

体細胞遺伝子検査の検査精度に関する調査研究：

肺癌 *EGFR* 遺伝子変異検査

研究報告書

日本病理学会 医療業務委員会

精度管理委員会

平成 28 年 4 月 30 日 報告

目 次

1. 背景および目的.....	3
2. 方法	3
3. 結果	5
4. 考察	7
5. 今後の対応	7
6. 参考文献.....	8
7. 研究組織.....	8
8. 謝辞	9

※ 本報告書に記載のある別添資料 3 および 4 は、参加医療機関および本調査研究関係者用の報告資料となっている。

1. 背景および目的

近年、病理組織・細胞検体を用いた悪性腫瘍の体細胞遺伝子検査は急増している。特に遺伝子変異検査については、年間約 10 万件が、治療選択のためのコンパニオン診断として現在実施されており¹⁾、検査項目も肺癌における *EGFR* 変異検査²⁾、大腸癌における *KRAS* 遺伝子変異（現在は *RAS* 変異へ移行³⁾）、消化管間質腫瘍（GIST）における *KIT* 遺伝子変異検査に加え、2015 年からは悪性黒色腫における *BRAF* 遺伝子変異検査が新たに加わり、今後さらに増加する見込みとなっている。このうち肺癌 *EGFR* 変異検査は、その半数以上を占めており、多くは登録衛生検査所（いわゆる検査センター）によって実施されている。当該検査法については、登録衛生検査所において開発された薬事未承認検査法（LDT）法に加えて、近年 Scorpions-ARMS 法、Cobas 法が相次いで体外診断用医薬品（IVD）承認され、医療機関における導入・実施がより容易となった。日本病理学会精度管理委員会による病理学会認定施設を対象とした 2014 年のアンケート調査では、本検査の院内実施率は約 8%、また厚生労働科学研究費補助金研究班（桑田班）によるがん診療連携拠点病院を対象とした調査でも、ほぼ同様の結果が得られ、医療機関での実施が徐々に進んでいることが明らかとなった。

一方、これら遺伝子変異検査は、分子標的治療のコンパニオン診断として治療選択に直結していることから、より厳密な精度保証体制が求められるが、医療機関で実施される検査精度の実態については、いまだ把握出来ていない。さらには今後、特に肺癌領域では、組織検体を使用したマルチプレックス遺伝子診断（いわゆるクリニカル・シーケンス）の臨床導入も検討されており、実施施設における検体取り扱いなど、質保証体制の把握は重要となっている。また将来的には外部精度評価（EQA）体制の構築が求められる。

本研究では、国内の医療機関における体細胞遺伝子検査（とくに遺伝子変異検査）の検査精度や検査実施体制を把握するため、① *EGFR* 変異検査を対象とした精度調査を行うとともに、② 本研究の参加医療機関を対象としたアンケート調査を行った。

2. 方法

1) 参加医療機関

本調査研究は、日本病理学会認定施設のうちメーリングリスト登録のある施設へ電子メール案内、日本病理学会ホームページ上およびニュースレターで告知を行い、本研究への参加申込のあった施設

設で EGFR 変異検査を実施している医療機関 26 施設を対象に行った。

2) リファレンス検査

協力企業によるリファレンス検査は、IVD 承認製品販売企業 2 社，登録衛生検査所 3 社，また上記告知より参加協力の申出のあった企業 1 社において行った。

3) FFPE 標準サンプルを用いた精度調査

精度調査には、遺伝子改変より作製された変異型および野生型の細胞株より作製され、米国 CAP サーベイにおいても利用実績のある Horizon Diagnostics 社製 FFPE 標準サンプル 3 種を用いた（下表）。研究事務局より、FFPE 標準サンプルの一斉発送（4℃）を行い、その到着後 2 週間以内に各医療機関において FFPE 標準サンプルからの EGFR 変異検査を行った。各医療機関は、所定の記入フォーム（別添資料 1）へ結果を記入後、研究事務局へ返送した。

