

検査案内

2025～2026

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
掲載内容・検査項目欄の見方	9
略称一覧	10
検査方法の概略	11

検査概要

はじめに	12
検査項目一覧	15
検査目的・検査材料による検査選択ガイド	16

検査方法・検査結果の見方

分子標的治療薬選択 関連検査	17
Oncomine Pan-Cancer パネル解析	19
TSO500パネル解析	26
がん遺伝子変異解析	31
個別化がん免疫療法 関連検査	36
ネオアンチゲン解析	36
がん遺伝子発現解析	46
治療効果・再発のモニタリング 関連検査	50
デジタルPCR 検査	50
cfDNA 定量検査	53
IFN- γ ELISPOT 解析	58
MHC テトラマー解析	62
TCR/BCR レパトア解析	64

検査要項

Oncomine Pan-Cancer パネル解析	68
TSO500パネル解析	70
がん遺伝子変異解析	71
ネオアンチゲン解析	73
がん遺伝子発現解析	77
デジタルPCR	81
cfDNA 定量検査	81
IFN- γ ELISPOT 解析	83
MHC テトラマー解析	85
TCR/BCR レパトア解析	86

検体採取方法・検体の取扱い	87
---------------------	----

検体容器の取扱い方法	99
研究グレードペプチド 合成サービスについて	101
参考文献一覧	103

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。

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「13. 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

68ページからの各検査要項をご確認いただき、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「10. 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・祝日および12/29～1/3は集荷および検査のご依頼はお受けしていません。）

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：

施設コード (もしくは施設名)		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
				総数	細胞	組織	FFPE	血漿	全血	その他	室温	冷蔵	冷凍	超冷凍			
			5	20			100		5			10	5				
種類別検体総数							10		5								

【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：FFPE 各10枚（計100枚） 冷蔵

太枠内のご記入をお願いいたします。

ご連絡事項がある場合に、ご利用ください。

搬送箱内温度確認		搬送手段	
確認時刻		□自動車	□鉄道
出発時★	：	□飛行機	□その他（ ）
中間地点	：		
CPM到着時	：		

搬入日時 / / , : 搬出日時 / / , :

仕分	
検査項目	検体数
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が発生いたします。

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ださい。（検体は、原則として貴施設内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部は貴施設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

・2類感染症

結核、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、99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	CL0013
患者 ID	12345
腫瘍・正常 組織／細胞／全血	
その他:	
冷凍／冷蔵／室温	

6. 検体の品質確認について

検体から核酸を抽出後（IFN- γ ELISPOT 解析/MHC テトラマー解析の場合は凍結細胞を融解後）、品質確認を行います。品質確認の結果、品質基準を満たさない場合は、ご依頼時にご連絡先にメールにてご連絡いたします。

7. 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。

8. 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。

9. 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、当社に故意又は重大な過失がある場合を除き、一切の責任を負わないものとします。

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。

11. 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。

12. 料金の請求とお支払い方法

ご契約に基づいてご請求いたします。(原則として1か月分をまとめてご請求いたします。)

請求書記載の支払期日までに、指定の銀行口座に振込にてお支払いください。

13. 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：月曜～金曜 9:00～18:00 (祝日、12/29～1/3を除く)

14. 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。

15. 品質・精度管理について

● 衛生検査所登録

当社は、CPMクリニカルラボを「衛生検査所」として登録しています。

衛生検査所は、厚生労働省の基準に基づき、人体から採取された検体に対して各種医学的な検査を行う、臨床検査技師等に関する法律で定められた施設です。

(登録番号:川崎市指令健医第288号 衛生検査所登録第293号)

● CAP認定取得

当社はCPMクリニカルラボにおける臨床検査事業において、臨床検査の品質管理における世界標準である「CAP (College of American Pathologists: 米国臨床病理医協会) 認定」を取得しています。

CAP認定検査室では、詳細な要求事項のもとに品質マネジメントシステムが構築され、維持されていることが求められます。



CERTIFICATE OF ACCREDITATION

Cancer Precision Medicine Inc
CPM Clinical Lab
Kawasaki City, Japan
Osamu Shimada, MD, PhD
CAP#: 900847

The organization named above meets all applicable standards for accreditation and is hereby accredited by the College of American Pathologists' Laboratory Accreditation Program. Reaccreditation should occur prior to February 29, 2027 to maintain accreditation.

Accreditation does not automatically survive a change in director, ownership, or location and assumes that all interim requirements are met.

John G. Bockis, MD
Chair, Accreditation Committee

Donald S. Kerner, MD, FRCP
President, College of American Pathologists



掲載内容・検査項目欄の見方

● 検査材料および必要量

各検査項目欄内の「検査材料名（必要量）」を必ずご確認ください。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、ご依頼時のご連絡先にメールにてご連絡いたします。

● 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、99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 ↓ 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)

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)
CNV	コピー数変異 (copy number variant)
CT	コンピュータ断層撮影 (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)
gDNA	ゲノム DNA (genomic 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・エオジン (Hematoxylin 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)
MSI	マイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability)
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)
TMB	腫瘍変異負荷 (Tumor Mutation Burden)

検査方法の概略

■全エクソームシーケンス解析

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。

■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（Flow Cytometry）

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。

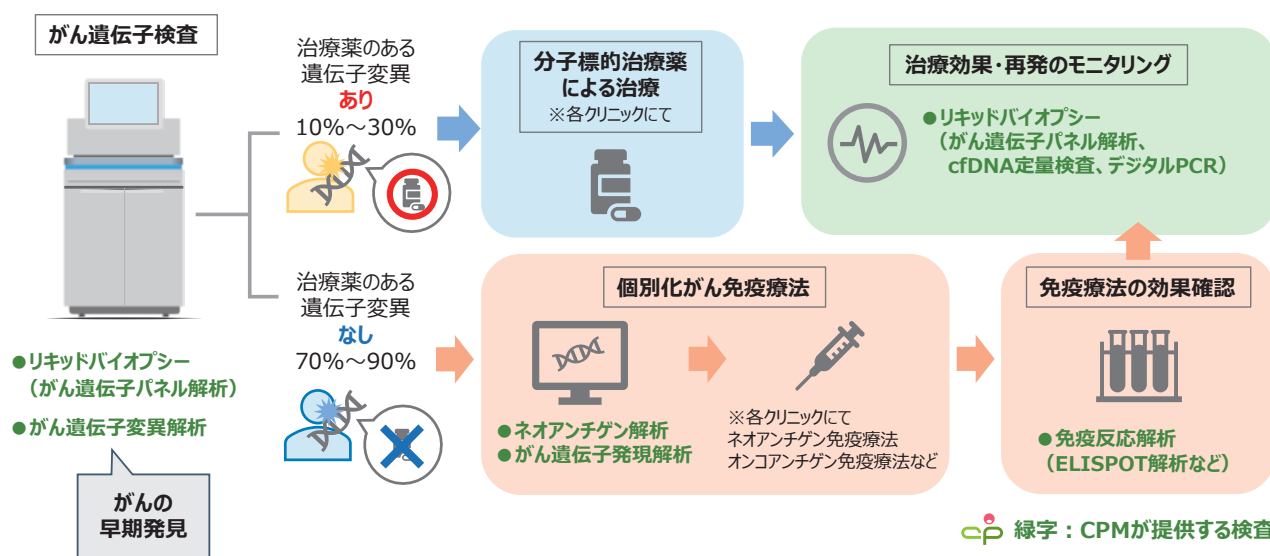
検査概要

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—

「がんプレシジョン*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、がんの診断や、分子標的治療薬による治療および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、「がんプレシジョン医療」のために行われる検査を提供します。

※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、「がんプレシジョン医療」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関連検査（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%とされています。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用いて、がんに関連する多数の遺伝子変異を同時に調べる検査です。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、患者さんに合った治療薬（分子標的薬）を選択することを主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変異によって作られる新たながんの抗原です。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

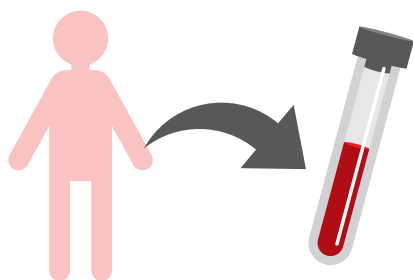
がん細胞で特異的に高発現し、正常細胞ではほとんど発現が認められないタンパク質です。免疫反応を引き起こす抗原性を有しており、がん免疫療法に利用することができます。

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

● 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。

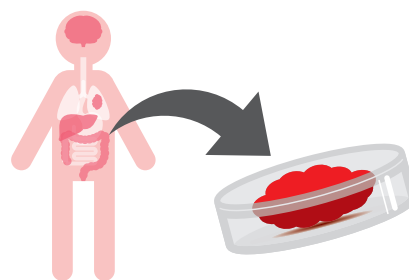
リキッドバイオプシー



血液などの**体液**の情報から、病気の有無や性質を調べる

- 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

生検



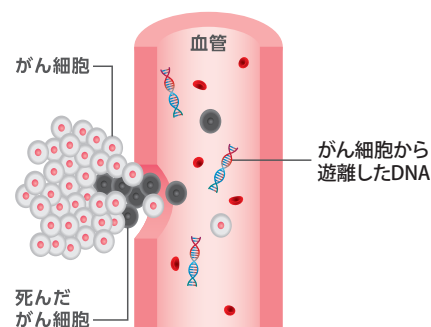
手術や内視鏡、針などによって**組織**の一部を採取し、顕微鏡で病変について調べる

- 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。



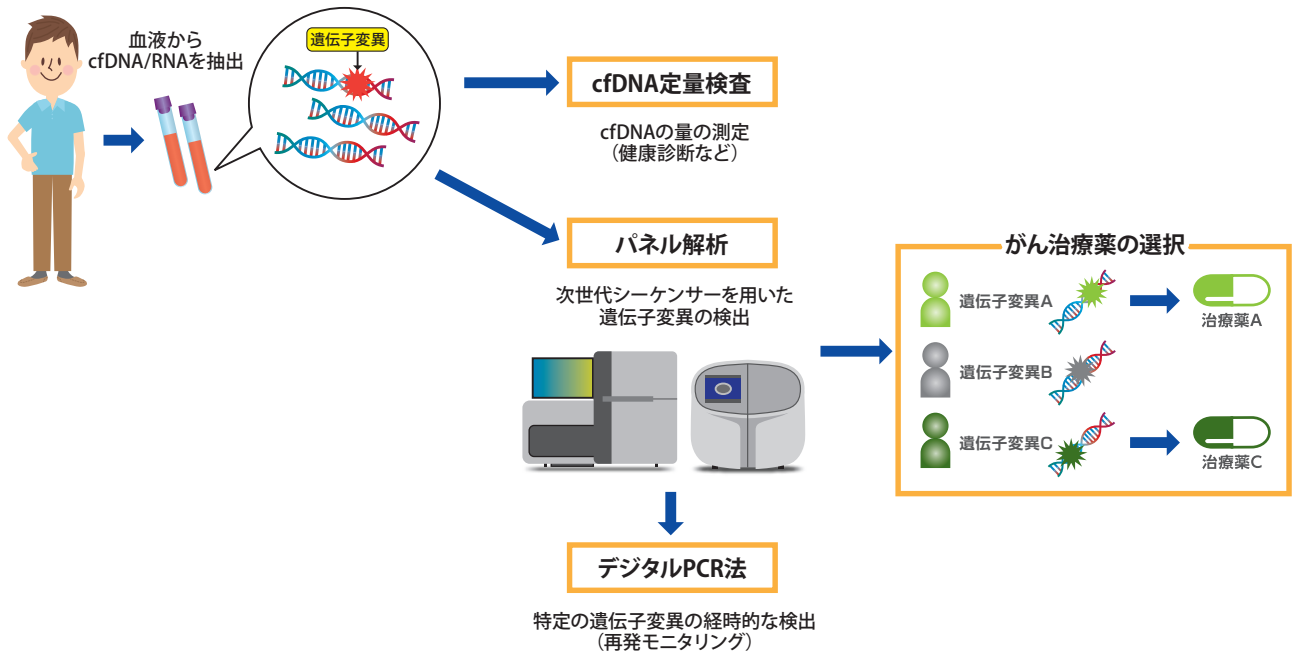
cfDNA/cfRNA によるリキッドバイオプシー検査では、ごく微量ながんの遺伝子異常を検出できるため、MRI や CT 等の画像診断より早期にがんの兆候を発見できることが報告されており、がんの早期診断への応用が期待されています。（参考文献：Tang, et al. Cell Biosci. 2016;6:32.）

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ブシー検査

当社では、リキッドバイオブシーとして、目的別に「Oncomine Pan-Cancer パネル解析」,
「TSO500 パネル解析 [血液]」, 「デジタル PCR」, 「cfDNA 定量検査」の 4 種類の検査を提供しています。



検査項目一覧

● 分子標的治療薬選択 関連検査

がんの組織や血液から遺伝子変異を検出することにより、分子標的治療薬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
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、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がん遺伝子パネル検査（リキッドバイオプシー）	P. 68
TSO500 パネル解析 [血液]		P. 70
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. 71

● 個別化がん免疫療法 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. 73
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. 77

● 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。

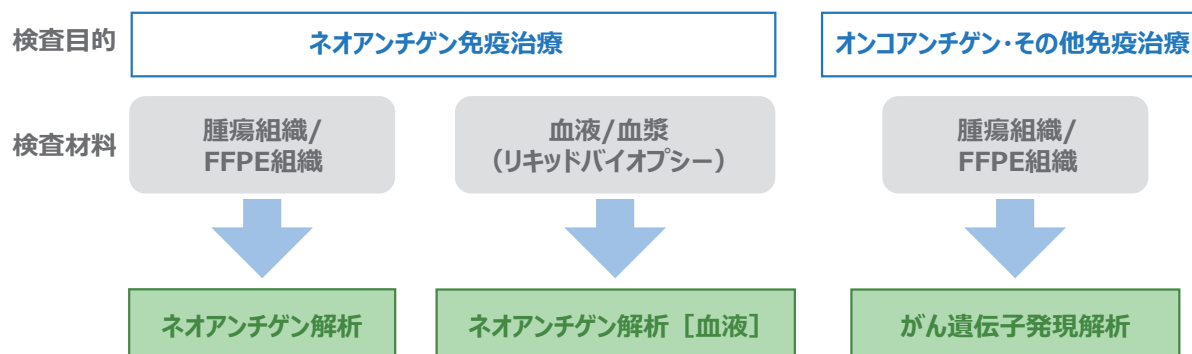
検査項目名	検査内容	概要掲載ページ
デジタル PCR	特定された遺伝子変異について、高感度にモニタリングする検査（リキッドバイオプシー）	P. 81
cfDNA 定量検査	血液（血漿）中に含まれる cfDNA の量を測定し、がんの有無や治療効果・再発をモニタリングする検査（リキッドバイオプシー）	P. 81
IFN- γ ELISPOT 解析	ELISPOT 法により、免疫治療に利用した抗原（ネオアンチゲンペプチド、オンコアンチゲンペプチド等）に対する免疫応答を確認する検査	P. 83
MHC テトラマー解析	フローサイトメトリーにより、免疫治療に利用した抗原（ネオアンチゲンペプチド、オンコアンチゲンペプチド等）に対する抗原特異的 T 細胞を検出する検査	P. 85
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. 86

