

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
分担研究報告書

NCCEパネルの設計、基本・臨床性能試験に関する研究

研究分担者	土原一哉	国立がん研究センター早期・探索臨床研究センターTR分野長
研究分担者	山中竹春	国立がん研究センター生物統計部門長
研究分担者	後藤功一	国立がん研究センター東病院呼吸器内科科長
研究分担者	松本慎吾	国立がん研究センター早期・探索臨床研究センターTR分野医員
研究分担者	葉 清隆	国立がん研究センター東病院呼吸器内科医長

研究要旨

次世代シーケンス技術を応用したMultiplex体細胞変異診断薬（NCCE Panel）の基本設計を完了させ、独自に開発した融合遺伝子探索プログラムの知財化を行った。医療機器、体外診断薬としての承認を目指し診断薬企業との共同研究を開始した。今後規制当局の助言を得て臨床性能試験の準備を進める。

A．研究目的

次世代シーケンス技術を応用し肺癌分子標的療法の治療効果を予測する複数の遺伝子異常を同時に測定可能なMultiplex体細胞変異診断薬（NCCE Panel）のfeasibility試験、GMP製造、SOP整備の工程による開発を進め、最終年度（平成27年度）に臨床性能試験を開始することを目標とする。

B．研究方法

既承認および臨床開発が進行中の肺腺癌分子標的薬の効果予測に有用な10遺伝子のゲノムDNA断片を特異的に濃縮し、ライフテクノロジーズ社Ion PGMによる解析が可能なターゲットキャプチャーシステムを設計した。ゲノムDNA上の逆位・転座を自動的に検出する独自のコンピュータープログラムを設計した。国立がん研究センターに保有する希少ドライバー変異陽性の肺がん細胞株8株のゲノムDNAを用いてターゲットキャプチャーシーケンス及び変異検出を行った。

C．研究結果

培養細胞株8株（PC9, H1-18, H1075, HT-29, H1048, HCC78, H2228, LC2/ad）のゲノムDNA各250 ngから、*RET*, *ALK*, *ROS1*融合遺伝子、*EGFR*, *KRAS*, *ERBB2*, *BRAF*, *PIK3CA*, *AKT*, *MAP2K1*の活性型点変異周辺計26,183 bpを特異的にハイブリダイゼーションによって濃縮し、Ion 318 chipを用いたIon PGMシーケンサー上で8サンプルを同時解析した。平均depthは1500以上、On target rateは60%以上と良好なシーケンス性能を示した。独自に開発した融合遺伝子探索プログラムを併用して変異解析を行ったところ各細胞株における既知の変異を正確に診断できた。前年度に実施した細胞株及び臨床検体の融合遺伝子探索の予備検討結果とあわせ、NCCE Panelの基本設計が完成した。診断薬化を図るため（株）理研ジェネシスと共同研究契約を結び、NCCE Panelプロトタイプの基本性能試験を行った。こ

れらの結果をふまえ医療機器、体外診断薬の承認の可能性について（独）医薬品医療機器総合機構と薬事戦略相談の事前相談に臨み、助言を得た。

D．考察

次世代シーケンス技術の利用によりMultiplex体細胞変異の診断は可能であった。今後臨床性能試験における、適切な検体数、感度、特異度等を設定する。また肺腺癌の希少ドライバー遺伝子異常の陽性例が検出されているゲノムスクリーニング研究LC-SCRUMと連動した研究計画の立案を進める必要がある。

E．結論

NCCE Panelの良好な基本性能が証明された。今後、規制当局の助言を得て最終年にGMP製造移管、SOP整備を進め、臨床性能試験の立案を行う。

F．健康危険情報

特記なし。

G．研究発表

学会発表

1. Tsuchihara K, et al., Development and Validation of a DNA Based Test for Guiding Therapy in Lung Cancer by Semiconductor-based Next Generation Sequencer. AMP 2014 Annual Meeting, National Harbor, MD., 2014.11.15.

H．知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許出願

融合遺伝子探索プログラム（特願2015-007103）