	サンプル#1	サンプル#2	サンプル#3
使用した FFPE 標準サンプル	100% wild type (HD141)	80% L858R/T790M mutant type (HD234)	33% G719S mutant type (HD179)

4) 検査実施体制に関するアンケート調査

本研究では、検査実施体制に関するアンケート調査を実施した（別添資料 2）。

5) 調査研究のスケジュール

本研究は、概ね以下のスケジュールで実施された。

申込受付期間	2015 年 12 月中旬～2016 年 1 月中旬
研究事務局からの送付期間	2016 年 1 月下旬～2016 年 2 月上旬
各研究協力施設からの返送期間	2016 年 2 月中旬～2016 年 2 月下旬
調査結果の解析期間	2016 年 3 月
調査結果の開示時期	2016 年 4 月

3. 結果

参加医療機関の施設区分は、都道府県がん診療連携拠点病院は12施設（46%）、地域がん診療連携拠点病院12施設（46%）、その他は2施設（8%）であった。

参加医療機関および協力企業における精度調査結果を図1に示す。サンプル#1の野生型、サンプル#2のex21/L858R変異型では、すべての参加医療機関で、FFPE標準サンプルの変異の有無と一致した結果が得られた。一方、サンプル#2のex20/T790M変異型では4施設（15%）が不一致となり、このうち2施設（8%）は、当該変異型の測定が対象外となっていた。さらにサンプル#3のex18/G719S変異型では9施設（35%）が不一致となり、このうち7施設（27%）は、当該変異型の測定が対象外となっていた。このうち、IVD法（Therascreen法 [Scorpions-ARMS法]およびCobas法）を使用していた5施設では、サンプル#1、#2、#3のいずれのサンプルにおいても、野生型/変異型が適切に検出された（サンプル#3についてはG719Xとして検出）。

協力企業（6社）で実施されたリファレンス検査（IVD法：5社、非IVD法：4社 [PNA-LNA Clamp法、PCR-Invader法、ダイレクトシーケンス法、Q-probe法]）においても、すべての検査法で野生型/変異型が適切に検出された。その他の結果は、別添資料3にまとめた。

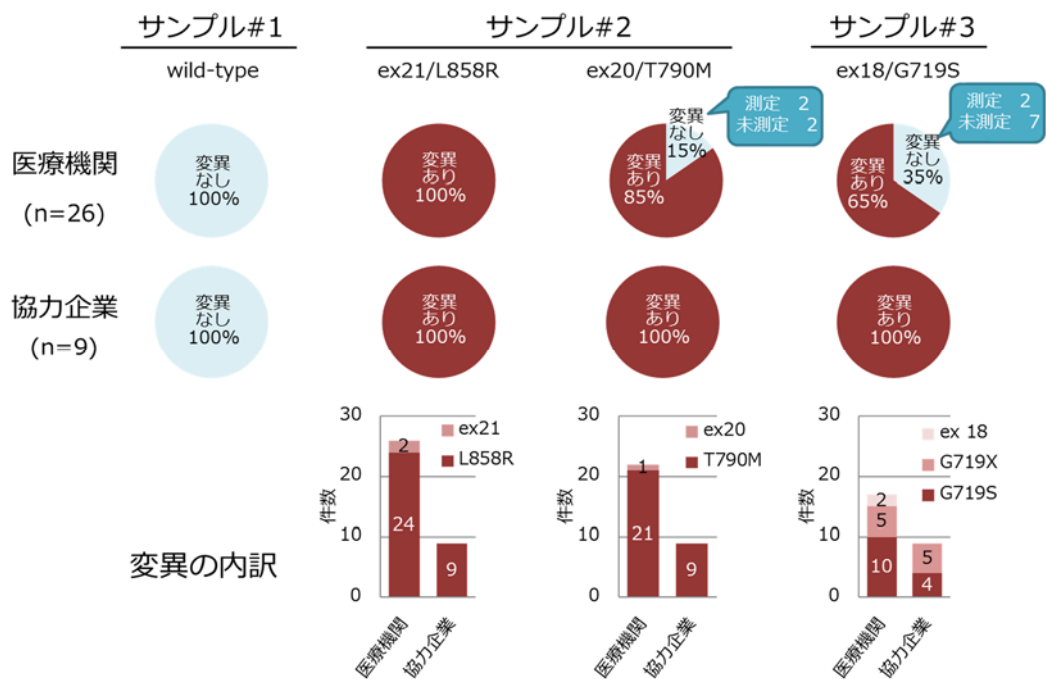
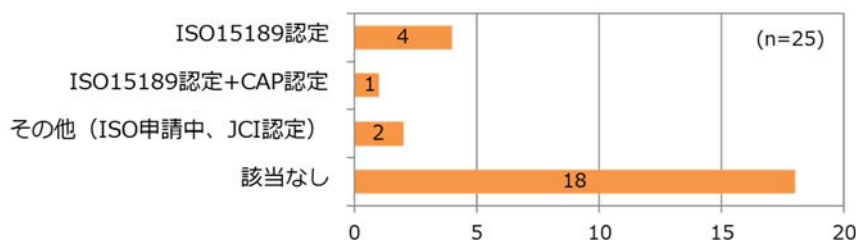


