

3. Multi-Gene Panel検査による乳がんリスクの可視化

大内 憲明 東北大学大学院医学系研究科

日本では、がん対策基本法(2006年法律第98号)に基づき、2019年度からの第3期がん対策推進基本計画「分野別施策・がん医療の充実」にがんゲノム医療が盛り込まれた。このことを受けて、2020年4月より遺伝性乳がん卵巣がん症候群(hereditary breast and ovarian cancer syndrome: HBOC)が疑われる乳がん・卵巣がん患者に対するBRCA1/2遺伝子検査、およびHBOCのがん既発症者に対するリスク低減乳房切除術(risk-reducing mastectomy: RRM)・乳房再建術、ならびにリスク低減卵管卵巣摘出術(risk-reducing salpingo-oophorectomy, RRSO)が保険収載となり、遺伝子情報に基づくリスク診断および未発症臓器への治療は、すでにがん診療の一部として行われている。しかし、BRCA1/2以外にも乳がんリスクにかかわる遺伝子の存在は知られており、近年では、バイオバンクを用いた研究などで日本人データも蓄積されつつある¹⁾。

一方、米国では、2014年から乳がん患者に対して複数の遺伝子を同時に調べる多遺伝子パネル検査(Multi-Gene Panel: MGP検査)がBRCA1/2単独の検査よりも多く実施されるようになり、今や主流となっている²⁾。米国・National Comprehensive Cancer Network(NCCN)ガイドラインには、BRCA1/2以外にATM, BARD1, CDH1, CHEK2, NF1, PALB2, PTEN, STK11, TP53遺伝子について、乳がんリスクへの乳房造影MRIなどを用いた対策が記載されている³⁾。

本稿では、現在のMGP検査の流れを

作ったAmbry Genetics社(以下、AG社)が提供するMGP検査を紹介する。同社は、2007年に世界で最初に次世代シーケンサ(next generation sequencer: NGS)を取り入れ、2011年には、それまで研究のみに使われていた全エクソーム解析を臨床検査として米国で提供を開始し、2012年に世界で最初に遺伝性腫瘍を対象としたMGP検査を始めている。

MGP検査の技術・手法

AG社のMGP検査は、多サンプル処理に対応した半自動化プロセスを採用し、検体や解析データの品質管理を徹底することで、安定かつ高品質な検査を実現している。検査工程は、ライブラリ調製、NGSによるシーケンシング、バリエーション解析、およびバリエーション評価・報告書作成に大別される。

まず、ライブラリ調製工程において、医療施設から収集された検体からのゲノムDNA抽出および断片化、インデックスアダプタの付加、ベイトキャプチャ法およびPCRによる検査対象遺伝子領域の増幅が行われる。調製されたライブラリに対してNGSによるシーケンシングが行われ、断片化したDNAの塩基配列情報が取得される。NGSが出力した解析結果は、データ解析パイプライン(以下、パイプライン)へインプットされ、検体ごとのバリエーション解析結果に変換される。NGSの出力データには複数検体のDNA断片(リード)が混在しているため、まずインデックス配列を手掛かりに、検体

ごとのリードに振り分ける。次に、各検体のリード1つ1つをリファレンス配列の一致する箇所にマッピングした後、バリエーション型(一塩基多型、コピー数多型、など)を特定する。さらに、外部データベースを参照し、特定したバリエーションの遺伝子領域を同定する(アノテーション)。同社では、検体の受領から、各工程におけるサンプル情報の厳密な管理を実施している。例えば、検体取り違えを防止するため、NGS実施前にマスマレイ法を用いて検体のsingle nucleotide polymorphisms(以下、SNP)情報を複数取得し、NGS工程でも同じSNPを含む領域をキャプチャしているため、両方を比較することで検体取り違えの検出が可能となる。その後、検体ごとの解析結果を出力し、バリエーション評価および報告書作成へ進む。

本検査の特長として、サンガー法やmultiplex ligation-dependent probe amplification(以下、MLPA)法などを用いた検査精度の向上が挙げられる⁴⁾。NGSで検出された一塩基多型および挿入・欠失に対しては、データ品質(ヘテロ比、カバレッジ)が一定の基準を満たさない場合のみサンガー法を実施し、コピー数多型に対してはMLPA法などが実施される。追加確認で検出されないバリエーションは無効とすることで、偽陽性率を低く抑えることが可能となる。これらの分析手法は、NGSに比較して高精度なバリエーション検出が可能であるが、処理能力が大幅に劣るため、一定条件下のNGS解析結果のみをサンガー法など