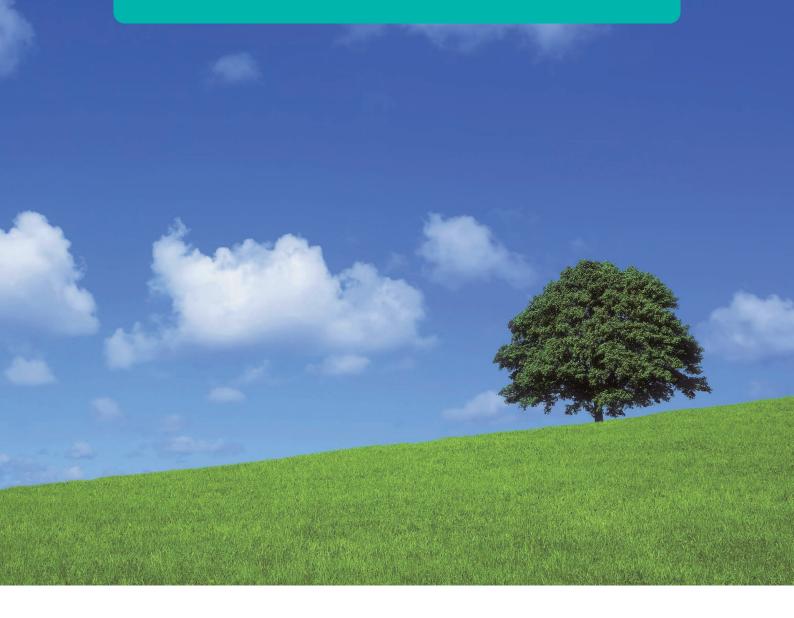
検査案内 2021-2022

がんプレシ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、全従業者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. お問合せ窓口

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	解析・がん遺伝子発現解析 11 HCテトラマー解析・TCR/BCRレパトア解析〉 27 HCテトラマー解析・TCR/BCRレパトア解析〉 33 デノム医療 35 デノム医療 36 A体診 37 W 47 A 47 A 53 A 検診 58
略称一覧⋯⋯		9
掲載内容・検	査項目欄の見方・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	10
ネオアンチゲ	・シ解析・がん遺伝子変異解析・がん遺伝子発現解析	11
リキッドバイ	゚オプシー・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	21
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〉······	27
ウイルス感染	症検査 ····································	33
-はじめに-・	査結果について 	
2.	がんと遺伝子・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	36
1. 2.	ゲン解析・がん遺伝子変異解析・がん遺伝子発現解析 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	38 47
1. 2.	イオプシー -血液によるがん検診- · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	62 71
1. 2.	析・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	81 86
ウイルス感	染症検査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	100 111 211 27 33 35 36 37 38 47 53 58 62 71 75 81 81 86 89 93 95 99
検体容器の取	扱い方法······	95
研究グレード	`ペプチド 合成サービスについて・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	98
研究目的の受	託解析サービスについて・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	99
参老文献一覧	· [···································	01

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。(ご連絡の際は、裏表紙をご覧ください。) 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。

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、所定の集荷依頼書に検体数等必要事項をご記入のうえ、下記送付先までメールにてご連絡ください。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) 記入例:

									施設担当者	輸送抗	旦当者	CPM 受	付担当者	精度管理	里責任者	管理者
Cancer Precisi Medicir	DD 按从四部,施	投送日誌	及び検	体受付	• 仕分作	非業日 語	ŧ		2018/8/16	,	/ /	,	/ /	,	′ /	/ /
#=== I*					受領・	搬送(太	枠内を施設!	てご記入く	ださい)						受	:付
施設コード (もしくは施設名)	受領時刻	依頼書				検	本数				保存別	検体数		照合	検査	作業終了時刻
(00 (1000)	X (See as) Xs)	枚数	総数	細胞	組織	FFPE	血漿	全血	その他	室温	冷蔵	冷凍	超冷凍	結果*	項目	11-26-16-1
CL001		3	7	2	4			1			6		1			
種類別検体総数				2	4			1					`			
搬入日時	/ /	,			搬出	日時		/	/ ,	:			*依頼書	と検体が-	一致してい	れば√を記入す
【 例】下記の依頼書① 腫瘍	をお願いいたしま 類内容の場合、記 §サンプル: 組織(*サンプル: PBMC(入は赤字 冷蔵)	2本		इ	動車行	搬送手段車 □鉄: 費 □鉄:		検体に	関して特に			場合に、	ご利用く	ださい	
	依頼書② 腫瘍サンプル: 組織(冷蔵) 1本 記録及び処理記録事項 申し送り事項・その他備考 正常サンプル: PBMC(細胞、冷蔵保存) 1本															
	易サンプル: 組織(*サンプル: 全血(
TE	, , ,				検査項	目:NA:	がん遺伝	子変異 P	A:がん遺伝子パネ	ル TB:	TCR/BCR	EL : E	L ISPOT	TE : M H	こテトラマ	-

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, 痘瘡, 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)

また、可能な限り感染症検査の実施をお願いいたします。特定感染症患者を除く、ウイルス性疾患および細菌等感染症患者もしくは同感染症が疑われる患者の検体については、検査依頼書中の「検体の感染性」の項目にご記入ください。

4. 検体容器について

検体容器については、95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」を記入し、提出容器に 貼付してください。



6. 検体の保管期間および返却

検査終了後の残余検体は、検査結果の検収より30日間保管いたします。ただし、新型コロナウイルス検査など一部の検査につきましては、1週間保管とさせていただきます。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)。

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解ください。

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)

	•	Cance	r				検体送付担当						
	Ď	Precis Medici	ion 検	查依	頼書					対担当者にお渡 ・・・	しください。 CP	M管理No.	
	•						コヒー1部を	貴施設にて保	官してくたる	*********			
施設名			8 W			施設コード	272729	患者ID			個人名は記載しない	ようお願いいた	たします
	ABC	こクリ	ニック			CL:	123		123456	5			
科名					検査依頼日			性別	$\overline{}$		生年月日 (西暦)		
	OC)科			2020	0年 1月	23日	(男)・:	女	1956年	12月 3日	
担当医					連絡先			検体採取日			時刻		
	OC) C	00		03-	123-456		20	020年	1月	22日	11時	00分
検体の	感染性							【遵守事項	頁のご確認】				
無								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,	,
V	▼ 有 (B型肝炎・C型肝炎・HIV・結核・その他:)										セントが得られたこ	とを確認され	た
						1990		担当医	師のご著名を	をお願いいたし	ます。		
	英語*	での検	查結果報告	を希望	する			202	20 年	1 月	22 日		
	※英語・	での検査	結果報告を希望	される場	合は、各欄を募	英語でご記入くだ	et い。				00 00		
9								担当医師	名(自筆)				
(/++	医山田	,											
L14XR	質内容がん種						採取部位				病期		
	カル油	<u> </u>	大腸がん				1米4火口り1工	原発巣			7/3:40		
			人物ルカ	<i>U</i>				原 光果				ATT DE WA	
		☑]腫瘍組織(✔核	後安定化試薬	薬・冷蔵 □	核酸安定化詞	忧薬除去後, >	令凍超	2冷凍)	検体数	細胞数	
			腫瘍細胞(一核酸	 安定化試達	▼・冷蔵 🗆	核酸安定化詞	(薬除去後)	令凍 □ 起	3冷凍)			
				_									
소	8#6		FFPEパン	チング	(室温	冷蔵)					2		
7	腫瘍検体		FFPEスラ	11 (室温	冷蔵)					(<u>*</u>)	ttr .	cells/本
ネオアンチゲン解析	体		用金が立	部の確	第 十注	ППС	●色スライドは	シトが暗炉立	フーキング	*両偽 「	すべて使用する		
シ解		FFF		印ひが性	心力本	Пися	EBA / 1 F4	っよい胆物部	V-4 //	画隊	」,へく使用する	()理/場面30%	0以上)
析			よする GP7 #C-			RNA	シーケンスを	実施する(1	135)				
1100		場	合 解析:	力压		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					
			1	T+##	のウウルチャ	t . \\		武薬除去後,冷凍 超冷凍) 検体数 細胞数					
		_]正吊粗碱(《女正化訊》	E * /市戲	核酸女正化却	《荣际去饭, /	市県匹	2万课)		100000000000000000000000000000000000000	
	対昭		血液 (超冷	凍)							1	1×	10^{6}
	対照検体	l ⊽]正常細胞(▽核酸	 	変・冷蔵 🗆	核酸安定化詞	大薬除去後,)	令凍 □超	3冷凍)			11 /-
	1000			20 00000							(*)	XI C	cells/本
		解析消	みの対照デー	タをご	利用の場合,	該当の検査番	号(1101)						
ネオア	ンチゲ	ン解析	追加データ解	肾析	✔ 遺伝	子変異解析	(1110)		遺伝子発現	見解析(1120))		
									冷	蔵:2°C~8°C	冷凍:-25°C~-15°C	超冷凍:-85°	C~-70°C
	検体受領日 (8桁) 施設コード												
0													
CPM記入欄	項目	No.	検体No.			保管場所							
光	B.I.A.		腫瘍T	冷蔵庫	・超低温フリー	ザー							
1070	NA		対照C	冷蔵庫	・超低温フリー	ザー							
	担	<u> </u> 当者		/ /	,								
グレー	部分は検	查No.											

