

# がんゲノム医療の情報解析

国立がん研究センター・研究所

生物情報学分野

加藤 護

# Precision medicine

2015



- これまでの総合
- がん
- オミックス(含、メタボローム)  
マイクロバイオーム
- データの重要性

2016

(from NHK)



(from Obama White House Archives)

*“To enable a new era of medicine through research, technology, and policies that empower patients, researchers, and providers to work together toward development of individualized care.”*

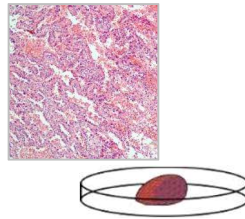




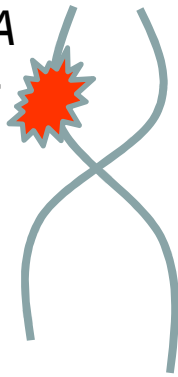
# がんゲノム医療（臨床シーケンス）



がん組織



PIK3CA  
遺伝子



がん細胞の  
ゲノム



次世代  
シーケンサー

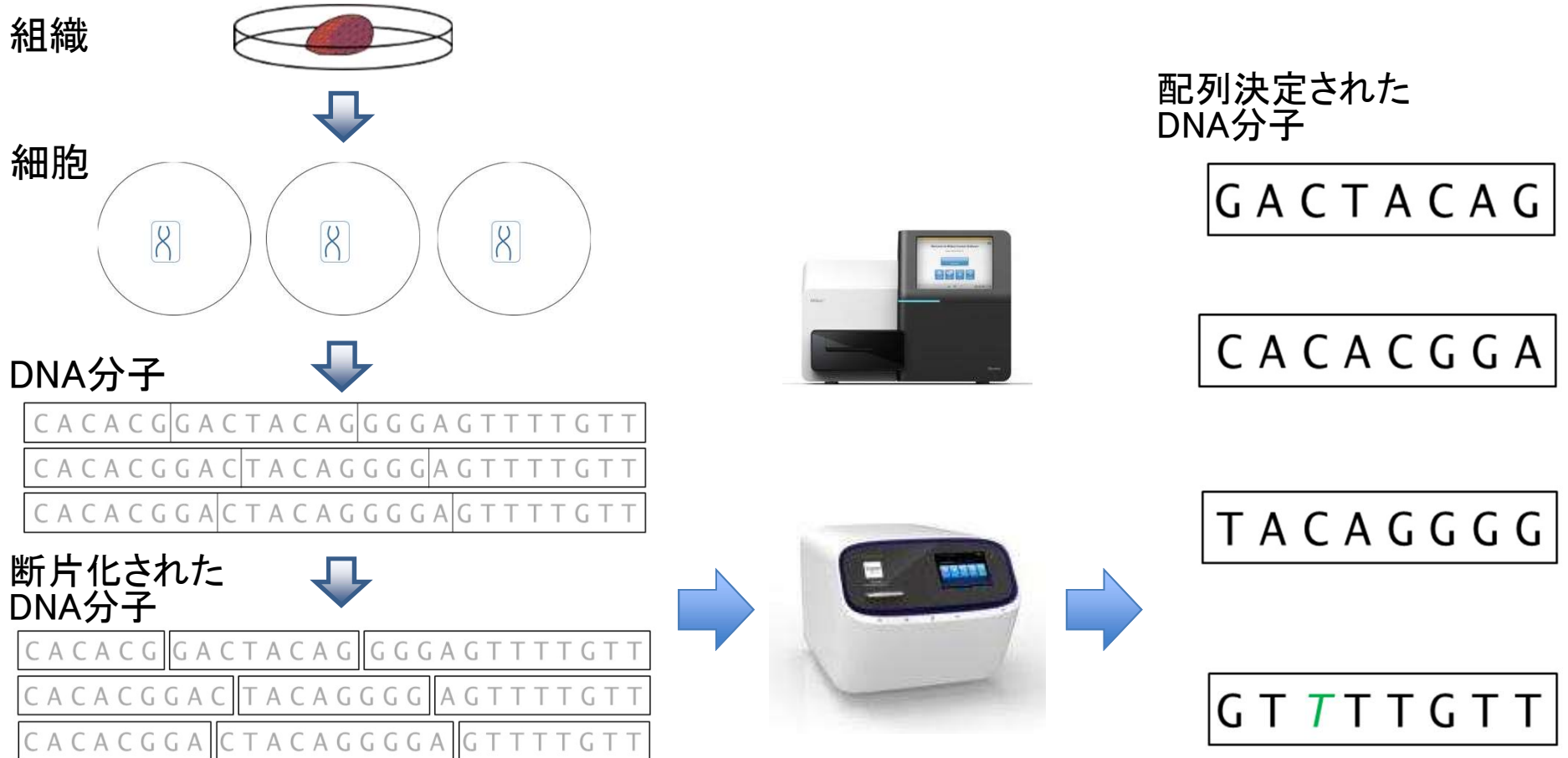
## 遺伝子異常と分子標的薬の表

Table 1 | Genomic alterations as putative predictive biomarkers for cancer therapy

Genes	Pathways	Aberration type	Disease examples	Putative or proven drugs
PIK3CA <sup>43,44</sup> , PIK3R1 (REF. 53), PIK3R2, AKT1, AKT2 and AKT3 (REFS 54,55)	Phosphoinositide 3-kinase (PI3K)	Mutation or amplification	Breast, colorectal and endometrial cancer	* PI3K inhibitors * AKT inhibitors
PTEN <sup>45</sup>	PI3K	Deletion	Numerous cancers	* PI3K inhibitors
MTOR <sup>46</sup> , TSC1 <sup>48</sup> and TSC2 (REF. 59)	mTOR	Mutation	Tuberous sclerosis and Bladder cancer	* mTOR inhibitors
RAS family (HRAS, NRAS, KRAS), BRAF <sup>49</sup> and MEK1	RAS-MEK	Mutation, rearrangement or amplification	Numerous cancers, including melanoma and prostate cancer	* RAF inhibitors * MEK inhibitors * PI3K inhibitors
Fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1), FGFR2, FGFR3, FGFR4 (REF. 36)	FGFR	Mutation, amplification or rearrangement	Myeloma, sarcoma and bladder, breast, ovarian, lung, endometrial and myeloid cancers	* FGFR inhibitors * FGFR antibodies
Epidermal growth factor receptor (EGFR)	EGFR	Mutation, deletion or amplification	Lung and gastrointestinal cancer	* EGFR inhibitors * EGFR antibodies
ERBB2 (REF. 61)	ERBB2	Amplification or mutation	Breast, bladder, gastric and lung cancer	* ERBB2 inhibitors * ERBB2 antibodies
SMO <sup>49,50</sup> and PTCH1 (REF. 64)	Hedgehog	Mutation	Basal cell carcinoma	* Hedgehog inhibitor
MET <sup>56</sup>	MET	Amplification or mutation	Bladder, gastric and renal cancer	* MET inhibitors * MET antibodies
JAK1, JAK2, JAK3 (REF. 66), STAT1, STAT3	JAK-STAT	Mutation or rearrangement	Leukaemia and lymphoma	* JAK-STAT inhibitors * STAT decoys
Discoidin domain-containing receptor 2 (DDR2)	RTK	Mutation	Lung cancer	* Some tyrosine kinase inhibitors
Erythropoietin receptor (EPOR)	JAK-STAT	Rearrangement	Leukaemia	* JAK-STAT inhibitors
Interleukin-7 receptor (IL7R)	JAK-STAT	Mutation	Leukaemia	* JAK-STAT inhibitors
Cyclin-dependent kinases (CDKs; <sup>67</sup> CDK4, CDK6, CDK8), CDKN2A and cyclin D1 (CCND1)	CDK	Amplification, mutation, deletion or rearrangement	Sarcoma, colorectal cancer, melanoma and lymphoma	* CDK inhibitors
ABL1	ABL	Rearrangement	Leukaemia	* ABL inhibitors
Retinoic acid receptor- $\alpha$ (RARA)	RARA	Rearrangement	Leukaemia	* All-trans retinoic acid
Aurora kinase A (AURKA) <sup>68</sup>	Aurora kinases	Amplification	Prostate cancer and breast cancer	* Aurora kinase inhibitors
Androgen receptor (AR) <sup>69</sup>	Androgen	Mutation, amplification or splice variant	Prostate cancer	* Androgen synthesis inhibitors * Androgen receptor inhibitors
FLT3 <sup>70</sup>	FLT3	Mutation or deletion	Leukaemia	* FLT3 inhibitors
MET	MET-HGF	Mutation or amplification	Lung cancer and gastric cancer	* MET inhibitors
Myeloproliferative leukaemia (MPL)	THPO, JAK-STAT	Mutation	Myeloproliferative neoplasms	* JAK-STAT inhibitors
MDM2 (REF. 71)	MDM2	Amplification	Sarcoma and adrenal carcinoma	* MDM2 antagonist
KIT <sup>72</sup>	KIT	Mutation	GIST, mastocytosis, leukaemia	* KIT inhibitors
PDGFRA and PDGFRB	PDGFR	Deletion, rearrangement or amplification	Haematological cancer, GIST, sarcoma and brain cancer	* PDGFR inhibitors
Anaplastic lymphoma kinase (ALK) <sup>73,74,75</sup>	ALK	Rearrangement or mutation	Lung cancer and neuroblastoma	* ALK inhibitors
RET	RET	Rearrangement or mutation	Lung cancer and thyroid cancer	* RET inhibitors
ROS1 (REF. 75)	ROS1	Rearrangement	Lung cancer and cholangiocarcinoma	* ROS1 inhibitors
NOTCH1 and NOTCH2	Notch	Rearrangement or mutation	Leukaemia and breast cancer	* Notch signalling pathway inhibitors



