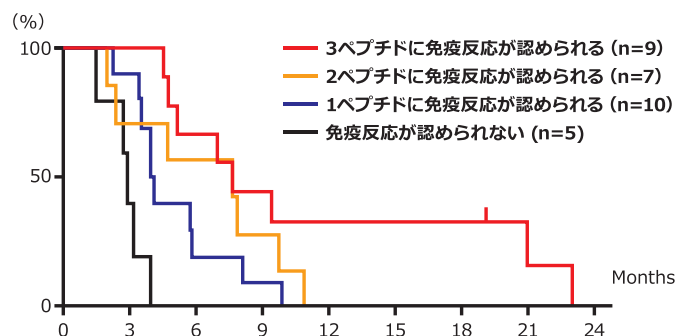
抗原ペプチド特異的な免疫反応の誘導

ペプチドワクチン治療前 (Pre treatment) と比較し、ペプチドワクチン治療後4週 (4w) からペプチドワクチン治療後16週 (16w) にかけて抗原ペプチド特異的な免疫反応が誘導されています。

免疫反応と全生存期間

ペプチドワクチン治療後に、抗原ペプチドに対する特異的な免疫反応が認められるがん患者さんでは、認められないがん患者さんと比較し生存期間が長いことが報告されています。また、抗原ペプチド特異的な免疫反応が認められるがん患者さんの中でも、より多くの種類のペプチドに対する免疫反応が認められるほど、生存期間が長い傾向にあることが報告されています。

(参考文献：Kono et al, Journal of Translational Medicine. 2012.)



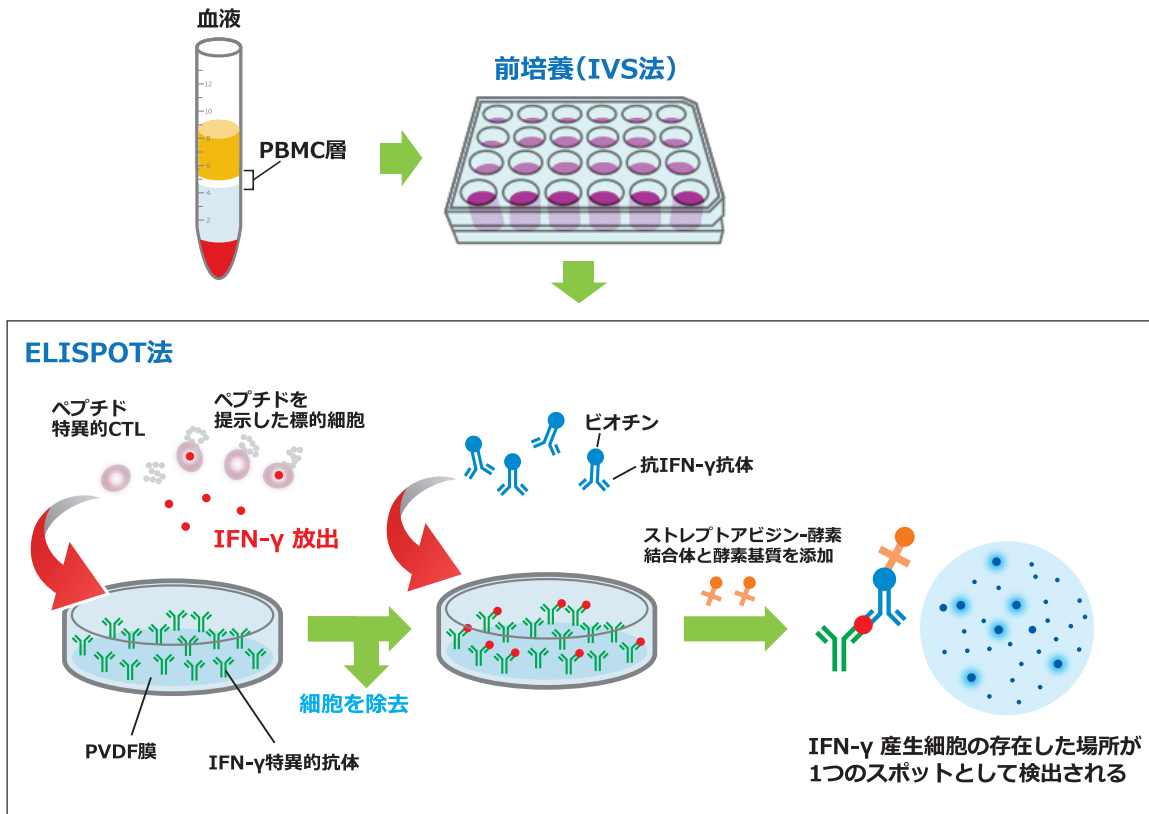
免疫反応と全生存期間の解析例

● 検査方法

IVS法^{※1}によりPBMCの前培養を行った後、ELISPOT法を用いてT細胞から産生されるIFN- γ を検出します。ELISPOT法では、抗ヒトIFN- γ 抗体を底部にコーティングした培養プレートに、前培養したPBMCを一定量分注後、免疫反応を評価したいペプチドを添加し、一晩培養します。T細胞からIFN- γ が分泌され、抗ヒトIFN- γ 抗体と結合します。この状態をスポットとして可視化してIFN- γ を産生する細胞を検出し、抗原ペプチド特異的な免疫反応を評価します。