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(継続してお取引きいただくお客様は,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。

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(ご連絡の際は、裏表紙をご覧ください)。

13. 倫理指針について

当社では、「ヒトゲノム・遺伝子解析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)、「人を対象とする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)、「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「ファーマコゲノミクス検査の運用指針」(日本臨床検査医学会、日本人類遺伝学会、日本臨床検査標準協議会)等の指針およびガイドラインを遵守し、検査を受託しています。

略称一覧

略称	正式名称
CTL	細胞傷害性 T 細胞(Cytotoxic T lymphocyte)
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)
HLA	ヒト白血球型抗原(Human leukocyte antigen)
MHC	主要組織適合遺伝子複合体(Major histocompatibility complex)
PBMC	末梢血単核球(Peripheral blood mononuclear cells)

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95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	検体
(必要量)	容器
PBMC $(1 \times 10^6 \text{ cells})$	BT7 遠心分離 ↓ CT2

検体容器BT7に血液を採取し、遠心分離後、PBMC 1×10⁶ 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ご依頼の場合は、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、正確なま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)
μL	microliter (=10 ⁻⁶ L)
mg	milligram (=0.001 g)
ng	nanogram (=10 ⁻⁹ g)

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

ネオアンチゲン解析・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

がん遺伝子発現解析

→ 「腫瘍検体」のみご提出ください。

検査項目名	項目 コード		検査材料名 (必要量)	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
	1100	腫瘍検体※1	腫瘍組織 (30 mg 片 2 個 もしくは 3 mm 角 4 個程度)** ² 腫瘍細胞** ³ (2 × 10 ⁶ cells 以上を 2 本)	RL2 CT2	13 1511 = 7 1 1176 (1 1 1 5 7				NB/- 7 - 7- FB #4-
ネオアンチゲン 解析	対照なし 1101		未染色 FFPE スライド ^{※ 4, ※ 5} (必要量は※ 6)	_	冷蔵 (薄切後 6 週間)	1ヶ月		全エクソーム解析 RNA シーケンス	・遺伝子変異数 ・アミノ酸置換遺伝子 変異数 ・HLA 型
月年17月			血液 (2 mL)	BT2	超冷凍(1年)			解析	・HLA 空 ・ネオアンチゲンペプチ
	FFPE 1135	対照検体(正常検体)	正常細胞 (PBMC 等, 2 × 10 ⁶ cells 以上を 2 本) 正常組織 (30 mg 片 2 個 もしくは 3 mm 角 4 個程度) ^{※2}	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) ・液体窒素凍結後, 超冷凍(1年)				ドリスト

検査項目名	項目コード	1000 10		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	1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
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	1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
ネオアンチゲン解析 (追加データ解析 遺伝子変異解析) ネオアンチゲン解析の検査結果を利用し, データ解析を行います。	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, データ解析を行います。	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,14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検収より 2 年間)の場合に実施可能です。

検査項目名	項目 コード		検査材料名 (必要量)	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
L) / ±/- 7	1140	腫瘍検体※1	腫瘍組織 (30 mg 片 2 個 もしくは 3 mm 角 4 個程度)** ² 腫瘍細胞** ³ (2 × 10 ⁶ cells 以上を 2 本) 未染色 FFPE スライド** ⁵	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) ・液体窒素凍結後, 超冷凍(1年)				・遺伝子変異数・アミノ酸置換遺伝子
がん遺伝子変異解析	対照なし 1141		(必要量は※ 6) 血液 (2 mL)	BT2	(薄切後 6 週間) 超冷凍 (1 年)	1ヶ月	未収載	全エクソーム解析	変異数 ・DNA ミスマッチ修復
	1141	対照検体(正常検体)	正常細胞 (PBMC 等, 2 × 10 ⁶ cells 以上を 2 本) 正常組織 (30 mg 片 2 個 もしくは 3 mm 角 4 個程度)** ²	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) ・液体窒素凍結後, 超冷凍(1年)				遺伝子変異 ・適応薬剤候補

検査項目名	項目 コード		検査材料名 (必要量)	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 FFPE 1155	腫瘍検体※1	腫瘍組織 (30 mg 片 2 個 もしくは 3 mm 角 4 個程度)*2 腫瘍細胞*3 (2 × 10 ⁶ cells 以上を 2 本)	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) ・液体窒素凍結後, 超冷凍(1年)	1ヶ月	未収載	RNA シーケンス 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, 14ページ「がん遺伝子
			未染色 FFPE スライド ^{※ 5} (必要量は※ 6)	_	冷蔵 (薄切後 6 週間)				発現解析 対象遺伝子」 をご参照ください。)

冷蔵:2℃ \sim 8℃ 冷凍:-25℃ \sim -15℃ 超冷凍:-85℃ \sim -70℃ 室温:9℃ \sim 30℃ 検体採取方法については,17 ページ「検体の採取・取扱い方法」をご確認ください。

- ※ 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。
- ※ 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:FFPE 検体からのネオアンチゲン解析方法については、次ページ「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。
- ※ 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。

検体の品質確認について

検体から核酸(DNA および 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。

- ・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。)
- ・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、DNA もしくは 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

FFPE 検体からのネオアンチゲン解析について(前ページ※4)

FFPE 検体を使用する場合は、解析方法は以下より選択してください。(詳細は 40 ページ「FFPE を用いた検査について」をご参照ください。)

- ・RNA シーケンス解析を実施し、発現レベルを解析する(項目コード:1135) FFPE 専用試薬を使用し、RNA シーケンス解析を実施します。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 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する(項目コード: 1100) 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。

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。対照検体を再度で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。

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

(次ページへつづく)

ICOS

LAMP1 (CD107a) TNFRSF9 (4-1BB)

(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	1	TNFRSF10B
	CCL2	1	TNFRSF10C
	CCL20	1	TNFRSF10D
	CCL21		TNFRSF11A
	CCL22	1	TNFRSF11B
	CCL4	1	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	CTLA4
	IL17A	(制御性T細胞)に関連する	FOXP3
	IL17RB		TGFB1
	IL23A		BTLA
	IL6	(T細胞の活性化抑制に関連	C10orf54 (VISTA,VSIR)
	PRF1	■ する遺伝子) ■	CD274 (PD-L1)
	TBX21		CD276
	TGFB2]	HAVCR2 (TIM3)
	TGFB3	<u> </u>	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)]	

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、98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。



検体容器には、所定の検体ラベルを貼付してください。(4ページ「ご利用の手引き」参照)

検体採取方法・検体の取扱い (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)

● 組織検体(腫瘍組織・正常組織)-

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	・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 ^{※ 1} ※ 1: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	 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	・液体窒素・滅菌クライオチューブ(検体容器 CT2)
手順	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。 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)。

● 細胞(腫瘍細胞・正常細胞(PBMC等))-

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	・核酸安定化試薬 ^{※ 2} ※ 2: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	 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	・液体窒素 ・滅菌クライオチューブ(検体容器 CT2)
手順	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。 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)。

● 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」)

1. 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 ^{※3}					
固定後の保管	室温(多湿を避け、冷暗所が望ましい)					
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					

※ 3: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^{※4}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。

※4: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. FFPE スライド(未染色 FFPE 標本)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、検体でとにミクロトーム刃を交換して 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 μ m, 腫瘍部 1.5 cm imes 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、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。)

リキッドバイオプシー

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)	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
リキッド バイオプシー パネル解析 ^{※ 1}	2100	血漿および バフィーコート (血漿:5 mL×2本, バフィーコート: 採取した全量) 血液	BT7 遠心分離 ↓ 血漿・バフィーコート : CT5	超冷凍 (1年) 18℃~25℃	2 週間	未収載	ターゲット シーケンス法	・cfDNA 抽出結果 ・遺伝子変異検出 頻度 ・適応薬剤候補 ・品質確認結果
		(20 mL 以上 ^{※ 2})	-	(5日)				
リキッド バイオプシー デジタル PCR 法* ³	2200	血漿 (5 mL × 2 本)	BT7 <mark>遠心分離</mark> ↓ CT5	超冷凍 (1年)	2週間:	未収載	デジタル PCR 法	・cfDNA 抽出結果 ・遺伝子変異検出 頻度 ・品質確認結果
)) » / V I CN /Z		血液 (20 mL 以上 ^{※ 2})	RT10	18℃~ 25℃ (5 日)				
cfDNA 定量 検査 ^{※ 4, ※ 5}	2151	血漿および バフィーコート (血漿:5 mL×2本, バフィーコート: 採取した全量)	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	・cfDNA 濃度 ・品質確認結果
		血液 (20 mL 以上 ^{※ 2})	RT10	18℃~ 25℃ (5 日)				
リキッド バイオプシー パネル解析・cfDNA 定量検査後 ^{* 4}	2152	(不要)※4	_	_	2 週間	未収載	ターゲット シーケンス法	・cfDNA 抽出結果 ・遺伝子変異検出 頻度 ・適応薬剤候補 ・品質確認結果

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^{※6} リキッドバイオプシー(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	・遺伝子変異リスト ・関連治療情報 ・臨床試験情報

超冷凍:-85℃~-70℃

検体採取方法については、24ページ「検体の採取・取扱い方法」をご確認ください。

- ※ 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、「リキッドバイオプシー(パネル解析・cfDNA 定量検査後)」をご依頼ください。
- ※ 2: リキッドバイオプシー専用採血管(検体容器 RT10, 容量 8.5 mL)に血液を 3 本採取してください。
- ※ 3:「リキッドバイオプシー(デジタル PCR 法)」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。

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.l195T
	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

※ 4:「cfDNA 定量検査」実施後、3 か月以内に「リキッドバイオプシー(パネル解析)」を行う場合は、「リキッドバイオプシー(パネル解析・cfDNA 定量検査後)」をご依頼ください。(検査内容は「リキッドバイオプシー(パネル解析)」と同一です。)

「cfDNA 定量検査」で抽出された cfDNA を利用するため、再度検体を提出する必要はありません。

- ※5:以下の場合は検査結果が高値となる場合があり、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、過度な運動
- ※ 6: 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。

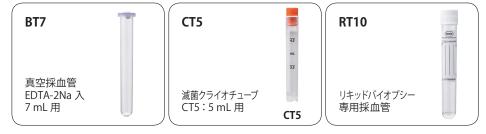
検体の品質確認について

核酸(Cell-free TNA;cfTNA もしくは Cell-free DNA;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。(品質基準の詳細は,64ページ「偽陽性の確認について」をご参照ください。)

- ・核酸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、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

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、何らかの遺伝子変異が検出された場合は、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再度パネル解析(偽陽性確認検査)を実施します。(詳細は 64 ページ「偽陽性の確認について」をご参照ください。)



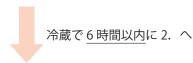
検体容器には、所定の検体ラベルを貼付してください。(3ページ「ご利用の手引き」参照)

検体採取方法・検体の取扱い(リキッドバイオプシー)

● 血漿およびバフィーコート -

1. 採血 真空採血管 (EDTA-2Na 入り, 検体容器 BT7) にて血液 20 mL 以上を採取してください。

●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。



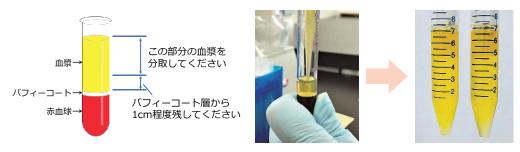
- **2. 遠心分離** 2,000 G, 4℃にて 10 分間遠心してください。
 - ●遠心機回転数の計算式

