

<特集「がんのゲノム医療」>

がんゲノム医療に至る次世代シーケンサー概論

徳田 雄市, 中野 正和, 田代 啓*

京都府立医科大学大学院医学研究科ゲノム医科学

Next-Generation Sequencer and Cancer Genomic Medicine

Yuichi Tokuda, Masakazu Nakano and Kei Tashiro

*Department of Genomic Medical Sciences,**Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science*

抄 録

膨大な遺伝情報が保管されているヒトゲノムの塩基配列は、長きに亘る研究と技術の発展により決定された。そして得られた知見と技術的基盤により「次世代シーケンサー」の概念が生まれ、今や当たり前前のゲノム研究手法として広く普及している。中でも、数多くの先行研究の蓄積と新たなゲノム解析結果の統合により、がんのゲノム研究は大きく進展した。今や、関連する数百の遺伝子を一度に評価できる「がん遺伝子パネル検査」は、先行する米国に続き、日本でも現実的な診療の選択肢となっている。ここでは、ゲノム研究の技術的な歴史を振り返りながら、がん遺伝子パネル検査を巡る具体的な情報について紹介する。

キーワード：次世代シーケンサー、NGS、がん遺伝子パネル、FoundationOne、NCC オンコパネル。

Abstract

Owing to the long-term research efforts and technological advancements, a complete sequence of human genome, a full genetic information of our life, has been determined. As a result of knowledge accumulation and further technological breakthroughs, a concept of next generation sequencer (NGS) has emerged, and today, it has become one of the most common tools for performing genetics/genomics researches worldwide. In particular, a remarkable progress has been made in the field of cancer genomics by integrating the results of NGS data, enabling us to offer “Multigene Panel Testing for Cancer”, a test to assess hundreds of somatic mutations in cancer-related genes of tumor subjects, to the patients. This article describes the details of current status of cancer panel testing beginning from describing about the history of technological progression of NGS.

Key Words: Next-generation sequencer, NGS, Cancer gene panel, FoundationOne, NCC Oncopanel.

令和4年3月9日受付 令和4年3月16日受理

*連絡先 田代 啓 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465番地

tashiro@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.131.04.327

はじめに

ヒトの遺伝情報の保管庫たるゲノムの膨大な塩基配列を解き明かす試みは、21世紀に入ってから加速度的に進歩し、次世代シーケンサー (next generation sequencer, NGS) はそのノウハウの蓄積とコストの低価格化により、医学研究で一般的な選択肢として普及してきている。この流れの中では、その主たる研究対象でもあったがんのゲノム診療への応用も必然であった。そして「がん遺伝子パネル検査」または「がんゲノムプロファイリング検査」と呼ばれる検査結果に基づき、がんの診療方針を決める「がんゲノム医療」は実際に保険診療が始まり、寄せられている期待も非常に大きい。ここでは、ゲノム研究の歴史を振り返りながら、ゲノム診療の実践について紹介する。

塩基配列決定の技術史

遺伝という概念の発見から染色体、核酸、そしてDNAの2重らせん構造など、生物の設計図を解き明かそうとする長年の試みは、物理的な細分化の歴史からDNAが形作る塩基配列の決定という情報化へのシフトの歴史でもあった。中でもMaxam and Gilbert法に打ち勝ち普及したSanger法は、現在でも主流な塩基配列決定法であり (原理的にはダイデオキシ法とも呼称される)、生物の持つ遺伝情報の収集を加速させた功績によりFrederick Sanger博士は1980年にノーベル賞を受賞した。しかし、こうした技術革新が背景にあっても、ヒトの全ゲノム配列の決定には更に20年以上の時間を要し、先進各国政府の協力による「国際共同ヒトゲノム計画」とVenter博士が率いるアメリカのベンチャー企業・Celera Genomics社との激しい競争の後、2000年のドラフト配列決定¹⁾²⁾を経て、2003年に完了を宣言するに至った³⁾。この計画に膨大な研究者と研究機関、時間及び資金を要した理由は、主として高々数十～数百塩基対を読む事が限界であり、正直なところ力不足であったSanger法を世界中で大規模かつ同時並行的に実施したためであったが、当時は他に有効な方法が無かつ

た。

元来のSanger法⁴⁾は、DNA増幅の過程で伸長に要する4種類のデオキシヌクレオチド (dNTP) に、それぞれの伸長反応を止めるダイデオキシヌクレオチド (ddNTP) を混ぜる事で、各塩基に応じた複数の長さのDNA断片を生成し、電気泳動等の方法により分離・確認して配列情報を取得するものであった。これは短い断片の解読でも時間と労力を要していたが、1990年代に蛍光色素を付加したddNTPを用いて平面ゲルで電気泳動後の各塩基をレーザーにより読み取る「オートシーケンサー」、さらにキャピラリーで電気泳動する「キャピラリーシーケンサー」が実用化され、時間コストと精度は大幅に向上した (図1)。最終的には、膨大な数に細分化しクローニングされたヒトDNAの各断片の塩基配列をこれらの方法で決定し、それらを数ヶ月かけてコンピューター上で繋ぎ合わせる「ショットガン・シーケンス法」により、ヒトゲノム情報の全容を明らかにする事に成功した。そして今日、ゲノム解析の主力方法となっている「次世代シーケンサー (next generation sequencer, NGS)」も、本質的にはこれらの手法とほぼ同じ作業を、単独のラボで現実的な時間内に出来る様にしたものである。