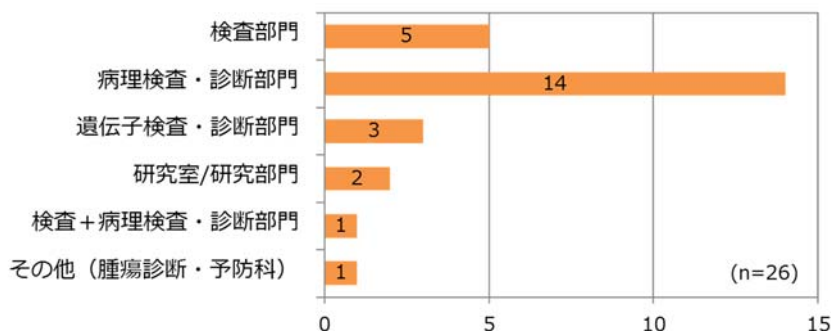
図1 参加医療機関および協力企業における精度調査の結果

アンケート調査のうち、遺伝子変異検査の実施体制に関する調査結果を図2に示す。施設認定では、ISO15189認定施設は全体の20%にとどまった(a)。遺伝子変異検査の実施部門としては、病理検査・診断部門が全体の半数以上を占めていた(b)。内部精度管理体制は60%で整っている一方、EQAへの参加は30%に満たない状況であった。その他の結果は、別添資料4にまとめた。