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

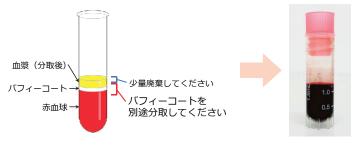
r:遠心機のローター半径 (cm)

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、遠心チューブ(15 mL 用) 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, 再度遠心してください。
- **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。



●「リキッドバイオプシー(デジタル PCR 法)」の場合は,バフィーコートは提出不 要です。

【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

1. 採血 リキッドバイオプシー専用採血管(検体容器 RT10)にて血液を採取してください。



(採血管 3 本,血液 20 mL 以上)

- ●図の最高量,最低量の間で血液を採取してください。 範囲外の場合,血液と添加物の比率が変化するため,正確 な結果が得られない可能性があります。
- 2. 転倒混和 採血管を<u>ゆっくり8~10回程度転倒混和してください</u>。採取した検体は、立てた状態で提出まで18℃~25℃で保存してください。



3. 検体の提出 検体は、採血から 5 日以内に 18 \mathbb{C} \sim 25 \mathbb{C} にてご提出ください。採取後 5 日以内にご提出いた だけなかった場合は、正確な結果が得られない可能性があります。

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〉

IFN-γ ELISPOT 解析・MHC テトラマー解析

各項目について、「PBMC」および「抗原ペプチド」の両方をご提出ください。

検査項目名	項目 コード	検査材料 および試料名 (必要量)	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- <i>y</i> ELISPOT	3200	PBMC (抗原ペプチド 1 種類 あたり 3 × 10 ⁶ cells)	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	・抗原ペプチド特異的免疫反応判定		
解析		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)			ELISPOT 法	・抗原ペプチド特異的スポット数	
MHC テトラマー 解析※ ¹ (IVS/ 解析)	3300	PBMC (抗原ペプチド 1 種類 あたり 6 × 10 ⁶ cells)	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	1ヶ月	1ヶ月 未収載	IVS 法	MHC テトラマー陽性 細胞の検出頻度
		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)			フローサイトメトリー法	(%)	

冷凍:-25℃~-15℃ 超

超冷凍:-85℃~-70℃

検体採取方法については、28ページ「検体の採取・取扱い方法」をご確認ください。

※ 1: HLA-A*24:02 および HLA-A*02:01 のみを検査対象とします。

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:別途最適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。



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)

検体採取方法・検体の取扱い(IFN-γ ELISPOT 解析・MHC テトラマー解析)

PBMC —

リンパ球比重分離液 Ficoll-Paque 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

- Ficoll-Paque
- DPBS
- 細胞凍結保存溶液
- ・50 mL 遠心チューブ
- ・凍結処理容器
- 1. 真空採血管 (EDTA-2Na 入り, 検体容器 BT7) 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。
- 2. 50 mL 遠心チューブに Ficoll-Paque を分注し、DPBS にて 2 倍希釈した血液を重層してください。
- 3. 900 G, 20℃にて 30 分間遠心後, DPBS 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。

手順

- 4. 回収した PBMC に DPBS 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。
- 5. 上清を除去後, ペレットを 30 mL の DPBS に懸濁し, 400 G, 20℃にて 5 分間遠心してください。
- 6. 上清を除去後, ペレットを 30 mL の DPBS 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。
- 7. 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。
- 8. 凍結処理容器を用いて超冷凍 (-85℃~-70℃) にて予備凍結後, 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)

●採血量の目安

血液 1 mL あたり PBMC 1 × 10⁶ cells 程度

→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。

(分離できる PBMC 数には個人差がありますので、ご留意ください。)

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)

TCR/BCR レパトア解析

検査項目名	項目コード	検査材料名 (必要量)	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 ^{※ 1} [血液]	3101	PBMC (5 ~ 10 × 10 ⁶ cells を 2 本)	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)	1ヶ月	未収載	ターゲット シーケンス法	・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 ^{※1} [組織]	3102	組織 (30 mg 片 2 個もしくは 3 mm 角 4 個程度) ^{※3}	RL2 CT2	・液体窒素凍結後, 超冷凍(1年)				
BCR レパトア 解析 ^{※ 2} [血液]	要問合	PBMC (5 ~ 10 × 10 ⁶ cells を 2 本)	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)	1ヶ月	未収載	ターゲット シーケンス法	・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 ^{※ 2} [組織]	要問合	組織 (30 mg 片 2 個もしくは 3 mm 角 4 個程度)** ³	RL2 CT2	・液体窒素凍結後, 超冷凍(1年)				

冷蔵:2℃~8℃ 冷凍:-25℃~-15℃ 超冷凍:-85℃~-70℃

検体採取方法については、30ページ「検体の採取・取扱い方法」をご確認ください。

% 1: TCR α および β を解析いたします。

※ 2:以下の解析項目から選択してください。

BCR:重鎖・・・lgG, lgM, lgA, lgD, lgE

軽鎖・・・lgL, lgK

※3: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。

- ・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



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)

検体採取方法・検体の取扱い(TCR/BCR レパトア解析)

● PBMC —

リンパ球比重分離液 Ficoll-Paque 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	

- Ficoll-Paque
- DPBS
- ・50 mL 遠心チューブ
- 1. 真空採血管 (EDTA-2Na 入り, 検体容器 BT7) 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。
- 2. 50 mL 遠心チューブに Ficoll-Paque を分注し、DPBS にて 2 倍希釈した血液を重層してください。
- 3. 900 G, 20℃にて 30 分間遠心後, DPBS 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。

手順

- 4. 回収した PBMC に DPBS 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。
- 5. 上清を除去後,ペレットを DPBS の 30 mL に懸濁し,400 G,20℃にて 5 分間遠心してください。
- 6. 上清を除去後, ペレットを DPBS 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。
- 7. 上清を除去後、分離した PBMC を 18 ページ「細胞」の保存方法にて保存してください。

備考

●採血量の目安

血液 1 mL あたり PBMC1 × 10⁶ cells 程度

→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。 (分離できる PBMC 数には個人差がありますので、ご留意ください。)

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)

● 組織検体

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

・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*1 ※1: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)
- 1. 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)
- 2. 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 μ L 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。
- 3. 冷蔵で一晩浸漬してください。
- 4. 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

- 液体窒素
- ・滅菌クライオチューブ(検体容器 CT2)

手順

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。

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)。

ウイルス感染症検査

検査項目名	項目コード	検査材料 (必要量)	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
新型コロナ ウイルス検査 (RT-PCR 法) ^{※1}	2801	唾液 (0.8 mL)	DT1	冷蔵(48 時間)	2日	未収載	RT-PCR 法	ウイルス検出の有無

冷蔵:2℃~8℃

※ 1:本検査は、無自覚・無症状、および非濃厚接触者の方を対象とし、スクリーニングを目的として実施しています。 熱やせきなどの新型コロナウイルス感染が疑われる症状がある場合は、各自治体の保健所にご相談いただくか、 厚生労働省より指定された検査機関をご利用いただくようお願いいたします。

〔参考〕 厚生労働省 新型コロナウイルス感染症関連サイト

URL: https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000164708_00001.html



検体容器へのラベル貼付については、別途当社へご相談ください。

検体採取方法・検体の取扱い(ウイルス感染症検査)

- 1. 自然に口腔内に分泌される唾液を、口の中にためてください。 $(1 \sim 2 \text{ })$ 間程度)
- 2. 採取用チューブ(検体容器 DT1)に付属の漏斗を使い、静かに垂らすようにして唾液をチューブに流し込んでください。

検査にはサラサラした水に近い唾液が理想的です。

3. 0.8 mL の唾液を採取してください。

【ご注意】

- ・採取の採取の30分前(最低10分以上前)から、水以外の飲食や喫煙はしないでください。(水の摂取は問題ありません。)
- ・上記飲食や喫煙のほか、下記のものはお控えください。これらには殺菌剤が含まれている場合があり、ウイル スを破壊して検査結果に影響する可能性があります。
 - ・マウスウォッシュ ・うがい薬 ・のど飴, トローチ, ミントタブレット, ガム等 ・のどスプレー
 - 歯磨き

検査概要・検査結果について

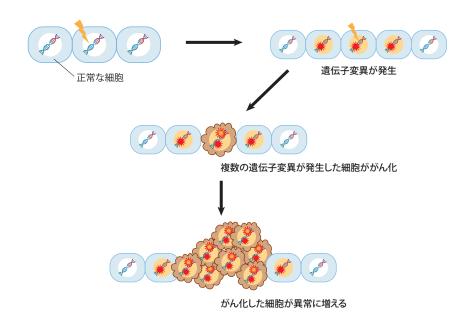
各検査項目の概要と、検査結果の見方について解説いたします。

はじめに

1. がんと遺伝子

人間の体は、たくさんの細胞からできています。細胞の中にある遺伝子 (DNA) は体をつくる設計図となるもので、 人間の体はこの遺伝子の指令に基づいて維持されています。

がんは、体の設計図である遺伝子が変化(変異)することによって起こります。遺伝子の変異が積み重なることで細胞ががん細胞となり、異常に増え続けることで体にさまざまな影響を及ぼします。



がんが発生するメカニズム

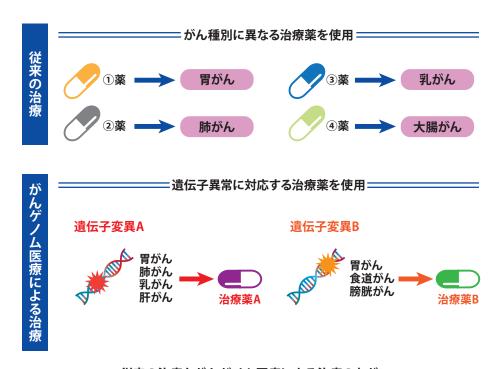
がん細胞のどの遺伝子に変異が起きているのかは、患者さんによって異なっています。しかし、多くの人で変異 が起きやすい箇所があり、特定の遺伝子変異を標的にした治療薬の開発が進んでいます。

2. プレシジョン※医療とがんゲノム医療

「プレシジョン医療」は、個々の患者さんに、最適な医療を、最適なときに提供する医療です。近年注目されている「がんゲノム医療」はこの「プレシジョン医療」のひとつで、患者さん自身のがんの原因となる遺伝子の変異に基づいて診断や治療を行う医療です。

※プレシジョン(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、「プレシジョン・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、日本でも知られるようになりました。