ヒトゲノム計画が完了し、そこで得られた白人男性由来の全ゲノム配列を標準とする「リファレンスゲノム」の情報が利用可能になった後、計画の過程で得られた数々の知見を基にNGSの開発が進められた。そしてNGSは、各DNA断片を効率的かつ正確に決定し易く増幅するための技術と、その増幅後断片から配列情報を取得する方法で、幾つかの方式に集約されていった^{5,6)}。まず、断片化したDNAを含む水滴をオイル中に多数用意し、そこでPCR反応を行う事により同一断片を増幅させる「エマルジョンPCR法」が考案された。それら増幅された断片に対しては、専用プレート上で個別に塩基伸長とルシフェラーゼ発光反応を利用して塩基配列の解読を進める「パイロシーケンス法」が確立され、後にRoche社の「Genome Sequencer」等の商品名で開発・販売が続いた。この方法は、

未知の塩基配列を読み取る能力に優れるので、既知の標準配列の無い病原性微生物同定への対処能力が高かった。また、同様のエマルジョンPCR後の増幅させたDNA断片に、8塩基程度の既知配列を連続してライゲーションを行い、相補鎖形成に成功した時のみ検知できる蛍光シグナルを集約して元の塩基配列を特定する「Sequence by Oligo Ligation and Detection」法が開発され、Applied Biosystems社が「SOLiD」の名称で販売した。「SOLiD」は2011年頃、日本の主要な大学の共通機器として多数導入されていたが、技術的困難を解決できずに稼働できないまま廃棄処分された例が多かった。後に同社は、エマルジョンPCR後に蛍光色素を用いない、塩基伸長反応時に遊離する水素イオンの電位情報により塩基を同定する「Ion Torrent」法を開発し、現在は合併・買収を経てThermo Fisher Scientific社に引き継がれている。こうした数多くのNGS手法の中で、最終的に最も普及しているのが、Solexa社が開発し、illumina社に引き継がれた「Sequence-By-Synthesis (SBS)」法である。これはまず、スライドガラス大のフローセルと呼ばれる透明な基盤上で、ライブラ

リーと呼ばれるアダプター配列を付与された一本鎖DNA断片が連続的に折り曲げられながら増幅反応を繰り返す「ブリッジPCR」法により、同一配列のDNA断片による高密度なクラスターを無数に形成する(図1)。次にそれらに蛍光標識した塩基を一つずつ伸長反応させて、各塩基に応じた蛍光色を高精度CCDカメラで読み取り、元のDNA断片の配列情報を読み取る。また、読み取る途中でDNA断片を再び“ブリッジ”させ、両端側から塩基配列情報を取得するpaired-end法を用いる事で、ペア情報を保持したままより大量のゲノム情報を取得出来る。このSBS法を用いたNGSは、低価格かつ簡便に小規模の配列決定が可能な「MiSeq」、中～大規模の決定に向く「HiSeq」、そしてより大量なゲノム情報を迅速に読み取れる「NovaSeq」等の各シリーズを生み出し、今や業界標準になりつつある。

