

遺伝子変異解析セット (がんゲノムプロファイリング検査用)

OncoGuide™ NCCオンコパネル システム

検体作製ガイド

[監修]

国立研究開発法人

国立がん研究センター中央病院 病理診断科

科長 谷田部 恭 先生 / 橋本 大輝 先生

個々の固形がん患者に対する 最適な治療法決定のための情報提供

- 治療効果が期待される医薬品の選択
- 免疫チェックポイント阻害剤による治療効果の予測
- 予後予測に係る情報の入手
- 原発不明がん等のがん種の特定

必要な検体

同一患者より2種類の検体をご用意ください。

腫瘍細胞 (組織診、細胞診由来の未染薄切標本)

- 要件
- ・ 腫瘍細胞含有率20%以上※1
 - ・ 切片の厚さ10 μ m×5枚 (5 μ m×10枚)※2程度

※1 20%未満の場合はダイセクションをお考えください。

※2 Cancer Science. 2019; 110: 1480-1490.

非腫瘍細胞 (全血)

- 要件
- ・ 2mL以上
 - ・ 抗凝固剤 (EDTA-2K) 入り採血管

- 未染薄切標本と全血は同時にご提出ください。
- 抽出されたDNAの受け付けにつきましては、委託先の業者様にお問い合わせください。

2種類の検体をご用意いただく意義

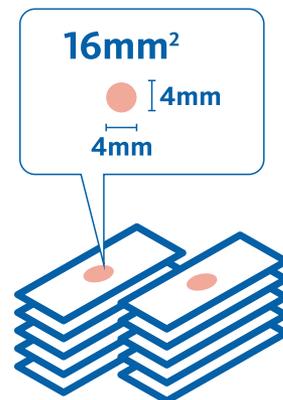
OncoGuide™ NCCオンコパネルシステムは、腫瘍組織に加えて、同一患者の非腫瘍細胞 (全血) のDNAを同時に解析するマッチドペア検査を実施します。患者固有の遺伝子多型を除くことにより、がん組織でのみ検出される遺伝子変化、すなわち体細胞遺伝子異常を高い精度で検出することができます。

腫瘍組織 (未染薄切標本)

必要検体量

厚さ10 μ mの切片(未染薄切標本)を5枚程度をご用意ください。
(5 μ mの切片の場合は10枚程度)

- スライド中の腫瘍細胞含有率が20%以上であることをご確認ください。
- 20%未満の場合はダイセクションをお考えください。炎症細胞浸潤が目立つ場合は、腫瘍細胞含有率が期待値より少なくなるため、注意して20%以上であることを判定してください。
- 1スライドあたり16mm²程度の組織をご用意ください。
上記の厚さ、枚数の標本をご用意いただく場合、4mm²以上の組織であれば本品の推奨インプット量である200ng以上の総DNA量が得られることを確認しておりますが、16mm²程度の組織を推奨しています。なお、腫瘍細胞の絶対数による推奨基準は設定されていません。
- 生検検体や検体が小さい場合または切り出しの厚さが異なる場合は、組織量が上記の条件と同程度になるように枚数を増減させるなどの調整をお願いします。



取り扱い

検査には未染薄切標本を用いてください。未染薄切標本はホルマリン固定処理により組織中の核酸(DNA)の断片化を伴うため、各種のガイドライン※3に記載された条件に基づいて適切に取り扱ってください。

※3 ゲノム診療用病理組織検体取り扱い規程(日本病理学会作成)など

非腫瘍細胞(全血)