※1：IVS法 (In vitro sensitization)

試験管内での抗原刺激によって、抗原特異的リンパ球の活性化や増殖を促す方法。



IFN- γ ELISPOT解析のながれ

● 検査結果報告の内容

報告例：

抗原ペプチド特異的免疫反応判定[※]

ペプチド名	検体名			
	ワクチン投与前	ワクチン投与後		
Peptide ①	-	-		
Peptide ②	-	+++		
Peptide ③	-	-		

①

※免疫反応判定
 - : 免疫反応が認められない
 + : 弱い免疫反応が認められる
 ++ : やや強い免疫反応が認められる
 +++ : 強い免疫反応が認められる
 NA : 検査が実施できなかった場合

免疫反応判定は、IFN-γスポット数を利用した河野らによる判定法（一部改変）に基づいて実施しています。
 (参考：Kono K, et al, J Transl Med. 2012;10:141.)

コメント

抗原ペプチド特異的スポット数（検査結果詳細）

◆項目の説明◆
 ペプチド+ : 患者由来細胞がペプチド存在下で産生したIFN-γの検出結果
 ペプチド- : 患者由来細胞がペプチド非存在下で産生したIFN-γの検出結果
 ペプチド特異的スポット数 (Specific spots) : 「ペプチド+」と「ペプチド-」のスポット数の差
 %Specific spots : 「ペプチド+」のスポット数に占めるペプチド特異的スポットの割合
 陽性コントロール : 患者由来細胞が刺激物質 (PMA および Ionomycin) 存在下で産生したIFN-γの検出結果
 陰性コントロール : 患者由来細胞が刺激物質非存在下で産生したIFN-γの検出結果

ペプチド名	Peptide ①			
検体名	ワクチン投与前	ワクチン投与後		
ペプチド+	66.3	46.0		
ペプチド-	66.0	46.3		
ペプチド特異的スポット数 (Specific spots)	0.3	-0.3		
%Specific spots	0.5	-0.7		
陽性コントロール	353.7	339.0		
陰性コントロール	8.0	10.3		

ペプチド名	Peptide ②			
検体名	ワクチン投与前	ワクチン投与後		
ペプチド+	63.0	249.3		
ペプチド-	62.7	50.3		
ペプチド特異的スポット数 (Specific spots)	0.3	199.0		
%Specific spots	0.5	79.8		
陽性コントロール	413.7	416.0		
陰性コントロール	10.3	10.7		

②

検査概要および検査結果の見方

①抗原ペプチド特異的免疫反応判定

各抗原ペプチドに対する免疫反応の強さを、4段階で判定^{※2}します。がん免疫療法により、抗原ペプチドに対する特異的CTLが誘導された場合、抗原ペプチド特異的免疫反応が認められ、抗腫瘍効果が期待されます。

- － : 免疫反応が認められない
- ＋ : 弱い免疫反応が認められる
- ++ : やや強い免疫反応が認められる
- +++ : 強い免疫反応が認められる
- NA : 検査が実施できなかった場合

※2：免疫反応判定は、Konoらによる判定法（一部改変）に基づいて実施しています。（参考：Kono K, et al, J Transl Med. 2012; 9;10:141.）

②抗原ペプチド特異的スポット数

検出されたIFN- γ スポットの個数を示します。この数値を基に、抗原ペプチド特異的免疫反応の強さを判定します。

研究検査

研究検査は、研究を目的とした検査であり、当社の通常受託の検査項目と異なります。基準値および臨床的意義が明確にならない項目もございますので、内容をご理解のうえご依頼いただくようお願いいたします。

|| MHCテトラマー解析 (免疫反応解析)

蛍光標識したMHCテトラマーを用いたフローサイトメトリーにより、抗原ペプチドに対する抗原特異的T細胞を検出します。がん免疫療法で投与した抗原ペプチドに対する特異的CTLが誘導されているかどうかを確認することができるため、治療効果との関連を検討することができます。

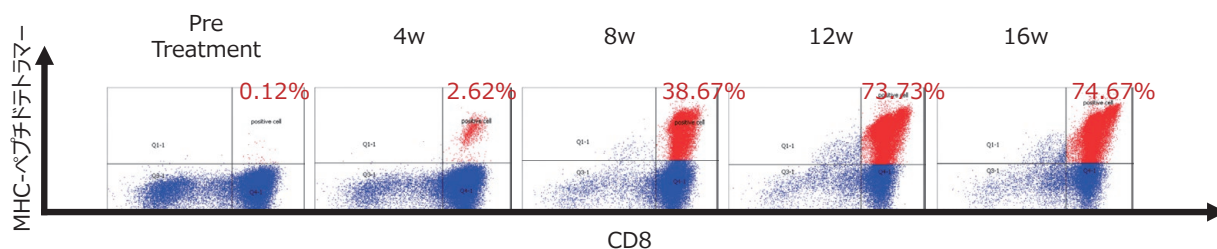
(参考文献：Yoshitake, et al. Clin Cancer Res. 2015;21 (2) :312-21.)