# 次世代シーケンサー



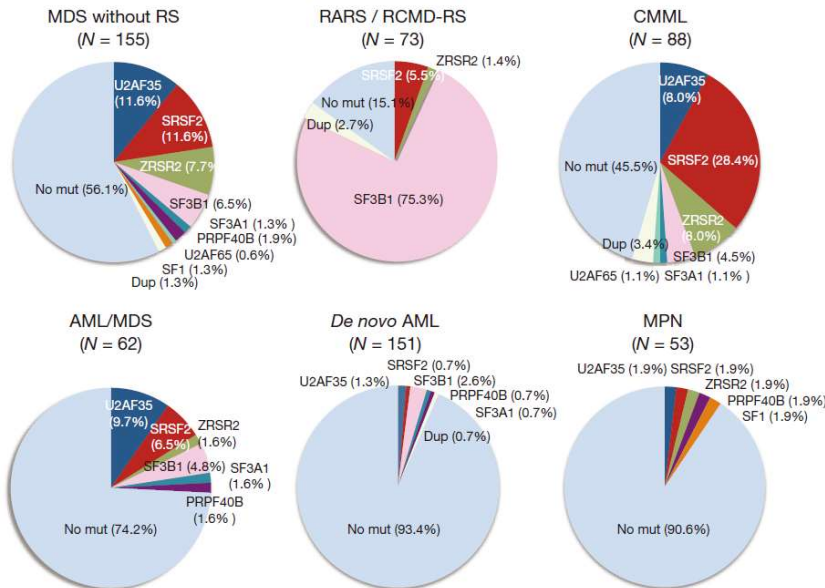
並列処理技術(DNAを小片に分けて、それぞれを並列処理する)によって、高速にDNA配列を決定する

# がんゲノム学

- がん関連遺伝子とその異常を見つけ出す
  - ✓ ICGC – 国際がんゲノムコンソーシアム (国際組織)
  - ✓ TCGA – がんゲノムアトラス (米国組織)
  - ✓ 個々のグループ

Table 2 Validated somatic non-synonymous substitutions and small indels in coding regions of a liver cancer genome

Gene	Chr.	Strand	Position	Allele change	Amino acid change	Copy number	Mutant allele (%) in whole-genome sequencing	Mutant allele (%) in whole-exome sequencing	Expression ratio (T/N)	Functional
PLEKHG5	1	-	6,452,224	G>T	Asp>Tyr	N	49.0	27.7	1.86	Deleterious
KIAA1026	1	+	15,294,007	C>A	Ala>Glu	N	45.7	nd	0.15	Tolerated
MYCL1	1	-	40,139,080	T>G	Phe>Cys	N	54.5	nd	1.93	Tolerated
PDE4B	1	+	66,231,185	C>A	Ala>Glu	N	57.1	42.9	0.83	Tolerated
CLCC1	1	-	109,284,236	A>G	Tyr>Cys	N	33.3	39.3	1.61	Deleterious
CNRI1	2	-	68,397,833	C>T	Thr>Met	N	40.0	33.3	1.39	Deleterious
ANKRD36	2	+	97,181,397	A>G	Lys>Glu	N	17.8	nd	9.49	Tolerated
UBR3	2	+	170,511,073	A>C	Glu>Asp	N	57.1	nd	18.10	Tolerated
CUL3	2	-	225,070,790	G>A	Ser>Asn	N	42.9	52.8	12.80	Tolerated
COP57B	2	+	232,369,129	A>G	Ile>Val	N	44.4	41.5	1.82	Tolerated
RAF1	3	-	12,625,811	A>G	Asn>Ser	N	40.0	50.0	2.31	Tolerated
ITIH3	3	+	52,813,002	A>G	Met>Val	N	43.9	nd	1.25	Deleterious
ERC2	3	-	56,148,636	G>C	Glu>Gln	N	40.0	nd	1.33	Tolerated
TBC1D23	3	+	101,496,868	del AAG	Deletion (E)	N	14.8	nd	4.90	na
ATR	3	-	143,671,657	del AT	Deletion (frame shift)	N	20.0	nd	4.49	na
SLC7A14	3	-	171,701,666	G>A	Ser>Asn	N	52.8	46.3	2.19	Deleterious
PCDH7	4	+	30,333,134	G>A	Arg>His	N	47.1	47.8	1.74	Tolerated
FAM13A	4	-	89,872,188	A>T	His>Leu	N	52.0	47.4	0.85	Tolerated
MFSDB	4	-	129,090,435	A>T	Met>Leu	Loss	62.5	74.3	1.15	Tolerated
DMGDH	5	-	78,375,996	T>A	Leu>Gln	N	50.0	37.6	3.04	Tolerated
PCDH13	5	+	140,244,063	C>T	Pro>Ser	N	45.1	34.8	na	Deleterious
CCDC99	5	+	168,960,950	T>G	Ser>Arg	N	37.1	39.4	13.30	Deleterious
GABBR1	6	-	29,706,345	C>T	Thr>Met	N	42.0	37.8	0.59	Tolerated
CSNK2B	6	+	31,745,659	A>T	Ser>Cys	N	37.3	nd	1.41	Deleterious
MOCS1	6	-	40,003,210	G>T	Ser>Ile	N	34.4	nd	1.54	Tolerated
GTPBP2	6	-	43,699,685	A>T	Glu>Val	N	58.0	56.3	1.36	Tolerated
KHDRBS2	6	-	62,662,692	G>T	Arg>Leu	N	34.1	nd	0.88	Deleterious
SLC29A4	7	+	5,303,324	A>T	His>Leu	N	43.8	nd	7.00	Deleterious
TM6SF1	7	-	15,567,887	C>G	Pro>Ala	N	41.2	38.3	1.03	Deleterious