必要検体量

血液2mL以上をご用意ください。

- 非腫瘍細胞として有核細胞由来のDNAを検査に使用します。

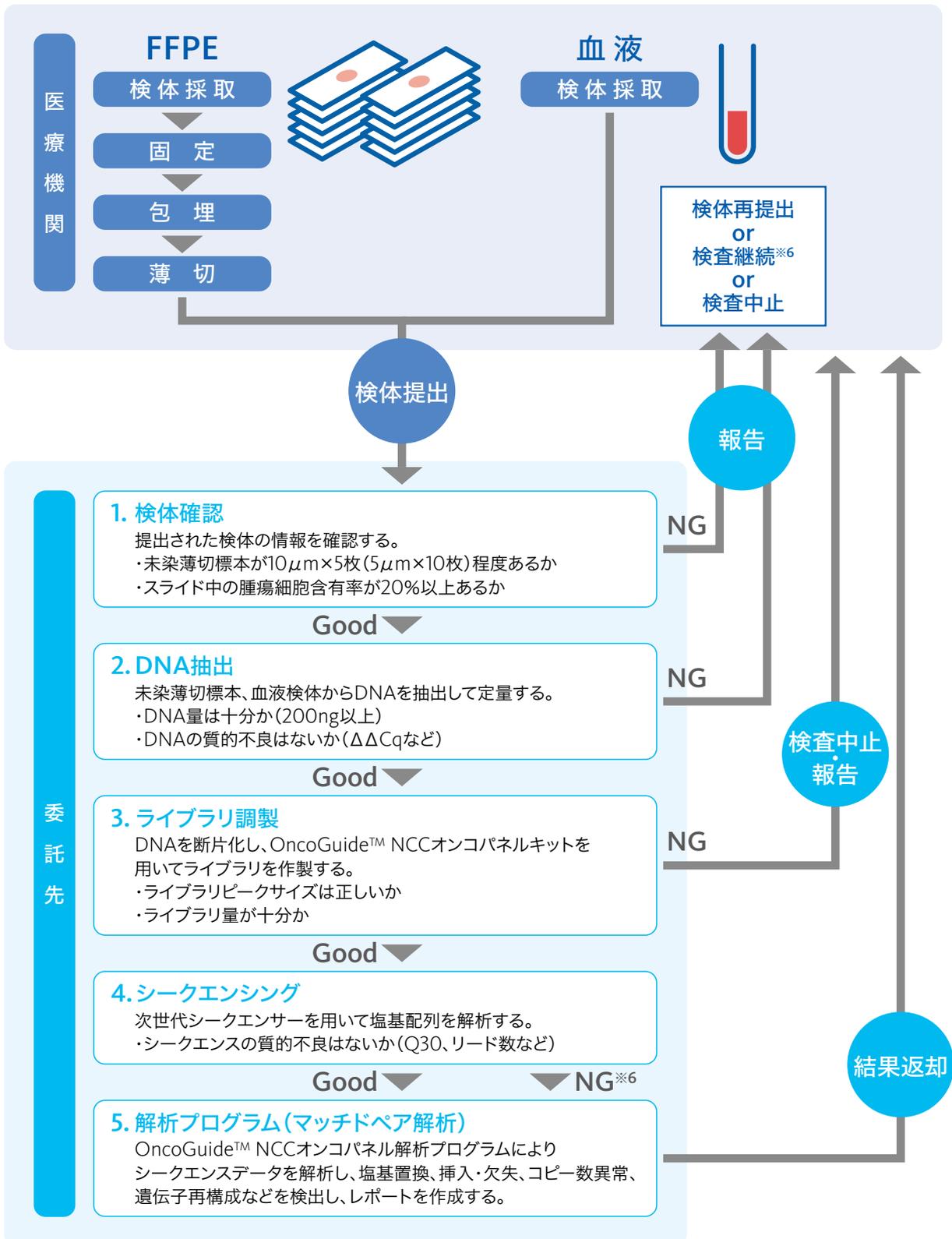


取り扱い

採血後は直ちに十分な転倒混和を行い、各種の検体取り扱いガイドライン※4に記載された条件に基づいて適切に取り扱ってください。

- 同種造血幹細胞移植歴のある症例は検査結果を正確に判定できない可能性があります。
- 化学療法の影響などで単核球数が著しく低下している症例では規定量の血液を用いてもDNA量が不足する場合があります。

※4 検体品質管理マニュアル(パート2)(平成29年10月日本臨床検査標準協議会作成)など



※6 検査結果は参考値となる場合があります。

凡例

検体概要

診断名称

腫瘍細胞含有率:推奨量20%以上
DNA収量:委託先で抽出されたDNA量
(必要量 200ng以上)

