

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：32202

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15461

研究課題名(和文) 高速シーケンサーを用いた高感度多遺伝子検索システムによる液性検体からの変異検索

研究課題名(英文) An next generation sequencer-based test that detects multiple gene mutations from liquid samples

研究代表者

萩原 弘一 (Koichi, Hagiwara)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：00240705

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：肺がんの遺伝子変異検査に最初に導入されたのはEGFR遺伝子変異検査であり、そこで遺伝子変異検査の基本事項が確立された。しかし、状態の悪い患者などでは必ずしも検体採取が容易でない。そのため、血液や尿などの液性検体中に存在するがん細胞由来DNAを用いたliquid biopsy検査が実用化された。上記を解決する例として新たな検査システムMINtSを作成した。MINtSでは多数の検体が同時検索できる。各単一遺伝子の感度、特異度を0.999以上にあげ、全体として感度、特異度0.99以上を実現した。このようなシステムが、臨床検査として望ましいと考えている。

研究成果の概要(英文)：The EGFR mutation test was first introduced into the mutation testing in lung cancer. The fundamental know-hows for the mutation testing have been established therefore. It is not always easy to isolate samples from the patients with serious conditions. Accordingly, the liquid biopsy tests that investigate DNA fragments residing in urine or in blood. We have established a next-generation sequencer-based mutation test called MINtS. We apply the liquid biopsy samples to MINtS in the current study. MINtS enables to test multiple samples in a single sequencing run. The sensitivity and specificity for a single gene is raised to 0.999 and achieved the sensitivity and specificity >0.99 as a whole We consider that MINtS is a prototype of genetic tests that have favorable characteristics suitable for clinical medicine.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：次世代シーケンサー 遺伝子変異 ドライバー遺伝子 肺癌

1. 研究開始当初の背景

発癌に関与する driver 遺伝子を検索し、対応する分子標的薬を投与することは、非小細胞肺癌治療の標準手順となった。一方、分子標的薬治療後の再増悪腫瘍では、次に投与すべき分子標的薬が存在せず、新たに遺伝子変異検査を行う必要性は低かった。しかし、再増悪腫瘍に有効な第3世代 EGFR 阻害薬が開発され、間もなく上市される。同薬の効果は、再増悪腫瘍細胞の遺伝子変異で予測可能とされるため、再度遺伝子変異検査を行う必要性が高まっている。問題は、腫瘍の再増悪が脳、骨、肝、副腎など検体採取が困難な部位に生じるため、半数の患者で遺伝子変異検査用検体が採取困難と推定されることである (Hasegawa et al. Intern Med 2015, 54:1977-1980)。これに対する適切な対処法は確立されていない。

2. 研究の目的

我々は、高速シーケンサーを用い、1%の癌細胞しか含まない検体から、感度・特異度 0.99 で EGFR, KRAS, BRAF, HER2, および ALK, ROS1, RET 融合遺伝子を検出可能な検査システム MINtS を開発 (平成 25-27 年度厚生労働科学研究費補助金「高速シーケンサーを用いた包括的臨床遺伝子検査システムの構築：研究代表者 萩原弘一」。平成 27 年 7 月臨床試験 (NEJ021A) を開始した。本システムの特徴は以下である。1. 細胞診検体, snap-frozen 組織検体, 液性検体が使用可能, 2. 安価 (400 例の患者同時検索可能で、消耗品費用は 1 例 1000 円), 3. 感度・特異度コントロール可能 (患者数を数十例程度に限れば 0.1% 癌細胞含有検体でも感度・特異度 0.99 を達成)。MINtS は血液中腫瘍由来 DNA 検索が、どのような組織型、腫瘍量、臨床病期、転移部位で有用かを検討するに最適であり、血液中腫瘍由来 DNA 検索の実用化に直接結びつくものとなる。

3. 研究の方法

1. MINtS の設定

含有癌細胞が 0.1% でも感度・特異度 0.99 が達成できる設定とする。同時検索 (一回の高速シーケンサーの run) のサンプル数を数十に減らすことで、一サンプルあたりの read 数を増加させ、対応可能と計算されているが、0.1% 変異含有コントロールサンプル (人工合成した EGFR 変異プラスミド G719S, exon 19 deletion type 1, L858R, T790M を混入した正常ヒトゲノム DNA) を用いて、正確な必要 read 数を実際のサンプルを用いて検索する。

2. 検索の実施

肺癌診断時、または肺癌再発・増悪時に、遺伝子検査のため腫瘍細胞・腫瘍組織採取を行うと同時に、流血中腫瘍細胞由来 DNA の検索に同意を得た患者を対象として検査を行う。

症例収集は、自治医科大学と埼玉医科大学国際医療センターで主として施行するが、順次他施設にも参加を呼びかける。

4. 研究成果

検索遺伝子数を driver 遺伝子に限ると次世代シーケンサーの余力ができ、多数の検体が同時検索できる。それを利用して 200 検体が同時検索できるようにした。各単一遺伝子の感度、特異度を 0.999 以上にあげ、全体として感度、特異度 0.99 以上を実現した。このようなシステムが、臨床検査として望ましいと考えている。

MINtS を用いた細胞診検体, liquid biopsy 検体検査を NEJ021A, 021B 臨床試験として行っており、すでに 3000 例を越す患者の検索が終了した。NEJ021A, 021B の結果をまとめ、論文発表のための準備を行っている。

なお、MINtS を実用化させるために、PMDA などにも相談を行なっている。その関連のスライドを以下に添付する。

2017年10月18日のPMDA(独立行政法人 医薬品医療機器総合機構)との相談

- MINtS - 細胞診検体、凍結保存組織診検体用の次世代シーケンサー多遺伝子変異検査
- NEJ021A試験で2800例を検査済み
- MINtSは、厚生労働科学研究費、AMED委託研究費、文部科学省科学研究費を使用し、PMDAの対面助言に従い、国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所のマネジメントを受けて開発されている。

相談事項

- MINtSをコンパニオン診断薬として申請することは可能か、また、そのためには何が必要か
 - 性能試験として必要なものは何か
 - 企業とのタイアップはどのようにしたら良いか
- MINtSをコンパニオン診断薬として申請することが不可能な場合、コンパニオン診断薬の補助診断薬として申請することは可能か

PMDAが経っていた、MINtSのがん診療での位置付け

がん治療

治療前 (再燃時) 遺伝子診断

治療手段が尽きた時の治療薬検索

MINtSなどで保険医療として行う

遺伝子パネルを先進医療として行う

キット作成企業募集

由緒正しい

- MINtSは、厚生労働科学研究費、AMED委託研究費、文部科学省科学研究費を使用し、PMDAの対面助言に従い、国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所のマネジメントを受けて開発されている。

キットの設計図で見て☑ 解析ソフト全部で見て☑

国産の材料だけで構築可能です

2800例の実験結果があります

- NEJ021A

臨床性能試験をいれた開発費は1億円くらいと想定

- お買い得です。

年間は数億円で数十億円になるはず

萩原 弘一 (HAGIWARA, Koichi)
自治医科大学・医学部・教授
研究者番号：00240705

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()