

# OPINION

## 高感度多遺伝子検査システム MINtS による細胞診検体を用いた肺癌 druggable 遺伝子変異検索

### 細胞診検体による多遺伝子コンパニオン診断薬の作成を目指して

萩原 弘一 自治医科大学 内科学講座呼吸器内科学部門 教授



#### 背景

現在、分子標的薬を使用するためには、当該薬と対になったコンパニオン診断薬を用いて遺伝子変異検査を行い、適合した遺伝子変異のある患者にのみ分子標的薬を使用することが標準的な手順になっている。コンパニオン診断薬の多くは組織検体を用いて行われる。そのため、組織検体の採取にくい癌では、しばしば遺伝子変異検査が困難である。

肺癌の多くは気管支鏡検体を用いて診断される。超音波気管支鏡の開発が進み、超音波気管支鏡ガイド下針生検 (endobronchial ultrasound-guided trans-bronchial needle aspiration : EBUS-TBNA)、ガイドシース併用気管支内超音波断層法 (endobronchial ultrasonography with a guide sheath) を用いた生検が一般的に使用されるようになった。これらの手技で採取できるサンプルは非常に小さく、主として細胞診検体が採取され、しばしば組織採取が困難である。先進的な気管支鏡技術を使用すると遺伝子変異検査が困難になるという皮肉な関係にある。われわれが共同研究施設に行った予備的アンケート結果では、肺癌患者の20-30%が十分な遺伝子変異検査を受けられて

いないというものであった。

組織不足を克服するため、リキッドバイオプシーが提案されている。リキッドバイオプシーは、血漿などの液性検体中に、細胞死を起こした腫瘍細胞から溶出してくる DNA を用いて遺伝子変異検査をする試みである。時に良好に働くが、検体中に腫瘍細胞由来の DNA が含まれているか確認することはしばしば困難である。そのため、陰性の検査結果が得られても、ただ腫瘍細胞 DNA が無いことが原因かもしれない。そのような欠点があるため、臨床検査において、リキッドバイオプシーはあくまで補完的な検査という位置づけである。

細胞診検体は、液体中に細胞、または微小組織断片が懸濁された検体である。パパニコロ染色を行って鏡検することで、癌細胞が含まれているかを確認できる。気管支鏡検査では、生検検体のうち比較的大きな組織片を組織検体、それ以外を細胞診検体として病理診断に提出することが多い。両者とともに癌の診断が付く場合もあるが、組織検体、細胞診検体の片方だけに癌細胞が確認される場合もある。細胞診検体で特筆すべきは、細胞が懸濁状態にあるため、試薬の浸潤が良く、良好な品質の DNA、RNA を抽出できることである。

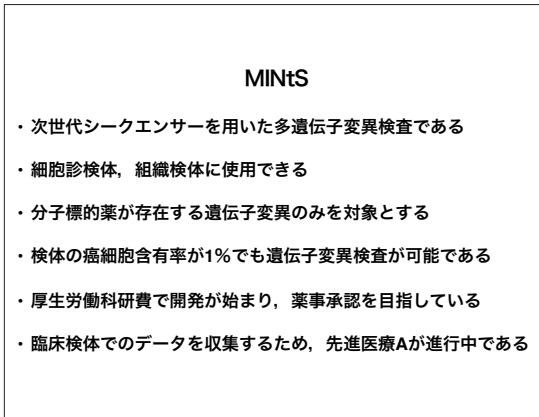


図1 MINtS

検体中の癌細胞を確認可能で良好な核酸検体を抽出できることは、細胞診検体による信頼性の高い遺伝子変異検査が可能であることを示唆している。しかし、現時点で、細胞診検体を活用したコンパニオン診断薬は実用化されていない。

**MINtS**

細胞診検体によるコンパニオン診断を目的として、われわれは、多遺伝子変異検査 MINtS を開発している (図 1)。MINtS は細胞診検体、組織検体の双方を対象とし、次世代シーケンサーにて分子標的薬が存在する遺伝子変異を検索するシステムである。国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)、民間会社の資金協力を受け、われわれが設立した特定非営利活動法人 North East Japan Study Group (NEJSG) を中心に臨床開発を行い、自治医科大学を主管として先進医療 A により臨床的有用性を検証している。MINtS は細胞診検体を利用しているため、高品質の DNA、RNA を利用することができ、全細胞の 1% の癌細胞含有率でも多遺伝子変異検査が可能である。厚生労働省の先進医療技術の科学的根拠等に係る評価 (事前評価) では総合 I を獲得し