NGSの基本概念

これらのNGSの多くでは、各DNA断片から読み取れる個々の配列情報は50～数百塩基程度であり、それらを「read」という単位で扱って

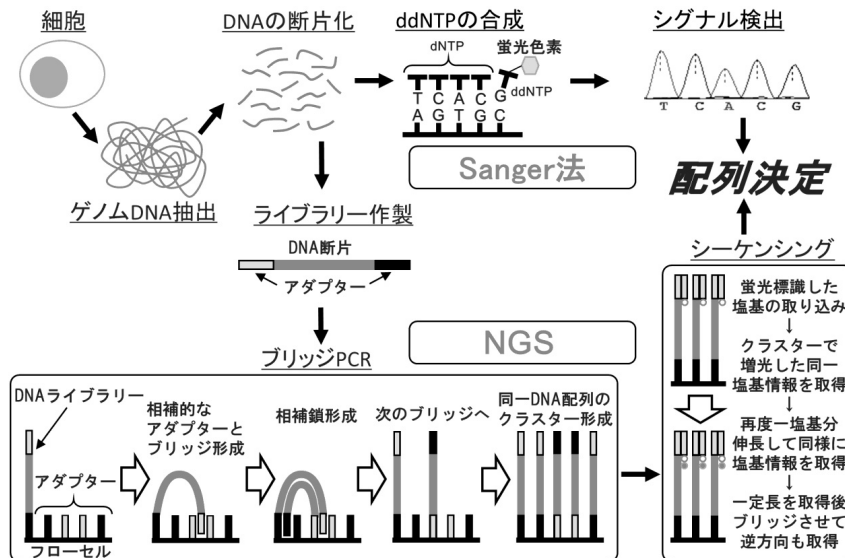


図1 Sanger法(上)とNGS(下)による塩基配列決定までの流れの例

いる。一般的にNGSの性能は、読み取れる断片長である「read長」と、それらを一度で取得可能な個数「read数」で決まる。例えば、2022年1月現在でillumina社の最新NGS解析機器である「NovaSeq 6000 S4」の場合⁹⁾、理論上は1度の実験で6兆塩基もの情報をわずか2日間ほどで取得出来るが、read長を150塩基ずつ計300塩基のpaired-endに設定すると、read数は逆算して最高200億と求められる。これら得られた各readの配列情報は、リファレンスゲノム上でどの位置に相当するかを、コンピューター上で網羅的に探索・同定するアラインメント又はマッピングと呼ばれる処理にかけられる。先のヒトゲノム計画で明らかにされたヒトゲノムの総延長は約30億塩基対であるため、前述の機器の性能は実に2,000人分のゲノム情報に相当する。しかし話はそう単純ではなく、高度な繰り返し配列に代表されるゲノム上の特異な構造を数百程度の塩基数で万遍なく決定するのは困難である。また、多くの実験では開始時点でのDNAの品質や収量に問題を抱えており、理想通りにDNAライブラリーが作製できるとは限らない。さらには、illumina社のシステムの場合、ブリッジPCRによる増幅が不十分だと検出限界等の問題で読み取れず、逆に増幅し過ぎると蛍光シグナルも強くなり過ぎて読み取りエラーが増える。以上

の理由により、理論値通りのデータ量を得るのは難しく、余裕を持った実験計画が必要である。

またもう1つNGSの解析における重要な概念として、同じ領域で複数のreadが重複しているかを示す「coverage」(カバレッジ)又は「depth」(デプス、深度)を考慮する必要がある(図2)。例えばがんゲノム研究の場合、遺伝子上の体細胞変異として塩基置換の検出が重要であるが、それが元の試料由来か、あるいはPCRの増幅過程等で生じたエラーかを判別しなければならない。この時、当該箇所のread数が1つしかなければ、どちらかの判別は困難である。しかし、複数の異なるreadで十分なcoverageがある場合、偶発的にごく少数のreadでしか見られないエラーと、検体由来で多くのreadで確認されるはずの塩基置換の違いは明確になる。そしてこれまで培われて来た各種研究の成果によって、生物種や対象実験により十分な解析精度の確保において推奨とされるcoverageが大よそ決まってきたており、各塩基を読む深さが10, 20 reads必要な場合は、10x, 20x等と表記している。従って、先に示したNovaSeq 6000 S4の性能は、2,000人分のゲノム情報を1xで決定できるということになり、高精度なゲノム情報に基づく相関解析等を実施するためには、例えば100xの深さが要求される場合には20人分のゲノム情報が取

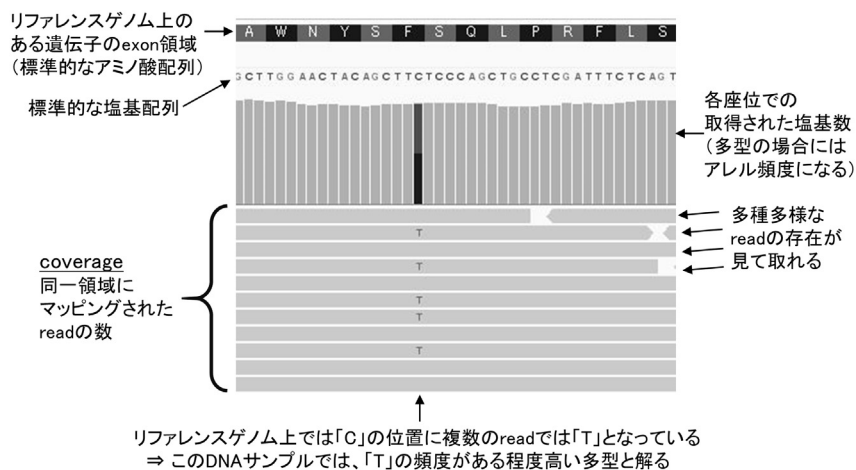


図2 実際のNGS解析データを用いたcoverageの概念の説明

得できるという計算になる。

以上の様に、NGS解析では各機器が読み取れる総塩基数、各read長、そして精度を担保するcoverageの考慮が重要であるため、広く浅く全体的にデータを取得する様な「全ゲノムシーケンス (whole genome sequencing, WGS)」とは別に、ライブラリー作製の段階で特定の領域のcoverageを集中的に高められる様にする“ターゲットエンリッチメント”という手法が生まれた¹⁰⁾。特に、全遺伝子の各Exon周辺領域を集中的に増幅し、“バリエント”と呼ばれる遺伝子の多型や変異のデータ精度を向上させようとする「全エクソームシーケンス (whole exome sequencing, WES)」が代表例であり、中でもAgilent社の「SureSelect」システムが広く用いられている¹¹⁾。このシステムでは、全Exon領域に対応する120塩基単位のビオチン標識化オリゴRNAを用意し、サンプルの全ゲノムDNAを断片化して作製したNGS用ライブラリーにハイブリダイゼーションさせて、ストレプトアビジン磁気ビーズを利用して選択的に抽出する事で、対象領域上のライブラリーDNAだけを濃縮させている。こうして出来たライブラリーをNGSで読み取ると、Exon周辺領域のみから集中的に高品質のゲノムデータが得られる。この様なWESは、ゲノム上の遺伝子以外の領域を解析する手間を省く一方、集中的に遺伝子変異を同定し評価する各種解析プログラムの拡充も進める事となり、ゲノム研究の知見を飛躍的に蓄積させた。