MHCテトラマー解析法とは

T細胞は、細胞表面に発現しているT細胞受容体 (TCR) を通じてMHC-ペプチド複合体を特異的に認識して結合します。MHCテトラマー解析法は、MHC分子とペプチド断片の複合体試薬 (MHCテトラマー) を用いて、それに結合した抗原特異的T細胞をフローサイトメトリー※1により検出する手法で、感染症やがん免疫療法、自己免疫疾患等の基礎研究や臨床開発において、T細胞免疫応答のモニタリング法として広く利用されています。抗原特異的T細胞の分離・回収にも利用できるため、抗原特異的T細胞の機能等の詳細な解析に応用することができます。

※1：フローサイトメトリー

蛍光色素で標識したモノクローナル抗体で染色した細胞を、高速度で流しながらレーザー光を照射し、前方散乱光 (細胞の大きさ) や90°散乱光 (細胞の内部構造)、蛍光強度 (細胞表面の対応抗原) から個々の細胞を解析する方法。



ペプチド特異的MHCテトラマー陽性細胞の検出

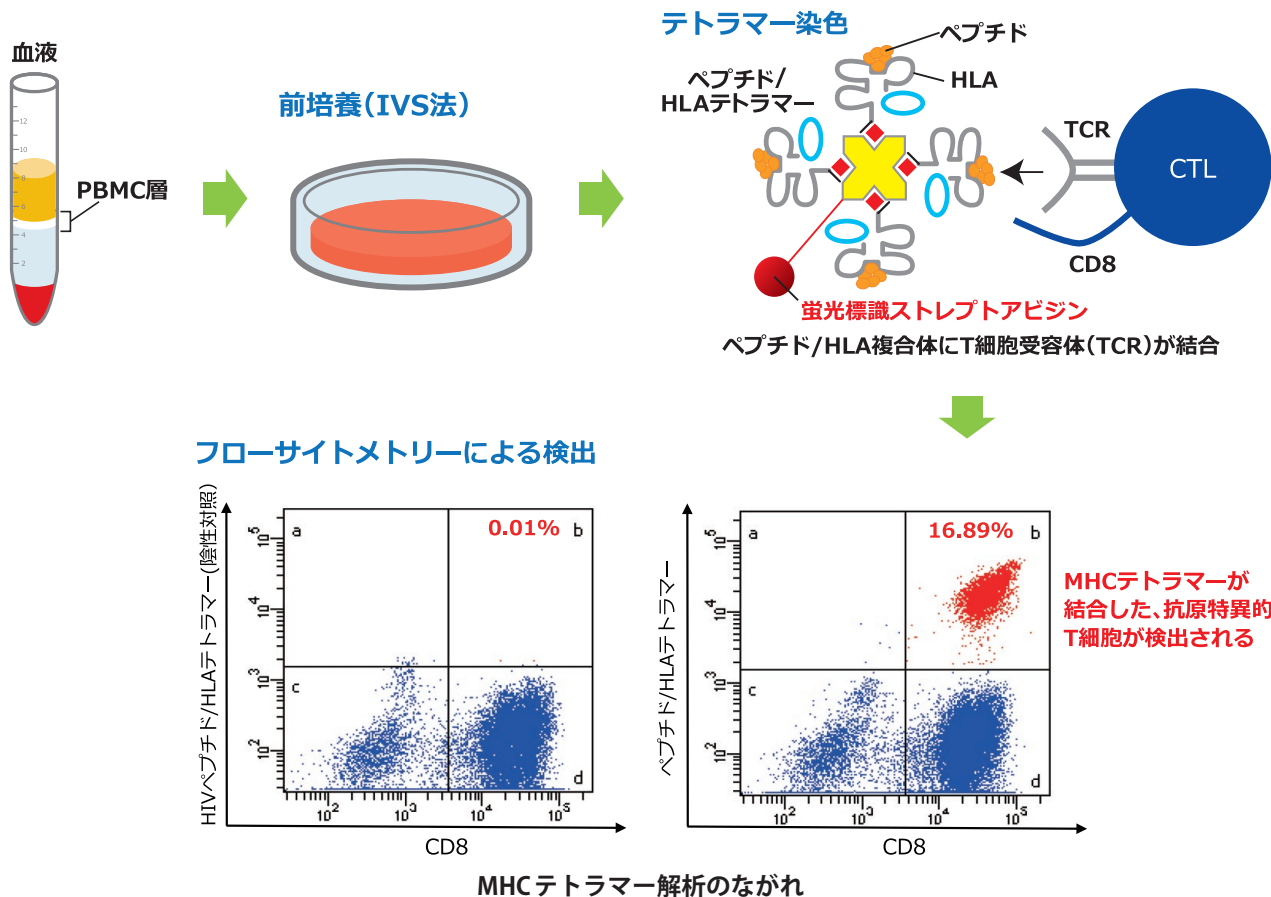
ペプチドワクチン治療前 (Pre treatment) と比較し、治療後4週 (4w) から治療後16週 (16w) にかけてペプチド特異的MHCテトラマー陽性細胞の検出頻度の増加が認められます。

● 検査方法

IVS法^{※2}によりPBMCの前培養を行った後、指定された抗原ペプチドを提示した蛍光標識MHC-ペプチド複合体 (MHCテトラマー) を用いて、それに結合した目的の抗原特異的T細胞を、フローサイトメトリーによって検出します。

※2：IVS法 (In vitro sensitization)