検査目的・検査材料による検査選択ガイド

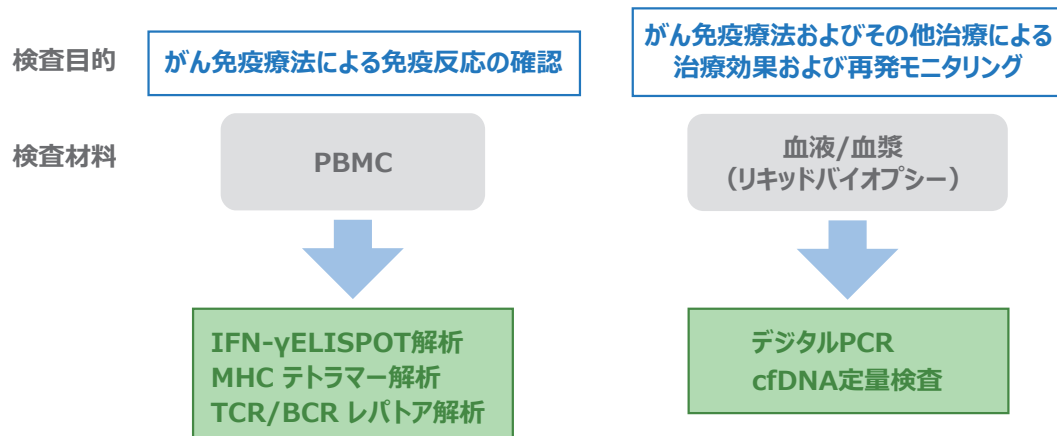
「分子標的治療薬選択」のための検査



「個別化がん免疫療法」のための検査



「治療効果・再発モニタリング」のための検査

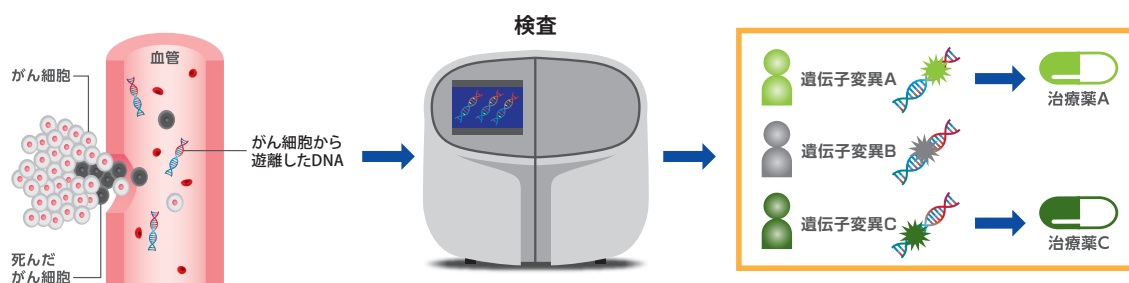


検査方法・検査結果の見方

分子標的治療薬選択 関連検査

● パネル解析の流れと方法

血液中に遊離した核酸 (cfDNA および cfRNA) 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) もしくは「Trusight™ Oncology 500 ctDNA」(Illumina) で解析を行います。同時に、バフィーコートから gDNA 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。



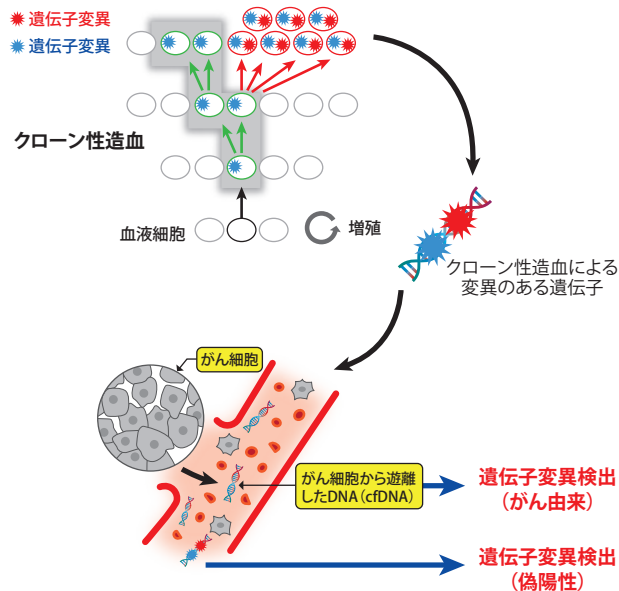
パネル解析 (リキッドバイオプシー検査) のながれ

● 当検査はCPMクリニカルラボで開発された検査です。

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。

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変異であるかどうかを確認しています。

（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。

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PDMA (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：全52遺伝子

- ✓ 一塩基変異 (SNV)、挿入・欠失変異 (Indel)：44遺伝子
- ✓ コピー数変異 (CNV)：12遺伝子
- ✓ 融合遺伝子：12遺伝子

「血液」検体の場合検出可能				「血漿」検体の場合検出可能			
標的遺伝子	一塩基変異 短い挿入・欠失	コピー数変異	融合遺伝子	標的遺伝子	一塩基変異 短い挿入・欠失	コピー数変異	融合遺伝子
AKT1	○			GNAI1	○		
ALK	○		○	GNAQ	○		
APC	○			GNAS	○		
AR	○			HRAS	○		
ARAF	○			IDH1	○		
BRAF	○		○	IDH2	○		
CCND1		○		KIT	○		
CCND2		○		KRAS	○		
CCND3		○		MAP2K1	○		
CDK4		○		MAP2K2	○		
CDK6		○		MET*	○	○	○
CHEK2	○			MTOR	○		
CTNNB1	○			MYC		○	
DDR2	○			NRAS	○		
EGFR	○	○		NTRK1	○		○
ERBB2	○	○		NTRK3	○		○
ERBB3	○			PDGFRA	○		
ERG			○	PIK3CA	○		
ESR1	○			PTEN	○		
ETV1			○	RAF1	○		○
FBXW7	○			RET	○		
FGFR1	○	○	○	ROS1	○		○
FGFR2	○	○	○	SF3B1	○		
FGFR3	○	○	○	SMAD4	○		
FGFR4	○			SMO	○		
FLT3	○			TP53	○		

MET*：エクソン14スキッピング変異を含む

太字：がん抑制遺伝子

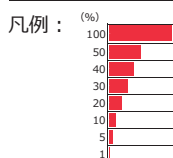
赤字：FDA承認薬のある標的遺伝子

- がん抑制遺伝子：細胞のがん化を防ぐために働く遺伝子
- コピー数変異：DNAのコピー数の異常
- 融合遺伝子：複数の遺伝子が結合して生じる遺伝子
- MET エクソン14スキッピング変異：MET 遺伝子の14番目のエクソン領域が欠失する変異

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（一塩基変異，挿入・欠失変異：全44遺伝子，コピー数変異：ERBB2，融合遺伝子：ALK，ROS1，NTRK）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
ホッスボット・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

Oncomine 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	「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。
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。 検査対象：HLA クラス I (HLA-A および-B), SNV

● 検査結果報告の内容

報告例1：

① 核酸の品質 (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56ページ、「cfDNA定量検査」内の参考データをご参照ください。

核酸の品質 (cfDNA抽出結果)

cfDNA量 (ng/mL)*
24.12

※血漿1mLあたりから抽出されたcfDNA量

② 遺伝子変異検出結果

変異が検出された^{※2} 遺伝子について、以下の情報を示します。

一塩基変異 (SNV), 挿入・欠失変異 (Indel) : cfDNA マーカー

遺伝子名	変異箇所		検出頻度		デジタル PCR 法 実施可否
			※ () 内はそれぞれ順に変異型、正常型の 検出分子カウントを示します。		
	塩基変異	アミノ酸変異	検査結果	偽陽性確認検査結果	
KRAS	c.34G>T	p.G12C	12.16% (993 / 7171)	-	可
TP53	c.542G>A	p.R175H	9.00% (453 / 4575)	-	要相談
GNAS [†]	c.602G>A	p.R201H	1.28% (86 / 6621)	1.11% (92 / 8217)	可

コメント

† クローン性造血由来の変異の可能性があります。

項目	内容
遺伝子名	変異の検出された遺伝子名を示します。
変異箇所	遺伝子に変異している箇所を示します。 塩基変異：コーディング領域における塩基配列変異 (例：c.34G>T) アミノ酸変異：アミノ酸配列変異 (例：p.G12C)
検出頻度	各遺伝子変異の検出頻度 (検出された分子カウント中の変異型分子の割合) を示します (各遺伝子全リード数中の変異の割合)。また、変異型、正常型の検出分子カウントを合わせて示します。偽陽性確認検査において変異が検出された場合は、クローン性造血由来の変異 (偽陽性) の可能性があります。
デジタルPCR法 実施可否	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。

コピー数変異 (CNV) : cfDNA マーカー

遺伝子名	コピー数変異
<i>ERBB2</i>	GAIN, CNV ratio = 1.5

項目	内容
遺伝子名	変異の検出された遺伝子名を示します。
コピー数変異	コピー数増加が検出された場合はGAIN, コピー数減少が検出された場合はLOSSを表示します。また、コピー数増加/減少の比率としてCNV ratioを表示します。 例： GAIN, CNV ratio = 1.5 : コピー数が1.5倍に増加したことを示します。 LOSS, CNV ratio = 0.5 : コピー数が0.5倍に減少したことを示します。

融合遺伝子 : cfRNA マーカー

融合遺伝子	検出分子カウント
<i>EML4::ALK</i>	30

項目	内容
融合遺伝子	変異の検出された遺伝子名を示します。
検出カウント	当該融合遺伝子の検出を支持するリード数カウントを示します。

METエクソン14スキッピング変異 : cfRNA マーカー

変異	検出分子カウント
<i>MET</i> エクソン 14 スキッピング変異	20

項目	内容
変異	検出された変異として「 <i>MET</i> エクソン14スキッピング変異」を表示します。
検出カウント	当該変異の検出を支持するリード数カウントを示します。

※2：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 における変異の臨床的解釈および適応薬剤候補

変異の臨床的解釈

検出された遺伝子変異のうち、知識ベース OncoKB^{※3}において治療エビデンスが収録されているものを示します。

遺伝子名	遺伝子変異		がん遺伝子／がん抑制遺伝子 区分	がん化への関与	生物学的作用
	検出変異	OncoKB 上の表記			
KRAS	p.G12C	G12C	がん遺伝子	Oncogenic	Gain of function
遺伝子の機能 KRAS, a GTPase which functions as an upstream regulator of the MAPK pathway, is frequently mutated in various cancer types including lung, colorectal and pancreatic cancers. 変異の影響 The KRAS G12C mutation is located in the P-loop of the catalytic G-domain of the protein. This mutation has been found in lung and colorectal cancer (PMID: 28572459). Expression of this mutation in lung and breast cancer cell lines and mouse models demonstrated that it is activating, as measured by increased pathway activation, cell proliferation, colony formation and in vivo tumor formation compared to wildtype (PMID: 25705018, 26841430, 16051643, 32792368). In vitro studies of cells expressing the KRAS G12C mutation demonstrate that it is sensitive to several targeted therapies designed specifically for this allele, including ARS853 (PMID: 26841430, 24256730). In a phase I clinical trial of the KRAS G12C inhibitor AMG510 in which thirteen patients with non-small cell lung cancer harboring this mutation were given the target drug dose, 100% of patients responded, with seven patients having partial response and six patients having stable					

項目	内容
遺伝子名	変異の検出された遺伝子名を示します。
検出変異	遺伝子に変異している箇所を示します。
OncoKB 上の表記	検出変異に対応する、OncoKB に収録された変異の表記。
がん遺伝子／がん抑制遺伝子区分	当該遺伝子のがん遺伝子／がん抑制遺伝子区分を記載します。
がん化への関与	当該変異に対し OncoKB が付与した、がん化への関与レベルを記載します。
生物学的作用	当該変異に対し OncoKB が付与した、生物学的作用レベルを記載します。
遺伝子の機能	当該変異に対し OncoKB が付与した遺伝子の機能を引用し記載します。
変異の影響	当該変異に対し OncoKB が付与した変異の機能を引用し記載します。

分子標的治療薬

検出された遺伝子変異に対する分子標的治療薬候補を、知識ベース OncoKB をもとに、エビデンスレベル、標的変異、対象がん種、および薬剤の詳細と合わせ報告します。

薬剤	治療エビデンス レベル	標的変異	適応がん種
Adagrasib + Cetuximab	1	KRAS G12C	Colorectal Cancer
治療に関する詳細 Adagrasib, a small molecule KRAS G12C inhibitor, and cetuximab, an anti-EGFR monoclonal antibody, are FDA-approved in combination for the treatment of adult patients with KRAS G12C-mutated locally advanced or metastatic colorectal cancer (CRC), as determined by an FDA-approved test, who have received prior treatment with fluoropyrimidine-, oxaliplatin- and irinotecan-based chemotherapy. KRAS G12C mutation for treatment with adagrasib plus cetuximab was detected by the theascreen KRAS RGQ PCR Kit. FDA approval was based on the results of the Phase I/II KRYSTAL-1 (NCT03785249) trial of adagrasib plus cetuximab in 94 patients with KRAS G12C-mutated CRC. In the Phase I/II KRYSTAL-1 (NCT03785249) trial, the objective response rate was 34% (95% CI=26.4-44.5), with a 34% (n=32) partial			

項目	内容
薬剤	分子標的治療薬候補を示します。
治療エビデンスレベル	分子標的治療薬における、OncoKBが付与した治療エビデンスレベルを示します。
標的変異	分子標的治療薬に関連する標的変異を示します。
適応がん種	分子標的治療薬に関連するがん種を示します。
治療に関する詳細	分子標的治療薬について、OncoKBが付与した詳細を引用し記載します。

OncoKBにおける治療エビデンスレベルの定義は以下の通りです。

治療エビデンスレベル	定義
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が予測されるFDA が認めたバイオマーカー
2	当該がん種において、FDA 承認を受けた治療薬への応答が予測される、NCCN ※5 または他の専門家のガイドラインで推奨されている標準治療バイオマーカー
3A	当該がん種において、説得力のある臨床的エビデンスによる裏付けのある、治療薬への応答が予測されるバイオマーカー
3B	異なるがん種において、FDA 承認薬、または治験薬への応答が予測される標準治療、または治験バイオマーカー
4	説得力のある生物学的エビデンスによる裏付けのある、治療薬への応答が予測されるバイオマーカー
R1	当該がん種において、FDA 承認を受けた治療薬への抵抗性が予測される標準治療バイオマーカー
R2	説得力のある臨床的エビデンスによる裏付けのある、治療薬への抵抗性が予測されるバイオマーカー

※3：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。

※4：Food and Drug Administration 米国食品医薬品局

※5：National Comprehensive Cancer Network

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。

核酸抽出					
cfDNA			cfRNA	gDNA	
収量 (ng)	メインピーク (bp)	gDNAの混入 (%)	検出の有無	収量 (ng)	分解度 (DIN)
✓	✓	✓	✓	✓	✓
ライブラリー作製					
cfDNA		gDNA			
Average Size (bp)	% of Total (%)	Average Size (bp)	% of Total (%)		
✓	✓	✓	✓		
シーケンス解析					
cfDNA		gDNA			
シーケンスリード数	No Template (%)	シーケンスリード数	No Template (%)		
✓	✓	✓	✓		

●品質基準を満たさない場合は、検査結果に影響を与える可能性があります。

⑤検査実施項目

検査を実施した項目（遺伝子）を示します。

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）

報告例2（検査中止時）：

核酸の品質（cfDNA抽出結果）

cfDNA量 (ng/mL) [※]
24.12

※血漿1mLあたりから抽出されたcfDNA量

⑥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、検体から抽出されたcfDNA量（血漿1mLあたりのcfDNA量）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.39「ネオアンチゲン解析」報告例1

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。

TSO500パネル解析 [血液]

血液検体（リキッドバイオプシー）から523遺伝子を対象にした包括的ゲノムプロファイリングを行います。血漿中のcfDNAを抽出後、次世代シーケンサーシステムを用いて一塩基変異（SNV）、挿入・欠失変異（Indel）、コピー数変異（CNV）および融合遺伝子（Fusion gene）の検出、および腫瘍免疫バイオマーカーとなる腫瘍変異負荷（TMB）、マイクロサテライト不安定性（MSI）の測定を行います。血漿中cfDNAの解析と同時に、バフィーコートから抽出したgDNAを用いて同様のパネル検査を行い、血漿を用いたパネル検査で検出された遺伝子変異のうち、クローン性造血由来であることが示唆される変異（偽陽性）を除外してご報告します。さらに、科学的根拠・薬剤承認情報・治療ガイドラインに基づき、得られた遺伝子変異情報に関連する分子標的治療薬や臨床試験の情報をご報告します（適応薬剤・臨床試験情報レポート）。

※「追加データ解析 ネオアンチゲン解析」（2903）には現在対応しておりません。

検査対象の遺伝子

- ✓ 一塩基変異（SNV）、挿入・欠失変異（Indel）：523遺伝子
- ✓ コピー数変異（CNV）：59遺伝子
- ✓ 融合遺伝子：23遺伝子
- ✓ マイクロサテライト不安定性（MSI）