がんゲノム研究の進展

さて、この様なNGSを用いた多彩な解析の中でも、特にがん疾患に関する研究への貢献は大きく、それらの研究成果は膨大な情報となって各種医療情報データベースの構築を進めた。とりわけがんゲノム研究で重要なデータベースが、がんに関連する体細胞変異の情報を集約したWellcome Trust Sanger Instituteによる「COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer)」¹²⁾である。COSMICは主に2つの方法でデータを集約しており、1つが専門の研究スタッフの手による論文情報等を基に集約された

ものであり、もう1つが大規模なゲノムスクリーニングのデータを利用したものである。前者については、公表済み論文から疾患の臨床像やバリエントの頻度等を複数の文献間での整合性を含め評価してまとめた「Cancer Gene Census (CGC)」というプロジェクト¹³⁾¹⁴⁾に基づいており、主に既知のがん遺伝子や関連変異について、精度の高い情報を提供している。一方後者については、「Cancer Genome Project (CGP)」¹⁵⁾と呼ばれるNGSを主体としたがん特異的と考えられる多型、変異、または組み換え等の情報を集約するプロジェクトの情報を軸に、米国国立がん研究所の主導で行われた「The Cancer Genome Atlas (TCGA)」¹⁶⁾や、国際共同で進められた「International Cancer Genome Consortium (ICGC)」¹⁷⁾などの、他の同様なプロジェクトのデータベースも含んでいる。従って、COSMICでは世界中の数十万検体より集められた、様々なタイプのがんに関するゲノム情報を参照する事が可能となっており、そこにはバリエントとしては登録されても未だがん関連の体細胞変異とは確定されていないものも多く含まれているため、未知のがん遺伝子や関連変異の発見に役立ち、また様々な知見を積み重ねて確定した情報がアップデートされるという好循環になっている。

国内外のがんパネル選定の歴史

前述のNGSに至るゲノム解析の歴史と、がんゲノム研究の具体的な実用上の成果として、我が国でも2019年6月1日に「がん遺伝子パネル診断キット」が保険収載された事により、がんゲノム医療が開始された。このパネルとは、前述のWESの実装で使用したターゲットエンリッチメントと本質的には同一の手法であるが、WESが2万個以上もあるヒトゲノム上の主だった遺伝子全てを対象とするのに対し、がん遺伝子パネルではよりがんに直接的に関与するとされる数百個程度の遺伝子のみ絞り込んだものとなっている。これは、腫瘍組織由来とは言え正常細胞由来のDNAも一定量混入すると考えられる事、また腫瘍組織内でも細胞レベルでは不

均一ではあるため、真にがんに関連する体細胞変異を同定するには通常のWESよりもdepthをかなり深く設定して精度を上げる必要があり、そのためのread数を稼ぐために領域を絞るといった技術的理由がある。その一方、生検検体や切除検体の病理標本（formalin-fixed paraffin-embedded検体、FFPE検体）由来等の決して品質の高くない核酸の使用も想定すると、少ない試料から繰り返し何度もNGS等のゲノム解析を行う事は非現実的であり、一度の検査でなるべく必要となる情報を全て入手したいという事情もある。以上を踏まえると、COSMICの様な知見から鍵となるがん関連の遺伝子を程良く選抜する必要があり、現実的な遺伝子数を以って“がん遺伝子パネル”が設計されるに至り、これを用いた遺伝子検査を「がん遺伝子パネル検査」または「がんゲノムプロファイリング検査」と呼んでいる。

この様ながん遺伝子のみを対象としたパネルは幾つかあり、既にNGSを用いたがん遺伝子パネル診断を盛んに行っている米国では、Memorial Sloan Kettering Cancer Center開発した505個の遺伝子を解析対象とする「MSK-IMPACT」、Thermo Fisher Scientific社が販売する「OncoPrint」、そしてFoundation Medicine社が開発しRoche社の協力によって展開する「FoundationOne」がアメリカ食品医薬品局（FDA）の承認を受けている。これらの内、「FoundationOne」に関しては中外製薬が日本国内の商業化ライセンスを取得し、先に述べた2019年に日本の医薬品医療機器総合機構（PMDA）により324個の遺伝子を評価する「FoundationOne CDx」¹⁸⁾の製品が承認を得た。また「OncoPrint」に関しては、本来23個のがん遺伝子に対する解析を行う製品「OncoPrint Dx Target Test」を用いたBRAF遺伝子中のV600E変異の検出のみを、非小細胞肺癌患者へのダブルフェニブメシル酸塩及びトラメチニブジメチルスルホキシド付加物の併用投与の際、その適応判定を補助するコンパニオン診断システムとして、先んじて2018年にPMDAの承認、及び保険収載された¹⁹⁾。なお、この「OncoPrint」

に関しては、EGFRの変異、ALK及びROS1に関する融合遺伝子に関しても、翌年以降に一部変更承認という形で追加してコンパニオン診断に用いる事が出来る様になった。