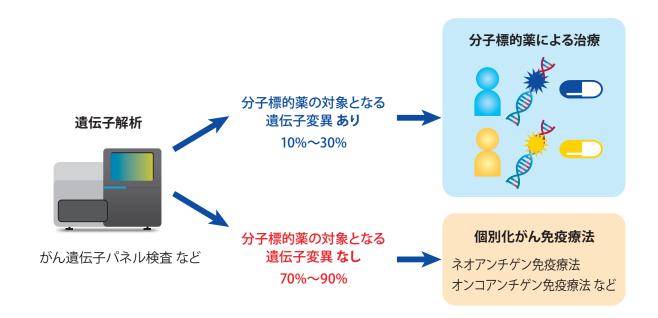


従来の治療とがんゲノム医療による治療のちがい

これまでのがん治療では、がんの発生した臓器でとに治療薬が決められていました。しかし近年、同じ遺伝子異常のタイプであれば臓器の種類にかかわらず同じ治療薬の効果が期待できることから、遺伝子異常の情報に基づいて治療薬を選択する「がんゲノム医療」が注目されています。

3. 個別化がん免疫療法

患者さんそれぞれの遺伝子の情報に基づいて治療薬を選択することができれば、高い治療効果を期待することができます。その一方で、がん遺伝子パネル検査*等の遺伝子検査でがんの異常に合った既存の治療薬(分子標的薬)が見つかる患者さんは、ごく一部(およそ 10%~30%)といわれています。そこで、既存の治療薬が見つからない患者さんには、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た個別化がん免疫療法が注目されています。



遺伝子解析による個別化医療

ネオアンチゲンは、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で、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.)。また、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、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.)。たくさんの遺伝子情報を調べることができる次世代シーケンスという技術によって、がんの膨大な遺伝子異常の情報からネオアンチゲンや個々の患者さんで発現しているオンコアンチゲンを見つけることができるようになりました。見つけたネオアンチゲンやオンコアンチゲンを利用することで、その患者さんに合った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を「がん遺伝子パネル検査」といいます。検査には 次世代シーケンスという技術が用いられ、一般的に数十~数百の遺伝子について解析します。

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

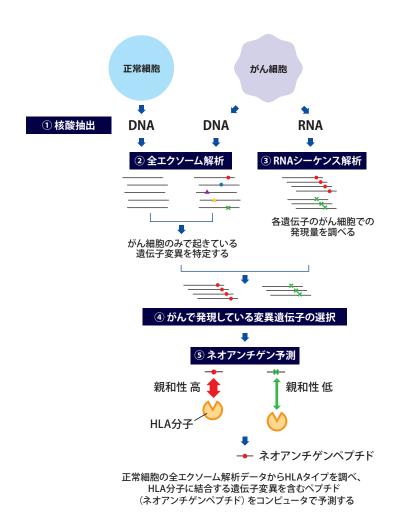
当社では、次世代シーケンス技術を用いたがん遺伝子の網羅的解析により、がん免疫療法の標的候補や分子標的薬 を探索する検査として、「ネオアンチゲン解析」、「がん遺伝子変異解析」、「がん遺伝子発現解析」を行っています。

1. 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(腫瘍組織等)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を行います。それぞれ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

腫瘍検体(がん細胞)と対照検体(正常細胞)から DNA を、腫瘍検体から RNA 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。(13 ページ「検体の品質確認について」参照)

〔品質基準〕 DNA: 収量 200 ng 以上および DIN 6.0 以上

(FFPE 検体の場合は収量 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

② 全エクソーム解析※1

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。得られた両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、がん細胞のみで起きている遺伝子変異を特定します。

※ 1:全エクソーム解析

全エクソーム解析は、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(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です。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。

③ RNA シーケンス解析※2

腫瘍検体からゲノム DNA と同時に抽出した RNA を用い, RNA のシーケンシングを行います。得られた RNA シーケンスデータを対照検体のシーケンスデータと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の発現量を確認します。

※ 2:RNA シーケンス解析

RNA シーケンス解析は、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です。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。

④ がんで発現している変異遺伝子の選択

全エクソームシーケンスデータと RNA シーケンス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スデータから患者さんの持つ HLA 型を調べ、さらにアミノ酸置換を伴う一塩基変異 (SNV) に由来するペプチドのうち、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**3。

※3: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

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 検体専用試薬にて 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 *4 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)。

推奨される FFPE 検体の作製方法については、17ページ「検体採取方法・検体の取扱い」をご参照ください。

※ 4: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。

挿入・欠失変異	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。
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。 HLA クラス II 拘束性ペプチドは,CTL やマクロファージ,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。
遺伝子変異解析	全エクソームシーケンスデータを用い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薬候補を探索します。 (解析の詳細は、47 ページ「がん遺伝子変異解析」と同様です。)
遺伝子発現解析	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報告いたします。(解析の詳細は,53ページ「がん遺伝子発現解析」と同様です。)

● 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 48 ページおよび 56 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

121 M. Harris										
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 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
- *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

ネオアンチゲンペプチドリスト

ネオアフテア ンペンテトゥスト													
			ネオアンチゲンペプチド情報				正常型ペプチド情報		腫瘍検体		対照検体		
No.	遺伝子名	アミノ酸 置換* ¹	アミノ酸 E*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]	HLA型 ^{*4}	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}	<u> </u>
1	TDRD6	A2026P	9	6	TYTLKPFTV	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	ТОР2В	I157V	11	7	VYVPALVFGQL	203	VYVPALIFGQL	234	HLA-A24:02	54	38,25,0.397	64,0,0.000	

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%)

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。
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)
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、次ページに示す「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	全エクソームシーケンスデータから解析された HLA 型を示します。

②ネオアンチゲンペプチドリスト

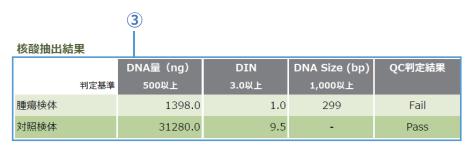
検出された全ネオアンチゲンペプチドより選択されたネオアンチゲンペプチド(治療候補ペプチド)の情報を、 HLA 親和性の高い順に示します。

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	検出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 * 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 平均発現量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:≥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 * 6	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。 ※ 6: ≦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):



③核酸の品質(検査中止時のみ)

検体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、検体から抽出した核酸(DNA/RNA)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 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			HL	A型			4
5	112	6	A2603	A3101	B4002	B5401	C0102	C0304	

- *1:アミノ酸置換を含む遺伝子変異数
- *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

			ネオア	^ア ンチゲンペプチド情	青報 ^{*2}		腫瘍	検体	対照検体	
No.	遺伝子名	アミノ酸 置換 ^{*1}	アミノ酸 長*3	アミノ酸配列	HLA 親和性 [nM]	HLA型*4	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	LTKAVRELR	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	

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:ネオアンチゲンベプチドのアミノ酸長
- *4:ネオアンチゲンベプチドの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(「追加データ解析 挿入・欠失変異」の場合)

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,次ページに示す「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	全エクソームシーケンスデータから解析された HLA 型を示します。

⑤ネオアンチゲンペプチドリスト (「追加データ解析 挿入・欠失変異」の場合)

検出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	検出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 * 6 (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 平均発現量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: \geq 100) $**$ 6: \geq 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, \geq 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 * ⁷	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。 ※ 7:≦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 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 ベプチド数*2	治療候補ペプチド数 ^{*3}	H	— 6	
6	30	0	DRB1:1502		

- *1:アミノ酸置換を含む遺伝子変異数
- *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スト

			ネオアンチゲンペプチド情報				正常型ペプチト	正常型ペプチド情報		腫瘍検体		対照検体	
No	遺伝子名	アミノ酸 置換 ^{*1}	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]	HLA型* ⁴	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}	— (7)
	1 FERMT3	R513Q	15	13	LNPYGLVAPRFQ QKF	329	LNPYGLVAPRFQ RKF	272	DRB1:1502	1	138,21,0.132	138,0,0.000	
	2 TP53	Y220C	15	14	DDRNTFRHSVVV PCE	440	DDRNTFRHSVVV PYE	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(「追加データ解析 HLA クラスⅡ拘束性」の場合)

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。
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、次ページに示す「⑦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	全エクソームシーケンスデータから解析された HLA 型を示します。

⑦ネオアンチゲンペプチドリスト(「追加データ解析 HLA クラスⅡ拘束性」の場合)

検出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

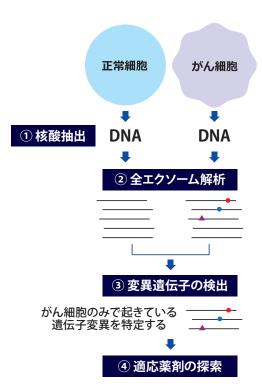
項目	基準値	説明
結合する HLA 型	HLA-DR のみ	検出された全ネオアンチゲンペプチドのうち、HLA-DR に結合するペプチドのみを選択します。一般的に HLA-C は発現量が低いことから、対象から除外しています。
ネオアンチゲン発現量	≥ 5 * 8 (20,000,000 リード中)	遺伝子変異を含む mRNA の発現量から,発現の高いネオアンチゲンを選択します。腫瘍検体の RNA シーケンス解析を行わなかった場合(FFPE 検体を用いた場合等)は,がんの遺伝子発現データベース(The Cancer Genome Atlas(TCGA)データベース)における mRNA 平均発現量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: \geq 100) $**$ 8: \geq 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, \geq 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 ^{※ 9}	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。 ※ 9:≦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。)

2. 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ミスマッチ遺伝子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、生殖系列の遺伝子変異は解析いたしません。)

● 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。

(13ページ「検体の品質確認について」参照)

[品質基準]

DNA 収量 200 ng 以上および DIN 6.0 以上 (FFPE 検体の場合は収量 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)

②全エクソーム解析※1

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。

※ 1:全エクソーム解析

全エクソーム解析は、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(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です。 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。

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、がん細胞のみ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も含む)を特定します。

④適応薬剤の探索

分子標的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48ページ「検査結果報告の内容」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

*1: 挿入・欠失、サルンス・ミスセンス変異を含む遺伝子変異数

*2:アミル酸置換を含む遺伝子変異数

コメント:

DNAミスマッチ修復遺伝子の変異検出



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パイオマーカー。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パイオマーカー。

(参考文献:「次世代シークエ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ダンス」)