ΔΔCq:DNAの品質指標

値が大きいほどDNAの分解が進んでいることを示す。
おおむね1以下はDNA品質良好、1~2はDNA品質中等度、
2以上はDNA品質低と考えられる^{*)}。

※7 SureSelect XT HS Target Enrichment System for
Illumina Paired-End Multiplexed Sequencing Library
(Agilent Technology)

検出された遺伝子異常

[記載例]
NFE2L2(遺伝子名):L30F(置換されたアミノ酸情報 30番目のロ
イシンがフェニルアラニンに置換されている。)
TP53(遺伝子名):c.375+1 G>A(c.は塩基を意味する。375番目の
塩基がグアニンからアデニンに置換されている。+1はイントロン上に
変異があることを示す。)

[その他の表記の意味]

*:終止コドン、Fs:Frame shift、Amplification ×○○:増幅率

合計変異出現率(TMB:腫瘍変異負荷)

ターゲット領域全体の塩基の長さで検出された遺伝子変異(SNV,
InDel)の個数を100万塩基あたり(/Mb)で表記した値。

当該検体の病理組織画像

弱拡大

ダイセクション領域

強拡大

コメント

成功のポイント、治療に結びついた例、解析に至らなかった原因 など

肺癌に対する手術検体

診断:Squamous cell carcinoma

ダイセクション後の腫瘍細胞含有率:85%

DNA収量:11.70μg

ΔΔCq値:0.70

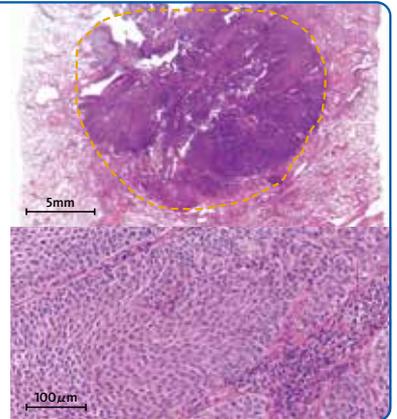
検出された遺伝子異常

NFE2L2:L30F MLH1:S456*
SETD2:C2302fs*7 BAP1:K612fs*30
PIK3CA:H1047R FBXW7:G670fs*37
IL7R:K157N BRCA2:T3033fs*11
CREBBP:Q839* TP53:E204*
MAP3K4:c.2472+1G>A

合計変異出現率(TMB):35.7/Mb

コメント

一般に、手術検体で十分な大きさの腫瘍があれば適切に検査を行うことが
できる。本症例では、遺伝子変異を反映して、免疫染色でびまん性にp53欠失、
部分的にMLH1の欠失を認めた。