一方日本国内では、独自のがん遺伝子パネルとして国立がんセンター（National Cancer Center, NCC）とシスメックス株式会社が共同で「OncoGuide NCCオンコパネルシステム（NCCオンコパネル）」²⁰⁾を開発している。これは当初、がんに関わる点変異・欠失・挿入を測定対象とする114遺伝子と、12種類の遺伝子の融合を検出するパネルとして2019年に薬事承認され、その後2021年に対象遺伝子が追加されて現在は計137遺伝子の評価が可能となっている。同システムが持つ最大の特徴は、FFPE等の腫瘍組織由来のゲノム解析だけではなく、同一患者の末梢血にある非腫瘍細胞のDNAも同時にNGSで解析する事で、腫瘍・非腫瘍のゲノム情報の差異を見る“マッチドペア検査”を行う事にある。NCCオンコパネル検査で強調される利点は大きく2つあり、1つは腫瘍側に既存のゲノムバリエーションでは未報告の場所に変異と思われる箇所が見つかった場合でも、正常側と比較して同じ変異が見られれば、それはがんに関わる体細胞変異ではなく、その検体個人が持つ生殖細胞変異等の多型であろうという推測が出来る点にある。もう1つは、その様な腫瘍・非腫瘍共通の多型が見られた場合、それは体細胞変異ではなくがんリスクを高める生殖細胞変異である可能性が見出されるという点である。ただし、現実には、ほとんどの病理標本から正常細胞を完全に除去することはできないので、がん組織のみを提出し、末梢血を提出しないFoundationOne CDxも、種々のデータベースで多型情報等を参照することが可能であるため、この面で劣っていることはない。

日本のがんゲノム医療の概要

現時点でわが国では、OncoPrintは疾患と評価対象遺伝子共に非常に限定的な使われ方しかされないため、いわゆる「がんゲノム医療」で用いられるのは薬事承認を受けたNCCオンコパネ

ルと FoundationOne CDx の2種類を用いて、NGSによる解析及び疾患との関連評価を行うことになっている。これら2つのパネルが評価する遺伝子のリストを、表1にまとめた。この表を見れば解る様に、NCC オンコパネルの変異等を評価する124遺伝子は、融合遺伝子の評価対象13遺伝子全てとも重複しており、その内約9割に当たる111遺伝子がFoundationOne CDxと同一の遺伝子で、独自評価対象は13遺伝子である。一方、FoundationOne CDxでは全対象324遺伝子の内、BTKやFASといった198遺伝子がこのパネル独自の評価対象となる他、intronやpromoter領域も見ることのでがん特異的な遺伝子再構成(rearrangements)を評価するための15遺伝子が別途準備されている。これらの情報を基に、実際に検査をする際に、対象となる腫瘍においてある程度既知の関連遺伝子が事前に解っている場合には、その遺伝子がいずれのパネルに用意されているかを注意せねばならない。

さて、これらがんゲノム診断パネルは、ただ単に組織から抽出した核酸をNGS解析すれば検査が終わりというものではない。まず現在の運用では、得られたがんに関する臨床情報とゲノムデータは、全て「がんゲノム情報管理センター(Center for Cancer Genomics and Advanced Therapeutics, C-CAT)」のがんゲノム情報レポジトリに蓄積される事になっている。そしてこれらのデータは、各種論文等の知見をまとめた知識データベース「Cancer Knowledge Data Base (CKDB)」の情報と結び付けられて、各がんパネルで実際に検査を行った会社の報告書とは別にC-CATのレポートとして作成される²¹⁾。このレポートには基本的な検体情報と、各遺伝子上の塩基配列の変異と判明しているそれらの意義、及び、該当するものがあればその治療薬や実施中の治験情報が記載されている。またそれら遺伝子上の変異に加え、コピー数変化や遺伝子変異以外のバイオマーカーとして「MS」と「TMB」の情報も付記されている。MSは、通常、ゲノム上に散在している数塩基が数十回繰り返される“マイクロサテライト”と呼ばれる箇所の状態(Microsatellite status, MS)を評価

するものである。腫瘍組織ではDNAの修復能力が低下する事により、細胞分裂時に反復回数に変化が生じる「マイクロサテライト不安定性(Microsatellite Instability, MSI)」が見られるため、MSIが高頻度で存在する場合を“MSI-high”，低頻度あるいは存在が認められない場合を“MSI-low”または“MSI-stable”として評価している。一方TMBはTumor Mutational Burdenの略であり、腫瘍遺伝子変異量とも訳されるが、腫瘍組織における確認された体細胞突然変異の総量を求め、それを100万塩基(Mega base, Mb)当りの変異数としてスコア化したものであり、単位は「mut/Mb」で表わされる。これらの情報が記載されているのは、目安としてMSI-highまたはTMBが10以上で、オプジーボやキートルーダなどの免疫チェックポイント阻害薬が適応になるためである。なぜなら、変異が多いと免疫学的に「自己」と認識されていない、元々存在しない「非自己」のアミノ酸配列が出現し得るので効果が期待できるからである。

これらのレポートに対しては、各種関連する分野に精通した医師や研究者による検査結果の医学的な解釈をするための多職種検討会「エキスパートパネル会議」がほぼ毎週行われ、各種ゲノム上の変異や多型に関する詳細なレポートを作成後、対応するための治療法や、関連する現在進行中の治験情報等の意見交換を行う事になっている。こうした取り組みは、我が国独自のがんゲノム情報の蓄積と、それらの解析を通じたアップデートによる更なる治療方針の最適化に繋がるものと期待されている。