一塩基変異、挿入・欠失変異										
ABL1	BRD4	CUX1	FAM175A	GATA6	IGF1	MAP3K13	NOTCH4	POLE	RPTOR	TAF1
ABL2	BRIP1	CXCR4	FAM46C	GEN1	IGF1R	MAP3K14	NPM1	PPARG	RUNX1	TBX3
ACVR1	BTG1	CYLD	FANCA	GID4	IGF2	MAP3K4	NRAS	PPM1D	RUNX1T1	TCEB1
ACVR1B	BTX	DAXX	FANCC	GLI1	IKBKE	MAPK1	NRG1	PPP2R1A	RYBP	TCF3
AKT1	C11orf30	DCUN1D1	FANCD2	GNA11	IKZF1	MAPK3	NSD1	PPP2R2A	SDHA	TCF7L2
AKT2	CALR	DDR2	FANCE	GNA13	IL10	MAX	NTRK1	PPP6C	SDHAF2	TERC
AKT3	CARD11	DDX41	FANCF	GNAQ	IL7R	MCL1	NTRK2	PRDM1	SDHB	TERT
ALK	CASP8	DNX15	FANCG	GNAS	INHBA	MDC1	NTRK3	PREX2	SDHC	TET1
ALOX12B	CBFB	DICER1	FANCI	GPR124	INHBA	MDM2	NUP93	PRKAR1A	SDHD	TET2
ANKRD11	CBL	DIS3	FANCL	GPS2	INPP4A	MDM4	NUTM1	PRKCI	SETBP1	TFE3
ANKRD26	CCND1	DNAJB1	FAS	GREM1	INPP4B	MED12	PAK1	PRKDC	SETD2	TFRC
APC	CCND2	DNMT1	FAT1	GRIN2A	INSR	MEF2B	PAK3	PRSS8	SF3B1	TGFBF1
AR	CCND3	DNMT3A	FBXW7	GRM3	IRF2	MEN1	PAK7	PTCH1	SH2B3	TGFBF2
ARAF	CCNE1	DNMT3B	FGF1	GSK3B	IRF4	MET	PALB2	PTEN	SH2D1A	TMEM127
ARFRP1	CD274	DOT1L	FGF10	H3F3A	IRS1	MGA	PARK2	PTPN11	SHQ1	TMPS2
ARID1A	CD276	E2F3	FGF14	H3F3B	IRS2	MITF	PARP1	PTPRD	SLIT2	TNFAIP3
ARID1B	CD74	EED	FGF19	H3F3C	JAK1	MLH1	PAX3	PTPRS	SLX4	TNFRSF14
ARID2	CD79A	EGFL7	FGF2	HGF	JAK2	MLL	PAX5	PTPR7	SMAD2	TOP1
ARID5B	CD79B	EGFR	FGF23	HIST1H1C	JAK3	MLLT3	PAX7	QKI	SMAD3	TOP2A
ASXL1	CD73	EIF1AX	FGF3	HIST1H2BD	JUN	MPL	PAX8	RAB35	SMAD4	TP53
ASXL2	CDH1	EIF4A2	FGF4	HIST1H3A	KAT6A	MRE11A	PBRM1	RAC1	SMARCA4	TP63
ATM	CDK12	EIF4E	FGF5	HIST1H3B	KDMSA	MSH2	PDCD1	RAD21	SMARCB1	TRAF2
ATR	CDK4	EML4	FGF6	HIST1H3C	KDMSB	MSH3	PDCD1LG2	RAD50	SMARCD1	TRAF7
ATRX	CDK6	EP300	FGF7	HIST1H3D	KDM6A	MSH6	PDGFRA	RAD51	SMC1A	TSC1
AURKA	CDK8	EPCAM	FGF8	HIST1H3E	KDR	MST1	PDGFRB	RAD51B	SMC3	TSC2
AURKB	CDKN1A	EPHA3	FGF9	HIST1H3F	KEAP1	MST1R	PDK1	RAD51C	SMO	TSHR
AXIN1	CDKN1B	EPHA5	FGFR1	HIST1H3G	KEL	MTOR	PDPK1	RAD51D	SNCAIP	U2AF1
AXIN2	CDKN2A	EPHA7	FGFR2	HIST1H3H	KIF5B	MUTYH	PGR	RAD52	SOC3	VEGFA
AXL	CDKN2B	EPHB1	FGFR3	HIST1H3I	KIT	MYB	PHF6	RAD54L	SOX10	VHL
B2M	CDKN2C	ERBB2	FGFR4	HIST1H3J	KLF4	MYC	PHOX2B	RAF1	SOX17	VTCN1
BAP1	CEBPA	ERBB3	FH	HIST2H3A	KLHL6	MYCL	PIK3C2B	RANBP2	SOX2	WISP3
BARD1	CENPA	ERBB4	FLCN	HIST2H3C	KMT2B	MYCN	PIK3C2G	RARA	SOX9	WT1
BBC3	CHD2	ERCC1	FLI1	HIST2H3D	KMT2C	MYO8	PIK3C3	RASA1	SPEN	XIAP
BCL10	CHD4	ERCC2	FLT1	HIST3H3	KMT2D	MYO10	PIK3CA	RB1	SPOP	XPO1
BCL2	CHEK1	ERCC3	FLT3	HLA-A	KRAS	NAB2	PIK3CB	RBM10	SPTA1	XRCC2
BCL2L1	CHEK2	ERCC4	FLT4	HLA-B	LAMP1	NBN	PIK3CD	RECQL4	SRC	YAP1
BCL2L11	CIC	ERCC5	FOXA1	HLA-C	LATS1	NCOA3	PIK3CG	REL	SRSF2	YES1
BCL2L2	CREBBP	ERG	FOXL2	HNF1A	LATS2	NCOR1	PIK3R1	RET	STAG1	ZBTB2
BCL6	CRKL	ERF1	FOXO1	HNRNP	LMO1	NEGR1	PIK3R2	RFXD2	STAG2	ZBTB7A
BCOR	CRLF2	ESR1	FOXP1	HOXB13	LRP1B	NF1	PIK3R3	RHEB	STAT3	ZFHX3
BCORL1	CSF1R	ETS1	FRS2	HRAS	LYN	NF2	PIM1	RHOA	STAT4	ZNF217
BCR	CSF3R	ETV1	FUBP1	HSD3B1	LZTR1	NFE2L2	PLCG2	RICTOR	STAT5A	ZNF703
BIRC3	CSNK1A1	ETV4	FYN	HSP90AA1	MAGI2	NFKB1A	PLK2	RIT1	STAT5B	ZRSR2
BLM	CTCF	ETV5	GABRA6	ICOSLG	MALT1	NKX2-1	PMAIP1	RNF43	STK11	
BMPR1A	CTLA4	ETV6	GATA1	ID3	MAP2K1	NKX3-1	PMS1	ROS1	STK40	
BRAF	CTNNA1	EWSR1	GATA2	IDH1	MAP2K2	NOTCH1	PMS2	RPS6KA4	SUFU	
BRCA1	CTNNA1	EZH2	GATA3	IDH2	MAP2K4	NOTCH2	PNRC1	RPS6KB1	SUZ12	
BRCA2	CUL3	FAM123B	GATA4	IFNGR1	MAP3K1	NOTCH3	POLD1	RPS6KB2	SYK	
コピー数多型										
AKT2	BRCA2	CHEK1	ERCC2	FGF2	FGF6	FGFR2	KRAS	MYC	PDGFRA	RAF1
ALK	CCND1	CHEK2	ESR1	FGF23	FGF7	FGFR3	LAMP1	MYCL	PDGFRB	RET
AR	CCND3	EGFR	FGF1	FGF3	FGF8	FGFR4	MDM2	MYCN	PIK3CA	RICTOR
ATM	CCNE1	ERBB2	FGF10	FGF4	FGF9	JAK2	MDM4	NRAS	PIK3CB	RPS6KB1
BRAF	CDK4	ERBB3	FGF14	FGF5	FGFR1	KIT	MET	NRG1	PTEN	TFRC
BRCA1	CDK6	ERCC1	FGF19							
融合遺伝子										
ABL1	BRAF	EGFR	ETV4	EWSR1	FGFR3	NTRK1	NUTM1	PAX8	RET	TFE3
ALK	CD74	ETV1	ETV6	FGFR2	NAB2	NTRK2	PAX3	PPARG	ROS1	TMPS2
BCR										

● 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) [※]
24.12

①

※血漿1mLあたりから抽出されたcfDNA量

腫瘍変異負荷（TMB）およびマイクロサテライト不安定性（MSI）

TMB	MSI
3.3	0.025

②

品質確認結果

核酸抽出

cfDNA			gDNA	
収量 (ng)	メインピーク (bp)	gDNAの混入 (%)	収量 (ng)	分解度 (DIN)
✓	✓	✓	✓	✓

ライブラリー作製

cfDNA	gDNA
濃度 (ng/μL)	濃度 (ng/μL)
✓	✓

シーケンス解析

cfDNA	gDNA
Q30	Q30
✓	✓

③

●品質基準を満たさない場合は、検査結果に影響を与える可能性があります。

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56ページ、「cfDNA定量検査」内の参考データをご参照ください。

②腫瘍変異負荷（TMB）およびマイクロサイト不安定性（MSI）

以下の情報を示します。

項目	内容
TMB	TMB (Tumor Mutation Burden; 遺伝子変異量) は、がん細胞のゲノムに生じた遺伝子変異の総量です。遺伝子変異量の高いがん (TMB-High) には、免疫チェックポイント阻害薬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)) 本検査 (血液を用いた TSO500ctDNA パネル解析) において、健常者の 80% では TMB 値 3 以下との報告があります。(参考文献：イルミナ株式会社 (以下、「Illumina」) 文書番号「200622-pro-webinar-tso500」) また、腫瘍組織を用いた TSO500 パネル解析 (本検査と同一の遺伝子を対象としたパネル解析) において、TMB 値 10 以上の場合、全エクソーム解析法における TMB-High と相関があることが示されています。 (参考文献：Illumina 文書番号「1170-2018-009-B」) ただし、血漿中の cfDNA のうち、腫瘍由来の cfDNA の割合が 0.4% を下回る場合、正確な結果が得られない場合があります。

項目	内容
MSI	MSI (microsatellite instability; マイクロサテライト不安定性) は、ゲノム上の1～数塩基の塩基配列が繰り返す部分 (マイクロサテライト) の反復回数に違いが生じた状態です。高頻度マイクロサテライト不安定性のがん (MSI-High) には、免疫チェックポイント阻害薬が有効であることが示されています。(参考文献: Le, et al. N Engl J Med, 2015;372(26).) 本検査 (血液を用いた TSO500ctDNA パネル解析) において、MSI 値 0.08 以上の場合、MSI-High のステータスを示すことが確認されています。 (参考文献: Illumina 文書番号「1170-2019-006-D」) ただし、血漿中の cfDNA のうち、腫瘍由来の cfDNA の割合が 2% を下回る場合、正確な結果が得られない場合があります。

③品質確認結果

検査工程での品質確認の結果を示します。

適用薬剤・臨床試験情報レポート (例)

遺伝子変異検出結果に基づき、株式会社キアゲン (以下、「QIAGEN」) の臨床決定サポートソフトウェア「QCI Interpret」※を使用した適用薬剤・臨床試験情報レポート「Drug and Clinical Trial Information Report」を作成します。レポートには、以下の情報が含まれます。

- ①標的となりうる遺伝子変異と分子標的治療薬
- ②分子標的治療薬の作用
- ③参照可能な臨床試験

なお、適用薬剤・臨床試験情報レポートの作成は、QIAGEN へ解析データを送付して行います。

QIAGEN は、患者様の同意なしに個人を特定できる情報が第三者に開示されないことを保証します。

※参考: QIAGEN Web サイト

<https://digitalinsights.qiagen.com/ja/products-overview/clinical-insights-portfolio/qiagen-clinical-insight/qci-interpret/>

(適用薬剤・臨床試験情報レポート見本)


Cancer
Precision
Medicine

Page 1 of 7

Report Date **Nov 25, 2019**
Status -

Drug and Clinical Trial Information Report

TSO500 ctDNA

Accession ID **NSCLC demo**

Diagnosis **Lung
adenocarcinoma**

6 Clinically Significant Variants	2 Therapies Associated with Resistance	3 Therapies with Potential Clinical Benefit	3 Clinical Trials
---	--	---	-----------------------------

Report Summary

This is a customizable sample report. The purpose of this sample report is to illustrate report components and not accuracy or completeness of scientific evidence.

Actionable Variants With Associated Therapies

		Approved Therapies			Clinical Trials
Gene / Variant	Allelic Fraction	Lung Adenocarcinoma	Other Indications	Associated With Resistance	
EGFR amplification Tier 1B Pathogenic	-	gefitinib	-	afatinib	1
KRAS amplification Tier 2C Pathogenic	-	-	-	crizotinib	1

Variants Without Associated Therapies

Gene / Variant	Allelic Fraction	Function	Classification	Assessment
Chr3 g.187729244G>A	98.0%	-	Tier 1B	Pathogenic
KIT c.2447A>T p.D86V g.5473355A>T	11.0%	gain	Tier 2C	Pathogenic
NRAS Exon 2-4 deletion	-	loss	Tier 2C	Likely Pathogenic

① 標的となりうる遺伝子変異と分子標的治療薬

(報告例)

Actionable Variants With Associated Therapies					
Gene / Variant	Allelic Fraction	Approved Therapies			Clinical Trials
		Breast Cancer	Other Indications	Associated With Resistance	
BRAF c.1799T>A p.V600E g.140453136A>T Tier 1A Pathogenic	0.84% (of 2016 reads)	dabrafenib / trametinib	-	afatinib cetuximab erlotinib gefitinib imatinib osimertinib panitumumab	10
BRCA1 c.1961delA p.K654fs*47 g.41245587delT Tier 1A Pathogenic	0.5% (of 2397 reads)	olaparib talazoparib	-	-	10
BRCA2 c.7934delG p.R2645fs*3 g.32936788delG Tier 1A Pathogenic	0.33% (of 2110 reads)	olaparib talazoparib	-	-	10

② 分子標的治療薬の作用

(報告例)

Therapeutic Implications for Breast Cancer			
Therapies	Gene / Variant	Response	Therapies Description
dabrafenib / trametinib	BRAF p.V600E g.140453136A>T Tier 1A Pathogenic	Sensitive	Dabrafenib, a kinase inhibitor, in combination with trametinib, a kinase inhibitor, is FDA- and EMA-approved for treating patients with unresectable or metastatic melanoma with BRAF V600E or V600K mutations as detected by an FDA-approved test; for the adjuvant treatment of patients with melanoma with BRAF V600E or V600K mutations, as detected by an FDA-approved test, and involvement of lymph node(s), following complete resection; and for treating patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC) with BRAF V600E mutation as detected by an FDA-approved test; dabrafenib, in combination with trametinib, is also FDA-approved for treating patients with locally advanced or metastatic anaplastic thyroid cancer (ATC) with BRAF V600E mutation and with no satisfactory locoregional treatment options; and for treating adult and pediatric patients 6 years of age and older with unresectable or metastatic solid tumors with

③参照可能な臨床試験

検出された遺伝子変異について、「ClinicalTrials.gov」に登録された臨床試験情報を提示します。

「ClinicalTrials.gov」は、米国および200か国以上で行われている臨床試験とその結果に関する情報が登録されたオンラインデータベースです。

(報告例)