	遺伝子	子変異	薬剤名と		国内における	医療用医薬品 ^{*3}																	
遺伝子名	検出された 変異 ^{*1}	データベース上 の表記 ^{*2}	組み合わせ	品名	薬効分類	効能効果																	
			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	ビラフトビ (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 +	アービタックス (Cetuximab)	抗悪性腫瘍剤 抗とト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																	
			Encorafenib	ビラフトビ (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																	
		Cobin Vemu Dabr	Cobimetinib	– (Cobimetinib)	-	-																	
			Cobimetinib	– (Cobimetinib)	-	-																	
BRAF	p.V600E				V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E		Vemurafenib	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	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																	
		+ Trametinib	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																		
				ベクティビックス (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																	
			+ Encorafenib	ビラフトビ (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																	

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パイオマーカーであることを支持しているが、 パ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 予測するパイオマーカーであることを支持しているが、パ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:「次世代シークエ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ダンス」)

遺伝子名		子変異 データベース上の 表記 ^{*2}	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	<u> </u>
KRAS	p.G12D	G12D	機能獲得型がん遺伝子変異	3	Cobimetinib	

*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]



遺伝子変異リスト

一塩基変異	-塩基変異(SNV)						
$\overline{}$	遺伝子名	全長タンパク内の	遺伝子変異タイプ	エクソームシーケンス結果:	エクソームシーケンス結果:		
		アミノ酸置換位置		腫瘍組織における	正常組織における		
				正常型のリード数,	正常型のリード数,		
				変異型のリード数,	変異型のリード数,		
\				変異の頻度	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	BEND3	p.G438S	nonsynonymous SNV	106, 24, 0.185	156, 0, 0.000		
6	BTAF1	p.V750M	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	遺伝子変異タイプ	エクソームシーケンス結果:	エクソームシーケンス結果:
		アミノ酸置換位置		腫瘍組織における	正常組織における
				正常型のリード数,	正常型のリード数,
				変異型のリード数,	変異型のリード数。
				変異の頻度	変異の頻度
No.	Gene	amino_acid	ExonicFunc.refGene	tumor_exome(ref,var,freq)	normal_exome(ref,var,freq)
71	SLC9A3	p.T368T	synonymous SNV	143, 66, 0.316	183, 0, 0.000
72	SYNPO2	p.L288L	synonymous SNV	84, 30, 0.263	110, 0, 0.000
73	TMEM130	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	遺伝子変異タイプ	エクソームシーケンス結果:	エクソームシーケンス結果:
		アミノ酸置換位置		腫瘍組織における	正常組織における
				正常型のリード数,	正常型のリード数,
				変異型のリード数,	変異型のリード数,
				変異の頻度	変異の頻度
No.	Gene	amino_acid	ExonicFunc.refGene	tumor_exome(ref,var,freq)	normal_exome(ref,var,freq)
1	APC	p.L1393fs	frameshift insertion	41, 34, 0.453	119, 0, 0.000
2	LMBR1	p.A177delinsDAA	nonframeshift insertion	93, 58, 0.384	166, 0, 0.000

"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** 2	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 ※ 2: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。

② DNA 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が変異すると、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).)。

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と、その薬剤に対応する日本国内の医薬品(PMDA **3 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、OncoKB(知識ベース)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:「次世代シークエンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づく がん診療ガイダンス」)。

レベル 1:当該がん種において,FDA *4 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。

※ 3:医薬品医療機器総合機構
※ 4: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、OncoKB(知識ベース)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:「次世代シークエンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づく がん診療ガイダンス」)。

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。

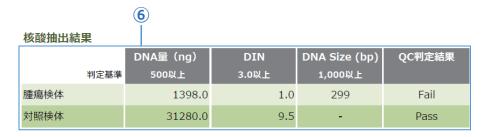
⑤遺伝子変異リスト

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	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。
	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.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.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.545_550del···545 ~ 550 番目のアミノ酸が欠失している 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
遺伝子変異タイプ	遺伝子変異のタイプを示します。 ・nonsynonymous SNV: アミノ酸置換を伴う非同義な一塩基変異(SNV) ・synonymous SNV: アミノ酸置換を伴わない同義 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):



⑥核酸の品質 (検査中止時のみ)

検体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、検体から抽出した核酸(DNA/RNA)の品質データを報告いたします。

3. 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。

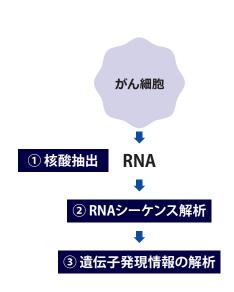
オンコアンチゲンは、がん細胞で特異的に高発現し、正常細胞ではほとんど発現が認められないタンパク質で、がん細胞の生存や増殖に必須の機能を持ち、免疫反応を引き起こす抗原性を有しています。オンコアンチゲンに由来するペプチドを免疫治療に用いることにより、がん細胞を傷害する T 細胞を誘導することができます(参考文献:Mizukami, et al, Cancer Sci. 2008;99(7):1448-54.)。

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。

※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。 (13 ページ「検体の品質確認について」参照)

[品質基準]

RNA 収量 20 ng 以上および DV200 70%以上

② RNA シーケンス解析^{※ 2}

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。

※ 2: RNA シーケンス解析

RNAシーケンス解析は、迅速かつ正確に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です。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。

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)
ンコアンチゲン	CDC45L (CDC45)	T細胞への抗原提示に関連する	В2М
(がん細胞における発現の亢進	CDCA1 (NUF2)	遺伝子	CALR
が報告されている遺伝子)	CDH3		CANX
	DEPDC1		HLA-A
	ECT2		HLA-B
	FOXM1		HLA-C
	GPC3		HLA-DPA1
	HIG2 (HILPDA)		HLA-DPB1
	HJURP		HLA-DQA1
	KIF20A		HLA-DQA2
	KNTC2 (NDC80)		HLA-DQB1
	KOC1 (IGF2BP3)		HLA-DRA
	MELK		HLA-DRB1
	MPHOSPH1 (KIF20B)		HLA-DRB5
	NEIL3		HLA-E
	RNF43		HLA-F
	SPARC		HLA-G
	TOMM34	- 	HLA-H
	TOPK (PBK)		IFNA1
	UBE2T		IFNA2
	URLC10 (LY6K)		IFNB1
	WDRPUH (WDR16)		IFNG
免疫細胞(T細胞、B細胞、	CD19		IRF1
亢原提示細胞) に関連する	CD28		MICA
遺伝子	CD4		MICB
	CD68		PSMB8 (LMP7)
	CD80		PSMB9 (LMP2)
	CD86		TAP1
	CD8A		TAP2
	CD8B		TAPBP
	IL2RA (CD25)		•
「細胞の抗原認識および活性化	CD247		
こ関連する遺伝子	CD27 (TNFRSF7)		
	CD3D		
	CD3E		
	CD3G		
	GZMA		
	GZMB		

(次ページにつづく)

LAMP1 (CD107a) TNFRSF9 (4-1BB)

(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	免疫抑制細胞 (制御性T細胞) に関連する 遺伝子 免疫チェックポイント分子 (T細胞の活性化抑制に関連	TNFRSF21
	CXCL11		TNFRSF25 (DR3)
	CXCL13		TNFRSF27 (EDA2R)
	CXCL9		TNFRSF3 (LTBR)
	FASLG (TNFSF6)		TNFRSF6 (FAS)
	IL10		TNFRSF6B (DCR3)
	IL12A		TNFRSF8 (CD30)
	IL12RB2		CTLA4
	IL17A		FOXP3
	IL17RB		TGFB1
	IL23A		BTLA
	IL6		C10orf54 (VISTA,VSIR)
	PRF1	- する遺伝子) - □	CD274 (PD-L1)
	TBX21		CD276
	TGFB2	71	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:

	分類	遺伝子名	FPKM	
,	オンコアンチゲン	CDC45L		3.00
	(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	「細胞への抗原提示に関連する遺伝子	В2М	4.	200.60
24		CALR		547.32
25		CANX		264.11

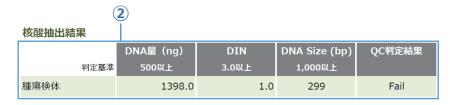
①遺伝子発現情報

解析対象の各遺伝子の発現量を、FPKM^{※3}で示します。

※ 3: FPKM (fragments per kilobase of exon per million reads mapped)

RNAシーケンスデータから得られたリード数に対し、総リード数による補正の後、転写産物長による補正を行なって得られる値。RNAシーケンスによりシーケンシングされたリードは mRNA 等の転写産物の断片であり、その断片の元となる転写産物の長さが長いほどリード数が多くなります。そのため、遺伝子間の発現量を比較するためには転写産物の長さに由来する影響を取り除く必要があります。FPKMは、その方法の一つとして転写産物 1,000 bp あたりのリード数に補正した値です。

報告例 2 (検査中止時):



②核酸の品質(検査中止時のみ)

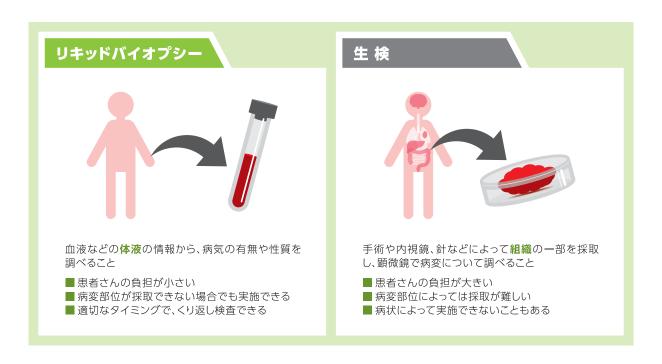
検体の品質が検査実施基準を満たさず、検査を中止した場合は、検体から抽出した核酸(RNA)の品質データを報告いたします。

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。

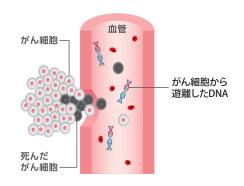
リキッドバイオプシーでは、内視鏡や針によりがんを採取する従来の組織生検にくらべて体に負担をかけることなく、くり返し検査を行うことができます。また、組織生検では採取したがんの一部の情報しか得られないのに対し、 リキッドバイオプシーでは体全体に存在するがんの情報を把握することができることも特長のひとつです。



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や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。