試験管内での抗原刺激によって、抗原特異的リンパ球の活性化や増殖を促す方法。



● 検査結果報告の内容

報告例：

検査結果

検体番号	ペプチド名/コード	HLA型	検査結果	
			MHCテトラマー陽性細胞の検出頻度 (%) [※]	
XXXX	URLC10	A*24:02	0.01	
YYYY	URLC10	A*24:02	5.65	

※CD8陽性T細胞中に存在する抗原ペプチド-MHC複合体を認識するT細胞の割合

NA：検査が実施できなかった場合

コメント

① MHCテトラマー陽性細胞の検出頻度

CD3陽性 CD4陰性 CD8陽性細胞中の、抗原ペプチド特異的MHCテトラマー陽性細胞の検出頻度を示します。

TCR/BCR レパトア解析

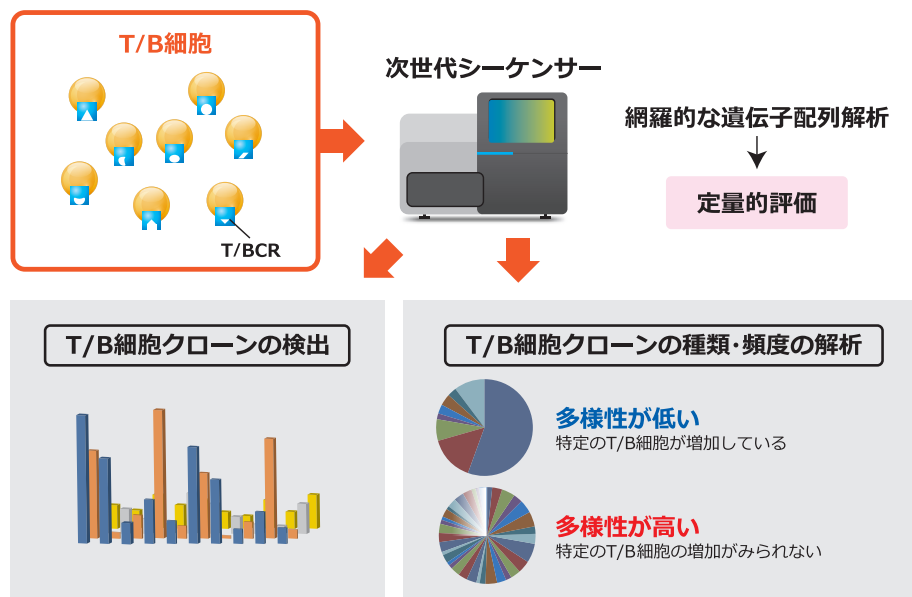
次世代シーケンス技術を用いた遺伝子解析により、検体中に存在する抗原を認識するT/B細胞受容体（TCR/BCR）の遺伝子情報（V遺伝子、J遺伝子、CDR3領域）、および各T/B細胞クローンの種類および頻度を網羅的に解析します。生体内の免疫状態はさまざまな疾患やその治療効果に関連しているため、「TCR/BCR レパトア解析」により疾患の状態や治療後の免疫細胞の変化を知ることができます。

（参考文献：Daiko, et al. Cancer Immunol Immunother. 2020. doi: 10.1007/s00262-020-02619-3.）

T/B細胞とTCR/BCR レパトア解析

T/B細胞は、細胞膜上に発現しているT/B細胞受容体（TCR/BCR）によって抗原を認識しています。T/B細胞はあらゆる抗原に反応するために、骨髄や胸腺で前駆細胞から分化・成熟する際に遺伝子をDNAレベルで組み替える「遺伝子の再構成」を行い、多様性を生み出しています。

「TCR/BCR レパトア解析」では、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析技術により、TCRやBCR遺伝子の配列を定量的に決定することで、組織や末梢血中のリンパ球の種類や頻度を詳細に解析します。免疫状態の変化のモニタリングや疾患に関連するリンパ球を同定する等、治療や診断のための有効手段となることが期待されています。



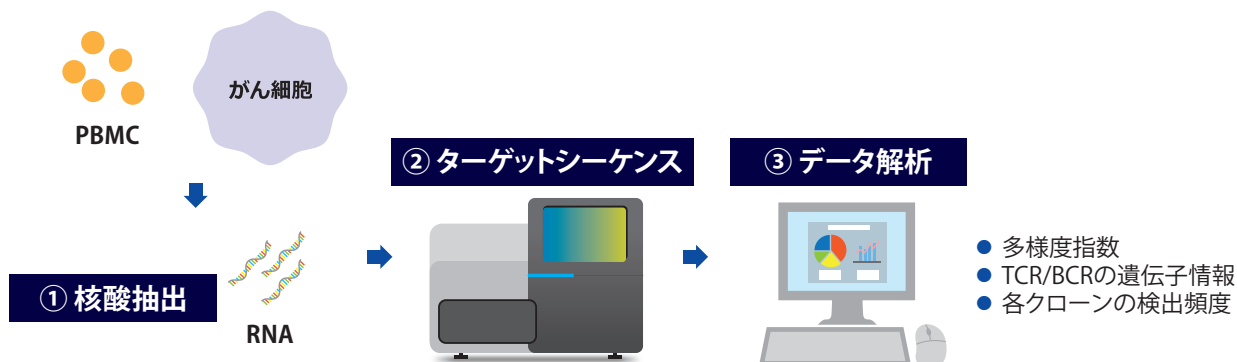
検査の利用例

- ・自己免疫疾患…疾患関連TCRの同定，免疫反応モニタリング
- ・がん（免疫）治療…治療効果の評価，腫瘍特異的TCRの検出
- ・臓器移植後の拒絶反応…移植後の免疫状態の評価，GVHD・GVLの予測
- ・感染症…ウイルス特異的TCR/BCRの同定
- ・食物・その他のアレルギー…アレルギー関連TCR/BCRの同定
- ・薬疹・薬剤誘導性肝障害…免疫応答の分子機構の解明