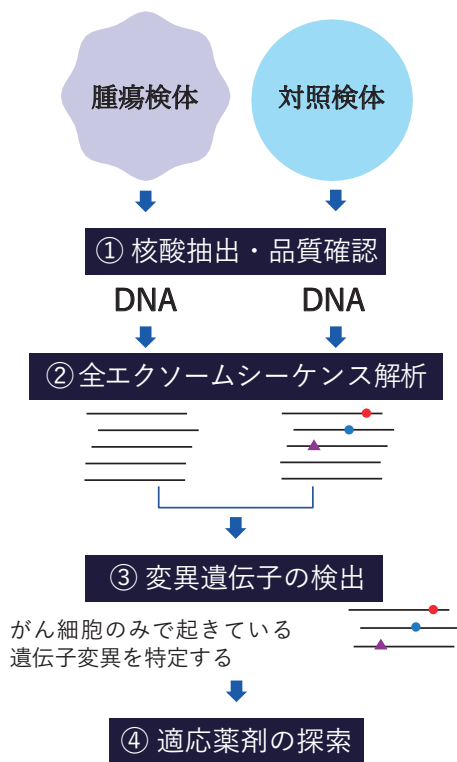
Therapeutic Implications for Breast Cancer			
Therapies	Gene / Variant	Response	Therapies Description
dabrafenib/ trametinib	BRAF p.V600E g.140453136A>T Tier 1A Pathogenic	Sensitive	Dabrafenib, a kinase inhibitor, in combination with trametinib, a kinase inhibitor, is FDA- and EMA-approved for treating patients with unresectable or metastatic melanoma with BRAF V600E or V600K mutations as detected by an FDA-approved test; for the adjuvant treatment of patients with melanoma with BRAF V600E or V600K mutations, as detected by an FDA-approved test, and involvement of lymph node(s), following complete resection; and for treating patients with metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC) with BRAF V600E mutation as detected by an FDA-approved test; dabrafenib, in combination with trametinib, is also FDA-approved for treating patients with locally advanced or metastatic anaplastic thyroid cancer (ATC) with BRAF V600E mutation and with no satisfactory locoregional treatment options; and for treating adult and pediatric patients 6 years of age and older with unresectable or metastatic solid tumors with

がん遺伝子変異解析

腫瘍検体と対照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に加え、DNA ミスマッチ修復遺伝子の変異の情報、臨床的有用性のある遺伝子変異および適応する分子標的治療薬候補を報告します。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病的バリエーションは解析対象としておりません。）

検査方法

腫瘍検体（腫瘍組織等）および対照検体（正常組織、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（腫瘍組織等）と対照検体（正常組織、血液等）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依頼時のご連絡先にメールにてご連絡いたします。

②全エクソームシーケンス解析

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。
全エクソームシーケンス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33ページ「検査結果報告の内容 ③OncoKBにおける変異の臨床的解釈および適応薬剤候補」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：

① 解析結果

解析の結果として、以下の項目を示します。

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

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ががん細胞に生じる遺伝子変異の総量（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。本検査で行われる全エクソームシーケンス解析法において，アミノ酸置換を含む遺伝子変異数が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。

遺伝子名	検出変異
PMS1	p.R871C

遺伝子機能の説明

PMS1 is one of four MutL homologs that functions in the DNA mismatch repair (MMR) system, which is important in detecting and repairing nucleotide base mismatches. Within the MMR system, PMS1 forms a heterodimer with MLH1 (known as the MutLβ complex); in humans the specific function of this complex is unknown (PMID: 24614649, 16136382). The MMR system primarily acts as a sensory system that scans newly synthesized DNA for base pair mismatches caused by DNA polymerase strand slippage. Upon recognition of DNA mismatches, the MMR system recruits repair enzymes that excise mismatched bases and initiates resynthesis along the parental template

項目	内容
遺伝子名	変異の検出された遺伝子名を示します。
検出変異	遺伝子に変異している箇所を示します。
遺伝子機能の説明	遺伝子機能の詳細，およびがんとの関係に関する説明を示します。

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）を修復する機構です。DNA ミスマッチ修復機能が低下すると、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), Le DT, et al. N Engl J Med, 2015;372(26).）。

③ OncoKB における変異の臨床的解釈および適応薬剤候補

変異の臨床的解釈

検出された遺伝子変異のうち、知識ベース OncoKB^{※1}において治療エビデンスが収録されているものを示します。

遺伝子名	遺伝子変異		がん遺伝子／がん抑制遺伝子 区分	がん化への関与	生物学的作用
	検出変異	OncoKB 上の表記			
KRAS	p.G12C	G12C	がん遺伝子	Oncogenic	Gain of function
遺伝子の機能 KRAS, a GTPase which functions as an upstream regulator of the MAPK pathway, is frequently mutated in various cancer types including lung, colorectal and pancreatic cancers. 変異の影響 The KRAS G12C mutation is located in the P-loop of the catalytic G-domain of the protein. This mutation has been found in lung and colorectal cancer (PMID: 28572459). Expression of this mutation in lung and breast cancer cell lines and mouse models demonstrated that it is activating, as measured by increased pathway activation, cell proliferation, colony formation and in vivo tumor formation compared to wildtype (PMID: 25705018, 26841430, 16051643, 32792368). In vitro studies of cells expressing the KRAS G12C mutation demonstrate that it is sensitive to several targeted therapies designed specifically for this allele, including ARS853 (PMID: 26841430, 24256730). In a phase I clinical trial of the KRAS G12C inhibitor AMG510 in which thirteen patients with non-small cell lung cancer harboring this mutation were given the target drug dose, 100% of patients responded, with seven patients having partial response and six patients having stable					

項目	内容
遺伝子名	変異の検出された遺伝子名を示します。
検出変異	遺伝子に変異している箇所を示します。
OncoKB 上の表記	検出変異に対応する、OncoKB に収録された変異の表記。
がん遺伝子／がん抑制遺伝子区分	当該遺伝子のがん遺伝子／がん抑制遺伝子区分を記載します。
がん化への関与	当該変異に対し OncoKB が付与した、がん化への関与レベルを記載します。
生物学的作用	当該変異に対し OncoKB が付与した、生物学的作用レベルを記載します。
遺伝子の機能	当該変異に対し OncoKB が付与した遺伝子の機能を引用し記載します。
変異の影響	当該変異に対し OncoKB が付与した変異の機能を引用し記載します。

分子標的治療薬

検出された遺伝子変異に対する分子標的治療薬候補を、知識ベース OncoKB をもとに、エビデンスレベル、標的変異、対象がん種、および薬剤の詳細と合わせ報告します。

薬剤	治療エビデンス レベル	標的変異	適応がん種
Adagrasib + Cetuximab	1	KRAS G12C	Colorectal Cancer
治療に関する詳細 Adagrasib, a small molecule KRAS G12C inhibitor, and cetuximab, an anti-EGFR monoclonal antibody, are FDA-approved in combination for the treatment of adult patients with KRAS G12C-mutated locally advanced or metastatic colorectal cancer (CRC), as determined by an FDA-approved test, who have received prior treatment with fluoropyrimidine-, oxaliplatin- and irinotecan-based chemotherapy. KRAS G12C mutation for treatment with adagrasib plus cetuximab was detected by the theascreen KRAS RGQ PCR Kit. FDA approval was based on the results of the Phase I/II KRYSTAL-1 (NCT03785249) trial of adagrasib plus cetuximab in 94 patients with KRAS G12C-mutated CRC. In the Phase I/II KRYSTAL-1 (NCT03785249) trial, the objective response rate was 34% (95% CI=26.4-44.5), with a 34% (n=32) partial			

項目	内容
薬剤	分子標的治療薬候補を示します。
治療エビデンスレベル	分子標的治療薬における、OncoKB が付与した治療エビデンスレベルを示します。
標的変異	分子標的治療薬に関連する標的変異を示します。
適応がん種	分子標的治療薬に関連するがん種を示します。
治療に関する詳細	分子標的治療薬について、OncoKB が付与した詳細を引用し記載します。

OncoKB における治療エビデンスレベルの定義は以下の通りです。

治療エビデンス レベル	定義
1	当該がん種において、FDA ^{※2} 承認を受けた治療薬への応答が予測される FDA が認めたバイオマーカー
2	当該がん種において、FDA 承認を受けた治療薬への応答が予測される、NCCN ^{※3} または他の専門家のガイドラインで推奨されている標準治療バイオマーカー
3A	当該がん種において、説得力のある臨床的エビデンスによる裏付けのある、治療薬への応答が予測されるバイオマーカー
3B	異なるがん種において、FDA 承認薬、または治験薬への応答が予測される標準治療、または治験バイオマーカー
4	説得力のある生物学的エビデンスによる裏付けのある、治療薬への応答が予測されるバイオマーカー
R1	当該がん種において、FDA 承認を受けた治療薬への抵抗性が予測される標準治療バイオマーカー
R2	説得力のある臨床的エビデンスによる裏付けのある、治療薬への抵抗性が予測されるバイオマーカー

※1：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。

※2：Food and Drug Administration 米国食品医薬品局

※3：National Comprehensive Cancer Network

④ 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。

遺伝子名	全長タンパク質内の アミノ酸置換位置	遺伝子変異タイプ	変異頻度 ※ 〇 内はそれぞれ順に変異型、正常型の リード数を示します。	
			腫瘍組織における変異頻度	正常組織における変異頻度
KRAS	p.G12C	nonsynonymous SNV	14.4% (43 / 255)	0.0% (0 / 226)

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：アミノ酸配列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
遺伝子変異タイプ	遺伝子変異のタイプを示します。 • nonsynonymous SNV：アミノ酸が置換され、タンパク質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、タンパク質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
変異検出頻度	各遺伝子変異の検出頻度（変異箇所にもマッピングされたリードのうちの変異型の割合）を示します。また、変異型、正常型のリード数カウントを合わせて示します。 例) 14.6% (6 / 35) 変異の検出頻度：14.6% 正常型のリード数：35 変異型のリード数：6

報告例2（検査中止時）：P.41「ネオアンチゲン解析」報告例2（検査中止時）と同様

個別化がん免疫療法 関連検査

|| ネオアンチゲン解析

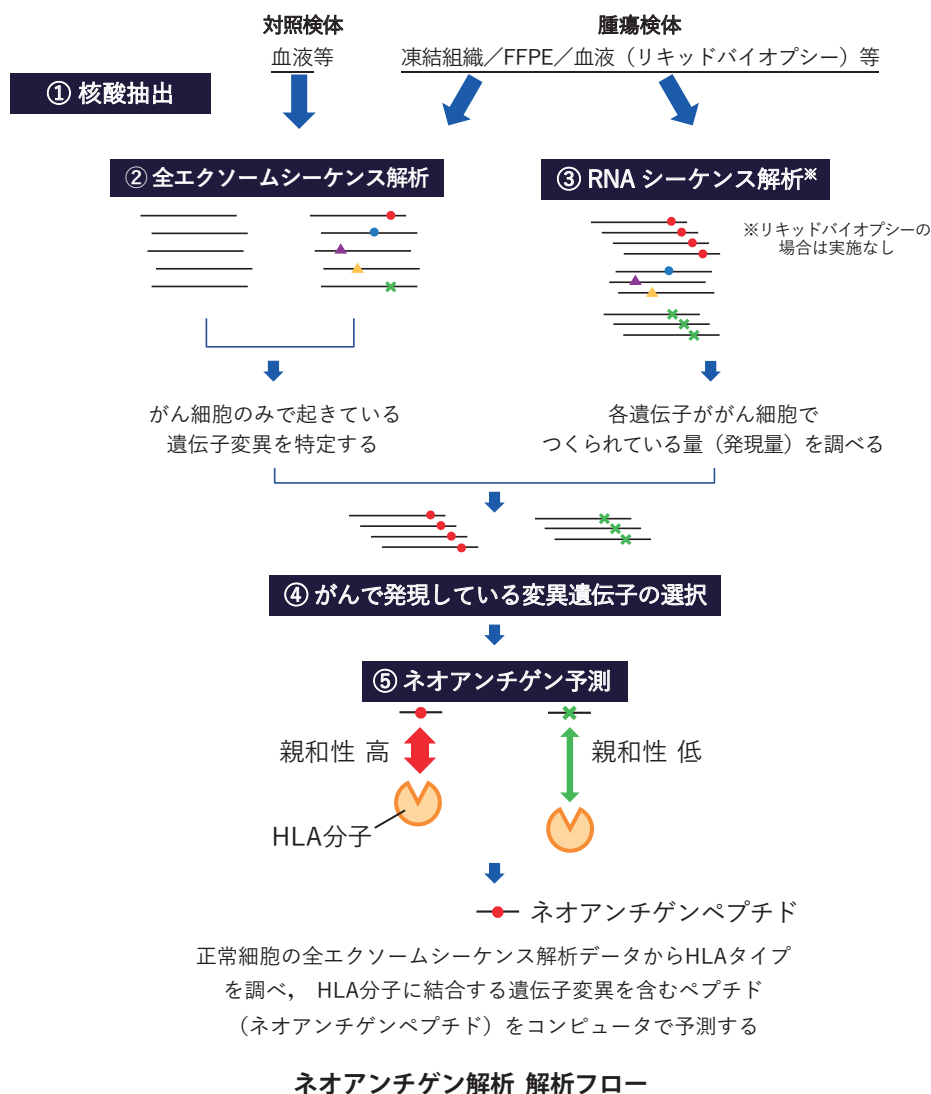
「ネオアンチゲン解析」は、腫瘍検体と対照（正常）検体の遺伝子解析により、がん細胞でのみ起こっている遺伝子変異とネオアンチゲン候補を見つけ出す検査です。ネオアンチゲンとは、がん細胞で起こった遺伝子変異によって新たに作られるがん特異的な抗原のことをいいます。ネオアンチゲンは、正常なタンパク質と性質が異なることから強い免疫反応を引き起こすことが期待され、がん免疫療法の理想的なターゲットと考えられています。

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

● 検査方法

腫瘍検体（凍結組織，FFPE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：全エクソームシーケンス解析，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）を抽出して全エクソームシーケンス解析もしくはパネル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シーケンス解析もしくはパネル解析を行います。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.）



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依頼時のご連絡先にメールにてご連絡いたします。

② 全エクソームシーケンス解析

腫瘍検体（凍結組織／FFPE／腫瘍細胞）と対照検体から抽出したDNAを用いて、全エクソームシーケンス解析を行います。腫瘍検体として血液を利用する場合は、cfDNAを用いて全エクソームシーケンス解析もしくはパネル解析を行います。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gDNAを用いて全エクソームシーケンス解析もしくはパネル解析を行います。得られた両検体の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。

解析対象は、全エクソームシーケンス解析の場合はヒトの全遺伝子（約2万遺伝子）です。Oncomine Pan-Cancerパネル解析の場合は52遺伝子、TSOパネル解析の場合は523遺伝子が解析対象です。

③ RNA シーケンス解析

腫瘍検体から抽出したRNAシーケンス解析を行います。得られたRNAシーケンスデータより、各遺伝子の発現量を確認します。RNAの品質が検査実施基準を満たさない場合、およびリキッドバイオプシーの場合は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（The Cancer Genome Atlas; TCGA）を用いて解析を行います。

④がんで発現している変異遺伝子の選択

全エクソームシーケンスデータとRNA シーケンスデータを用いて、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、HLA 分子に結合しがんと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
 - ・ アミノがん酸置換を伴う（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

[検査項目]

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）※1
追加データ解析 HLA クラス II 拘束性	HLA クラス II 拘束性※2 （HLA-DR）	アミノ酸置換を伴う一塩基変異（SNV）

※1：挿入・欠失による遺伝子変異に依頼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。

※2：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（HLA-DR）拘束ペプチドは、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。

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 は非常に分解し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（The Cancer Genome Atlas; TCGA）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、90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。

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。

遺伝子変異解析	ネオアンチゲン解析で取得した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、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、31ページ「がん遺伝子変異解析」と同様です。) ※「ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)」の場合は実施不可
遺伝子発現解析	ネオアンチゲン解析で取得した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、46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]」および「ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)」の場合は実施不可

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32ページおよび49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} 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II (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
			アミノ酸長さ ^{*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	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	TOP2B	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さ

^{*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

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。がん細胞に生じる遺伝子変異の総量 (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。本検査で行われる全エクソームシーケンス解析法において、アミノ酸置換を含む遺伝子変異数が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 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

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-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。≥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。 RNAシーケンス解析を実施しなかった場合 (RNAの品質が検査実施基準を満たさない場合や、血液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) 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)

項目	基準値	説明
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 一種を選択	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。

④ 解析結果

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	全エクソームシーケンスデータから解析された HLA 型を示します。

例) 35.60.146...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%)

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 -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。≥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。 RNA シーケンス解析を実施しなかった場合（RNA の品質が検査実施基準を満たさない場合や，血液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）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）
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 親和性の強い一種を選択	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

⑥

*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	クラスII抗原 との重複 ^{*7}
			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	LNPYGLVAPR FQKQF	329	LNPYGLVAPR FQKQF	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	○

⑦

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%)

*7 クラスII抗原と重複する遺伝子変異 (○：重複あり、-：重複なし)

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。 がん細胞に生じる遺伝子変異の総量 (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。本検査で行われる全エクソームシーケンス解析法において、アミノ酸置換を含む遺伝子変異数が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