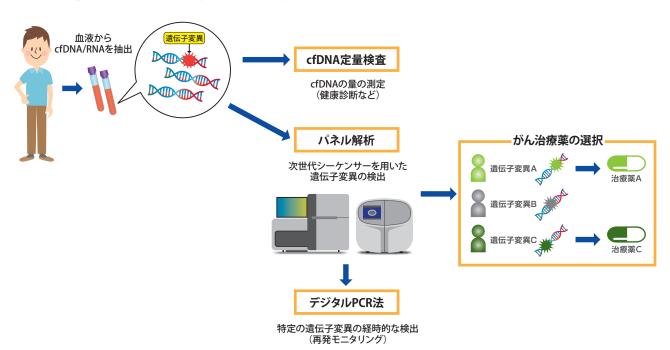
cfDNA/RNA によるリキッドバイオプシー検査では、ごく微量ながんの遺伝子異常を検出できるため、MRI や CT 等の画像診断より早期にがんの兆候を発見できることが報告されており、がんの早期診断への応用が期待されています(図 1 および参考文献:Tang, et al. Cell Biosci. 2016;6:32.)。

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 (図1)

当社のリキッドバイオプシー検査

当社では、目的別に「リキッドバイオプシー(パネル解析)」、「リキッドバイオプシー(デジタル PCR 法)」、「cfDNA 定量検査」の3種類の検査を提供しています(図2)。



当社のリキッドバイオプシー検査(図2)

リキッドバイオプシー	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(遺伝子変異等)を検出し、検出された遺伝子変異のタイプにあった分子標的薬を選択するための検査
(パネル解析)	(62ページ「1. リキッドバイオプシー (パネル解析)」参照)
リキッドバイオプシー	特定された遺伝子変異について、高感度にモニタリング(追跡)する検査
(デジタル PCR 法)	(71ページ「2. リキッドバイオプシー(デジタル PCR 法)」参照)
cfDNA 定量検査	血液中に含まれる cfDNA の量を測定し、がんの有無や大きさの変化をモニタリング (追跡) する検査 (75 ページ「3. cfDNA 定量検査」参照)

リキッドバイオプシーによるがん検診の進め方

● がん再発/治療効果のモニタリング(追跡)の場合 -

高感度なPCR法により検出し、がんの増大をモニタリングします。

がんの再発もしくは治療効果のモニタリングを行う場合は、治療や手術の前に、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)」を行うことができます。「リキッドバイオプシー(パネル解析)」によって、特定のがんの遺伝子変異が検出された場合は、より高感度な「リキッドバイオプシー(デジタル PCR 法)」を用いて、検出された遺伝子変異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.)。

治療や手術の前に「リキッドバイオプシー(パネル解析)」を実施しなかった場合や、検査を実施しても特定のがんの遺伝子変異が検出されなかった場合は、「cfDNA 定量検査」によるがんのモニタリングを行うことができます。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 の量が増加する傾向があるため、cfDNA 量をモニタリングすることで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。

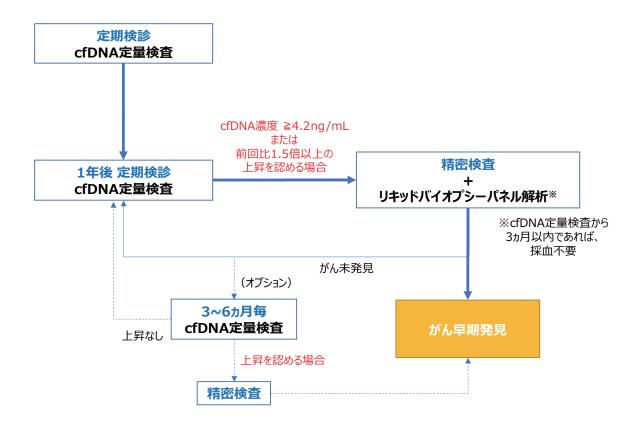
遺伝子変異のスクリーニング リキッドバイオプシーパネル検査 特定の遺伝子変異を検出します。 特定の遺伝子変異あり 特定の遺伝子変異なし (もしくはパネル検査実施なし) **定期的なモニタリング**(~3か月毎) **で付DNA検査**パネル検査で検出された特定の遺伝子変異について、 血漿中のcfDNA量を測定し、

がんの増大をモニタリングします。

● 健康診断の場合

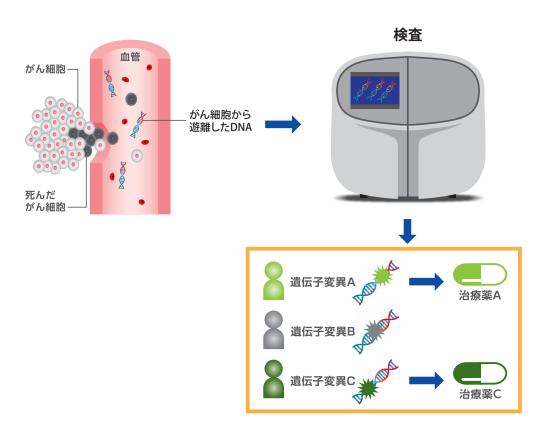
「cfDNA 定量検査」を定期的に行い、がんのモニタリングを適切に行うことで、がんを早期に発見できることが期待されます。

「cfDNA 定量検査」で cfDNA 量が高値,もしくは前回値からの上昇を認める場合は,精密検査および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)」を実施することをご検討ください。ただし,リキッドバイオプシーは高感度であるため,画像で診断できるほどの大きさのがんが見つからない場合があります。精密検査によりがんが発見されなければ,定期的に「cfDNA 定量検査」で cfDNA 量をモニタリングすることにより,経過観察ができます。また,より早期に発見するために,より短い期間(3~6ヶ月後等)で「cfDNA 定量検査」を実施することをご検討ください。継続して cfDNA 量の上昇が認められる場合は,がんが増大している疑いがあるため,再度精密検査の実施をご検討ください。



1. リキッドバイオプシー (パネル解析)

血漿に含まれる、がん細胞やがん組織から遊離した核酸(cfDNA)を抽出し、がんに関連する遺伝子変異を検出します。変異が見つかった遺伝子の情報に加え、見つかった遺伝子変異に適応する分子標的薬を報告いたします。また、取得した遺伝子変異情報から、関連する臨床試験情報を報告することが可能です(「リキッドバイオプシー 臨床検査情報レポート」)。



リキッドバイオプシー(パネル解析)で行うこと

● 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します(この方法を、一般的に「遺伝子パネル検査」といいます)。適応する分子標的薬^{*1}がある遺伝子変異も含んでおり、治療効果が期待できる薬剤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,頭頚部がん,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

検査対象遺伝子は、上記対象がん種における遺伝子変異検出頻度の上位 10 遺伝子を網羅しています。

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 甚変異,短い挿入・		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、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(血漿検体の場合は cfTNA、血液検体の場合は cfDNA)を抽出し、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、バフィーコートからゲノム 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)。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。



核酸抽出・品質確認
・血漿→cfTNA または 血液→cfDNA
・バフィーコート→ゲノムDNA

[品質基準]

cfTNA/cfDNA:収量 20 ng 以上,

ゲノム DNA の混入 5%未満

ゲノム DNA: 収量 40 ng 以上, DIN 6.0 以上

パネル検査

がん遺伝子パネル Oncomine Pan-Cancer Cell-Free Assay

偽陽性確認検査

バフィーコートから抽出した ゲノムDNAを用いた同様のパネル検査

検出された変異が正常な血液細胞でもみられる クローン性造血由来の変異でないことを確認する ための検査

データ解析 遺伝子変異の検出

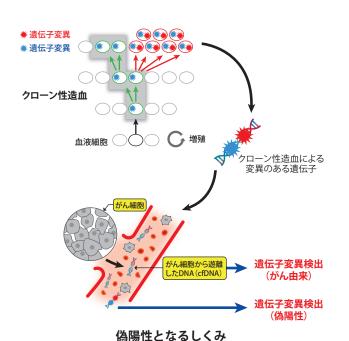
結果報告

偽陽性確認検査でも同じ変異が検出 された場合は、偽陽性の可能性がある ため、その旨を報告します。

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

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場合があります(これを「クローン性造血(clonal hematopoiesis:CH)」といいます)。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の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.)



当社のリキッドバイオプシー検査では、正常細胞 (白血球等が含まれるバフィーコート)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偽陽性であるかどう 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.)

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 量が十分にない場合(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

「リキッドバイオプシー (パネル解析)」では、以下の結果 (I) を報告いたします。「リキッドバイオプシー 臨 床試験情報レポート」をご依頼いただくと、さらに関連する薬剤や臨床試験情報(Ⅱ)を提供いたします。

I. リキッドバイオプシー(パネル解析)

報告例1:



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A種において、FDA※4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A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A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。

		子変異	薬剤名と		国内におけ	る医療用医薬品*3
遺伝子名	検出された 変異 ^{*1}	データベース上 の表記 ^{*2}	組み合わせ	品名	藥効分類	効能効果
			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	ビラフトビ (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 +	アービタックス (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
		600E V600E	Encorafenib	ビラフトピ (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
	p.V600E		Cobimetinib	– (Cobimetinib)	-	-
			Cobimetinib + Vemurafenib	– (Cobimetinib)	-	-
BRAF				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	ベクティビックス (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
				ビラフトビ (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

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。

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

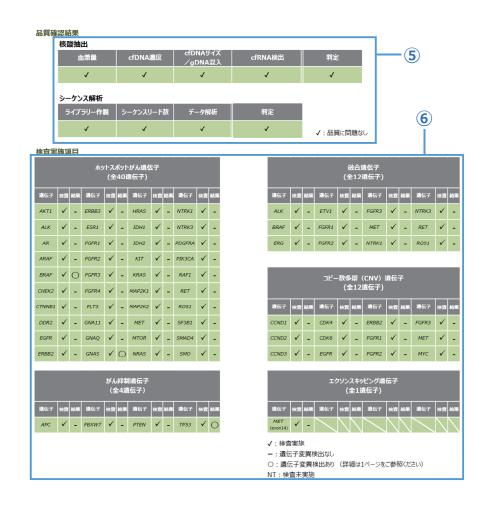
(参考文献:「次世代シークエンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイダンス」)

	遺伝子名	遺伝子変異		発がん性及び変異の影響	この変異のエピデンスレベル	薬剤名と組み合わせ	
退伍于石	検出された変異 ^{*1}	データベース上の表記*2	光が心性及び支夷の影音	この変異のエこフスレ・W	米州石と祖の日わせ	— 4	
	KRAS	p.G12D	G12D	機能獲得型がん遺伝子変異	3	Cobimetinib	

- *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:

[ご報告は以上です]



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、75ページ「3. 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	遺伝子が変異している箇所を示します。 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
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
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。
各遺伝子変異の 検出頻度と偽陽性 確認検査結果の比較	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。 例)報告例 1 において、 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) 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)