Yoshida et al, 2011, Nature

Totoki et al, 2011, Nat Genet

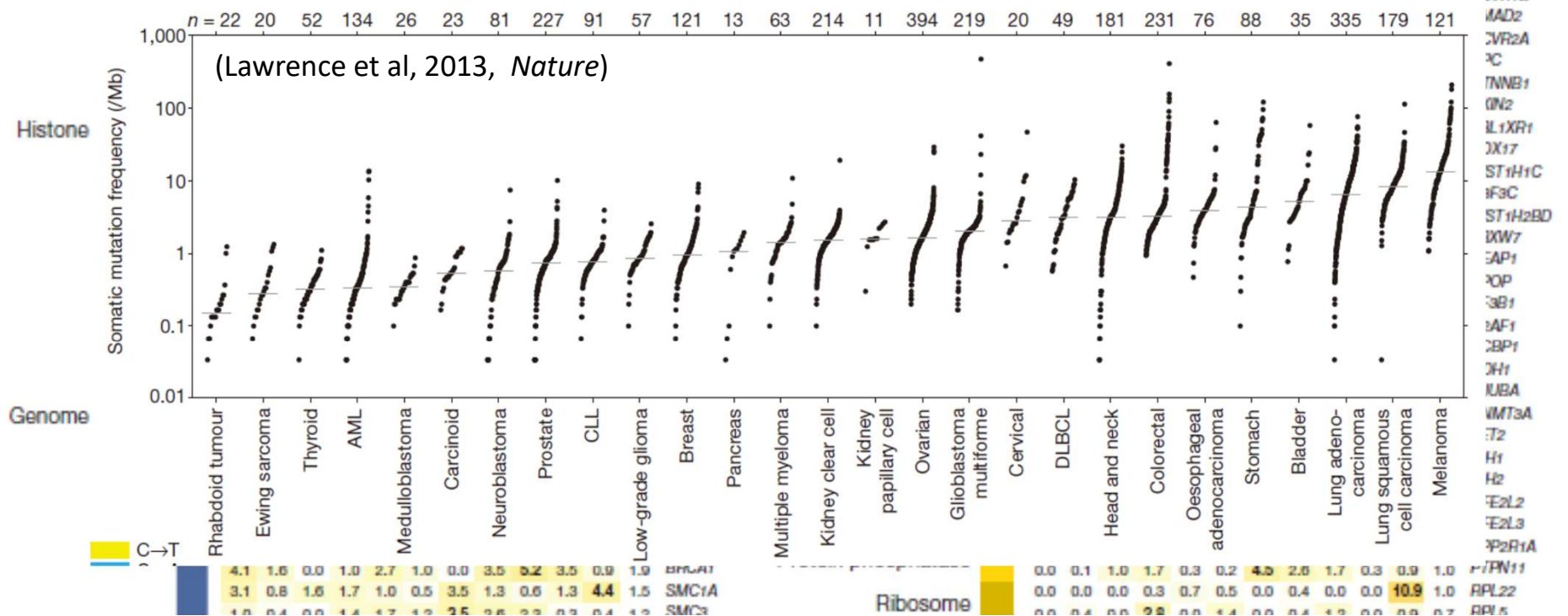
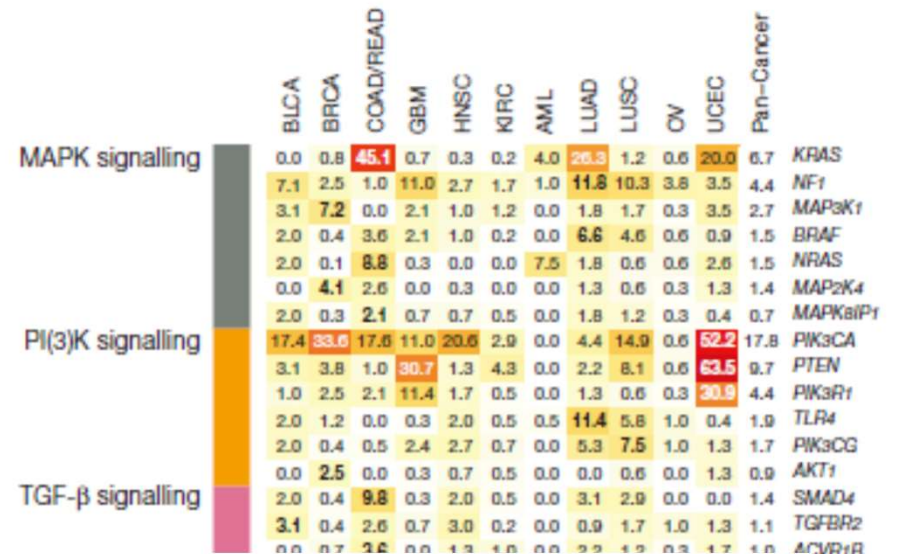
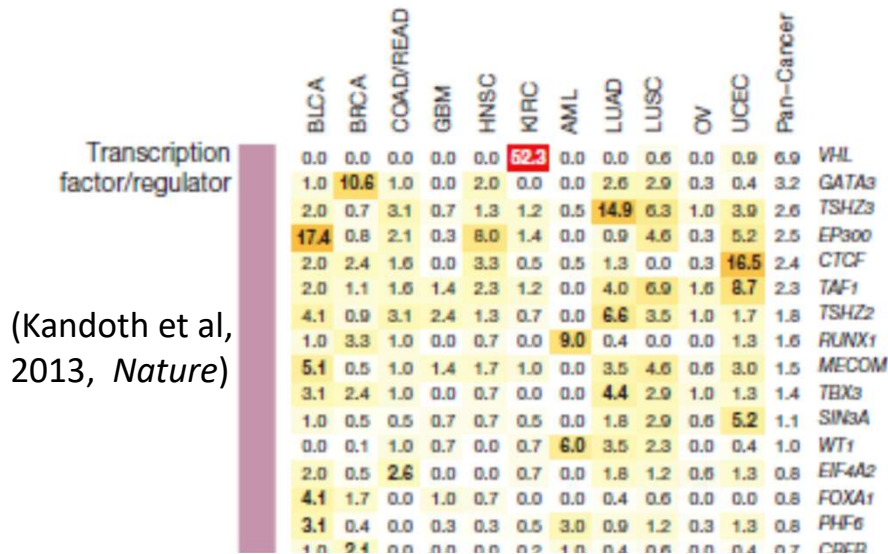
Table 1 Significantly mutated genes and their mutation frequency in the validation set

Gene	Chr.	Start	End	CDS length (bp)	Coding indel	Missense	Nonsense	Splice site	Total	P value	q value	Frequency in validation set
TP53	17	7,572,927	7,579,912	1,218	0	11	0	3	14	0	0	NA
ERRF1	1	8,073,270	8,075,679	1,397	1	0	2	0	3	0.00020	0.0034	3.1% (2/65)
ZIC3	X	136,648,851	136,652,229	1,412	0	3	0	0	3	0.00050	0.0041	3.3% (4/120)
CTNNB1	3	41,265,560	41,280,833	2,398	0	3	0	0	3	0.0015	0.0071	NA
GXYLT1	12	42,481,588	42,538,448	1,351	0	3	0	0	3	0.0013	0.0071	0.8% (1/120)
OTOP1	4	4,190,530	4,228,591	1,859	1	2	0	0	3	0.0015	0.0071	0.8% (1/120)
ALB	4	74,270,045	74,286,015	1,882	3	0	0	0	3	0.0022	0.0089	3.3% (4/120)
ATM	11	108,098,352	108,236,235	9,415	1	4	0	0	5	0.0037	0.013	5.0% (6/120)
ZNF226	19	44,674,234	44,681,827	2,424	1	1	1	0	3	0.0043	0.014	3.3% (4/120)
USP25	21	17,102,713	17,250,794	3,260	1	2	0	0	3	0.0051	0.015	0% (0/120)
WWP1	8	87,386,280	87,479,122	2,857	2	1	0	0	3	0.0060	0.016	7.7% (5/65)
IGSF10	3	151,154,477	151,176,497	7,892	0	4	0	0	4	0.0091	0.023	3.3% (4/120)
ARID1A	1	27,022,895	27,107,247	6,934	2	1	0	0	3	0.011	0.026	10% (12/120)
UBR3	2	170,684,018	170,938,353	5,819	0	3	0	0	3	0.018	0.041	0.8% (1/120)
BAZZ2B	2	160,176,776	160,335,230	6,643	0	3	0	0	3	0.024	0.050	1.6% (2/120)

Significantly mutated genes with more than two mutations are shown. Chr., chromosome.