● 検査方法

検体 (PBMC, がん組織) から核酸 (RNA) を抽出し, 品質確認を行います。抽出したRNAを用いて, 単一プライマーセットを用いたターゲットシーケンスによりTCR/BCR由来の塩基配列を取得し, データ解析により多様性指数の算出やTCR/BCR遺伝子 (V遺伝子, J遺伝子, CDR3領域) の決定を行います。

(参考文献 : Fang, et al. Oncoimmunology. 2014; 3 (12) :e968467.)



TCR/BCR レポート解析のながれ

● 検査結果報告の内容

報告例1 :

①

シーケンス結果

検体名	TCRα		TCRβ	
	シーケンスリード数	T細胞受容体の種類	シーケンスリード数	T細胞受容体の種類
XXXX	23210	3744	70088	10374
YYYY	31607	7409	117400	17194

T細胞受容体の多様性指数[※]

②

検体名	TCRα	TCRβ
XXXX	491.1	556.9
YYYY	51.3	28.4

※T細胞受容体の多様性指数

多様性指数 高 : 多様性が高い (多くの種類のT細胞が存在している)

多様性指数 低 : 多様性が低い (特定のT細胞が増加している)

T細胞受容体の遺伝子情報（検出頻度上位10クローン）

検体名： XXXX

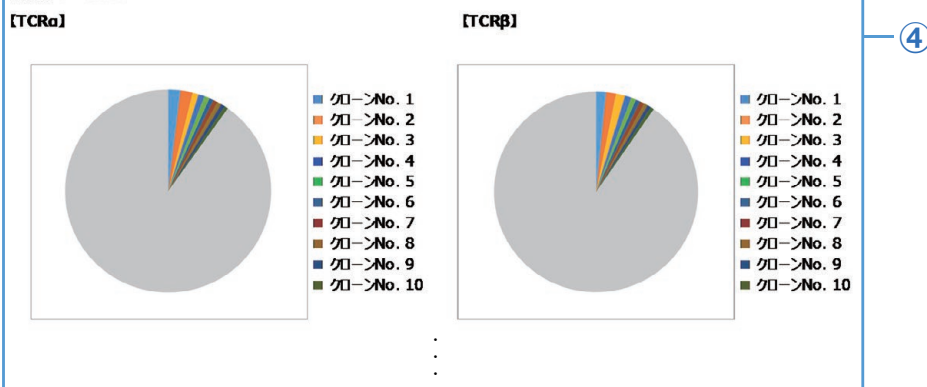
③

[TCRα]				
クローンNo.	V遺伝子	J遺伝子	CDR3領域のアミノ酸配列	検出頻度 (%)
1	TRAV12-2*01	TRAJ39*01	CALGSNMLTF	1.924
2	TRAV13-1*01	TRAJ15*01	CAMRGRAGTALIF	1.904
3	TRAV21*01	TRAJ39*01	CASPGRDAGNMLTF	0.954
4	TRAV10*01	TRAJ22*01	CAARAFSSGSGARQLTF	0.944
5	TRAV35*01	TRAJ37*01	CVVMASNTGKLIF	0.860
6	TRAV17*01	TRAJ42*01	CAFYGGSQGNLIF	0.692
7	TRAV21*01	TRAJ13*01	CAAPPPPGGYQKVTF	0.677
8	TRAV29/DV5*01	TRAJ26*01	CAYRSAWGQNFVF	0.667
9	TRAV22*01	TRAJ44*01	CAERATGTASKLTF	0.638
10	TRAV22*01	TRAJ37*01	CAAKSSNTGKLIF	0.563

[TCRβ]				
クローンNo.	V遺伝子	J遺伝子	CDR3領域のアミノ酸配列	検出頻度 (%)
1	TRBV27*01	TRBJ1-1*01	CASSLYLQNTAEFF	1.595
2	TRBV7-9*01	TRBJ1-1*01	CASSLYLQNTAEFF	1.552
3	TRBV3-1*01	TRBJ2-4*01	CSARDLREAAKNIQYF	1.453
4	TRBV27*01	TRBJ2-1*01	CASSLAGAPYNEQFF	1.002
5	TRBV3-1*01	TRBJ2-7*01	CASSPGTGGNEQYF	0.799
6	TRBV27*01	TRBJ2-7*01	CASSFPGQLNSGQYF	0.728
7	TRBV10-3*01	TRBJ2-1*01	CASSSGTGNNQFF	0.706
8	TRBV12-3*01	TRBJ2-1*01	CASSKDGSYNEQFF	0.590
9	TRBV15*01	TRBJ2-1*01	CASSIGGRQFF	0.573
10	TRBV12-4*01	TRBJ2-3*01	CSARPPGSTDTQYF	0.566