※ 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、OncoKB(知識ベース)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:「次世代シークエ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ダンス」)。

レベル 1:当該がん種において, FDA ** ⁶ 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、OncoKB(知識ベース)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:「次世代シークエ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ダンス」)。

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

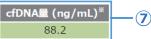
検査工程での品質確認の結果を示します。

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



※ 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。

Ⅱ.「リキッドバイオプシー 臨床試験情報レポート」

「リキッドバイオプシー(パネル解析)」の検査結果に基づき、関連する薬剤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剤の情報(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,アリル頻度,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(薬剤)について、各国の承認状況 *7 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。

※7: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(薬剤)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。

2. リキッドバイオプシー (デジタル PCR 法)

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 PCR ベースの検査で、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、手術や治療等で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 法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 -

「リキッドバイオプシー(デジタル PCR 法)」では、パネル解析等によりあらかじめ変異していることが特定されている遺伝子の中から、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。

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.l195T
	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^{※1}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。

※ 1: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。

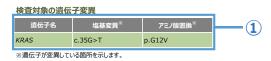


リキッドバイオプシー(デジタル PCR 法)のながれ

● 検査結果報告の内容

「リキッドバイオプシー(デジタル PCR 法)」では、以下の結果を報告いたします。

報告例1:



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】



遺伝子変異検出結果

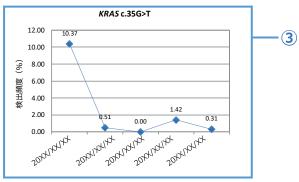
浩仁之夕	遺伝子名 塩基変異		検出力	ウント	検出頻度(%)	
退仏丁石	塩基支共	アミノ酸置換	正常型	変異型	快山剱段(%)	—— ③ (今回分)
KRAS	c.35G>T	p.G12V	2588	8	0.31	

コメント

【前回までの結果】

1	遺伝子変異検出結果							
ı	検査依頼日	遺伝子名	塩基変異	アミノ酸置換	検出力	ウント	検出頻度(%)	
ı	快且似棋口	退伍于石	塩基変共	アミノ阪直換	正常型	変異型	快山剱辰(%)	3 (今回および過去分)
ı	今回 20XX/XX/XX	KRAS	c.35G>T	p.G12V	2588	8	0.31	
ı	20XX/XX/XX	KRAS	c.35G>T	p.G12V	3063	44	1.42	
ı	20XX/XX/XX	KRAS	c.35G>T	p.G12V	2867	0	0.00	
ı	20XX/XX/XX	KRAS	c.35G>T	p.G12V	2553	13	0.51	
ı	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





[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、75ページ「3.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):



※ 血漿1mLあたりから抽出されたcfDNA量

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(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。

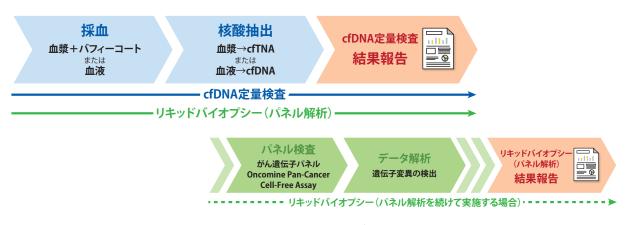
3. cfDNA 定量検査

「cfDNA 定量検査」は、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、がんの有無や大きさの変化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。



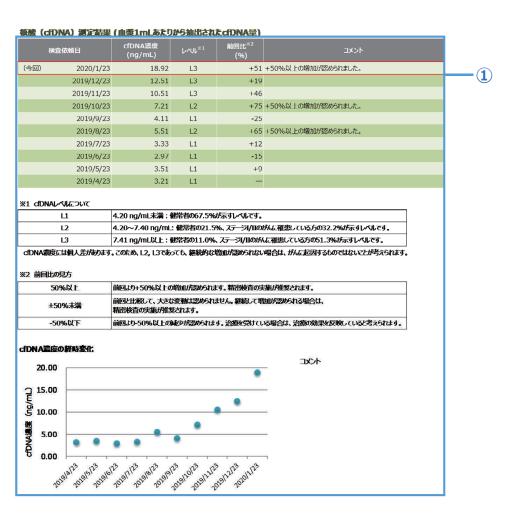
cfDNA 定量検査のながれ

「cfDNA 定量検査」で抽出した核酸を使用して、続けて「リキッドバイオプシー(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「リキッドバイオプシー(パネル解析)」と同一です。(「cfDNA 定量検査」単独での実施も可能です。)

● 検査結果報告の内容

「cfDNA 定量検査」では、以下の結果を報告いたします。

報告例:



品質確認結果

核酸抽出

核設面山		
品質確認項目	品質確認	_
cfDNA濃度 (ng/μL)	品質に問題なし	— ②
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	

- ※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) J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、オブションとしてがんの遺伝子変異を検出する「リキッドバイオブシー (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、「リキッドバイオブシー (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。

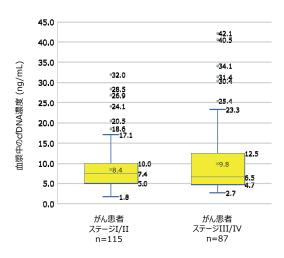
項目				内容			
cfDNA 濃度 (ng/mL)	血漿 1 m	nL あた	りから抽出	された cfDNA の量を,数値および経時変化のグラフで示します。			
cfDNA レベル	cfDNA 濃度から区分したレベルを示します。(根拠データは,78 ページ「参考データ」をご参照ください。)						
	レベル cfDNA 濃度 説明						
	L1	4.20 n	g/mL 未満	健常者の 67.5%が示すレベルです。			
	L2	4.20 ^ 7.40 n		健常者の 21.5%,ステージ I/II のがんに罹患している人の 32.2%が示すレベルです。			
	L3	7.41 n	g/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(%)	ただし, い場合は 下の「前 前回値か	L2, L3 の場合は、1~3ヶ月以内の再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、がんに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。)					
	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。						
	前回	比		説明			
	+50%	以上	前回より 5	50%以上の増加が認められます。精密検査の実施をご検討			
	± 50%	6未満		較して,数値に大きな変動は認められません。 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		50%以上減少しています。治療を受けている場合は,治療の効果でいると考えられます。			
cfDNA 濃度の 経時変化	cfDNA 湯	農度の経	経時変化をク	ブラフで示します。			

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



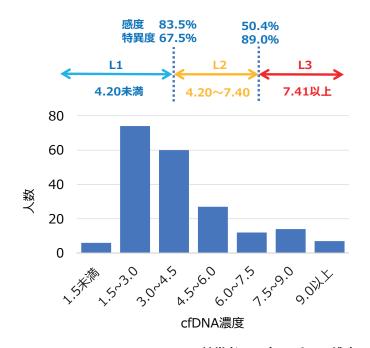
がん患者における血漿中の cfDNA 濃度 (図 a)

図 a はがん患者さん 202 名(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.)

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)

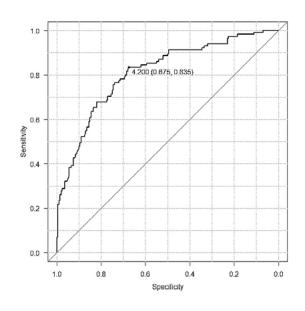
健常者 200 名の cfDNA 濃度を測定した結果,図 b に示す通りに分布していました。各 cfDNA 濃度に対応する cfDNA レベル(L1 \sim L3)は図中に示す通りです。

「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 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

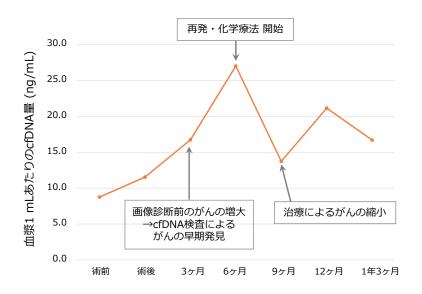
95%信頼区間: 0.762 ~ 0.861

※ 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。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)

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)

ヒトの体には、細菌やウイルス、がん細胞等の異物を見つけると、免疫細胞によって異物を排除する働きがあります。 がん免疫療法は、この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(免疫反応)を確認することによって評価することができます。

当社では、免疫反応を確認する検査として、細胞傷害性 T 細胞から産生される IFN-y を検出する「IFN-y ELISPOT 解析」、フローサイトメトリーによりがん抗原特異的 T 細胞を検出する「MHC テトラマー解析」、T/B 細胞受容体(TCR/BCR)の多様性を解析する「TCR/BCR レパトア解析」を実施しています。

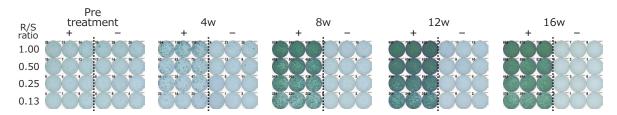
1. IFN-γ ELISPOT 解析

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細胞傷害性 T 細胞(CTL)の活性化を確認する検査です。CTL 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、抗原特異的な免疫反応を評価します。

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

ELISPOT 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検出する高感度な免疫モニタリング手法です。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 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。



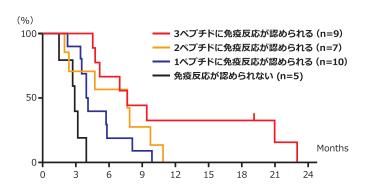
抗原ペプチド特異的スポット数検出例

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

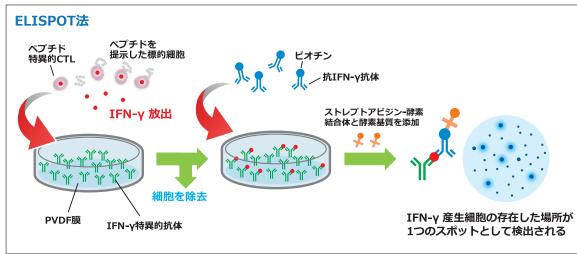
● 検査方法

IVS 法 *1 により PBMC の前培養を行った後,ELISPOT 法を用いて CTL 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。 CTL 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※

Dunk to 71 td sep 170	検体名						
ペプチド名	ワクチン投与前	ワクチン投与後				<u> </u>	
Peptide ①	-	-					
Peptide ②	-	+++					
Peptide ③	-	-					
						•	

※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-y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ー: 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+」のスポット全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-y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			
ペプチドー	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				
	ワクチン投与前	ワクチン投与後			
検体名	ワクチン投与前 63.0	ワクチン投与後 249.3			
ペプチド+	63.0	249.3			
ペプチド + ペプチドー ペプチド 特異的スポット数	63.0 62.7	249.3			
ペプチド+ ペプチドー ペプチド特異的スポット数 (Specific spots)	63.0 62.7 0.3	249.3 50.3 199.0			

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。

一 :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、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; 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。

2. MHC テトラマー解析

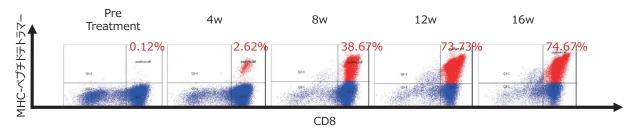
蛍光標識した MHC テトラマーを用いたフローサイトメトリーにより、抗原ペプチドに対する抗原特異的 T 細胞を検出します。がん免疫療法で投与した抗原ペプチドに対する特異的 CTL が誘導されているかどうかを確認することができるため、治療効果との関連を検討することができます。(参考文献: Yoshitake, et al. Clin Cancer Res. 2015;21(2):312-21.)