おわりに

ヒトゲノムを巡る研究の歴史と、それを支えるDNA解析技術の進展は、遂にこれまでとは異なるレベルでの診療に利用され始めた。しかし、そこには様々な課題が残されている²²⁾²³⁾。まず診療のレベルにおいては、検査結果が具体的な治療薬の提案など実際の治療に結び付く割合が1割程度と低い事が指摘されている。また、本来の検査対象であるがん遺伝子の変異以外で何ら

表1 現時点でがんゲノム診断に用いられる遺伝子のリスト

NCC オンコパネル と Foundation One Dx に共通の遺伝子	ABL1	AKT1	AKT2†	AKT3	ALK†‡
	APC	ARAF	ARID1A	ATM	AXIN1
	AXL	BAP1	BARD1	BRAF†‡	BRCA1‡
	BRCA2‡	CCND1	CCNE1	CD274/PD-L1	CDK12
	CDK4	CDK6	CDKN2A	CHEK2	CREBBP
	CRKL	CTNNB1	CUL3	DDR2	EGFR‡
	EP300	ERBB2/HER2	ERBB3	ERBB4†	ESR1/ER
	EZH2	FBXW7	FGFR1‡	FGFR2†‡	FGFR3†‡
	FGFR4	FLT3	GNA11	GNAQ	GNAS
	HRAS	IDH1	IDH2	IGF1R	JAK1
	JAK2	JAK3	KDM6A/UTX	KEAP1	KIT‡
	KRAS	MAP2K1/MEK1	MAP2K2/MEK2	MAP2K4	MAP3K1
	MDM2	MDM4	MEN1	MET	MLH1
	MSH2‡	MSH6	MTAP	MTOR	MYC‡
	MYCN	NF1	NF2	NFE2L2/Nrf2	NOTCH1
	NOTCH2‡	NOTCH3	NRAS	NTS2	NTRK1†‡
	NTRK2†‡	NTRK3†	PALB2	PBRM1	PDGFRA†‡
	PDGFRB	PIK3CA	PIK3R1	PMS2	POLD1
	POLE	PRKCI	PTCH1	PTEN	RAC1
	RAD51C	RAF1/CRAF‡	RB1	RET†‡	ROS1†‡
	SETD2	SMAD4	SMARCA4/BRG1	SMARCB1	SMO
STAT3	STK11/LKB1	TP53	TSC1	TSC2	
VHL					
NCC オンコパネル のみに搭載の遺伝子	ACTN4	ARID2	B2M	BCL2L1/BIM	ENO1
	IGF2	IL7R	MAP3K4	NRG1†	PIK3R2
	RAC2	RHOA	SETBP1		
Foundation One CDx のみに 搭載の遺伝子	ACVR1B	ALOX12B	AMER1/FAM123B	AR	ARFRP1
	ASXL1	ATR	ATR	AURKA	AURKB
	BCL2‡	BCL2L1	BCL2L2	BCL6	BCOR
	BCORL1	BRD4	BRIP1	BTG1	BTG2
	BTK	C11orf30/EMSY	CALR	CARD11	CASP8
	CBFB	CBL	CCND2	CCND3	CD22
	CD70	CD79A	CD79B	CD73	CDH1
	CDK8	CDKN1A	CDKN1B	CDKN2B	CDKN2C
	CEBPA	CHEK1	CIC	CSF1R	CSF3R
	CTCF	CTNNA1	CUL4A	CXCR4	CYP17A1
	DAXX	DDR1	DIS3	DNMT3A	DOT1L
	EED	EPHA3	EPHB1	EPHB4	ERCC4
	ERG	ERRF1	FAM46C	FANCA	FANCC
	FANCG	FANCL	FAS	FGF10	FGF12
	FGF14	FGF19	FGF23	FGF3	FGF4
	FGF6	FH	FLCN	FLT1	FOXL2
	FUBP1	GABRA6	GATA3	GATA4	GATA6
	GID4/C17orf39	GNA13	GRM3	GSK3B	H3F3A
	HDAC1	HGF	HNF1A	HSD3B1	ID3
	IKBKE	IKZF1	INPP4B	IRF2	IRF4
	IRS2	JUN	KDM5A	KDM5C	KDR
	KEL	KLHL6	KMT2A/MLL‡	KMT2D/MLL2	LTK
	LYN	MAF	MAP3K13	MAPK1	MCL1
	MED12	MEF2B	MERTK	MITF	MKNK1
	MPL	MRE11A	MSH3	MST1R	MUTYH
	MYCL/MYCL1	MYD88	NBN	NFKBIA	NKX2-1
	NPM1	P2RY8	PARK2	PARP1	PARP2
	PARP3	PAX5	PDCD1/PD-1	PDCD1LG2/PD-L2	PDK1
	PIK3C2B	PIK3C2G	PIK3CB	PIM1	PPARG
	PPP2R1A	PPP2R2A	PRDM1	PRKAR1A	PTPN11
	PTPRO	QKI	RAD21	RAD51	RAD51B
	RAD51D	RAD52	RAD54L	RARA‡	RBM10
	REL	RICTOR	RNF43	RPTOR	SDHA
SDHB	SDHC	SDHD	SF3B1	SGK1	
SMAD2	SNCAIP	SOCS1	SOX2	SOX9	
SPEN	SPOP	SRC	STAG2	SUFU	
SYK	TBX3	TEK	TET2	TGFBR2	
TIPARP	TNFAIP3	TNFRSF14	TYRO3	U2AF1	
VEGFA	WHSC1/MMSET	WHSC1L1	WT1	XPO1	
XRCC2	ZNF217	ZNF703			
Foundation One CDx Rearrangements のみ に搭載の遺伝子	BCR	CD74	ETV4	ETV5	ETV6
	EWSR1	EZR	MYB	NUTM1	RSPO2
	SDC4	SLC34A2	TERC	TERT	TMPRSS2