(a) 検査室（実施区域）の認定等取得状況について



(b) 遺伝子変異検査の実施部門について



(c) SOP整備・内部精度管理・外部精度評価について

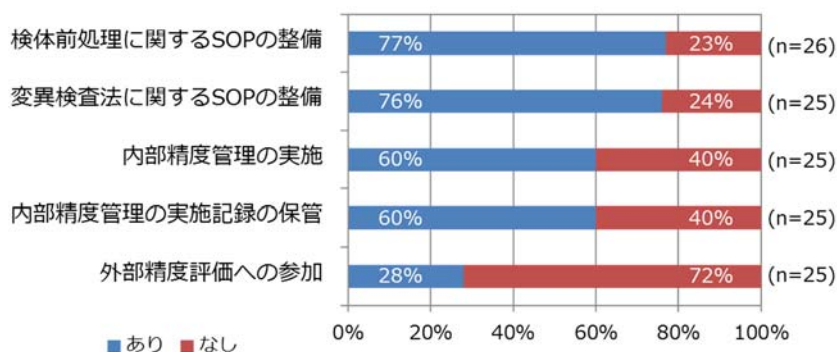


図2 遺伝子変異検査の実施体制に関するアンケート調査の結果

4. 考察

1) 非 IVD 法における検出対象変異型について

現在、EGFR 遺伝子では数多くの変異の種類が報告されているものの、治療効果予測上の意義が不明なものが多数含まれている²⁾。このうち IVD 法では、主要な感受性変異である ex21/L858R 変異や ex19/DEL 変異に加え、EGFR 阻害剤治療の効果予測上の意義が明らかとなっている低頻度の感受性変異（ex18/G719X 変異, ex20/L861Q 変異）や抵抗性変異（ex20/T790M 変異, ex20/INS 変異）の検出が可能となっており、保険点数は 2500 点での算定が可能となっている。一方、非 IVD 法でも保険診療が可能（この場合は 2100 点）となっているが、どの範囲までの変異型を検出するかは、医療機関側に委ねられている。実際本研究においても、非 IVD 法実施施設では、施設間で変異検出項目数にばらつきが認められた。5%以下の低頻度の変異型のうち、効果予測上の意義が明らかとなっている ex18/G719X 変異（1.9%）、ex20/L861Q 変異（1.6%）、ex20/INS 変異（2.1%）の 3 変異型を併せると全体の 5%以上を占める。患者利益の観点から、こうした変異型の取りこぼしを防ぐためにも、今後、非 IVD 法での検出対象変異型の明確化が必要と思われる。

2) 検出精度について

また本精度調査で変異割合の高い FFPE 標準サンプルを用いたが（サンプル#2 は 80%、サンプル#3 は 33%）、ex20/T790M 変異検出を行った 24 施設（未測定 of 2 施設を除く）のうち 2 施設で変異が検出されず、ex18/G719X 変異検出を行った 19 施設（未測定 of 7 施設を除く）のうち 2 施設で変異が検出されず、いずれも非 IVD 法での実施であった。このことから、とくに医療機関において非 IVD 法を用いる場合、より高次の内部精度管理体制が必要と思われた。

5. 今後の対応

- ・ 本調査研究の結果および課題を踏まえ、同様の研究デザインを用いた調査研究を再度行う。
- ・ 上記 4-1)の検出対象変異型の明確化については、「肺癌患者における EGFR 遺伝子変異検査の手引き」を発出元の日本肺癌学会バイオマーカー委員会との協議を行う。

6. 参考文献

- 1) 第7回 遺伝子・染色体アンケート調査報告書, 一般社団法人 日本衛生検査所協会, 2014
- 2) 肺癌患者における *EGFR* 遺伝子変異検査の手引き 第2.1版, 日本肺癌学会, 2014
- 3) 大腸がん患者における *RAS* 遺伝子 (*KRAS/NRAS* 遺伝子) 変異の測定に関するガイドライン 第2版, 日本臨床腫瘍学会, 2014

7. 研究組織

本研究は, 日本病理学会・医療業務委員会 精度管理委員会の本研究の担当委員が, 研究事務局運営を含め主体となって行い, また厚生労働科学研究費補助金「先端的がん医療実施のための地域完結型病理診断および臨床・病理連携ネットワークの構築」研究班との合同作業として進めた。

日本病理学会 医療業務委員会 委員長	森井 英一
日本病理学会 医療業務委員会 精度管理委員会 委員長	増田しのぶ
日本病理学会 医療業務委員会 精度管理委員会 委員・担当委員	畑中 豊 ^{*,***}
	桑田 健 ^{**}
日本病理学会 医療業務委員会 精度管理委員会 委員	秋山 太
	羽場 礼次
	長谷川 匡
	鬼島 宏
	木佐貫 篤
	鍋島 一樹
	大林 千穂
	笹島ゆう子
	滝野 寿
	津田 均
	和田 了
	吉田 正行

* : 研究事務局

** , *** : 厚生労働科学研究費補助金研究班 **研究代表者, ***研究分担者

8. 謝 辞

本研究実施にあたり、FFPE 標準サンプルをご提供頂いた株式会社理研ジエネシス、シスメックス株式会社に深謝致します。また IVD 承認製品販売企業でのリファレンス検査を実施頂いた株式会社キアゲン、ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社、登録衛生検査所でのリファレンス検査を実施頂いた株式会社エスアールエル、株式会社 LSI メディエンス、株式会社ビーエムエル、さらにリファレンス検査に参加協力頂きましたアークレイ株式会社に深謝致します。