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。 ≥ 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。 RNA シーケンス解析を実施しなかった場合（RNA の品質が検査実施基準を満たさない場合や，血液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）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 ）
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 親和性の強い一種を選択	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。）

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遺伝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。

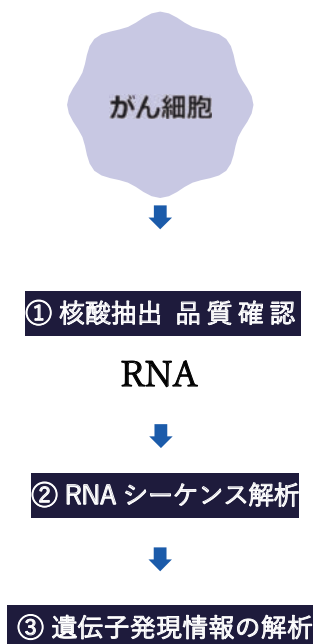
また、免疫治療の効果は免疫チェックポイント分子やHLAの発現量等の影響を受けるため^{※1}、これらの分子の発現量を確認することで、免疫チェックポイント阻害剤の併用や抗原（HLA 拘束性）の選択等、治療の選択に役立てることができます。

（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、免疫が制御され、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、免疫細胞ががん細胞を攻撃できないことが示されています。（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、がん細胞におけるオンコアンチゲンおよび免疫に関連する遺伝子の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依頼時のご連絡先にメールにてご連絡いたします。

② RNA 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、がん細胞におけるオンコアンチゲンおよび免疫に関連する遺伝子の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 ^{※2}	分類	遺伝子名 ^{※2}
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) ^{※3}	<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>
	<i>VEGFR1</i>		<i>IRF1</i>
	<i>VEGFR2</i>		<i>MICA</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>MICB</i>
	<i>CD28</i>		<i>PSMB8 (LMP7)</i>
	<i>CD4</i>		<i>PSMB9 (LMP2)</i>
	<i>CD68</i>		<i>TAP1</i>
	<i>CD80</i>		<i>TAP2</i>
	<i>CD86</i>		<i>TAPBP</i>
	<i>CD8A</i>		
	<i>CD8B</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※2	分類	遺伝子名※2
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)		

※2：()内に示した遺伝子名は、別名です。

※3：「オンコアンチゲン」の分類に、がん細胞の血管新生に関与する血管内皮細胞増殖因子受容体 (VEGFR1/2) を含めて記載しています。

● 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 (がん細胞における発現の亢進 が報告されている遺伝子) ※	CDC45L (CDC45)	3.00
2		CDCA1 (NUF2)	2.91
3		CDH3	0.35
4		DEPDC1	1.36
5		ECT2	9.17
6		FOXO1	29.00
7		GPC3	47.90
8		HIG2 (HILPDA)	6.39
9		HJURP	2.82
10		KIF20A	5.90
11		KNTC2 (NDC80)	3.35
12		KOC1 (IGF2BP3)	13.27
13		MELK	6.30
14		MPHOSPH1 (KIF20B)	1.57
15		NEIL3	0.89
16		RNF43	4.29
17		SPARC	520.00
18		TOMM34	10.63
19		TOPK (PBK)	2.37
20		UBE2T	7.23
21		URLC10 (LY6K)	0.02
22		WDRPUH (WDR16)	0.08
23		VEGFR1	5.12
24		VEGFR2	12.53
25	免疫細胞（T 細胞、B 細胞、 抗原提示細胞）に関連する遺	B2M	4200.60
26		CALR	547.32
27		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※⁴で示します。

※ 4：TPM (transcripts per million)

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. 41 「ネオアンチゲン解析」報告例2（検査中止時）と同様

治療効果・再発のモニタリング 関連検査

デジタルPCR検査

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

「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てください。

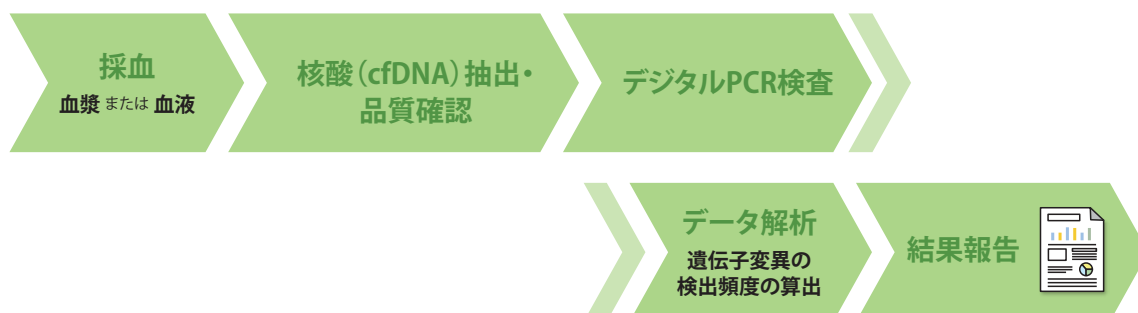
解析が可能な遺伝子変異（一部）※1

遺伝子	塩基変異	アミノ酸置換	遺伝子	塩基変異	アミノ酸置換
APC	c.4216C>T	p.Q1406Ter	SF3B1	c.2098A>G	p.K700E
BRAF	c.1799T>A	p.V600E	TP53	c.517G>A	p.V173M
FGFR3	c.742C>T	p.R248C		c.536A>G	p.H179R
GNAS	c.602G>A	p.R201H		c.569C>T	p.P190L
IDH1	c.394C>T	p.R132C		c.584T>C	p.I195T
	c.394C>A	p.R132S		c.586C>T	p.R196Ter
IDH2	c.419G>A	p.R140Q		c.659A>G	p.Y220C
KRAS	c.34G>T	p.G12C		c.701A>G	p.Y234C
	c.35G>A	p.G12D		c.734G>A	p.G245D
	c.34G>A	p.G12S		c.733G>A	p.G245S
	c.35G>T	p.G12V		c.742C>T	p.R248W
	c.38G>A	p.G13D		c.817C>T	p.R273C
	c.183A>C	p.Q61H		c.818G>A	p.R273H
	c.182A>T	p.Q61L		c.818G>T	p.R273L
MAP2K1	c.370C>T	p.P124S		c.838A>G	p.R280G
NRAS	c.35G>A	p.G12D		c.844C>T	p.R282W
PIK3CA	c.263G>A	p.R88Q			
	c.1624G>A	p.E542K			
	c.1633G>A	p.E545K			

※1：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。

● 検査方法

血液もしくは血漿より、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、検出頻度を算出します。



デジタルPCR検査のながれ

● 検査結果報告の内容

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。

核酸の品質 (cfDNA抽出結果)

cfDNA量 (ng/mL)*
24.12

※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

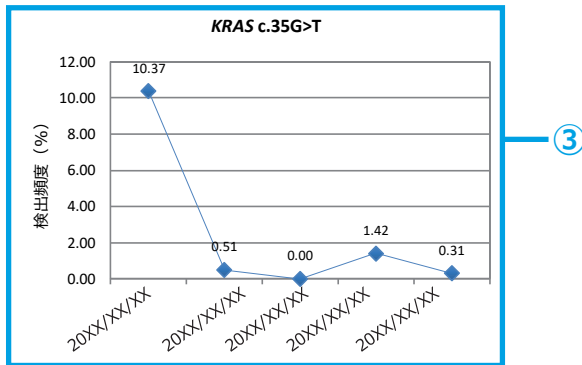
コメント

【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56ページ,「cfDNA 定量検査」内の参考データをご参照ください。

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

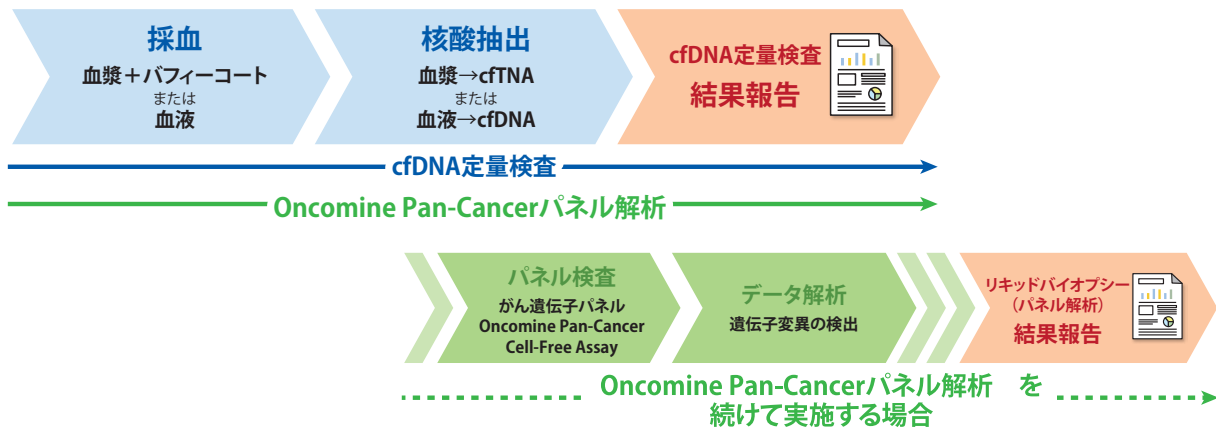
cfDNA 定量検査

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、がんの健康診断や経時的な変化を捉えた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「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1：

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 cfDNAレベルについて

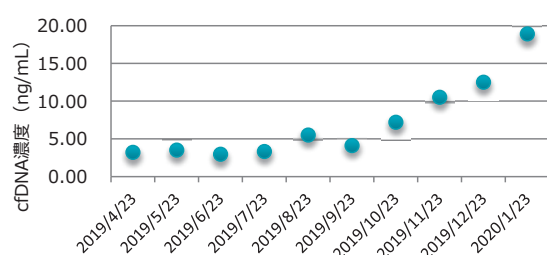
L1	4.20 ng/mL未満：健常者の67.5%が示すレベルです。
L2	4.20～7.40 ng/mL：健常者の21.5%、ステージI/IIのがんに罹患している方の32.2%が示すレベルです。
L3	7.41 ng/mL以上：健常者の11.0%、ステージI/IIのがんに罹患している方の51.3%が示すレベルです。

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、がんに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。
±50%未満	前回と比較して、大きな変動は認められません
-50%以下	前回より-50%以上の減少が認められます。

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

※3 gDNAの混入を認めた場合、cfDNA定量検査の結果は「測定不可」となります。

※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。

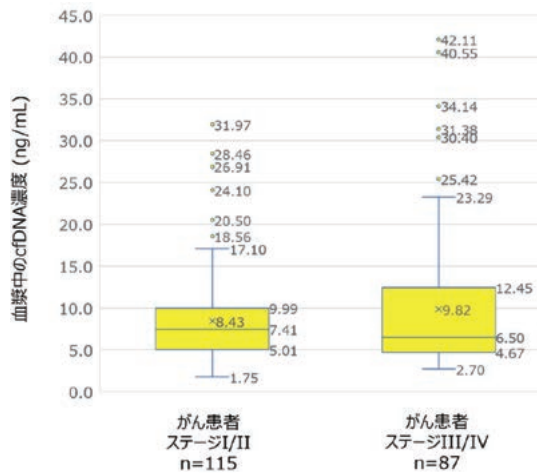
項目	内容												
cfDNA 濃度 (ng/mL)	血漿1 mLあたりから抽出された cfDNA の量を、数値および経時変化のグラフで示します。												
cfDNA レベル	cfDNA 濃度から区分したレベルを示します。(根拠データは、56ページ「参考データ」をご参照ください。) <table><tr><th>レベル</th><th>cfDNA 濃度</th><th>説明</th></tr><tr><td>L1</td><td>4.20 ng/mL 未満</td><td>健常者の67.5%が示すレベルです。</td></tr><tr><td>L2</td><td>4.20 ～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51.3%が示すレベルです。</td></tr></table> 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。)	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51.3%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51.3%が示すレベルです。											
前回比 (%)	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。 <table><tr><th>前回比</th><th>説明</th></tr><tr><td>+50%以上</td><td>前回より50%以上の増加が認められます。</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。</td></tr><tr><td>-50%以下</td><td>前回より50%以上減少しています。</td></tr></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。	±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。	-50%以下	前回より50%以上減少しています。				
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。												
±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。												
-50%以下	前回より50%以上減少しています。												
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



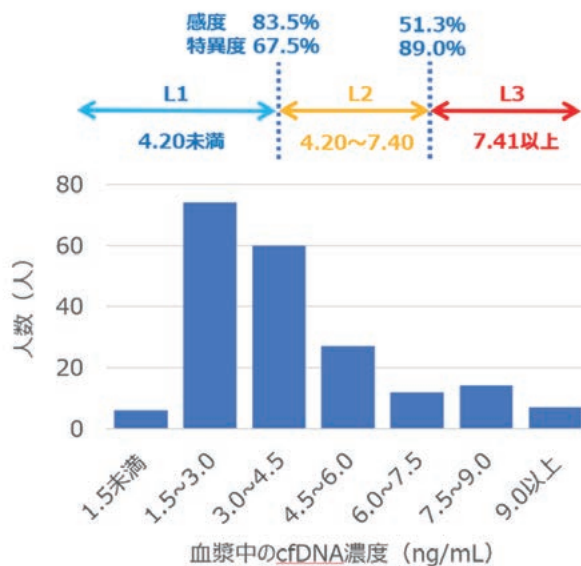
図aはがん患者202名（胃がん・大腸がん ステージⅠ/Ⅱ 115名，ステージⅢ/Ⅳ 87名）のcfDNA濃度を示します。がんが進行するとcfDNA濃度も上昇する傾向が見られます。また，健常者200名のcfDNA濃度の中央値3.53 ng/mL（社内データ）に対し，ステージⅠ/Ⅱのがん患者では7.41 ng/mLであり，顕著な差が認められています。

($P < 0.0001$)

(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。cfDNA濃度に基づいて，cfDNAレベルを3つの区分（L1～L3）に分類しました。

「感度」は，基準値を上回るステージⅠ/Ⅱのがん患者の割合を示します。「特異度」は，基準値を下回る健常者の割合を示します。これらの値は，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濃度測定値より算出されています（図aおよび次ページ「補足」参照）。

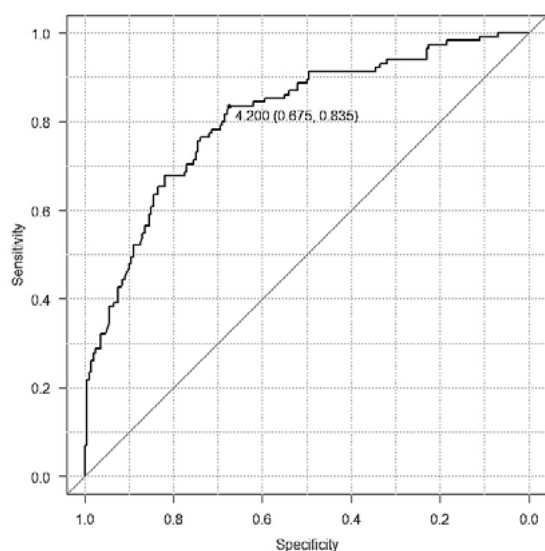
L1とL2の境界となる基準値4.20 ng/mLは，ROC曲線データに基づき設定されました。この基準値4.20 ng/mLを上回るステージⅠ/Ⅱのがん患者の割合（感度）は83.5%，4.20 ng/mL未満の健常者の割合（特異度）は67.5%です。L2とL3の境界となる基準値7.41 ng/mLは，がん患者ステージⅠ/Ⅱ（n=115）の箱ひげ図から得られた中央値より設定されました。この基準値7.41 ng/mLを上回るステージⅠ/Ⅱのがん患者の割合（感度）は51.3%，7.41 ng/mL未満の健常者の割合（特異度）は89.0%です。

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51.3%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%