T細胞受容体クローンの頻度分布（検出頻度上位10クローン）

検体名： XXXX



④

①シーケンス結果

各検体のTCR/BCR各鎖 (TCR α , β , BCR IgG, IgM, IgA, IgD, IgE, IgL, IgK) について、シーケンスリード数および検出されたTCR/BCRの種類を示します。

②T (B) 細胞受容体の多様度指数

各検体のTCR/BCR各鎖 (TCR α , β , BCR IgG, IgM, IgA, IgD, IgE, IgL, IgK) について、その多様度を逆シンブソン指数で示します。

- ・多様度が低い (=多様度指数が小さい) ⇒ 特定のT/B細胞が増加している
- ・多様度が高い (=多様度指数が大きい) ⇒ 特定のT/B細胞の増加がみられず、多くの種類のT/B細胞が存在している

③T (B) 細胞受容体の遺伝子情報（検出頻度上位10クローン）

各検体のTCR/BCRの各鎖について、検出頻度上位10クローンの以下の遺伝子情報を示します。

- ・V遺伝子・J遺伝子の情報、CDR3領域のアミノ酸配列
- ・各クローンの検出頻度

④ T (B) 細胞受容体クローンの頻度分布 (検出頻度上位10クローン)

各検体のTCR/BCRの各鎖について、「TCR/BCRクローンの遺伝子情報」で示した上位10クローンの頻度分布を、円グラフで示します。各クローンの発現の偏りを視覚的に確認できます。

報告例2 (検査中止時) :

RNAの品質

検体名	材料	Total RNA量 (μg)	RNAの分解度 (RIN) ※	判定
XXXX	PBMC	1.2	9.4	検査継続
YYYY	PBMC	0.2	1.8	検査中止

※ RNAの品質目安

検体から抽出したRNAの品質を確認しています。

良好 A: RIN 6.0以上 (検査継続)

▼ B: RIN 3.0以上~6.0未満 (検査継続)

不良 C: RIN 3.0未満 (検査中止)

⑤ 核酸の品質 (検査中止時のみ)

核酸の品質が検査実施基準を満たさなかった場合に、検体から抽出した核酸 (RNA) の品質データを報告いたします。

検査方法の概略

■全エクソーム解析

ヒトゲノムのうちタンパク質をコードするエクソン領域(エクソーム)を選択的にキャプチャーし、効率的に解析する手法。疾患を引き起こす多くの遺伝子変異はエクソン領域に位置することが知られています。

■全ゲノム解析

ヒトゲノムを構成するDNAの塩基配列を全て解読すること。

■ターゲットシーケンス法

目的のゲノム領域のみを濃縮し、シーケンスによりそれらの塩基配列を決定する方法。

■デジタルPCR (Droplet Digital PCR) 法

核酸を高感度に絶対定量する解析方法。DNAサンプルをドロップレット中にランダムに分配し、ターゲット配列を含むドロップレットと含まないドロップレットを生成してPCRを行います。ドロップレット毎に独立したPCR反応が行われるため、増幅が検出されたドロップレットを陽性、増幅がなかったドロップレットを陰性として各ドロップレット増幅の有無を解析することで、サンプルに含まれるターゲット配列の正確な絶対定量測定を行います。

■フローサイトメトリー

蛍光色素で標識したモノクローナル抗体によって染色した細胞を、流路に整列させ流すことにより、照射したレーザー光を受けた細胞の蛍光、散乱光を検出し、細胞の大きさ、形状や細胞の内部構造、タンパク質や遺伝子等の情報から個々の細胞を解析する方法。

■ELISPOT (Enzyme-Linked ImmunoSpot) 法

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) をベースとして、特定の抗体やサイトカインを生成・分泌する免疫細胞を単一細胞レベルで検出する高感度な免疫モニタリング手法。

■NGS (Next Generation Sequencing ; 次世代シーケンス) 法

次世代シーケンサーを用いて、膨大な数の遺伝子の塩基配列を同時並行的に決定する方法。




■RNAシーケンス解析

細胞中に存在するすべての遺伝子転写産物(トランスクリプトーム)の配列・発現量を解析する手法。サンプル中のトランスクリプトームを網羅的に解析し、各遺伝子転写産物を定量することができます。従来のマイクロアレイ等の手法に比べ、RNAシーケンス解析はバックグラウンドが低く高精度です。

検体容器の取扱い方法

検体の採取量，提出量は11ページからの検査要綱ページを，検体の採取方法は各検査項目ページ「検体の採取・取扱い方法」をご確認ください。有効期間は目安とお考えください。

検体容器は，一部当社にて販売しております。購入をご希望の際は，次ページ「検体容器の購入方法」をご覧ください。本項に記載のない検体容器，試薬，資材については，担当者までお問い合わせください。