肺癌に対する気管支鏡下生検検体①

診断:Adenocarcinoma

ダイセクション後の腫瘍細胞含有率:20%

DNA収量:0.87μg

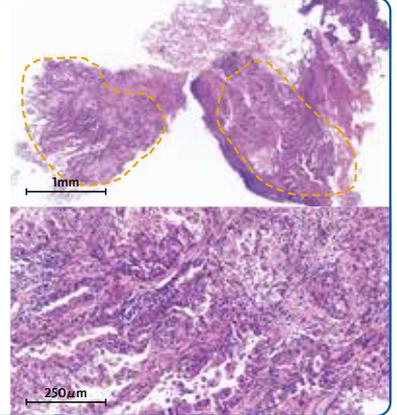
ΔΔCq値:1.38

検出された遺伝子異常

TP53:A83fs*40
EP300:D1399N
合計変異出現率(TMB):4.7/Mb

コメント

小さな気管支鏡下生検検体でも、腫瘍細胞が密に存在していれば解析可能な
場合がある。



肺癌に対する気管支鏡下生検検体②

診断:Adenocarcinoma

ダイセクション後の腫瘍細胞含有率:30%

DNA収量:0.22μg

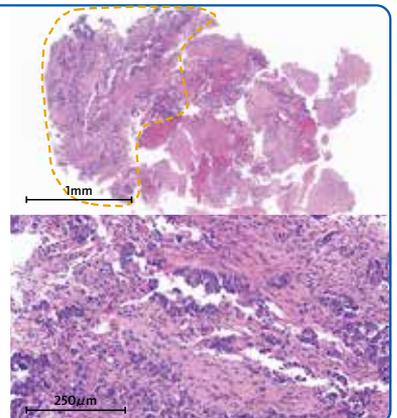
ΔΔCq値:0.49

検出された遺伝子異常

TP53:Q192*
NF1:P2189fs*4
合計変異出現率(TMB):20.2/Mb

コメント

壊死を伴う腫瘍の場合、壊死部を除いてマーキングすることが望まれる。



胃癌に対する生検検体

診断: Poorly differentiated adenocarcinoma

ダイセクション後の腫瘍細胞含有率: 30%

DNA収量: 1.00 μ g

$\Delta\Delta$ Cq値: 0.27

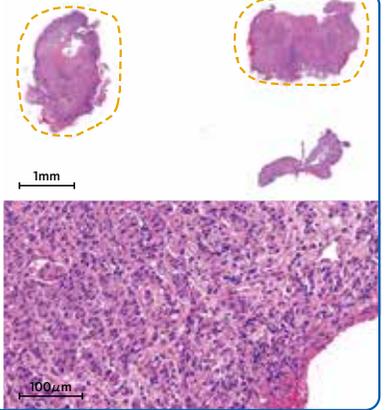
検出された遺伝子異常

RHOA: L69R

TP53: R213*

EGFR amplification: $\times 9.31$

合計変異出現率 (TMB): 7.8/Mb



コメント 小さな消化管生検検体でも解析可能な場合がある。低分化腺癌/印環細胞癌は細胞密度が低い場合が多いため、細胞密度の高いサンプルを選択することが重要である。

大腸癌に対する手術検体

診断: Moderately differentiated adenocarcinoma

ダイセクション後の腫瘍細胞含有率: 50%

DNA収量: 18.66 μ g

$\Delta\Delta$ Cq値: 0.36

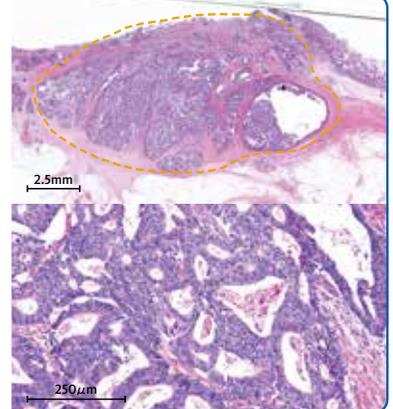
検出された遺伝子異常

APC: R216*

APC: Q1338*

TP53: P278H

合計変異出現率 (TMB): 2.3/Mb



コメント 手術検体では壊死・膿瘍・リンパ濾胞などの非腫瘍組織をなるべくダイセクション範囲に入れないようにする。

膵癌に対する手術検体