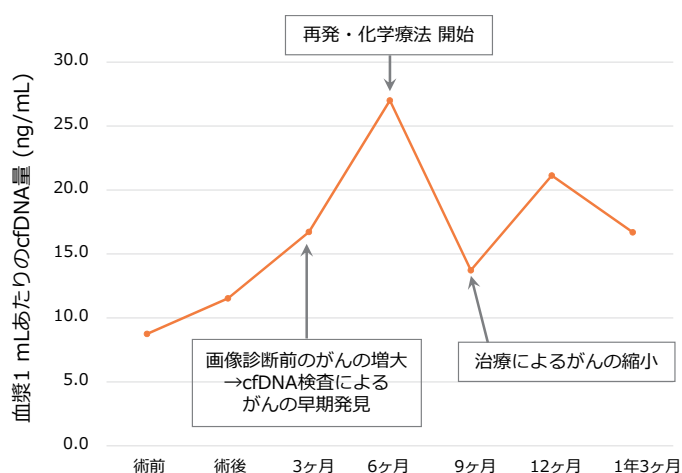
AUC：0.811

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(例)



がん患者において血漿中の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)

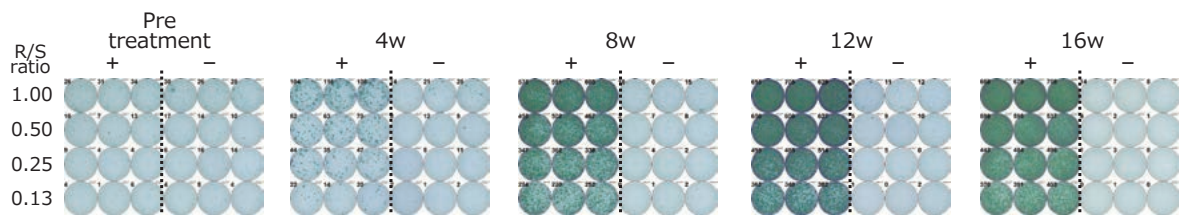
末梢血から分離した末梢血単核細胞 (Peripheral Blood Mononuclear Cells ; PBMC) を検体とし、患者さんの体内におけるペプチド特異的な細胞性免疫応答を解析する検査です。ペプチド刺激によって活性化されたT細胞が産生するインターフェロン (IFN) - γ をELISPOT 法によって検出することにより、抗原特異的な免疫応答を評価します。検査対象は、ネオアンチゲンペプチド (HLA クラス I およびクラス II 拘束性) およびオンコアンチゲンペプチド (HLA クラス I 拘束性) です。HLA クラス I 拘束性ペプチドの場合は細胞傷害性T細胞 (CTL)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



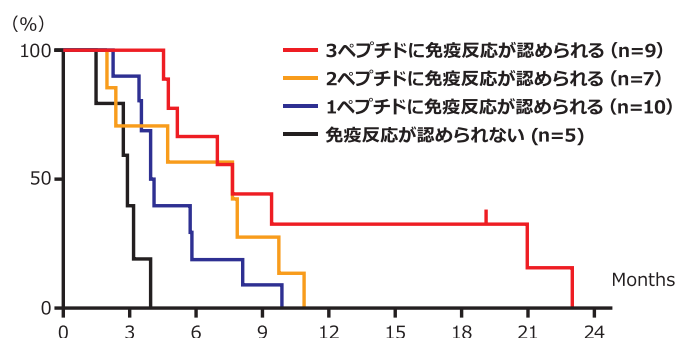
抗原ペプチド特異的なスポット数検出例

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では、認められないがん患者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. J Transl Med. 2012;10:141.)



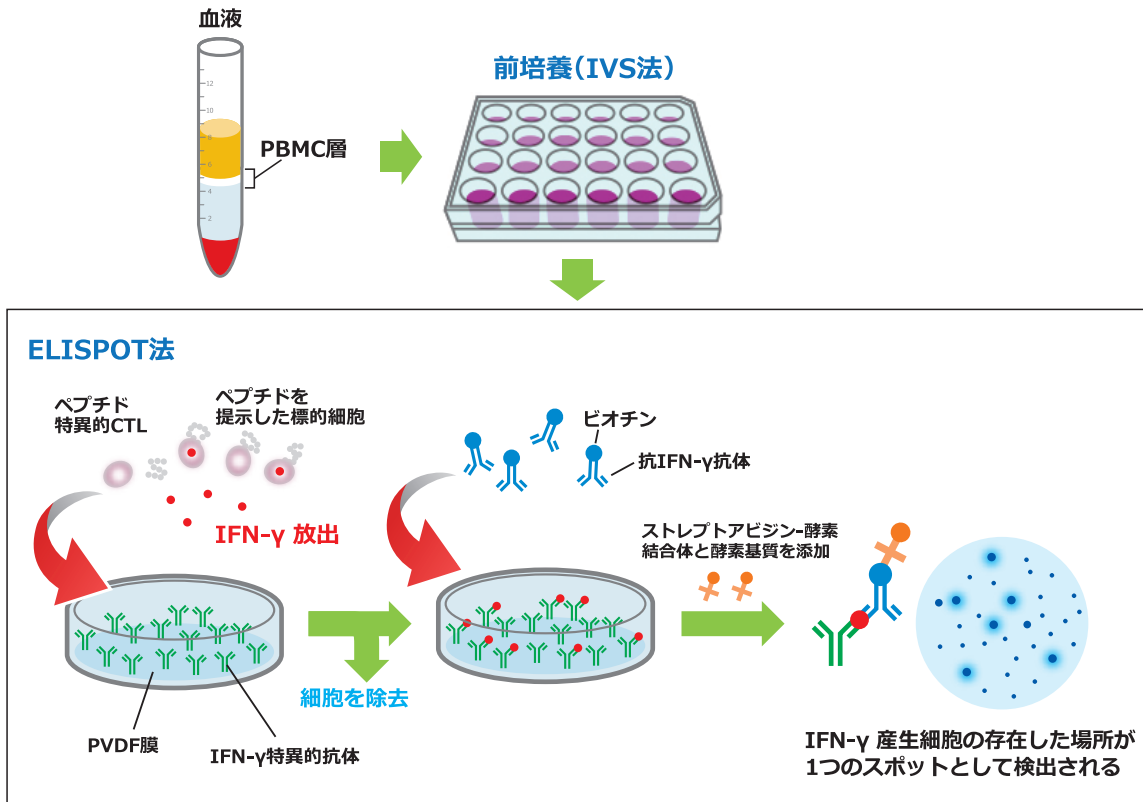
免疫反応と全生存期間の解析例

● 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.）

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「ペプチドー」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				
	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		
	ペプチドー	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

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、以下の結果を示します。

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。

判定結果	説明
—	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、①の抗原ペプチド特異的免疫反応の強さを判定します。

項目	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「ペプチドー」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- 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

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。

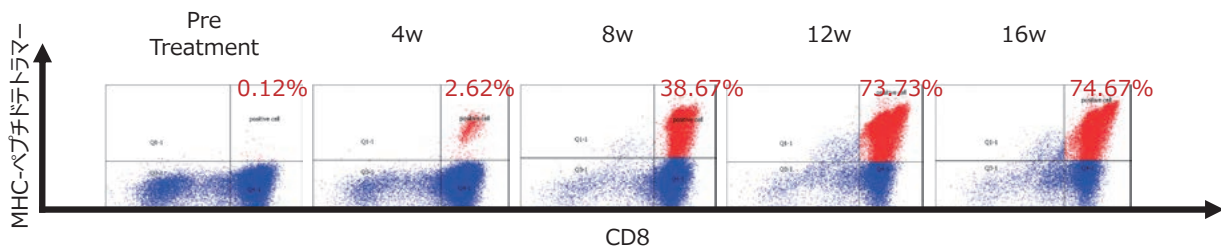
(参考文献：Yoshitake, et al. Clin Cancer Res. 2015;21(2):312-21.)

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。



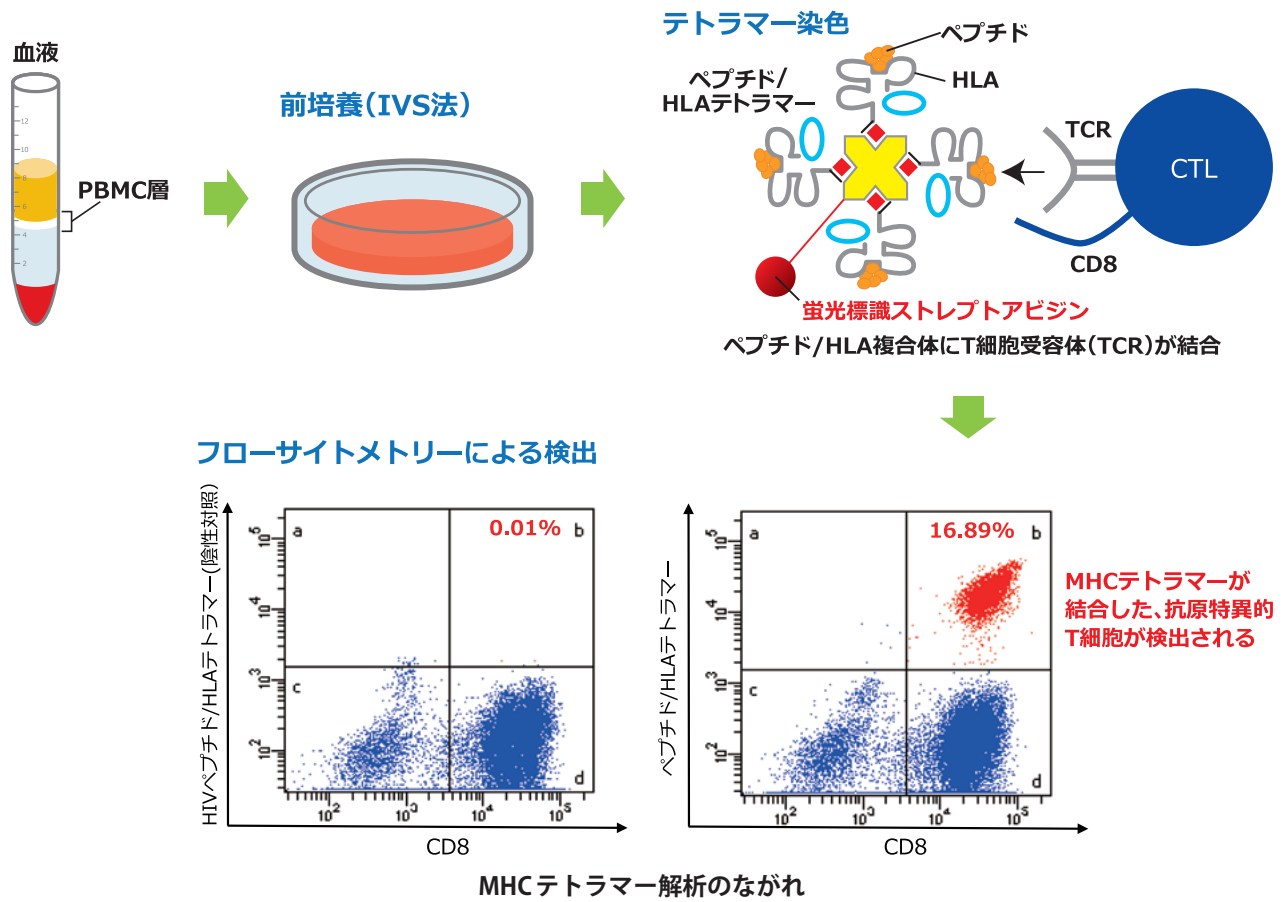
ペプチド特異的MHCテトラマー陽性細胞の検出

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

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

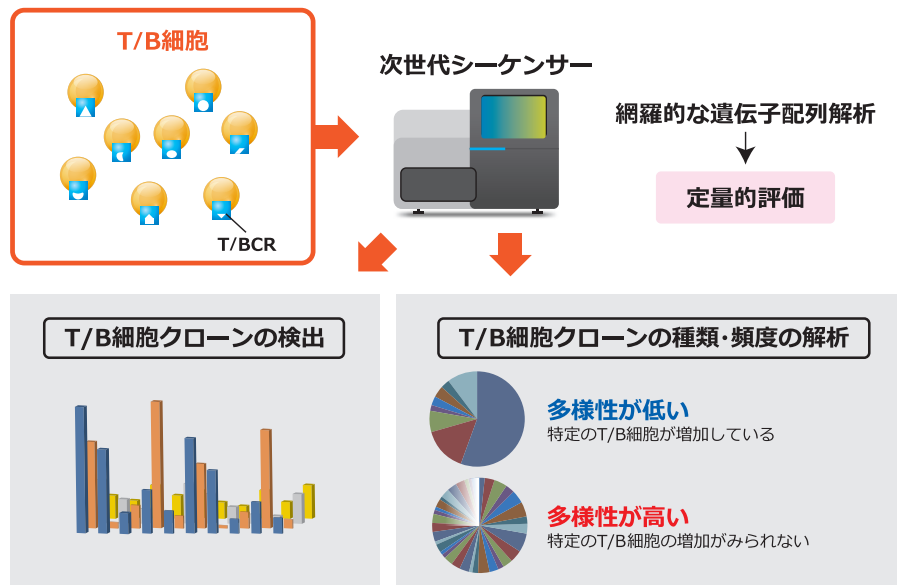
次世代シーケンス技術を用いた遺伝子解析により、検体中に存在する抗原を認識するT/B 細胞受容体 (TCR/BCR) の遺伝子情報 (V 遺伝子, J 遺伝子, CDR3領域), および各T/B 細胞受容体の種類および頻度を網羅的に解析します。生体内の免疫状態はさまざまな疾患やその治療効果に関連しているため、「TCR/BCR レパトア解析」により疾患の状態や治療後の免疫細胞の変化を知ることができます。

(参考文献: Daiko, et al. Cancer Immunol Immunother. 69, 2247–2257 (2020) .)

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化することで、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。



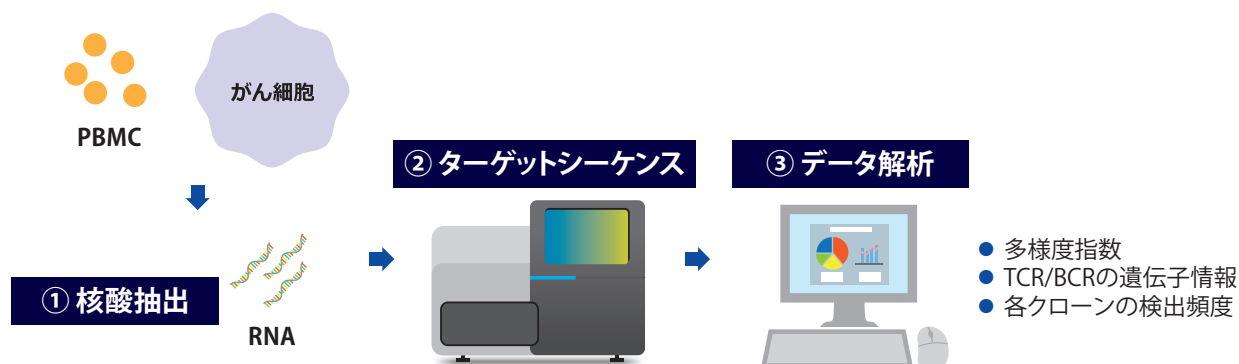
検査の利用例

- ・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

● 検査結果報告の内容

報告例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

①

T細胞受容体の多様度指数※

検体名	TCRα	TCRβ
XXXX	491.1	556.9
YYYY	51.3	28.4

②

※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細胞受容体の遺伝子情報（検出頻度上位10クローン）

検体名： XXXX

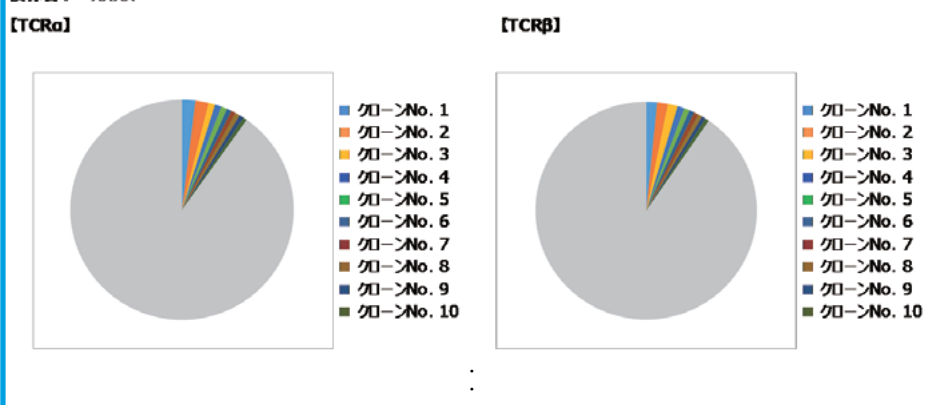
【TCRα】				
クローンNo.	V遺伝子	J遺伝子	CDR3領域のアミノ酸配列	検出頻度（%）
1	TRAV12-2*01	TRAJ39*01	CALGSNMLTF	1.924
2	TRAV13-1*01	TRAJ15*01	CAMRGRAGTALIF	1.904
3	TRAV21*01	TRAJ39*01	CASPRDAGNMLTF	0.954
4	TRAV10*01	TRAJ22*01	CAARAFSSGSARQLTF	0.944
5	TRAV35*01	TRAJ37*01	CVVMASNTGKLIF	0.860
6	TRAV17*01	TRAJ42*01	CAFYGGSQGNLIF	0.692
7	TRAV21*01	TRAJ13*01	CAAPPPGGYQKVTF	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	CASSSGTGNNEQFF	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