†NCC オンコパネルで、融合遺伝子の解析対象にもなっているもの

‡Foundation One CDx における遺伝子再構成の解析対象にもなっているもの

かの遺伝性変異が発覚する「二次的初見」や、そうした個人の遺伝情報が就労や保険の加入時に影響する“遺伝差別”の可能性を抑止する必要性も議論されている。また検査とその基盤となるゲノム研究に関しては、人材育成の面でも課題が提議されている。特にゲノム医療の現場においては、患者に検査内容と結果に関する説明や、遺伝に関する諸問題に対して適切な相談を行う遺伝カウンセラー、およびヒトゲノム解析とその結果に関する検証能力を兼ね備え、新たな治療法を導き得るエキスパートとしての臨床遺伝専門医が不足しており、その拡充が望まれている。

また、本稿の冒頭から述べて来た様に、このがんゲノム医療の基盤となる技術は、医学に隣接する数多くの他領域に渡る基礎研究との相乗効果で発展して来た。例えば、今日の塩基配列解読技術の基礎となる Sanger 法を開発した

Frederick Sanger は、父親は医師であったものの、自分はより広い科学技術に貢献する事を選び、重要な化学の研究成果に至った。また NGS の基盤技術には、ヒトゲノムの解読にしのぎを削っていた時代に、それまで医学とはあまり結び付く事の無かった情報工学分野の参入によって、飛躍的に進化したバイオインフォマティクスが重要な位置を占めている。言わば、複数の研究分野の総力戦が今日の医学を新しい地平に導いた訳だが、そうした革新が常に欧米に先行されて来た事情を鑑みると、同じく多分野の専門家による共同作業で進むがんゲノム医療は、これからの日本における医学研究の1つの試金石とも言えるかも知れない。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, Devon K, Dewar K, Doyle M, FitzHugh W et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409: 860-921, 2001.
- 2) Venter JC, Adams Mark D, Myers Eugene W, Li Peter W, Mural Richard J, Sutton Granger G, Smith Hamilton O, Yandell M, Evans Cheryl A, Holt Robert A et al. The Sequence of the Human Genome. *Science*, 291: 1304-1351, 2001.
- 3) International Human Genome Sequencing C. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*, 431: 931-945, 2004.
- 4) Sanger F, Nicklen S and Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74: 5463-5467, 1977.
- 5) 中野正和, 田代啓. Close Up 実験法 (Series 209) 大規模シーケンサー解析用ヒトゲノム標的配列濃縮法. *実験医* 28, 2010.
- 6) Quail MA, Smith M, Coupland P, Otto TD, Harris SR, Connor TR, Bertoni A, Swerdlow HP and Gu Y. A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers. *BMC Genomics*, 13: 341, 2012.
- 7) 中野正和. 多因子疾患のゲノム医科学研究の動向. *京府医大誌*, 122, 2013.
- 8) Goodwin S, McPherson JD and McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*, 17: 333-351, 2016.
- 9) NovaSeq™ 6000 シーケンサーシステム. illumina. <https://jp.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/apac/japan/documents/pdf/products/data-sheets/novaseq-system-spec-sheet-770-2016-025-jpn.pdf> (2016)
- 10) Teer JK and Mullikin JC. Exome sequencing: the sweet spot before whole genomes. *Human Molecular Genetics*, 19: R145-R151, 2010.
- 11) Tewhey R, Nakano M, Wang X, Pabón-Peña C, Novak B, Giuffrè A, Lin E, Happe S, Roberts DN, LeProust EM et al. Enrichment of sequencing targets from the human genome by solution hybridization. *Genome Biology*, 10: R116, 2009.
- 12) Forbes SA, Tang G, Bindal N, Bamford S, Dawson E, Cole C, Kok CY, Jia M, Ewing R, Menzies A et al. COSMIC (the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer): a resource to investigate acquired mutations in human cancer. *Nucleic Acids Research*, 38: D652-D657, 2009.