診断: Invasive ductal carcinoma

ダイセクション後の腫瘍細胞含有率: 20%

DNA収量: 3.58 μ g

$\Delta\Delta$ Cq値: 0.69

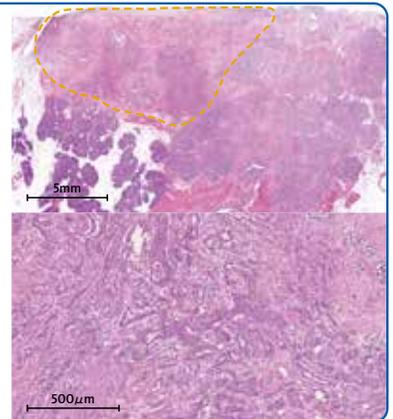
検出された遺伝子異常

KRAS: G12D

TP53: c.375+1G>A

MYC amplification: $\times 10.52$

合計変異出現率 (TMB): 2.3/Mb



コメント 膵癌の手術検体は非腫瘍組織の混在が多く、適切なダイセクションを行ったとしても腫瘍細胞含有率が低くなってしまうことが多い。

膵癌に対するEUS-FNA検体

診断: Adenocarcinoma

腫瘍細胞含有率: 50%

DNA収量: 0.37 μ g

$\Delta\Delta$ Cq値: 0.71

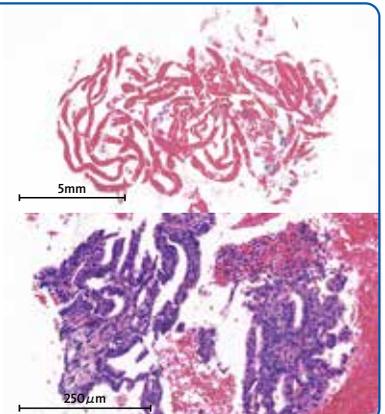
検出された遺伝子異常

CTNNB1: G34E

KRAS: G12D

STK11: P281fs*6

合計変異出現率 (TMB): 3.1/Mb



コメント EUS-FNA材は検体サイズが小さくなりがちであるが、本例の様に十分な組織が採取されていれば検査可能である。

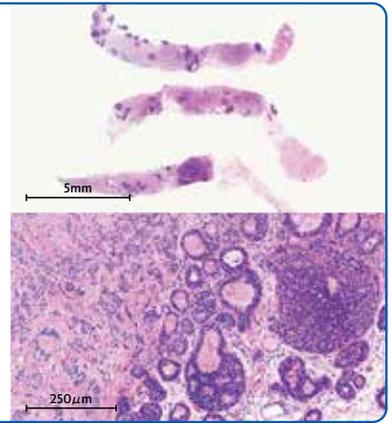
乳癌に対する針生検検体

診断: Invasive ductal carcinoma
腫瘍細胞含有率: 80%
DNA収量: 2.13 μ g
 $\Delta\Delta$ Cq値: 0.63

検出された遺伝子異常
有意な体細胞遺伝子変異なし
合計変異出現率(TMB): 0.8/Mb

コメント

検査が適切に行われても、腫瘍が有意な体細胞遺伝子異常を有していない場合もある。



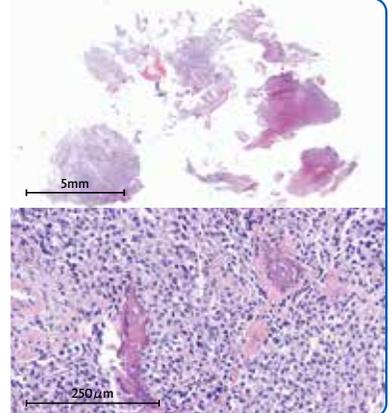
骨腫瘍に対する生検検体

診断: Osteosarcoma
腫瘍細胞含有率: 90%
DNA収量: 1.90 μ g
 $\Delta\Delta$ Cq値: 0.70

検出された遺伝子異常
RB1 exonic homozygous deletion: $\times 0.13$
(エクソンホモ接合性欠失)
合計変異出現率(TMB): 1.6/Mb

コメント

骨肉腫に対する生検検体である。本例は一部に類骨形成が見られるものの、硬組織の含有量は少なく、脱灰なしで薄切したものを検査に提出した。転移性骨腫瘍の検体でもしばしばこのような薄切が可能である。