③

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の種類数を示します。

項目	説明
シーケンスリード数	次世代シーケンサーによって得られた各鎖の総リード数（検体別）
T（B）細胞受容体の種類	クローン（V遺伝子-J遺伝子-CDR3の組み合わせ）の総種類数

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普森指数で示します。（値が大きいほど多様性が高いと言える）

- ・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。

項目	説明
V遺伝子	V遺伝子領域の情報 (マッピングにより得られた可変V遺伝子ファミリー名)
J遺伝子	J遺伝子領域の情報 (マッピングにより得られた可変J遺伝子ファミリー名)
CDR3領域のアミノ酸配列	CDR 3 領域のアミノ酸配列
検出頻度 (%)	各クローン (V遺伝子-J遺伝子-CDR3配列が同一) 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 の各鎖における全検出クローンに対する、「③ T (B) 細胞受容体の遺伝子情報」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

⑤

※ 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。

項目	説明
材料	検査材料名 (PBMC もしくは 組織)
Total RNA 量 (μg)	提出検体から抽出されたRNAの収量
RNAの分解度 (RIN)	核酸の分解度をRNA Integrity Number (RIN) で示します。 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。
判定	検体別の結果 (検査継続もしくは検査中止) を示します。

検査要項

Oncomine Pan-cancer 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	検体容器	採取方法 掲載ページ	保存方法 (安定性)	所要 期間	検査方法	検査結果
Oncomine Pan-cancer パネル解析	2100	血漿5 mL×2本, および バフィーコート 採取した全量	BT7 遠心分離 ↓ 血漿: CT5・ バフィーコート : CT2	P.93	超冷凍 (1年)	14日	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 ・ 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	RT11	P.95	冷蔵 (10日)			
Oncomine Pan-cancer パネル解析 (cfDNA 定量検査後)	2152	(不要)	—	—	—	14日	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 ・ 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℃
実施料: 未収載

検査不可条件: 検査材料が異なる場合, 必要量を満たしていない場合, 保存方法に不備がある場合は, 検査不可となります。

BT7

真空採血管
EDTA-2Na 入
7 mL 用



CT2・CT5

滅菌クライオチューブ
CT2: 2 mL 用
CT5: 5 mL 用



RT11

リキッドバイオプシー
専用採血管
(PAXgene®)



●追加データ解析

検査項目名	項目コード	所要期間	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※1 「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します。	2153	14日	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
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桁表記 例「A2402」) をご提供ください。	2903	14日	データ解析	・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 ●検査対象 HLA クラス I (HLA-Aおよび-B), SNV

実施料：未収載

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。

※1：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。

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18ページ「偽陽性の確認について」をご参照ください。

TSO500パネル解析

検査項目名	項目コード	検査材料名, 必要量	検体容器	採取方法 掲載ページ	保存方法 (安定性)	所要 期間	検査方法	検査結果
TSO500 パネル解析 【血液】	2502	血漿5 mL×3本, および バフィーコート 採取した全量	BT7 ↓ 遠心分離 血漿: CT5・ バフィーコート : CT2	P.93	超冷凍 (1年)	30日	ターゲット シーケンス法	・cfDNA抽出結果 ・腫瘍変異負荷 (TMB) ・マイクロサテライト不安定性 (MSI) ・遺伝子変異検出結果 ・適応薬剤 ・臨床試験情報レポート「Drug and Clinical Trial Information Report」 ・品質確認結果
		血液 30 mL以上	RT11	P.95	冷蔵 (10日)			

冷蔵: 2℃～8℃

超冷凍: -85℃～-70℃

実施料: 未収載

検査不可条件: 検査材料が異なる場合, 必要量を満たしていない場合, 保存方法に不備がある場合は, 検査不可となります。

BT7

真空採血管
EDTA-2Na入
7 mL用



CT2・CT5

滅菌クライオチューブ
CT2: 2 mL用
CT5: 5 mL用



RT11

リキッドバイオブシー
専用採血管
(PAXgene®)



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18ページ「偽陽性の確認について」をご参照ください。

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		検体 容器	採取方法 掲載ページ	保存方法 (安定性)	所要 期間	検査方法	検査結果
がん遺伝子 変異解析	1140 対照なし 1141	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	RL2 CT2	P.87	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し、冷蔵(1か月) もしくは冷凍(1年) ・液体窒素で凍結のうえ、 超冷凍(1年)	30日	NGS 法	・ 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 ・ 適応薬剤候補
			腫瘍細胞※3 2×10 ⁶ cells 以上を2本		P.88				
			未染色FFPE スライド※4 目安： 切片厚10 μm， 腫瘍部 1.5 cm × 1.5 cm の場合， 10枚以上※5	—	P.90	冷蔵 (薄切後6週間)			
		対照検体（正常検体）	血液 2 mL	BT2 採血 ↓ CT2	P.92	超冷凍(1年)			
			正常細胞 (PBMC等) 2×10 ⁶ cells 以上 を2本	RL2 CT2	P.88	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し、冷蔵(1か月) もしくは冷凍(1年) ・液体窒素で凍結のうえ、 超冷凍(1年)			
			正常組織 3 mm角 4個 もしくは30 mg片 2個程度※2		P.87				

冷蔵：2℃～8℃

冷凍：-25℃～-15℃

超冷凍：-85℃～-70℃

実施料：未収載

※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、72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：組織全体に占める腫瘍部位の割合が30%未満の場合は、提出する全てのスライドに腫瘍部位をマーキングしてご提出ください。

※5：腫瘍部のサイズによります。スライドの作製が難しい場合は、事前にご相談ください。

検査不可条件：検査材料が異なる場合、必要量を満たしていない場合、保存方法に不備がある場合は、検査不可となります。

同一患者での再検査について

一度検査を実施した患者さんについて、検査データ保管期間内（検査結果の納品より2年間）に異なる腫瘍検体で再検査を依頼する場合は、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（回収方法は89ページ「検体採取方法・検体の取り扱い」をご参照ください）。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」）

BT2

真空採血管
EDTA-2Na入
2 mL用


CT2

滅菌クライオチューブ
2 mL用


RL2

核酸安定化
試薬入り
マイクロチューブ



ネオアンチゲン解析

●腫瘍組織、FFPEまたは細胞を用いた検査

「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	検体 容器	採取方法 掲載ページ	保存方法 (安定性)	所要 期間	検査方法	検査結果	
ネオアンチゲン 解析	1100 対照なし 1101 FFPE 1135	腫瘍組織 3 mm角 4個 もしくは30 mg 片 2個程度※2	RL2	P.87	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し, 冷蔵(1か月) もしくは冷凍(1年) ・液体窒素で凍結の うえ, 超冷凍(1年)	30日	NGS 法	・ 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 ペプチドリット	
		腫瘍細胞※3 2×10 ⁶ cells 以上 を2本	CT2	P.88					
		未染色 FFPE スライド※4※5 目安: 切片厚10 μm, 腫瘍部 1.5 cm × 1.5 cm の場合, 10枚以上※6	—	P.90	冷蔵 (薄切後6週間)				
	対照検体 (正常検体)	血液 2 mL	BT2 採血 ↓ CT2	P.92	超冷凍 (1年)				●検査対象 HLA クラス I 拘束性 (HLA-Aおよび-B), アミノ酸置換を伴う SNV
		正常細胞 (PBMC 等) 2×10 ⁶ cells 以上 を2本	RL2	P.88	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し, 冷蔵(1か月) もしくは冷凍(1年) ・液体窒素で凍結の うえ, 超冷凍(1年)				
		正常組織 3 mm角 4個 もしくは30 mg 片 2個程度※2	CT2	P.87					

冷蔵：2℃～8℃

冷凍：-25℃～-15℃

超冷凍：-85℃～-70℃

室温：9℃～30℃

実施料:未収載

※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」（平成30年3月1日））

※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、76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、38ページ「FFPE 検体を用いた検査について」をご参照ください。

※5：組織全体に占める腫瘍部位の割合が30%未満の場合は、提出する全てのスライドに腫瘍部位をマーキングしてご提出ください。

※6：腫瘍部のサイズによります。スライドの作製が難しい場合は、事前にご相談ください。

検査不可条件：検査材料が異なる場合、必要量を満たしていない場合、保存方法に不備がある場合は、検査不可となります。

●血液を用いた検査（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	採取方法 掲載ページ	保存方法 (安定性)	所要 期間	検査方法	検査結果
ネオアンチゲン 解析 〔血液〕	1121	血漿5 mL×3本， および パフィーコート 採取した全量	BT7 遠心分離 ↓ 血漿：CT5・ パフィーコート ：CT2	P.93	超冷凍 (1年)	42日	NGS法	・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 ペプチドリット
		血液 30 mL 以上	RT11	P.95	冷蔵 (10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 パフィーコート 採取した全量※1	BT7 遠心分離 ↓ 血漿：CT5・ パフィーコート ：CT2	P.93	超冷凍 (1年)	30日	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 ・ネオアンチゲン ペプチドリット
		血液 20 mL 以上※1	RT11	P.95	冷蔵 (10日)			

冷蔵：2℃～8℃

超冷凍：-85℃～-70℃

室温：9℃～30℃

実施料：未収載

※1：「ネオアンチゲン解析（Oncomine Pan-Cancerパネル解析）」をご依頼の際は，HLA-A および-B の HLA 型の情報（4桁表記 例「A2402」）をご提供ください。

検査不可条件：検査材料が異なる場合，必要量を満たしていない場合，保存方法に不備がある場合は，検査不可となります。

BT2, BT7

真空採血管
EDTA-2Na入
BT2：2 mL用
BT7：7 mL用



CT2・CT5

滅菌クライオチューブ
CT2：2 mL用
CT5：5 mL用



RL2

核酸安定化
試薬入り
マイクロチューブ



RT11

リキッドバイオプシー
専用採血管
(PAXgene®)



●追加データ解析

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。

検査項目名	項目コード	所要期間	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	14日	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	14日	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。 ※ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析) の場合は実施不可	1110	7日	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]」およびネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析) の場合は実施不可	1120	7日	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、79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。)

実施料:未収載

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、101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。

同一患者での再検査について

一度検査を実施した患者さんについて、検査データ保管期間内（検査結果の納品より2年間）に異なる腫瘍検体で再検査を依頼する場合は、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もしくは1102，ネオアンチゲン解析〔血液〕1121）

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（回収方法ページ「検体採取方法・検体の取り扱い」をご参照ください）。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」）

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	検体容器	採取方法 掲載ページ	保存方法 (安定性)	所要 期間	検査方法	検査結果
がん遺伝子 発現解析	1150 FFPE 1155	腫瘍組織 3 mm角 4個 もしくは30 mg片 2個程度※2	RL2 CT2	P.87	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し, 冷蔵 (1か月) もしくは冷凍 (1年) ・液体窒素で凍結の うえ, 超冷凍 (1年)	30日	NGS 法	・ 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, 79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。)
		腫瘍細胞※3 2×10 ⁶ cells 以上 を2本		P.88				
		未染色 FFPE スライド※4 目安: 切片厚10 μm, 腫瘍部 1.5 cm × 1.5 cm の場合, 10枚以上※5	—	P.90	冷蔵 (薄切後6週間)			

冷蔵: 2℃～8℃ 冷凍: -25℃～-15℃ 超冷凍: -85℃～-70℃
実施料:未収載

※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」(平成30年3月1日))

※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、78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: 組織全体に占める腫瘍部位の割合が30%未満の場合は、提出する全てのスライドに腫瘍部位をマーキングしてご提出ください。

※5: 腫瘍部のサイズによります。スライドの作製が難しい場合は、事前にご相談ください。

検査不可条件: 検査材料が異なる場合、必要量を満たしていない場合、保存方法に不備がある場合は、検査不可となります。

CT2

滅菌クライオチューブ
2 mL用



RL2

核酸安定化
試薬入り
マイクロチューブ



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（回収方法は89ページ「検体採取方法・検体の取り扱い」をご参照ください）。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」（平成30年3月1日））

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、101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 ^{※1}	分類	遺伝子名 ^{※1}
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) ^{※2}	CDC45L (CDC45)	T細胞への抗原提示に関連する 遺伝子	B2M
	CDCA1 (NUF2)		CALR
	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
	VEGFR1		IRF1
	VEGFR2		MICA
免疫細胞 (T細胞、B細胞、 抗原提示細胞) に関連する 遺伝子	CD19		MICB
	CD28		PSMB8 (LMP7)
	CD4		PSMB9 (LMP2)
	CD68		TAP1
	CD80		TAP2
	CD86		TAPBP
	CD8A		
	CD8B		
	IL2RA (CD25)		
T細胞の抗原認識および活性化 に関連する遺伝子	CD247		
	CD27 (TNFRSF7)		
	CD3D		
	CD3E		
	CD3G		
	GZMA		
	GZMB		
	ICOS		
	LAMP1 (CD107a)		
	TNFRSF9 (4-1BB)		

(次ページへつづく)

(つづき)

分類	遺伝子名※1	分類	遺伝子名※1
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)		

※1：()内に示した遺伝子名は、別名です。

※2：「オンコアンチゲン」の分類に、がん細胞の血管新生に関与する血管内皮細胞増殖因子受容体 (VEGFR1/2) を含めて記載しています。

リキッドバイオプシー（デジタルPCR・cfDNA 定量検査）

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	採取方法 掲載ページ	保存方法 (安定性)	所要 期間	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	BT7 遠心分離 ↓ CT5	P.93	超冷凍 (1年)	14日	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
		血液 20 mL 以上	RT11	P.95	冷蔵 (10日)			
cfDNA 定量 検査※1、※2	2151	血漿 1.5 mL × 2本※3	BT7 遠心分離 ↓ 血漿・ バフィーコート ：CT5	P.93	超冷凍 (1年)	7日	分子分光法	・cfDNA 濃度 ・品質確認結果
		血液 10 mL 以上※4	RT11	P.95	冷蔵 (10日)			

冷蔵：2℃～8℃ 超冷凍：-85℃～-70℃

実施料：未収載

※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、激しい運動直後の方。

※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。

検査不可条件：検査材料が異なる場合、必要量を満たしていない場合、保存方法に不備がある場合は、検査不可となります。

BT7

真空採血管
EDTA-2Na 入
7 mL 用



CT5

滅菌クライオチューブ
5 mL 用



RT11

リキッドバイオプシー
専用採血管
(PAXgene®)



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
<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

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	検体 容器	採取方法 掲載ページ	保存方法 (安定性)	所要 期間	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	BT7 分離 ↓ CT2	P.96	細胞保存液を添加し、 液体窒素保存もしくは 超冷凍 (1年)	30日	IVS 法 ELISPOT 法	- 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 ●検査対象 HLA クラス I およびクラス II ペプチド
		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			
IFN- γ ELISPOT 解析 [オンコアンチゲン]	—	PBMC 抗原ペプチド 1種類 あたり 3×10^6 cells	BT7 分離 ↓ CT2	P.96	細胞保存液を添加し、 液体窒素保存もしくは 超冷凍 (1年)	42日	IVS 法 ELISPOT 法	- 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 ●検査対象 次ページ参照

冷凍: $-25^{\circ}\text{C} \sim -15^{\circ}\text{C}$ 超冷凍: $-85^{\circ}\text{C} \sim -70^{\circ}\text{C}$
 実施料: 未収載