Fujimoto et al, 2012, Nat Genet

# がんゲノム学





# がんゲノム学

## Article

### Pan-cancer analysis of whole genomes

<https://doi.org/10.1038/s41586-020-1969-6>

The ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium

Received: 29 July 2018

Accepted: 11 December 2019

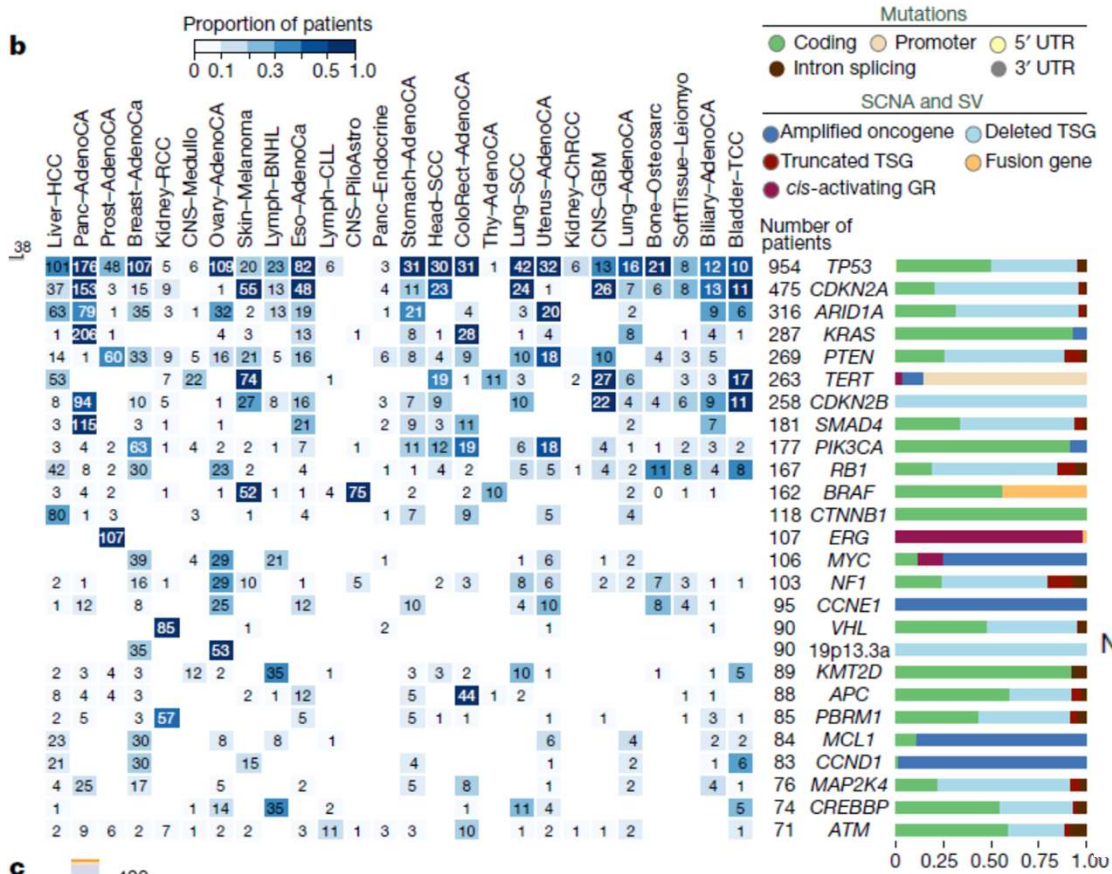
Published online: 5 February 2020

Open access

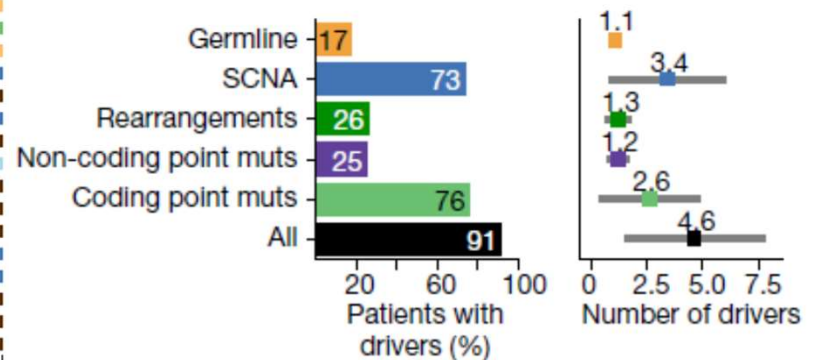
Cancer is driven by genetic change, and the advent of massively parallel sequencing enabled systematic documentation of this variation at the whole-genome level. We report the integrative analysis of 2,658 whole-cancer genomes and the normal tissues across 38 tumour types from the Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium.

### ICGC & TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Project (ICGC & TCGA, Nature 2020)

- 2,700 tumor whole genomes
- 38 tumor types
- 37 countries, 1300 scientists
- >30 working groups in ICGC



1. Data science
2. Non-coding drivers...?
3. Structural variations



# 遺伝子異常と分子標的薬

Table 1 | Genomic alterations as putative predictive biomarkers for cancer therapy

Genes	Pathways	Aberration type	Disease examples	Putative or proven drugs
PIK3CA <sup>54,55</sup> , PIK3R1 (REF. 55), PIK3R2, AKT1, AKT2 and AKT3 (REFS 54,55)	Phosphoinositide 3-kinase (PI3K)	Mutation or amplification	Breast, colorectal and endometrial cancer	* PI3K inhibitors * AKT inhibitors
PTEN <sup>54</sup>	PI3K	Deletion	Numerous cancers	* PI3K inhibitors
MTOR <sup>57</sup> , TSC1 <sup>58</sup> and TSC2 (REF. 59)	mTOR	Mutation	Tuberous sclerosis and Bladder cancer	* mTOR inhibitors
RAS family (HRAS, NRAS, KRAS), BRAF <sup>60</sup> and MEK1	RAS-MEK	Mutation, rearrangement or amplification	Numerous cancers, including melanoma and prostate cancer	* RAF inhibitors * MEK inhibitors * PI3K inhibitors
Fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1), FGFR2, FGFR3, FGFR4 (REF. 36)	FGFR	Mutation, amplification or rearrangement	Myeloma, sarcoma and bladder, breast, ovarian, lung, endometrial and myeloid cancers	* FGFR inhibitors * FGFR antibodies
Epidermal growth factor receptor (EGFR)	EGFR	Mutation, deletion or amplification	Lung and gastrointestinal cancer	* EGFR inhibitors * EGFR antibodies
ERBB2 (REF. 61)	ERBB2	Amplification or mutation	Breast, bladder, gastric and lung cancer	* ERBB2 inhibitors * ERBB2 antibodies
SMO <sup>62,63</sup> and PTCH1 (REF. 64)	Hedgehog	Mutation	Basal cell carcinoma	* Hedgehog inhibitor
MET <sup>64</sup>	MET	Amplification or mutation	Bladder, gastric and renal cancer	* MET inhibitors * MET antibodies
JAK1, JAK2, JAK3 (REF. 66), STAT1, STAT3	JAK-STAT	Mutation or rearrangement	Leukaemia and lymphoma	* JAK-STAT inhibitors * STAT decoys
Discoidin domain-containing receptor 2 (DDR2)	RTK	Mutation	Lung cancer	* Some tyrosine kinase inhibitors
Erythropoietin receptor (EPOR)	JAK-STAT	Rearrangement	Leukaemia	* JAK-STAT inhibitors
Interleukin-7 receptor (IL7R)	JAK-STAT	Mutation	Leukaemia	* JAK-STAT inhibitors
Cyclin-dependent kinases (CDKs; <sup>67</sup> CDK4, CDK6, CDK3), CDKN2A and cyclin D1 (CCND1)	CDK	Amplification, mutation, deletion or rearrangement	Sarcoma, colorectal cancer, melanoma and lymphoma	* CDK inhibitors
ABL1	ABL	Rearrangement	Leukaemia	* ABL inhibitors
Retinoic acid receptor- $\alpha$ (RAR $\alpha$ )	RAR $\alpha$	Rearrangement	Leukaemia	* All-trans retinoic acid
Aurora kinase A (AURKA) <sup>68</sup>	Aurora kinases	Amplification	Prostate cancer and breast cancer	* Aurora kinase inhibitors
Androgen receptor (AR) <sup>69</sup>	Androgen	Mutation, amplification or splice variant	Prostate cancer	* Androgen synthesis inhibitors * Androgen receptor inhibitors
FLT3 <sup>70</sup>	FLT3	Mutation or deletion	Leukaemia	* FLT3 inhibitors
MET	MET-HGF	Mutation or amplification	Lung cancer and gastric cancer	* MET inhibitors
Myeloproliferative leukaemia (MPL)	THPO, JAK-STAT	Mutation	Myeloproliferative neoplasms	* JAK-STAT inhibitors
MDM2 (REF. 71)	MDM2	Amplification	Sarcoma and adrenal carcinoma	* MDM2 antagonist
KIT <sup>72</sup>	KIT	Mutation	GIST, mastocytosis, leukaemia	* KIT inhibitors
PDGFRA and PDGFRB	PDGFR	Deletion, rearrangement or amplification	Haematological cancer, GIST, sarcoma and brain cancer	* PDGFR inhibitors
Anaplastic lymphoma kinase (ALK) <sup>73,74</sup>	ALK	Rearrangement or mutation	Lung cancer and neuroblastoma	* ALK inhibitors
RET	RET	Rearrangement or mutation	Lung cancer and thyroid cancer	* RET inhibitors
ROS1 (REF. 75)	ROS1	Rearrangement	Lung cancer and cholangiocarcinoma	* ROS1 inhibitors
NOTCH1 and NOTCH2	Notch	Rearrangement or mutation	Leukaemia and breast cancer	* Notch signalling pathway inhibitors

- 遺伝子異常と分子標的薬のリスト (Reviewed by Simon et al, 2013)
- 93 種の分子標的薬が、米国FDA によって承認されている (2017)

- If one assay simply detects these, ...