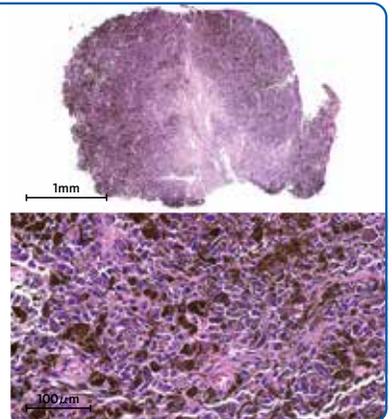
腔壁腫瘍に対する生検検体

診断: Malignant melanoma
腫瘍細胞含有率: 70%
DNA収量: 0.72 μ g
 $\Delta\Delta$ Cq値: 0.57

検出された遺伝子異常
KIT: L576P
EP300: R2263*
合計変異出現率(TMB): 3.9/Mb

コメント

KITの活性化型変異が同定され、KIT阻害剤が治療薬の候補に挙げられた。



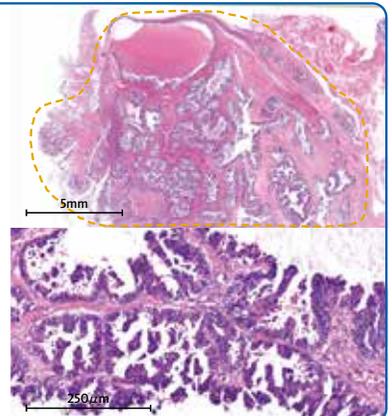
卵巣癌に対する生検検体

診断: High-grade serous adenocarcinoma
ダイセクション後の腫瘍細胞含有率: 50%
DNA収量: 6.61 μ g
 $\Delta\Delta$ Cq値: 1.85

検出された遺伝子異常
ROS1: Y1023H
TP53: R306*
ERBB2 amplification: $\times 6.23$
合計変異出現率(TMB): 4.7/Mb

コメント

TP53変異を有する高悪性度漿液性腺癌である。ROS1変異、ERBB2増幅が認められ、ROS1阻害剤や抗HER2抗体が治療選択肢に挙げられた。



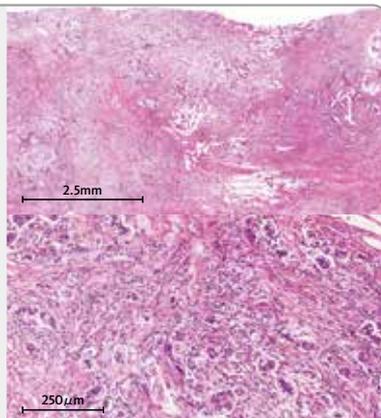
検査不適と判断された例ないし検査不能であった例

腫瘍細胞含有率の不足、検体量の不足、検体の質的不良などにより、適切な検査が行えない場合があります。

膵癌に対する手術検体 [腫瘍細胞含有率の不足により検査不適と判断された例]

診断: Invasive ductal carcinoma
ダイセクション後の腫瘍細胞含有率: 20%未満

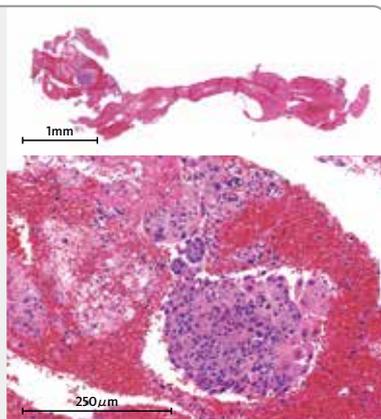
コメント 膵癌の手術検体は線維化や炎症細胞浸潤が目立ち、十分な腫瘍細胞割合を確保できないことがある。本例はダイセクションを行っても腫瘍細胞含有率が20%に満たないと判断されたため、検査を実施できなかった。



肺癌に対する気管支鏡下生検検体 [検体量の不足により検査不適と判断された例]

診断: Non-small cell carcinoma
腫瘍細胞含有率: 40%
DNA収量: 0.18µg
ΔΔCq値: 0.39

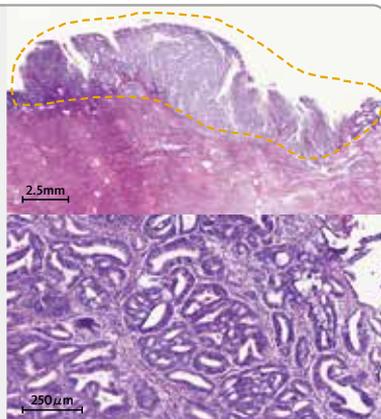
コメント 気管支鏡下生検検体による小さな組織片では、推奨インプットDNA量である200ngを満たさないことがある。