- 13) Futreal PA, Coin L, Marshall M, Down T, Hubbard T, Wooster R, Rahman N and Stratton MR. A census of human cancer genes. *Nature Reviews Cancer*, 4: 177-183, 2004.
- 14) Sondka Z, Bamford S, Cole CG, Ward SA, Dunham I and Forbes SA. The COSMIC Cancer Gene Census: describing genetic dysfunction across all human cancers. *Nature Reviews Cancer*, 18: 696-705, 2018.
- 15) Covell DG. Data Mining Approaches for Genomic Biomarker Development: Applications Using Drug Screening Data from the Cancer Genome Project and the Cancer Cell Line Encyclopedia. *PLOS ONE*, 10: e0127433, 2015.
- 16) McLendon R, Friedman A, Bigner D, Van Meir EG, Brat DJ, M. Mastrogiannis G, Olson JJ, Mikkelsen T, Lehman N, Aldape K et al. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature*, 455: 1061-1068, 2008.
- 17) Hudson TJ, Anderson W, Aretz A, Barker AD, Bell C, Bernabé RR, Bhan MK, Calvo F, Eerola I, Gerhard DS et al. International network of cancer genome projects. *Nature*, 464: 993-998, 2010.
- 18) FoundationOne CDx Technical Specification. FoundationMedicine.
https://assets.ctfassets.net/w98cd481qyp0/YqqKHaqQmFeqc5ueQk48w/c35460768c3a76ef738dcf88f8219524/F1CDx_Tech_Specs_072021.pdf (2020)
- 19) 審議結果報告書 (体細胞遺伝子変異解析システム (抗悪性腫瘍薬適応判定用)). 独立行政法人医薬品医療機器総合機構.
https://www.pmda.go.jp/medical_devices/2018/M20180417001/840863000_23000BZX00089_A100_1.pdf (2018.2.28)
- 20) OncoGuide™ NCC オンコパネルシステム. Sysmex.
<https://products.sysmex.co.jp/products/genetic/AK401170/OncoGuideNCC.pdf> (2021)
- 21) OncoGuide™ NCC オンコパネルシステム レポート活用ガイド. Sysmex.
<https://products.sysmex.co.jp/products/genetic/AK401170/OncoGuideNCC.pdf> (2021)
- 22) 調査と情報-Issue Brief- がんゲノム医療の現状と課題. 国立国会図書館 調査及び立法考査局 社会労働課. 竹内優平.
<https://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-24-t294-4.pdf> (2020.3.19)
- 23) 提言 ゲノム医療推進に向けた体制整備と人材育成. 日本学会議.
<https://www.scj.go.jp/ja/info/kohyo/pdf/kohyo-24-t294-4.pdf> (2020.8.31)

著者プロフィール



徳田 雄市 Yuichi Tokuda

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科ゲノム医科学・助教

略歴：2004年3月 近畿大学理工学部経営工学科情報システムコース卒業
2004年4月～2006年3月

近畿大学大学院総合理工学研究科エレクトロニクス系工学専攻
攻博士前期過程

2006年3月 修士号（工学）

2006年4月 近畿大学研修員（人工知能研究室）

2007年4月～2011年3月

京都府立医科大学大学院医学研究科博士課程

2011年4月 京都府立医科大学分子医科学教室ゲノム医科学部門研修員

2013年2月 博士号（医学）

2018年7月 京都府立医科大学分子医科学教室ゲノム医科学部門プロジェクト研究員

2021年8月～現職

国家試験 基本情報技術者試験 合格

日本バイオインフォマティクス学会認定バイオインフォマティクス技術者

専門分野：情報工学，人工知能，バイオインフォマティクス

- 主な業績：1. Tokuda Y*, Okumura N*, Komori Y, Hanada N, Tashiro K, Koizumi N, Nakano M. Transcriptome dataset of human corneal endothelium based on ribosomal RNA-depleted RNA-Seq data. *Sci. Data*, **7**: 407, 2020. *Co-first author.
2. Nakano M*, Ikeda Y*, Tokuda Y*, Fuwa M, Ueno M, Imai K, Sato R, Omi N, Adachi H, Kageyama M, Mori K, Kinoshita S, Tashiro K. Novel common variants and susceptible haplotype for exfoliation glaucoma specific to Asian population. *Sci. Rep.*, **4**: 5340, 2014. *Co-first author.
3. Tokuda Y, Tanaka M, Yagi T, Tashiro K. The defect of SFRP2 modulates an influx of extracellular calcium in B lymphocytes. *BMC Res. Notes*, **7**: 780, 2014.
4. Nakano M*, Ikeda Y*, Tokuda Y*, Fuwa M, Omi N, Ueno M, Imai K, Adachi H, Kageyama M, Mori K, Kinoshita S, Tashiro K. Common variants in *CDKN2B-AS1* associated with optic-nerve vulnerability of glaucoma identified by genome-wide association studies in Japanese. *PLoS One*, **7**: e33389, 2012. *Co-first author.
5. Tokuda Y, Yagi T, Yoshii K, Ikeda Y, Fuwa M, Ueno M, Nakano M, Omi N, Tanaka M, Mori K, Kageyama M, Nagasaki I, Yagi K, Kinoshita S, Tashiro K. An approach to predict the risk of glaucoma development by integrating different attribute data. *SpringerPlus*, **1**: 41, 2012.
6. Nakano M, Ikeda Y, Taniguchi T, Yagi T, Fuwa M, Omi N, Tokuda Y, Tanaka M, Yoshii K, Kageyama M, Naruse S, Matsuda A, Mori K, Kinoshita S, Tashiro K. Three susceptible loci associated with primary open-angle glaucoma identified by genome-wide association study in Japanese population. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**: 12838-12842, 2009.