# 臨床シーケンス

## ーがんゲノム学の技術を応用ー

- **1回の検査で、多種類多数の異常を検出できる**

- *Multiplex PCR, mass spectrometry, FISH*

- ✓従来の検査では、一遺伝子の、一個かせいぜい数個の異常

- **次世代シーケンサー**

- ✓複数種類の異常: 点変異、融合遺伝子、コピー数異常

- ✓約100~300個の遺伝子

- ✓Potential for research discovery

1 G byte / 2 hours

次世代シーケンサー



```
GGTCATCAAGCTCGCTGCTCCAGGAATGACTGGGAAGGTGGGAAGGAGAGAGAAGATGGTGGG I
TCTTCA
+
;(1.9...605344911.452;4<=<A<BB@??=@3;/9/,0&0&,065455)+.4831**-%-(*2(-*
@PERI8:15:43
TCCCCCCCCCAAAATGTTCACTAACTCTGAAACGTGGGTCTCTGACTGGCTCCCGTGCCAGCCAGTC
GACGCATGGTCTGTA
+
-0221111222(16.445,65569355766><079.00&,440++37,,+,*-%-211.411+03,,,,+,411(..++4
...
```

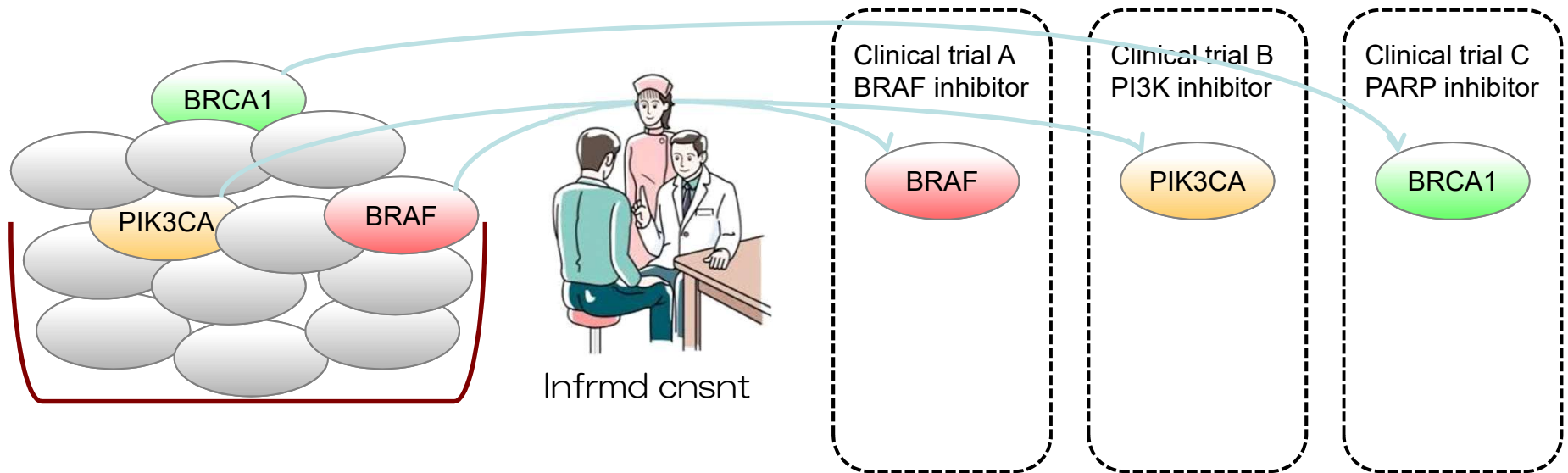


# TOPGEAR プロジェクト

- 国立がん研究センターにおける臨床シーケンス(がんゲノム医療)のプロジェクト
  - 2012年から



## 臨床試験における層別化



# 実験技術と対象遺伝子



114 mutation (whole exon) • amplification

12 fusion genes

ABL1	CRKL	IDH2	NF1	RAC2	ALK
ACTN4	CREBBP	IGF1R	NFE2L2/Nrf2	RAD51C	AKT2
AKT1	CTNNB1/b-catenin	IGF2	NOTCH1	RAF1/CRAF	BRAF
AKT2	CUL3	IL7R	NOTCH2	RB1	ERBB4
AKT3	DDR2	JAK1	NOTCH3	RET	FGFR2
ALK	EGFR	JAK2	NRAS	RHOA	FGFR3
APC	ENO1	JAK3	NRG1	ROS1	NRG1
ARAF	EP300	KDM6A/UTX	NTRK1	SETBP1	NTRK1
ARID1A	ERBB2/HER2	KEAP1	NTRK2	SETD2	NTRK2
ARID2	ERBB3	KIT	NTRK3	SMAD4	PDGFRA
ATM	ERBB4	KRAS	NT5C2	SMARCA4/BRG1	RET
AXIN1	ESR1/ER	MAP2K1/MEK1	PALB2	SMARCB1	ROS1
AXL	EZH2	MAP2K2/MEK2	PBRM1	SMO	
BAP1	FBXW7	MAP2K4	PDGFRA	STAT3	
BARD1	FGFR1	MAP3K1	PDGFRB	STK11/LKB1	
BCL2L11/BIM	FGFR2	MAP3K4	PIK3CA	TP53	
BRAF	FGFR3	MDM2	PIK3R1	TSC1	
BRCA1	FGFR4	MDM4	PIK3R2	VHL	
BRCA2	FLT3	MET	POLD1		
CCND1	GNA11	MLH1	POLE		
CD274/PD-L1	GNAQ	MTOR	PRKCI		
CDK4	GNAS	MSH2	PTCH1		
CDKN2A	HRAS	MYC	PTEN		
CHEK2	IDH1	MYCN	RAC1		

NCC オンコパネル ver. 4

# 次世代シーケンサーからのデータ

@PERI8:9:45

CCCTCAGCTACGGGGGGGGGGTGGCTTCTTCCTGTTACCTGGTGGTGGCGGCTGTGACGCTCCTGCT  
GCTGCGCAGCCCCAGAACGGCCGGAGCCATCCCACGCGCTACCGTACCGGCGACATCGATCCAATGATA  
CGCGGCTGAGCACA

+

/0(...0\*\*\*0000000000%02-..(15030111/322-\*\*%-(,03/24)++-22/+++230000.+++2111----%\*\*\*(\*\*-1,1/\*+(-  
\*\*2++\*+\*\*/1,0(0..0.4%+++4223+++4\*.)\*\*\*+\*024%++2+\*\*+,\*

@PERI8:13:44

GGAGGACCGTCGCTTGGTGCACCGCGACCTGGCAGCCAGGAACGGTACTGGTGAAAACACCGCAGCAT  
GTCAAGATCACAGATTTGGGCTGGCCAAACTCGCGTTGGGTAGCGAAGAGACCGAAGACGTCGCGCCAG  
TCG

+

0,..:3683:0+-..+3(+54707;<89(..69744122+1.44/6.;9;2=:<==  
:661:6967+++577%++2++\*./02,45,444/4,13)/413..0)/1)\*\*\*,†

• Big data with errors

@PERI8:15:42

GGCTCATCAAGCTCGCTGCTTCCAGGAATGACTGGGAAGGTGGGAAGGAGAGAAGATGCGTGGGTTCTT  
CA

+

;(1.9...605344911.452;4<=<A<BB@??=@3;/9/.,0&0&,0654

- FastQ in 5GB per case
- We use a cluster machine with 4 X
  - 20-core 2.4 GHz CPUs
  - 128 GB memory
  - 150 TB storage

@PERI8:15:43

TCCCCCCCCCAAATGTTCACTAACTCTGAAACGTGC  
ACGCATGGTCTGTA

+

-0221111222(16.445,65569355766><079.00&,440++37,,+,†

...