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

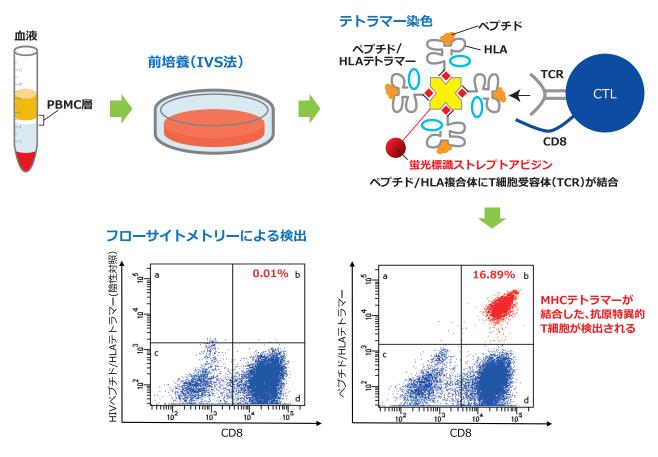
ペプチドワクチン治療前(Pre treatment)と比較し、治療後 4 週(4w)から治療後 16 週(16w)にかけてペプチド特異的 MHC テトラマー陽性細胞の検出頻度の増加が認められます。

● 検査方法

IVS 法 *1 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。

※ 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。



MHC テトラマー解析のながれ

● 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(%)※	-1
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。

3. TCR/BCR レパトア解析

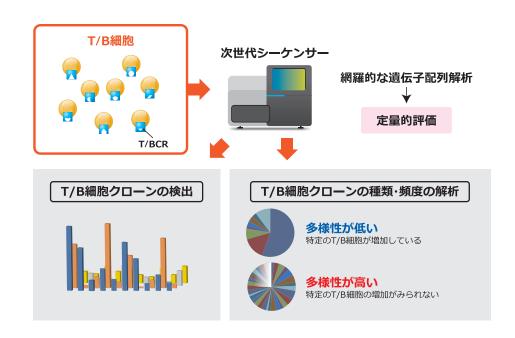
次世代シーケンス技術を用いた遺伝子解析により、検体中に存在する抗原を認識する T/B 細胞受容体(TCR/BCR)の遺伝子情報(V 遺伝子、J 遺伝子、CDR3 領域)、および各 T/B 細胞クローンの種類および頻度を網羅的に解析します。生体内の免疫状態はさまざまな疾患やその治療効果に関連しているため、「TCR/BCR レパトア解析」により疾患の状態や治療後の免疫細胞の変化を知ることができます。

(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。

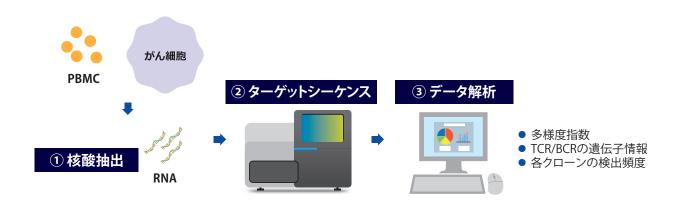


検査の利用例

- ・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 *1 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度指数の算出や 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 レパトア解析のながれ

〔品質基準〕 RNA 収量 100 ng 以上, RIN 6.0 以上

※1:ターゲットシーケンス 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。

● 検査結果報告の内容

報告例1:

1 シーケンス結果 TCRa TCRβ 検体名 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 23210 3744 70088 XXXX 10374 YYYY 31607 7409 117400 17194

T細胞受容体の多様度指数[※]

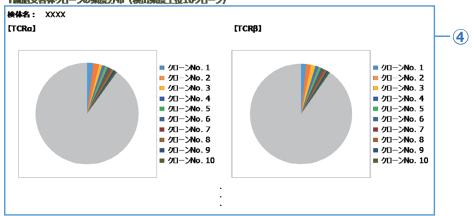
検体名	TCRa	TCRβ	<u> </u>
XXXX	491.1	556.9	
YYYY	51.3	28.4	

※T細胞受容体の多様度指数

多様度指数 高: 多様性が高い(多くの種類のT細胞が存在している) 多様度指数 低: 多様性が低い (特定のT細胞が増加している)



T細胞受容体クローンの頻度分布(検出頻度上位10クローン)



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。

② T (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プ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

③ T(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	— (5)
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。

ウイルス感染症検査(新型コロナウイルス検査(RT-PCR 法))

企業や団体様,教育現場などでの不安解消・活動環境の改善や,リスク管理の一環としての検査などのため,新型コロナウイルス感染症(COVID-19)病原体検査を,唾液を用いたRT-PCR法により実施します。

● 検査方法・

唾液検体からウイルス核酸(RNA)を抽出し、RT-PCR法によってウイルスの検出を行います。

検体の前処理 ウイルス核酸(RNA)の抽出

RT-PCR

データ解析

〔使用試薬〕体外診断用医薬品 TaqPath 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)リアルタイム PCR 検出キット※ 1

※ 1:公的医療保険適用対象試薬。

国立感染症研究所で解析された新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)測定結果との比較で、陽性・ 陰性ともに 100%一致することが確認されています。

公的医療保険について

無症状、無自覚の方を対象としているため、公的医療保険は適用対象外です。

● 検査結果報告の内容 -

ウイルス検出の有無を報告いたします。

検 出:ウイルスの検出が認められる 検出せず:ウイルスの検出は認められない

検体容器の取扱い方法

検体の採取量,提出量は 11 ページからの各検査項目ページを,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、一部当社にて準備してございます。購入をご希望の際は、97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	・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	
CT2・CT5 滅菌クライオチューブ CT2 CT5 CT2:2 mL CT5:5 mL	[貯蔵]室温 [有効期間]なし	 ・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 ・cfDNA 定量検査 ・リキッドバイオプシー(パネル解析)(デジタル PCR 法) ・TCR/BCR レパトア解析 ・IFN-y ELISPOT 解析 ・MHC テトラマー解析 	
DT1 Matrix 2D チューブ(漏斗セット) DT1: 1 mL	[貯蔵]室温 [有効期間]なし	新型コロナウイルス検査 (RT-PCR 法)	当社にて準備してございます。 ご依頼方法は97ページ 「検体容器の購入方法」を ご覧ください。

容器形態		検査項目	備考	
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	・IFN- γ ELISPOT 解析 ・MHC テトラマー解析		
RL2 核酸安定化試薬入り マイクロチューブ RNAは 1.3 ml 1.3 ml 1.3 ml 1.4 m No. 30 RL2:1.5 mL 用	[貯蔵]室温 [有効期間]1 年	・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	当社にて準備してございます。 ご依頼方法は 97 ページ「検体 容器の購入方法」をご覧くださ い。	
RT10 リキッドバイオプシー専用 採血管	[貯蔵] 18℃〜 25℃ [有効期間] 外箱に記載	・cfDNA 定量検査 ・リキッドバイオプシー (パネル解析) (デジタル PCR 法)	[指定製品] ロシュ・ダイアグノスティックス社 セルフリー DNA 抽出用採血管 (医療機器認証番号: 228ABBZX00117000) 当社にて準備してございます。 ご依頼方法は 97 ページ「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 (継続してお取引きいただくお客様は、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。

<mark>で依頼・検収連絡先</mark> 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(ご連絡の際は、裏表紙をご覧ください)。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、お取引きを開始いたします。

● 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 \sim 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(継続してお取引きいただくお客様は、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

研究目的の受託解析サービスについて

当社では、次世代シーケンスや免疫解析技術をもとに、研究向け受託解析サービスを提供しています。詳細は当社ホームページ(裏表紙記載)をご覧いただくか、下記までお問い合わせください。

次世代シーケンスサービス

- ◆ 全エクソームシーケンス解析
- ◆ RNA シーケンス解析
- ◆ 全ゲノムシーケンス解析
- ◆ シングルセル RNA シーケンス解析
- ◆メタゲノムシーケンス解析
- ◆ T/B 細胞受容体(TCR/BCR)レパトア解析
- ◆ リキッドバイオプシー (パネル解析, デジタル PCR)

免疫反応解析サービス

- ◆ ELISPOT 解析
- ◆ MHC テトラマー解析
- ◆ T/B 細胞受容体(TCR/BCR)レパトア解析

お問い合わせ先

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

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」

がんプレシジョン医療 -

- Hacohen, 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・

- Hacohen, 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「次世代シークエ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ダンス」(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 -

- 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「次世代シークエ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ダンス」(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.

免疫反応解析 -

- 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.

新型コロナウイルス検査(RT-PCR法) -

- ■国立感染症研究所,国立国際医療研究センター,全国保健所長会,地方衛生研究所全国協議会,日本感染症学会,日本環境感染学会,日本臨床衛生検査技師会,日本臨床微生物学会,厚生労働省健康局結核感染症課「新型コロナウイルス感染症(COVID-19)病原体検査の指針」(第3版)
- ■国立感染症研究所「病原体検出マニュアル 2019-nCoV」(Ver.2.9.1)
- ■国立感染症研究所「2019-nCoV(新型コロナウイルス)感染を疑う患者の検体採取・輸送マニュアル」 (2020 年 7 月 17 日更新版)



株式会社Cancer Precision Medicine

(キャンサープレシジョンメディシン, 略称:CPM) 〒213-0012

神奈川県川崎市高津区坂戸3丁目2番1号

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/

2021年4月版(LAB/GUI/GUI01-02)