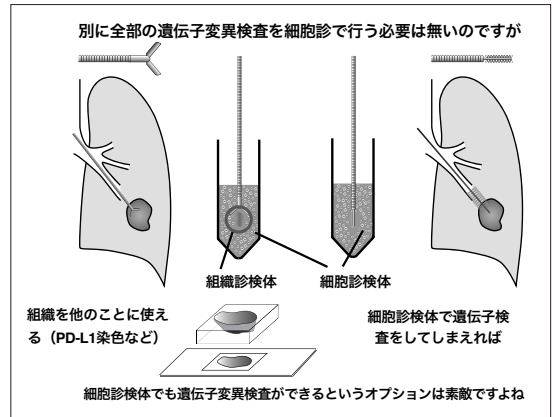


図2 細胞診と組織

た。現在、薬事申請にむけて準備中である。

**細胞診検体検査**

図 2 に MINtS で使用する組織検体、細胞診検体の概念。図 3 に検体調製手順を示す。

1. 生検で採取した検体を生理食塩水で鉗子から外す。気管支鏡生検で採取した検体は小さいので、検体を生理食塩水に入れたあと良く震盪すれば、生検組織周囲の細胞は生理食塩水中に懸濁される。
2. 組織検体を生理食塩水から取り出し、通常の病理検査に提出する。
3. 細胞懸濁液 (細胞診検体) は二分し、半分を細胞診に提出する。
4. 残りの半分は遺伝子変異検査用に保存する (RNA 保存液による保存)。
5. もし細胞診検体の鏡検で癌細胞が見られたら、RNA 保存液中で保存した細胞診検体中にも同程度の量の癌細胞が存在すると推定する。細胞診で「癌」と診断できる検体の多くは癌細胞含有率 1% 以上であり (図 4)、MINtS の遺伝子変異検査限界も同程度であるため、多遺伝子変異検査を施行可能である。