容器形態	検査項目	備考
BT2・BT7 真空採血管 EDTA-2Na入  BT2：2 mL用 BT7：7 mL用	[貯蔵] 室温 [有効期間] 2年 <ul style="list-style-type: none"> ・ネオアンチゲン解析 ・ネオアンチゲン解析[血液]， (Oncomine Pan-Cancer パネル解析) ・がん遺伝子変異解析 ・がん遺伝子発現解析 ・TCR/BCRレパトア解析 ・IFN-γ ELISPOT 解析 ・MHCテトラマー解析 	
CT2・CT5 滅菌クライオチューブ  CT2：2 mL CT5：5 mL	[貯蔵] 室温 [有効期間] なし <ul style="list-style-type: none"> ・ネオアンチゲン解析 ・ネオアンチゲン解析[血液]， (Oncomine Pan-Cancer パネル解析) ・がん遺伝子変異解析 ・がん遺伝子発現解析 ・cfDNA 定量検査 ・Oncomine Pan-Cancer パネル解析 ・デジタルPCR ・TCR/BCRレパトア解析 ・IFN-γ ELISPOT 解析 ・MHCテトラマー解析 	
MT2 滅菌スクリューキャップ マイクロチューブ  MT2：2 mL用	[貯蔵] 室温 [有効期間] なし <ul style="list-style-type: none"> ・IFN-γ ELISPOT 解析 ・MHCテトラマー解析 	

容器形態	検査項目	備考
<p>RL2 核酸安定化試薬入り マイクロチューブ</p>  <p>RL2 : 1.5 mL用</p>	<p>[貯蔵] 室温 [有効期間] 1年</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ネオアンチゲン解析 ・がん遺伝子変異解析 ・がん遺伝子発現解析 ・TCR/BCRレパトア解析 	<p>当社にて販売しております。 ご依頼方法は下記の「検体容器の購入方法」をご覧ください。</p>
<p>RT11 リキッドバイオプシー 専用採血管 (PAXgene)</p>  <p>RT11 : 10 mL用</p>	<p>[貯蔵] 高温、多湿、 直射日光を避け、 4℃～25℃ 冷蔵保管の場合は、 採血前に室内温度 15℃～25℃にな じませてください。</p> <p>[有効期間] 採血管貼付の ラベルに記載</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ネオアンチゲン解析 [血液]、 (Oncomine Pan- Cancerパネル解析) ・Oncomine Pan-Cancer パネル解析 ・デジタルPCR ・cfDNA 定量検査 	<p>[指定製品] 日本ベクトン・ディッキンソン社 パクスジーンDNA採血管 ccfdNA (医療機器認証番号： 219AFBZX00028000)</p> <ul style="list-style-type: none"> ・採血には、BDバキュティナ® セーフティロック™ ブラッドコレ クションセット(ホルダー付) の使用が推奨されています。 (医療機器認証番号： 220AFBZX00064000) ・当社にて販売しております。 ご依頼方法は下記の「検体容器 の購入方法」をご覧ください。

検体容器の購入方法

● ご依頼

ご希望のキットおよび個数を、下記の「ご依頼・検収連絡先」までメールにてご連絡ください。当社より受付完了のご連絡をいたします。

● 納品・検収

製品は、依頼受付より5営業日以内に発送いたします。受領後製品をご確認いただき、3営業日以内に下記の「ご依頼・検収連絡先」まで検収のご連絡をお願いいたします。(3営業日経過後ご連絡がない場合は、検収が完了したものとみなします。)

● 請求・支払

ご契約に従ってご請求申し上げます(原則として1ヶ月分をまとめてご請求申し上げます)。請求書記載の支払期日までに、指定の銀行口座に請求金額を振込にてお支払いください。

ご依頼・検収連絡先

support@cancerprecision.co.jp CPMクリニカルラボ 受付担当宛

研究グレードペプチド合成サービスについて

当社では、樹状細胞療法等にご利用いただける研究グレードの合成ペプチド（ネオアンチゲンペプチド、オンコアンチゲンペプチド）を販売しております。

● 取引きのお申込み

購入をご希望の際は、当社CPMクリニカルラボまでお問い合わせください。

当社担当者より、製品仕様、見積等についてご案内いたします。ペプチド提供委託契約締結後、お取引を開始いたします。

（ご連絡の際は、8ページ「12. 検査に関するお問い合わせ」をご覧ください）

● ご依頼

所定の「ペプチド合成依頼書」にご依頼内容をご記入いただき、下記の「ご依頼・検収連絡先」までメールにてご送付ください。当社より受付完了のご連絡をいたします。

● 納品・検収

製品は、メーカーより医療機関へ直送いたします（通常納期：受注受付日より2～3週間）。

製品発送時に、メーカーより発送のご連絡をいたします。

納品物は以下の通りです。

- ・ペプチド合成製品
- ・品質保証書

受領後納品物をご確認いただき、受領より3営業日以内に下記の「ご依頼・検収連絡先」までメールにて検収のご連絡をお願いいたします。3営業日経過後ご連絡がない場合は、検収が完了したものとみなします。