子宮体癌に対する手術検体 [検体の質的不良により検査不能であった例]

診断: Endometrioid adenocarcinoma, Grade 1
ダイセクション後の腫瘍細胞含有率: 40%
DNA収量: 2.25µg
ΔΔCq値: 核酸の増幅が出来ず算出不可

コメント 手術材料で、腫瘍細胞含有率・検体量は十分であったにもかかわらず検体の質的不良のため検査不能となった例。原因の可能性の一つとして、古いブロック(15年前の検体)を使用したことが挙げられた。



Q&A

Q 「切片中に腫瘍細胞が20%以上あることの確認を推奨する」とありますが、この比率は面積比のことですか？

A 面積比ではなく、有核細胞の比率です。20%に満たない場合は、ダイセクションにより腫瘍細胞含有率を増やすことをお考えください。

Q 血液検体はどの程度の期間まで保存が可能ですか？

A 採血後は直ちに十分な転倒混和を行い、各種の検体取扱いガイドライン（例：検体品質管理マニュアル：日本臨床検査標準協議会作成、など）に記載の条件（採血後24時間以内にDNA抽出を行なうことが推奨されるが、すぐにDNA抽出ができない場合には、冷蔵で3日間まで保管することが可能である）に基づいて、適切にお取り扱いください。

なお、採血後冷蔵で保管された全血検体は21日間まで検査に使用できることを確認しています。

Q 検体が推奨条件に満たない場合は、検査できないのでしょうか？

A 検体が推奨条件を満たさない場合、常に検査不能となるわけではありませんが、検査不能となる可能性は高くなります。また、検査を施行できたとしても結果の精度を保証することはできません。検体を受け付けるかどうかについては、委託先の業者様にお問い合わせください。

Q EDTA脱灰した検体は検査が可能ですか？

A これまでに実施された臨床研究などでは、EDTA脱灰検体において特段の問題は生じていません。ただし、酸脱灰（KCXなど）された検体は、品質が著しく低下し検査不能となります。骨を含む検体では脱灰の有無およびその種類を必ず確認してください。なお、骨を含む検体であっても、腫瘍細胞密度が高く硬組織が少ない部分であれば、脱灰を行わずに薄切できることもあります。包埋の際に硬組織の多い部分と少ない部分を分けてパラフィンブロックを作製するといった工夫もご考慮ください。

検体を受け付けるかどうかについては、委託先の業者様にお問い合わせください。

Q 放射線治療や薬物治療後の検体は検査が可能ですか？

A 検体は受け付けます。放射線治療や薬物治療を受けた腫瘍細胞には、細胞内に何らかの変化が生じている可能性があります。これらの検体の適切性を保証する、あるいは否定するのに十分なエビデンスはありません。

Q 1枚のスライドガラスに複数の切片を載せて検査を依頼することはできますか？

A 検体を受け付けるかどうかについては、委託先の業者様にお問い合わせください。同一ブロックあるいは同一採取部位から作製されたブロックであれば、検査は可能です。同一採取部位からのブロックでは、腫瘍細胞の不均一性（heterogeneity）に大きな差があるような場合、結果に影響を及ぼす可能性があります。

OncoGuide™ NCCオンコパネルシステム（承認番号 23000BZX00398000）

製造販売元

シスメックス株式会社

本 社 神戸市中央区脇浜海岸通1-5-1 〒651-0073

OncoGuide™ NCCオンコパネル システムのお問合せは

シスメックス株式会社 OncoGuide™ NCCオンコパネル システム 専用窓口



0120-035-802

受付時間：月曜日～金曜日 9:30～17:00（祝日・お盆・年末年始・その他休日は除く）

取扱店



注：活動及びサイトの適用範囲は掲載により異なります。詳細はwww.ttt.com@ID 0910889004を参照。
Note: Scopes of sites and activities vary depending on the standard. For details, refer to the ID 0910889004 at www.ttt.com



*外観、仕様については改良のため予告なしに変更することがあります。