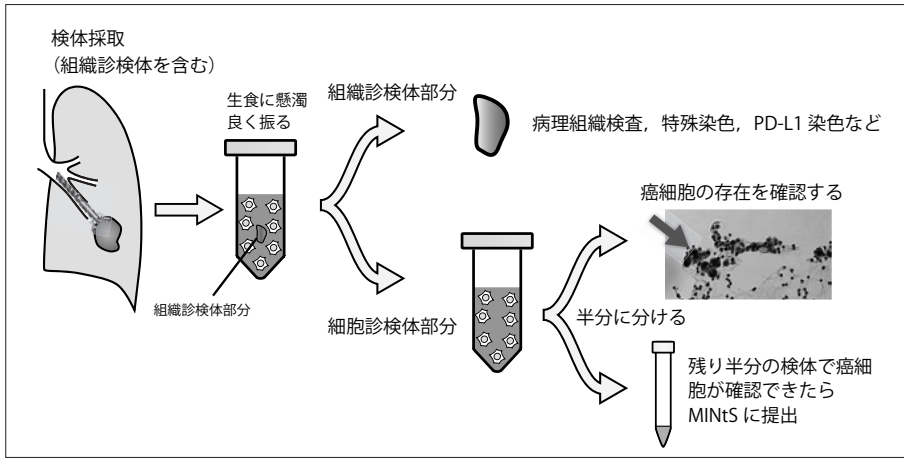


図3 検体調整手順

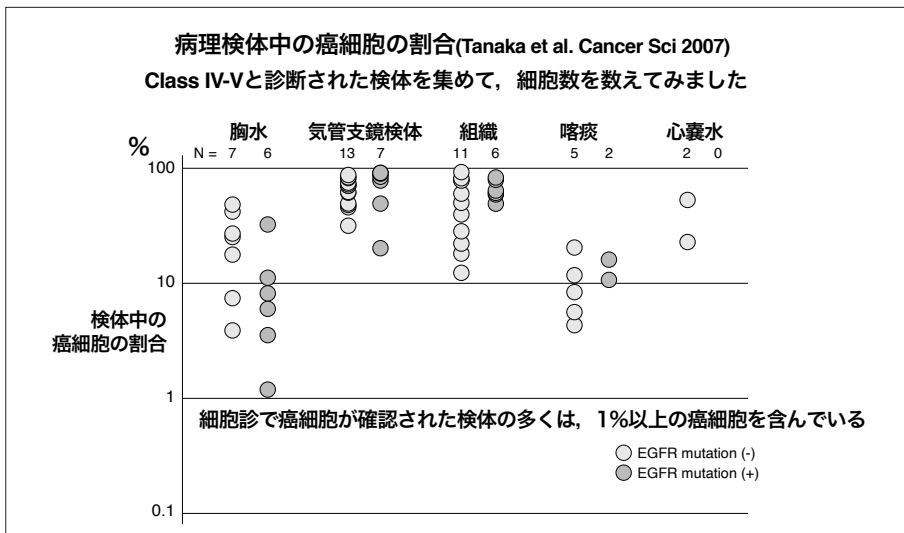


図4 検体癌細胞含有率

この手法を用いると、遺伝子変異検査に組織を使用する必要が無いため、貴重な組織全てを他の検査、すなわち病理組織の鏡検、各種免疫染色、PD-L1染色などに利用できる。細胞診検体中に癌細胞が存在することを確認してから検査を行うため、リキッドバイオプシーのように癌細胞由来DNAが存在しないことによる偽陰性が起こりにくい。また、ホルマリン固定→切片作成の時間が

省略できるため、遺伝子変異結果を迅速に利用できる(図5)。

### MINtS 開発の歴史

簡単な検査だが、MINtS 開発には長い時間がかかった(図6)。1年程度で検査システムは完成したが、実際の臨床使用の裏付けとなるデータ収集のためにNEJ021A 試験を施行し、さらに先

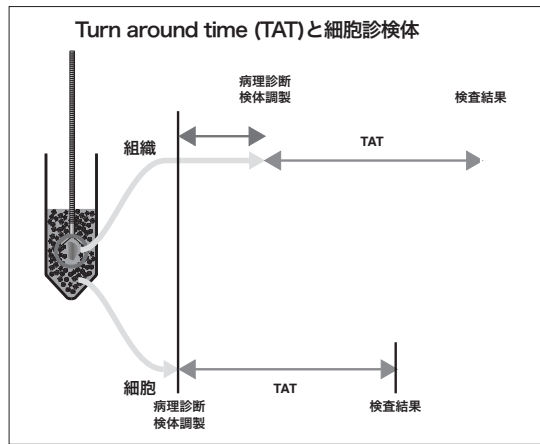


図5 turn around time

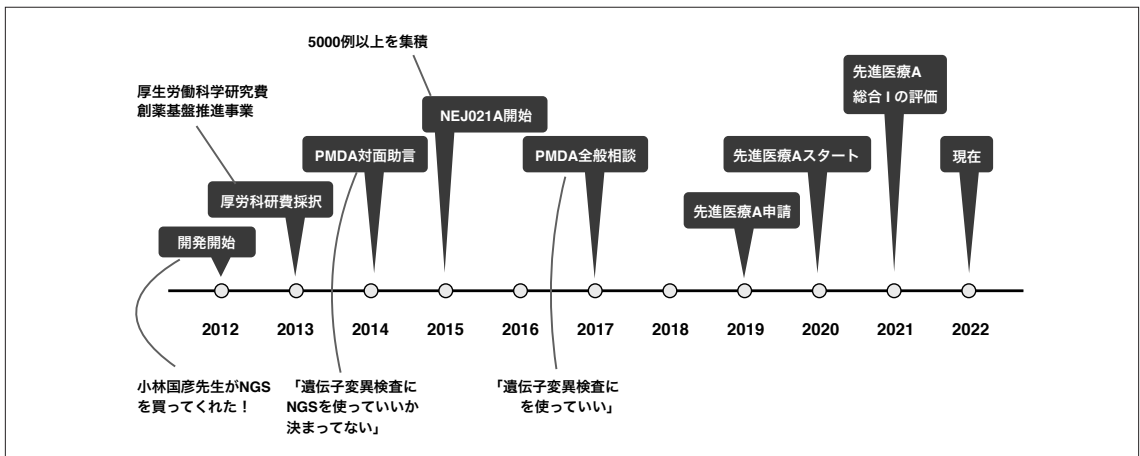


図6 MINiS 開発の歴史

進医療 A を施行中である。ようやく薬事申請に必要なデータが集まりつつある。

**結語**

細胞診検体は貴重な臨床検体である。収集が容易であり、しかも良質のDNA、RNAを抽出できる。細胞診検体を用いた多遺伝子変異検査をコンパニオン診断薬として確立することで、臨床における個別化医療の環境をより良いものに整備して行きたいと考えている。