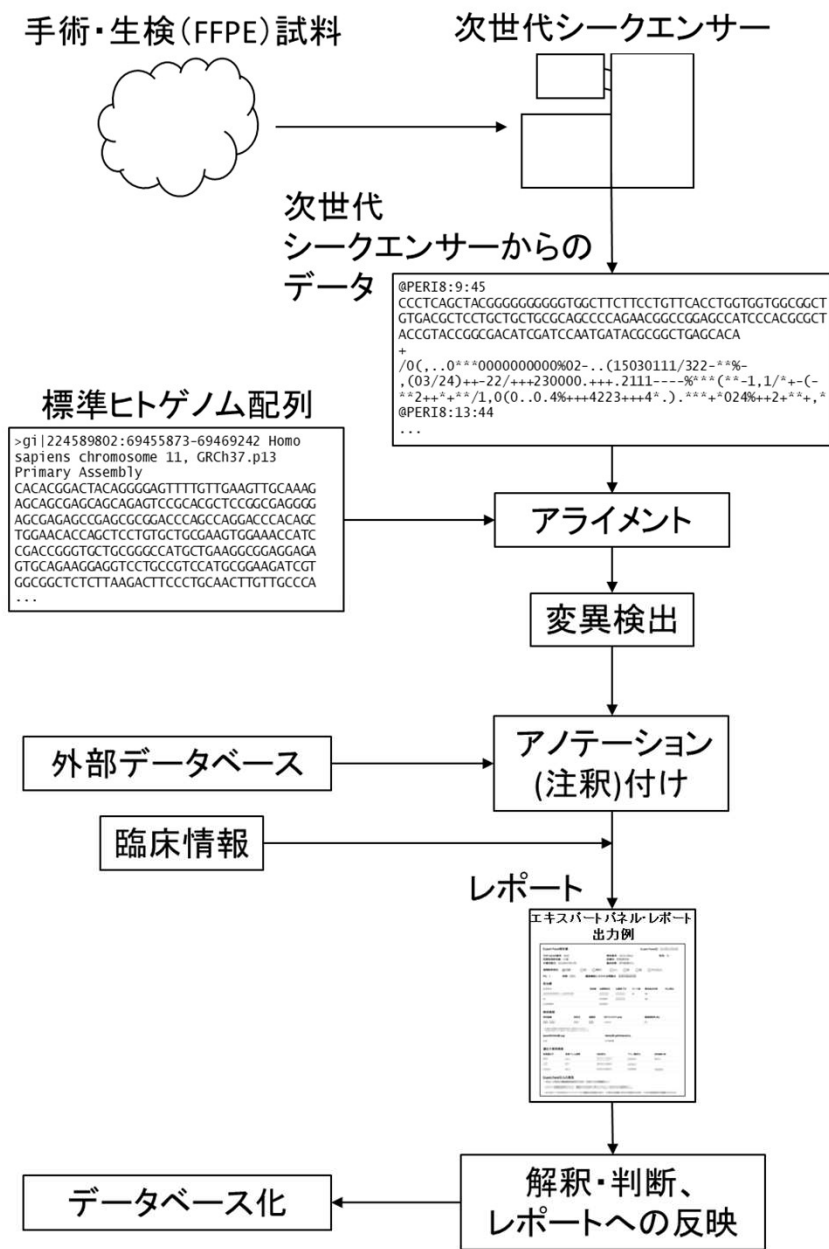


# DNA 異常の検出

cisCall

# 臨床シーケンスにおける バイオインフォマティクス処理の流れ

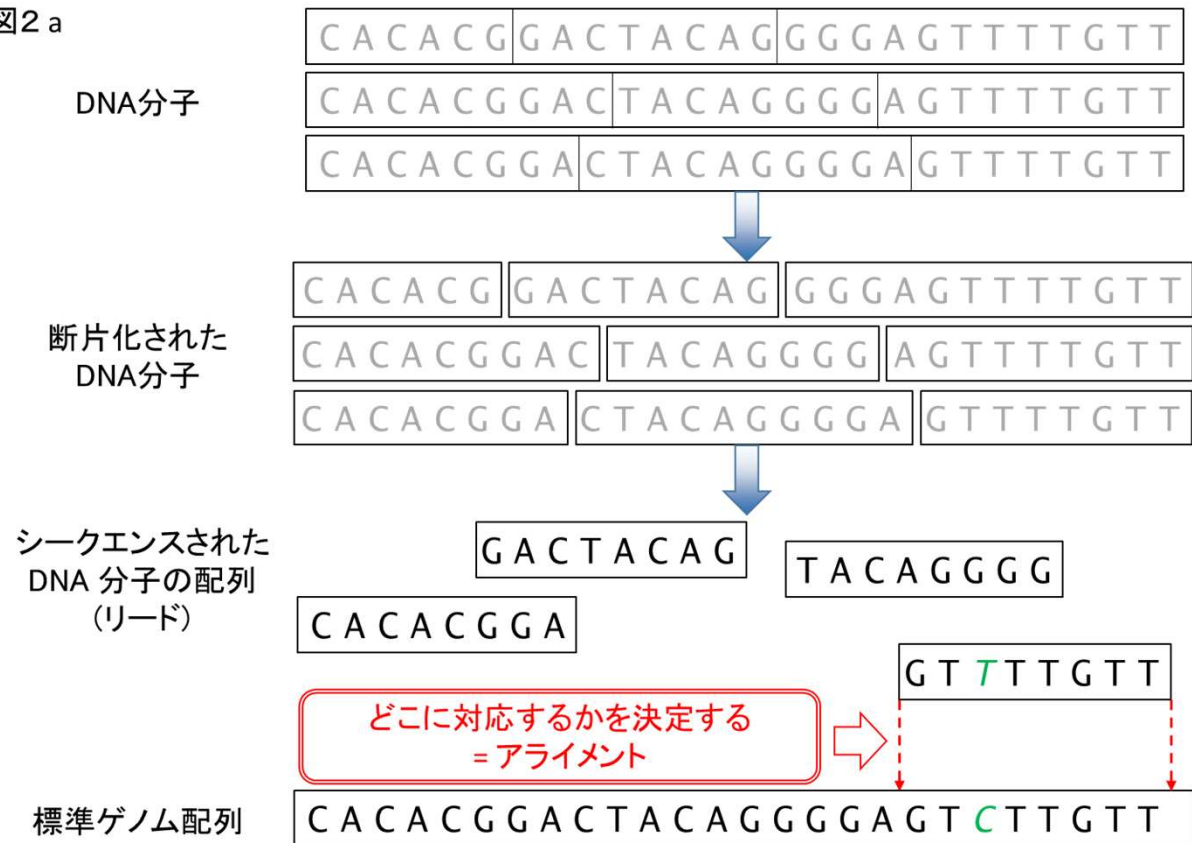
図1



(加藤、「最新がん個別化医療」、  
癌と化学療法、2016)

# アライメント

図2 a



アライメントの原理。a. 腫瘍組織から抽出されたDNA分子は（一般に、ランダムな位置で）断片化され、実験に適した長さに基づいて選択された断片化DNA分子がシーケンスされる。断片化され位置情報を失ったDNA分子がシーケンスされているので、このままではリードのゲノム上の位置は分からない。そのため、標準ゲノム配列とリード配列のATGC文字の並びを比較して、最も一致する位置を決めるのが、アライメントである。アライメントの最も単純な方法は、最初に、標準ゲノム配列の左端とリードの左端を並べ何文字中何文字一致しているかを見、一致が悪ければ、さらにリードを一文字分ずらして同様に一致度を見、また一致が悪ければ...を繰り返していく。この方法では効率が悪いので、通常は高速なアルゴリズムを使う。

(加藤、「最新がん個別化医療」、  
癌と化学療法、2016)



# 変異検出

## — 代表的なDNA変異(異常)の種類 —

図2

正常

ATGCATGTA

塩基物質が1つでも違うタイプ  
SNV/indel

ATG **A** AT GTA

DNA 配列のある区画が増えるタイプ  
CNA

ATGCAT **CAT** GTA

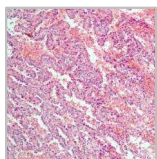
別の遺伝子がくっついてしまうタイプ  
Fusion

ATGCAT **TAACTGCAG**

(加藤、アンチ・エイジング医学、2017)

# 次世代シーケンサー・データを処理して DNA異常を検出するプログラムcisCallを開発

日常診療で使われる  
がん組織のFFPE試料



次世代シーケンサー



```
@PERI8:15:42
GGCTCATCAAGCTCGCTGCTTCCAGGAATGACTGGGAAGGTGGGAAGGAGAGAAGA
TGCGTGGGTTCTTCA
+
;(1.9...605344911.452;4<=<A<BB@??=@3;/9/,0&0&,065455)+.4831**-%-(*2(-
*
@PERI8:15:43
TCCCCCCCCCAATGTTCACTAACTCTGAAACGTGGGTCTCTGACTGGCTCCCGTG
CCAGCCAGTCGACGCATGGTCTGTA
+
-0221111222(16.445,65569355766><079.00&,440++37,,+,**-%-
211.411+03,,,,+,411(..++4
...
```

(Kato et al, 2018, *Genome Med.*)

Genome Medicine

METHOD

Open Access



A computational tool to detect DNA alterations tailored to formalin-fixed paraffin-embedded samples in cancer clinical sequencing