● 請求・支払

ご契約に従ってご請求申し上げます（継続してお取引いただくお客様は、原則として1ヶ月分をまとめてご請求申し上げます）。

請求書記載の支払期日までに、指定の銀行口座に請求金額を振込にてお支払いください。

ご依頼・検収連絡先

support@cancerprecision.co.jp CPMクリニカルラボ 受付担当宛

受付時間： 平日 9:00～18:00（土・日・祝日を除く）

12:00まで当日受付扱い。12:00以降のご依頼の場合は、翌日の受付となります。

● 販売可能なオンコアンチゲンペプチド

オンコアンチゲンペプチドは、以下のとおりご用意しております。

抗原名	HLA型						
	A2402	A0201	A0206	A1101	A3303	A0101	A0301
CDC45L	○						
CDCA1	○	○		○	○	○	○
CDH3	○	○					
DEPDC1	○	○	○	○	○	○	
ECT2		○					
FOXM1	○	○			○	○	
GPC3	○	○	○				
HIG2		○	○				
HJURP	○	○					
KIF20A	○	○					
KNTC2		○					
KOC1	○			○	○	○	○
MELK	○	○					
MPHOSPH1	○	○	○	○	○		
NEIL3	○	○	○				
RNF43	○	○					
SPARC	○						
TOMM34	○	○					
TOPK	○	○					
UBE2T	○						
URLC10	○	○	○	○			○
WDRPUH	○	○					
VEGFR1	○						
VEGFR2	○						

○：ご用意のあるオンコアンチゲンペプチド

参考文献一覧

● 検体採取方法・検体の取扱い

- 日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」(平成30年3月1日)

● がんプレシジョン医療

- Hacoen, et al. Cancer Immunol Res. 2013;1(1):11-5.
- Mizukami, et al, Cancer Sci. 2008;99(7):1448-54.
- Morisaki, et al. Immunol Invest. 2020:1-18.

● ネオアンチゲン解析・がん遺伝子変異解析・がん遺伝子発現解析

- Hacoen, et al. Cancer Immunol Res. 2013;1(1):11-5.
- Kato, et al. Oncotarget. 2018;13;9(13) :11009-11019.
- Cristescu R, et al. Science. 2018;362(6411).
- 日本臨床腫瘍学会, 日本癌治療学会, 日本癌学会
「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドンス」(2020年5月15日 第2.1版)
- Mizukami, et al, Cancer Sci. 2008;99(7):1448-54.
- Ohaegbulam, et al. Trends Mol Med. 2015;21(1):24-33.
- Hicklin, et al. Mol Med Today. 1999;5(4):178-86.

● リキッドバイオプシー (Oncomine Pan-Cancer パネル解析・デジタルPCR・cfDNA 定量検査)

- Tang, et al. Cell Biosci. 2016;6:32
- Suzuki, et al. Oncotarget. 2020; 11:3198-3207.
- Acuna-Hidalgo, et al. Am J Hum Genet. 2017 6;101(1):50-64.
- Chang, et al. Mol Oncol. 2020; doi: 10.1002/1878-0261.12727.
- 日本臨床腫瘍学会, 日本癌治療学会, 日本癌学会
「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドンス」(2020年5月15日 第2.1版)
- Newman, et al. Nat Med. 2014;20(5):548-54.
- Kustanovich, et al. Cancer Biol Ther. 2019;20(8):1057-1067.
- The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベース
<https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>
- HER2がんの特徴と治療戦略(乳がん, 胃がん, 胆管がん, 肺がん等) 医学のあゆみ
269 (3), 199-202, 2019-04-20
- Morris, et al. Science. 267(5196): 316-317, 1995
- Lin, et al. Mol. Cancer Res. 7: 1466-1476, 2009
- 日本肺癌学会「肺癌患者におけるALK融合遺伝子検査の手引き」(2021年10月20日 第4.0版)
- Charest, et al. Genes Chromosomes Cancer. 37(1): 58-71, 200
- Rikova, et al. Cell. 131(6): 1190-1203, 2007

- Lee, et al. Cancer 119: 1627-1635, 2013
- Birch, et al. PLoS One 6: e28250, 2011
- Jones, et al. Nat Genet 45(8): 927-932, 2013
- Stransky, et al. Nat Commun 5: 4846, 2014
- Leeman-Neill, et al. Cancer 120(6): 799-807, 2014
- Laé, et al. Mod Pathol 22(2) : 291-98, 2009
- Vaishnavi, et al. Nat Med 19(11): 1469-72, 2013
- Créancier, et al. Cancer Lett 365(1): 107-111, 2015
- Zehir, et al. Nat Med 23(6): 703-713, 2017
- Wiesner, et al. Nat Commun 5: 3116 791-798, 2014

● 免疫反応解析 (IFN- γ ELISPOT 解析・MHC テトラマー解析・TCR/BCR レパトア解析) —————

- Kono, et al. J Transl Med. 2012;10:141.
- Yoshitake, et al. Clin Cancer Res. 2015;21(2):312-21.
- Daiko, et al. Cancer Immunol Immunother. 2020. doi: 10.1007/s00262-020-02619-3.
- Fang, et al. Oncoimmunology. 2014; 3(12):e968467.



株式会社Cancer Precision Medicine

(キャンサープレジジョンメディスン, 略称:CPM)

〒210-0005

神奈川県川崎市川崎区東田町1番地2

CPMクリニカルラボ

(川崎市指令健医第288号 衛生検査所登録第293号)

〒210-0821

神奈川県川崎市川崎区殿町3丁目25番10号

Research Gate Building TONOMACHI2 1F

電話番号:044-201-8092

Email(各種お問い合わせ):support@cancerprecision.co.jp

営業時間:平日 9:00~18:00(土・日・祝日を除く)

HP:<https://www.cancerprecision.co.jp/>

2023年11月版(LAB/GUI/GUI01-03)