※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。

検査不可条件: 検査材料が異なる場合, 必要量を満たしていない場合, 保存方法に不備がある場合は, 検査不可となります。

BT7

真空採血管
EDTA-2Na 入
7 mL 用



CT2

滅菌クライオチューブ
2 mL 用



MT2

滅菌スクリーキャップ
マイクロチューブ
2 mL 用



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		○					
FOXMI	○	○			○	○	
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）

検査項目名	項目コード	検査材料名，必要量	検体容器	採取方法 掲載ページ	保存方法 (安定性)	所要 期間	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	BT7 分離 ↓ CT2	P.96	細胞保存液を添加し， 液体窒素保存もしくは 超冷凍（1年）	30日	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 (%)
		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)			●検査対象 HLA-A*24:02 HLA-A*02:01

冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃
実施料：未収載

※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 テトラマーを作成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。

検査不可条件：検査材料が異なる場合，必要量を満たしていない場合，保存方法に不備がある場合は，検査不可となります。

BT7

真空採血管
EDTA-2Na 入
7 mL用



CT2

滅菌クライオチューブ
2 mL用



MT2

滅菌スクリーキャップ
マイクロチューブ
2 mL用



免疫反応解析 (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	採取方法 掲載ページ	保存方法 (安定性)	所要 期間	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 1~2本	BT7 ↓ RL2 CT2	P.97	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し, 冷蔵 (1か月) もしくは冷凍 (1年) ・液体窒素で凍結のうえ, 超冷凍 (1年)	30日	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 [組織]	3102	組織 3 mm 角 4個もしくは 30 mg 片2個程度 ^{※2}	RL2 CT2	P.87				
BCR レパトア 解析 ^{※1} [血液]	要問合	PBMC 5~10×10 ⁶ cells を 1~2本	BT7 ↓ RL2 CT2	P.97	以下のいずれか ・核酸安定化試薬を 添加し, 冷蔵 (1か月) もしくは冷凍 (1年) ・液体窒素で凍結のうえ, 超冷凍 (1年)	30日	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 ^{※1} [組織]	要問合	組織 3 mm 角 4個もしくは 30 mg 片2個程度 ^{※2}	RL2 CT2	P.87				

冷蔵: 2℃~8℃ 冷凍: -25℃~-15℃ 超冷凍: -85℃~-70℃
実施料: 未収載

※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。

検査不可条件: 検査材料が異なる場合, 必要量を満たしていない場合, 保存方法に不備がある場合は, 検査不可となります。

BT7

真空採血管
EDTA-2Na 入
7 mL 用



CT2

滅菌クライオチューブ
2 mL 用



RL2

核酸安定化
試薬入り
マイクロチューブ



検体採取方法・検体の取扱い

● 組織検体

【該当検査項目】

検査項目名	検査材料名	検査要項掲載ページ
ネオアンチゲン解析	腫瘍組織・正常組織	P.73
がん遺伝子発現解析	腫瘍組織	P.77
がん遺伝子変異解析	腫瘍組織・正常組織	P.71
TCR レパトア解析 [組織]	組織	P.86
BCR レパトア解析 [組織]	組織	P.86

【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	- 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 Tubes (QIAGEN®, Cat. No. 76154) もしくは RNAprotect® Tissue Reagent (QIAGEN®, Cat. No. 76104もしくは76106) - 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。 （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または、溶液を除去し冷凍もしくは超冷凍で保存してください。（保存期間：冷蔵にて1か月、冷凍にて1年間）

冷蔵：2℃～8℃ 冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃

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）。

超冷凍：-85℃～-70℃

● 細胞

【該当検査項目】

検査項目	検査要項掲載ページ
ネオアンチゲン解析 (腫瘍細胞・正常細胞)	P.73
がん遺伝子発現解析 (腫瘍細胞)	P.77
がん遺伝子変異解析 (腫瘍細胞・正常細胞)	P.71

【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	- 核酸安定化試薬※もしくは核酸安定化試薬入りマイクロチューブ (検体容器 RL2) ※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。(もしくは採取した細胞$\leq$150mgを核酸安定化試薬入りマイクロチューブに移し、完全に浸漬させてください。) - 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するか、溶液を除去し冷凍もしくは超冷凍で保存してください。(保存期間：冷蔵にて1か月、冷凍にて1年間)

冷蔵：2℃～8℃ 冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃

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)

超冷凍：-85℃～-70℃

【該当検査項目】

検査項目	検査要項掲載ページ
ネオアンチゲン解析(腫瘍細胞・正常細胞)	P.73
がん遺伝子発現解析(腫瘍細胞)	P.77
がん遺伝子変異解析(腫瘍細胞・正常細胞)	P.71

【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	- 核酸安定化試薬※もしくは核酸安定化試薬入りマイクロチューブ(検体容器RL2) ※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) - 緩衝生理食塩水(DPBS 等)
手順	- 検体を採取後、室温10分間で遠心分離(760G)した後、沈査をPBSにて洗浄してください。 - 再度遠心分離した後、上清を捨て、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。(もしくは採取した細胞≤150mgを核酸安定化試薬入りマイクロチューブに移し、完全に浸漬させてください。) - 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するか、溶液を除去し冷凍もしくは超冷凍で保存してください。(保存期間：冷蔵にて1か月、冷凍にて1年間)

冷蔵：2℃～8℃ 冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃

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) - 緩衝生理食塩水(DPBS 等)
手順	- 検体を採取後、室温10分間で遠心分離(760G)した後、沈査をPBSにて洗浄してください。 - 再度遠心分離した後、上清を捨て、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、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)

超冷凍：-85℃～-70℃

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)

● 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関連検査についても、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」(平成30年3月1日))

【該当検査項目】

検査項目	検査要項掲載ページ
ネオアンチゲン解析(腫瘍組織)	P.73
がん遺伝子発現解析(腫瘍組織)	P.77
がん遺伝子変異解析(腫瘍組織・正常組織)	P.71

【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

冷蔵：2℃～8℃ 室温：9℃～30℃

※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。
- ・切片的伸展・乾燥のための加熱は避けてください。

- ・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。

(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」(平成30年3月1日))

組織全体に占める腫瘍部位の割合が30%未満の場合は、提出する全てのスライドに腫瘍部位をマーキングしてご提出ください。

- ・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10μm、腫瘍部 1.5cm × 1.5cmの場合、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。

- ・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	検査要項掲載ページ
ネオアンチゲン解析（対照検体）	P.73
がん遺伝子変異解析（対照検体）	P.71

【採取方法】

試薬・資材	・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	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。 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）。

超冷凍：-85℃～-70℃

【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。

● 血漿およびバフィーコート（リキッドバイオプシー用）

【該当検査項目】

検査項目	検査要項掲載ページ
Oncomine Pan-Cancer パネル解析	P.68
TSO500/パネル解析 [血液]	P.70
ネオアンチゲン解析 [血液]	P.74
ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)	P.74
デジタルPCR	P.81
cfDNA 定量検査	P.81

【採取方法】

試薬・資材	- 真空採血管 EDTA-2Na 入り 7 mL 用 (検体容器 BT7)：血液採取用 - Oncomine Pan-Cancer パネル解析・・・3本 - TSO500/パネル解析 [血液]・・・5本 - 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 - 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) ※バフィーコート分取用は 2 mL 用でも代用可 - Oncomine Pan-Cancer パネル解析・・・血漿分取用 2 本, バフィーコート分取用 1 本 - TSO500/パネル解析 [血液]・・・血漿分取用 3 本, バフィーコート分取用 1 本 - ネオアンチゲン解析 [血液]・・・血漿分取用 3 本, バフィーコート分取用 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, バフィーコート分取用 1 本 - デジタルPCR・・・血漿分取用 2 本 (バフィーコートは不要) - cfDNA 定量検査・・・血漿分取用 2 本, バフィーコート分取用 1 本^{※1}

※1：バフィーコートは続けて Oncomine Pan-Cancer パネル解析を行う場合のみ

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 Oncomine Pan-Cancer パネル解析・・・20 mL 以上
- TSO500/パネル解析 [血液]・・・30 mL 以上
- 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
- 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, gDNA 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

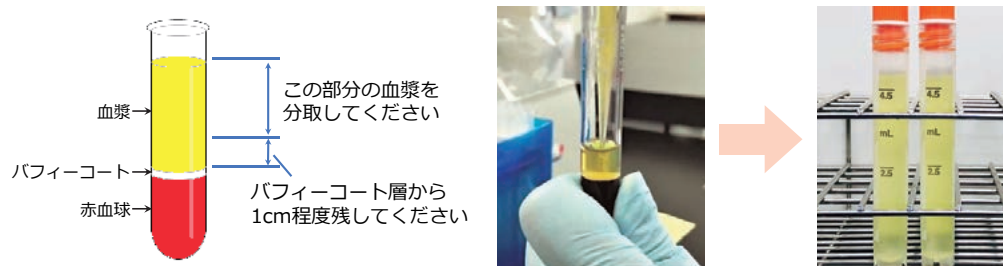
$$G = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times n^2$$

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

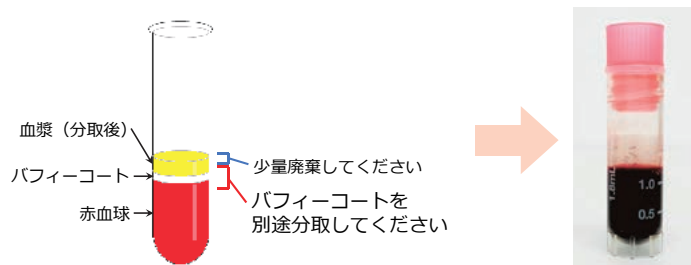
ピペットの先端がバフィーコートに触れないように血漿を分取し、必要本数の滅菌クライオチューブ (検体容器CT5) に移してください。



●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. の遠心分離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。



●「デジタルPCR」の場合は、バフィーコートは提出不要です。

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	検査要項掲載ページ
Oncomine Pan-Cancer パネル解析	P.68
TSO500パネル解析 [血液]	P.70
ネオアンチゲン解析 [血液]	P.74
ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)	P.74
デジタルPCR	P.81
cfDNA 定量検査	P.81

【採取方法】

試薬・資材	- リキッドバイオプシー専用採血管 PAXgene®（検体容器 RT11, 10mL 用） - Oncomine Pan-Cancer パネル解析・・・2本 - TSO500パネル解析 [血液]・・・3本 - ネオアンチゲン解析 [血液]・・・3本 - ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)・・・2本 - デジタルPCR・・・2本 - 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）を室温（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。

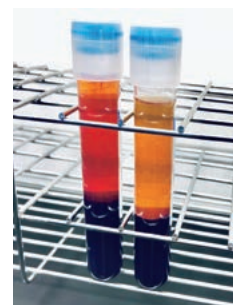
- 採血量 Oncomine Pan-Cancer パネル解析・・・20 mL 以上
 - TSO500パネル解析 [血液]・・・30 mL 以上
 - ネオアンチゲン解析 [血液]・・・30 mL 以上
 - ネオアンチゲン解析 (Oncomine Pan-Cancer パネル解析)・・・20 mL 以上
 - デジタルPCR・・・20 mL 以上
 - cfDNA 定量検査・・・10 mL 以上

- 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、gDNA 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. 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（2℃～8℃）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	検査要項掲載ページ
IFN- γ ELISPOT 解析 [ネオアンチゲン], [オンコアンチゲン]	P.83
MHC テトラマー解析	P.85

【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	- リンパ球比重分離液（推奨品：Lymphoprep™, STEMCELL Technologies） - 緩衝生理食塩水（DPBS 等） 50 mL 遠心チューブ - 細胞凍結保存溶液（推奨品：CELLBANKER 1, ゼノジェンファーマ株式会社） - 凍結処理容器（滅菌クライオチューブ：検体容器 CT2）
手順	- 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。（希釈血液：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にて一晩程度予備凍結後、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	●採血量の目安 血液1 mLあたりPBMC 1×10^6 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、ご注意ください。）

超冷凍：-85℃～-70℃ 室温：9℃～30℃

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	検査要項掲載ページ
TCR レパトア解析 [血液]	P.86
BCR レパトア解析 [血液]	P.86

【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	- リンパ球比重分離液（推奨品：Lymphoprep™, STEMCELL Technologies） - 緩衝生理食塩水（DPBS 等） 50 mL 遠心チューブ
手順	- 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。（希釈血液：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	●採血量の目安 血液1 mLあたりPBMC 1×10^6 cells程度 →必要細胞数$5 \sim 10 \times 10^6$ cells の場合、採血量5～10 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、ご注意ください。） ●単核球分離用採血管は使用できません。

室温：9℃～30℃

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	- 核酸安定化試薬※もしくは核酸安定化試薬入りマイクロチューブ（検体容器RL2） ※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。（もしくは採取した細胞≤150mgを核酸安定化試薬入りマイクロチューブに移し、完全に浸漬させてください。） - 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するか、溶液を除去し冷凍もしくは超冷凍で保存してください。（保存期間：冷蔵にて1か月、冷凍にて1年間）

冷蔵：2℃～8℃ 冷凍：-25℃～-15℃ 超冷凍：-85℃～-70℃

②液体窒素凍結による検体保存

準備試薬・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）

超冷凍：-85℃～-70℃

検体容器の取扱い方法

検体の採取量，提出量は68ページからの検査要項ページを，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	- Oncomine Pan-Cancer パネル解析 - がん遺伝子変異解析 - 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) - がん遺伝子発現解析 - IFN-γ ELISPOT 解析 - MHC テトラマー解析 - TCR/BCR レパトア解析
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	- Oncomine Pan-Cancer パネル解析 - TSO500 パネル解析 [血液] - がん遺伝子変異解析 - 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) - がん遺伝子発現解析 - デジタルPCR - cfDNA 定量検査 - IFN-γ ELISPOT 解析 - MHC テトラマー解析 - TCR/BCR レパトア解析
MT2 滅菌スクリーキャップ 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

容器形態	検査項目	備考
RL2 核酸安定化試薬入り マイクロチューブ  RL2 : 1.5 mL 用	[貯蔵] 室温 [有効期間] 1年 ・がん遺伝子変異解析 ・ネオアンチゲン解析 ・がん遺伝子発現解析 ・TCR/BCR レパトア解析	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。
RT11 リキッドバイオプシー 専用採血管 (PAXgene® rw®)  RT11 : 10 mL 用	[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。 [有効期間] 採血管貼付の ラベルに記載 ・ Oncomine Pan-Cance パネル解析 ・ TSO500/パネル解析 [血液] ・ ネオアンチゲン解析 [血液], (Oncomine Pan- Cancer パネル解析) ・ デジタル PCR ・ cfDNA 定量検査	[指定製品] 日本ベクトン・ディッキンソン社 パクスジーン ccDNA 採血管 (医療機器認証番号 : 219AFBZX00028000) ・ 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

ご契約に基づいてご請求いたします。(原則として1か月分をまとめてご請求いたします。)

請求書記載の支払期日までに, 指定の銀行口座に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「13. 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」まで依頼日の正午までに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いたします。（継続してお取引いただくお客様は、原則として1か月分をまとめてご請求いたします。）

請求書記載の支払期日までに、指定の銀行口座に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：月曜～金曜 9:00～18:00（祝日、12/29～1/3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

販売可能なオンコアンチゲンペプチドは、以下（○印）のとおりです。

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

参考文献一覧

● 検査概要

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

● 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)

● 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, et al. Science. 2018 ; 362 (6411).
- 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.
- Le, et al. N Engl J Med, 2015 ; 372 (26)

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

- Tang, et al. Cell Biosci. 2016 ; 6 : 32
- 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.
- Illumina 文書番号「200622-pro-webinar-tso500」
- Illumina 文書番号「1170-2018-009-B」
- Illumina 文書番号「1170-2019-006-D」
- Suzuki, et al. Oncotarget. 2020 ; 11 : 3198-3207.
- Newman, et al. Nat Med. 2014 ; 20 (5) : 548-54.
- Kustanovich, et al. Cancer Biol Ther. 2019 ; 20 (8) : 1057-1067.
- 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, 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
- 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) : 312-321.
- Daiko, et al. Cancer Immunol Immunother. 69, 2247–2257 (2020).
- Fang, et al. Oncoimmunology. 2014 ; 3 (12) : e968467.



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)

〒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:月曜～金曜 9:00～18:00(祝日, 12/29～1/3を除く)

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

2025年6月版(LAB/GUI/GUI01-04)