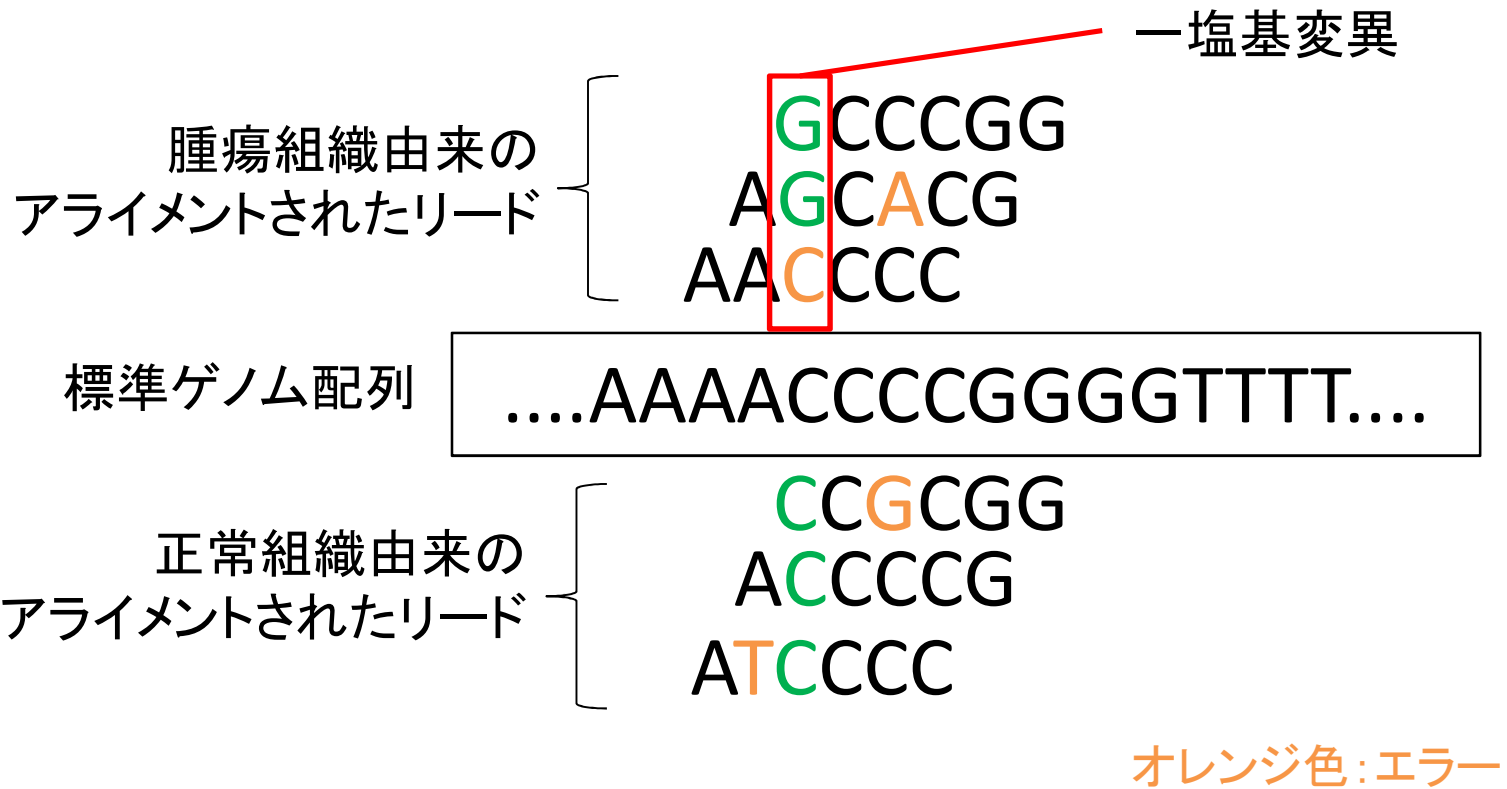
Mamoru Kato<sup>1\*</sup>, Hiromi Nakamura<sup>2</sup>, Momoko Nagai<sup>1</sup>, Takashi Kubo<sup>3</sup>, Asmaa Elzawahry<sup>1</sup>, Yasushi Totoki<sup>2</sup>, Yuko Tanabe<sup>4</sup>, Eisaku Furukawa<sup>1</sup>, Joe Miyamoto<sup>1</sup>, Hiromi Sakamoto<sup>5</sup>, Shingo Matsumoto<sup>6</sup>, Kuniko Sunami<sup>7</sup>, Yasuhiro Arai<sup>2</sup>, Yutaka Suzuki<sup>8</sup>, Teruhiko Yoshida<sup>5</sup>, Katsuya Tsuchihara<sup>6</sup>, Kenji Tamura<sup>4</sup>, Noboru Yamamoto<sup>4</sup>, Hitoshi Ichikawa<sup>3</sup>, Takashi Kohno<sup>7</sup> and Tatsuhiro Shibata<sup>2,9</sup>

*cisCall*  
(clinical  
sequencing  
Caller)

- *cisMuton*
- *cisFusion*
- *cisCton*
- *cisKnown*

- 点変異
- 融合遺伝子
- コピー数異常
- 既知のもっと複雑な異常

# 検出法の原理: 点変異



# cisMuton Ver5 (old): SNV/indel calling

- Prep filters: mapping-quality and base-quality filters



- Variant extraction: Fisher's exact test
  - $P$ -value, proportion ratio (~odds ratio), FG count



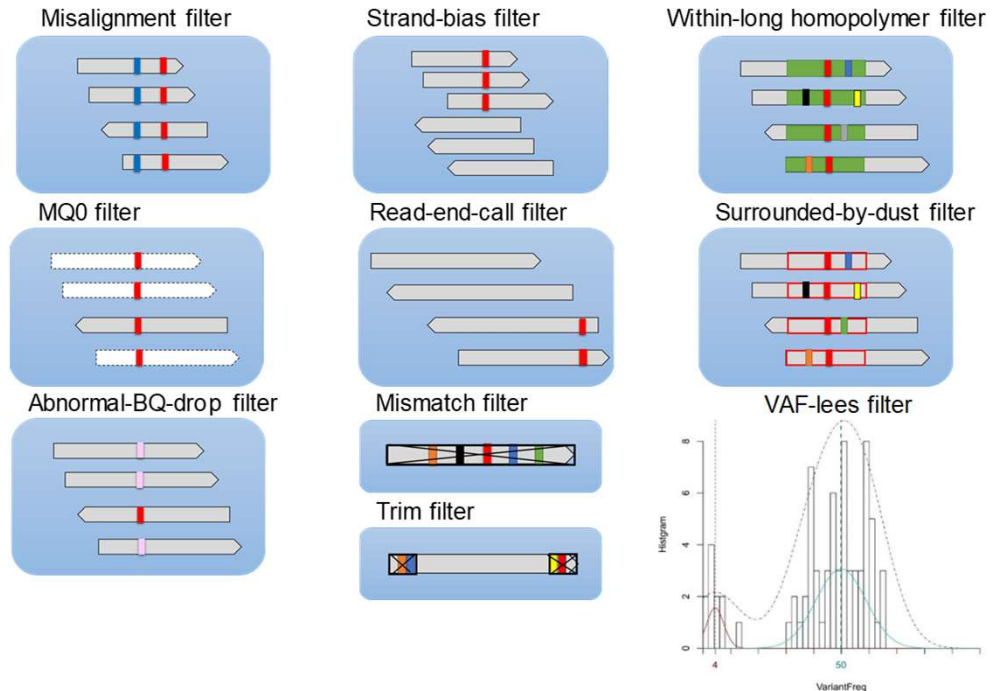
- Noise filter set 1
  - Misalignment filter
  - Strand-bias filter
  - Within-long homopolymer filter
  - MQ0 filter
  - Read-end-call filter
  - Surrounded-by-dust filter
  - Abnormal-BQ-drop filter (for Ion indels only)



- Noise filter set 2
  - Second Fisher filter
    - Erroneous-read filter and trimming filter



- Noise filter set 3
  - VAF-lees filter



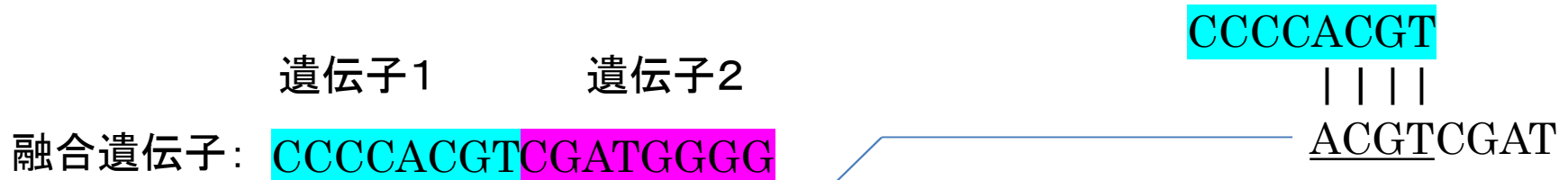
(Kato et al, *Genome Medicine*, 2018)

- Main features

1. Elaborated multi-layer filters
2. Takes every chance to use **non-parametric techniques for abrupt FFPE errors**
3. Takes every chance to calculate **internal control values (e.g., error rates) from observed data** for parameter values **for flexibility to various clinical settings**

# 検出法の原理：融合遺伝子

- 遺伝子1に対してアライメントできた

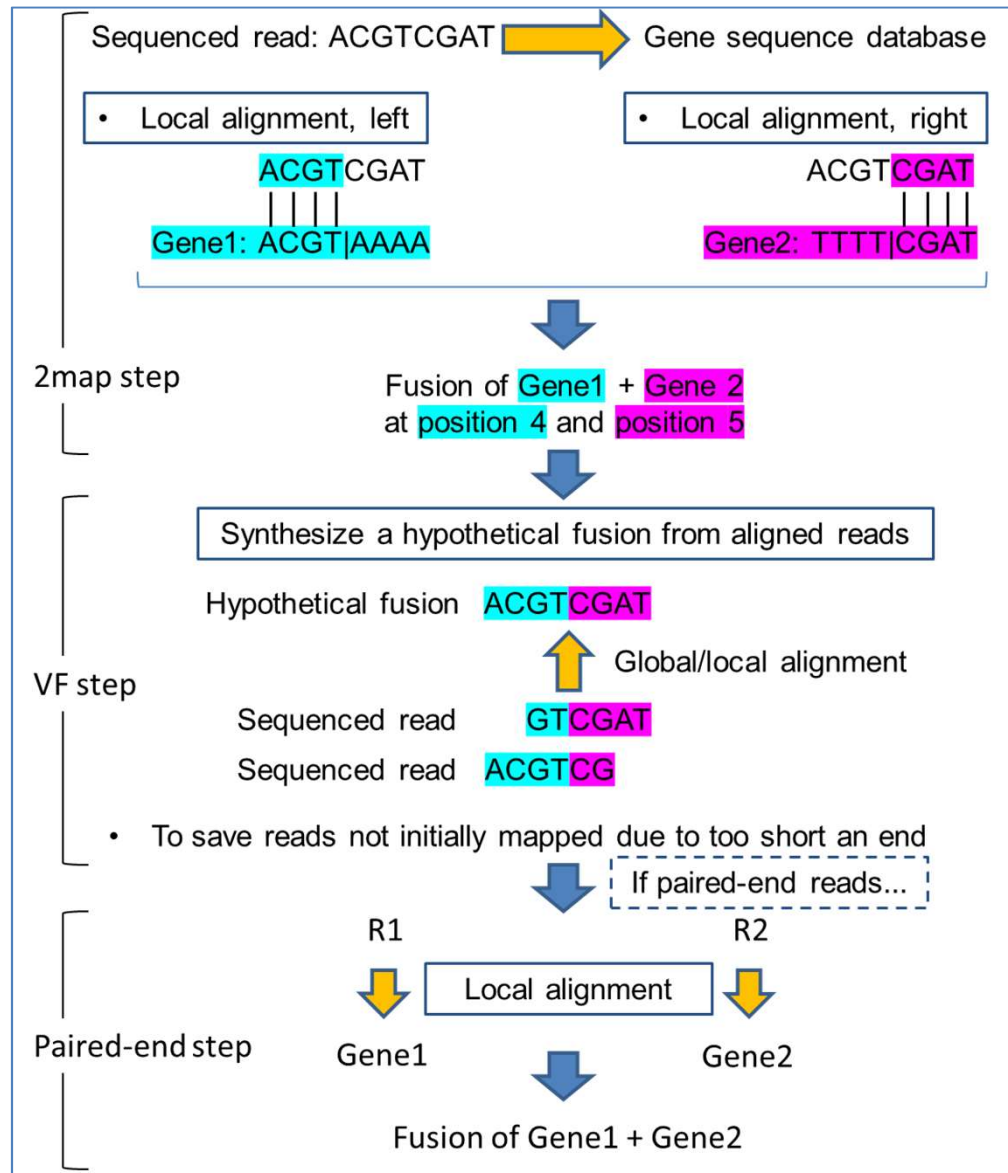


- 遺伝子2に対してもアライメントできた





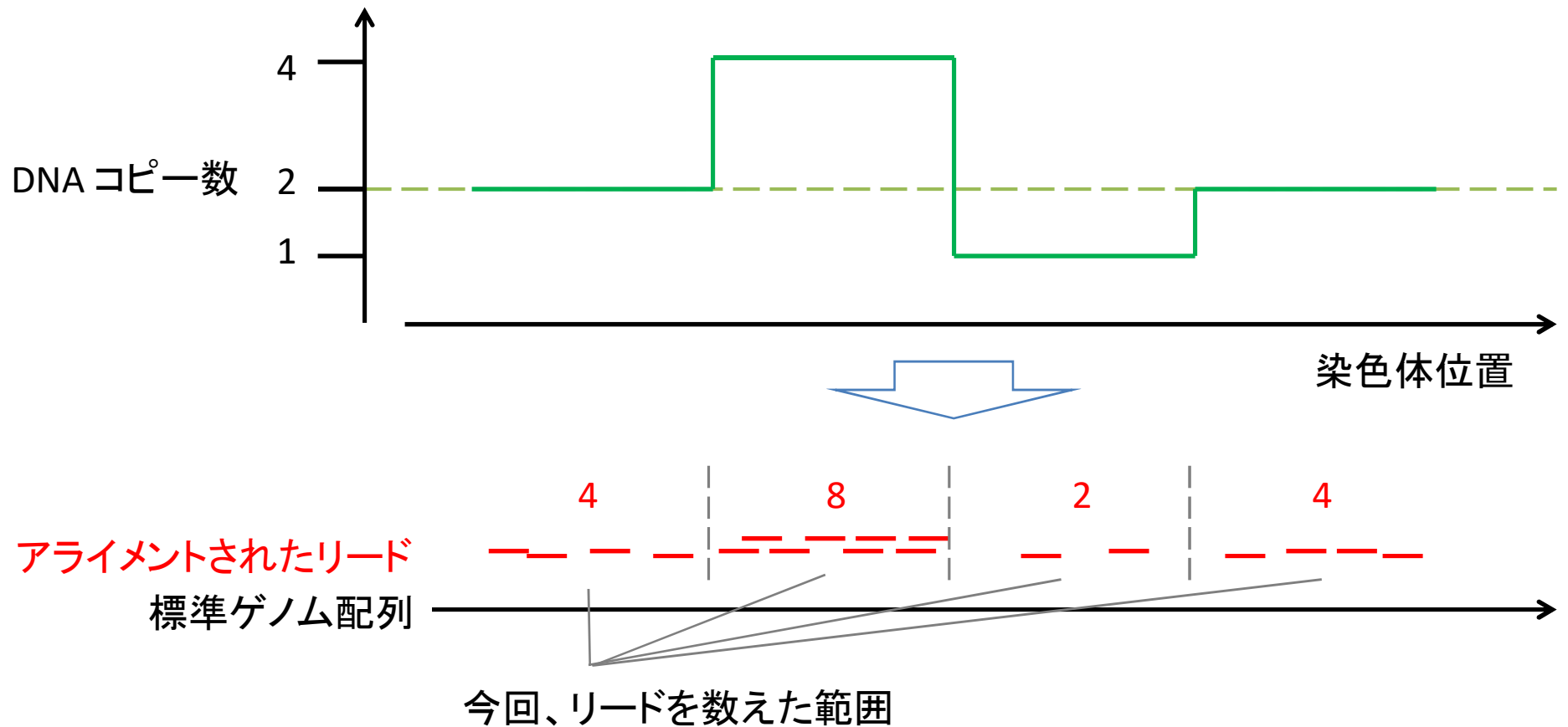
# cisFusion Ver5 (old): fusion gene calling







(Kato et al, *Genome Medicine*, 2018)

# 検出法の原理: コピー数異常

- アライメントされたリードが多ければ、コピー数も多い



# cisCton Ver5 (old): CNA calling

1. Bin definition
  - Definition of the minimum unit for segmentation
  - Typically, the middle points of bed-defined regions
2. GC-content correction
3. Segmentation
  - CBS-based algorithm
  - Non-parametric type of statistic for FFPE
4. Stitching segments
  - Naive CBS takes long computation time
  - Split chromosomes into windows
  - Then, stitch segments using the algorithm for the edge-effect correction in CBS
5. Abortion of abnormal segments
  - For FFPE fluctuations: nullify segments with high fluctuations around the segment median of logR
6. Amplification/deletion decision
  - The baseline regions
    - Excl. known germline CNVs and somatic CNAs
    - Mappability of one
  - Bootstrapping technique for statistical significance

(Kato et al, *Genome Medicine*, 2018)

# cisCall 出力

SNV/indel

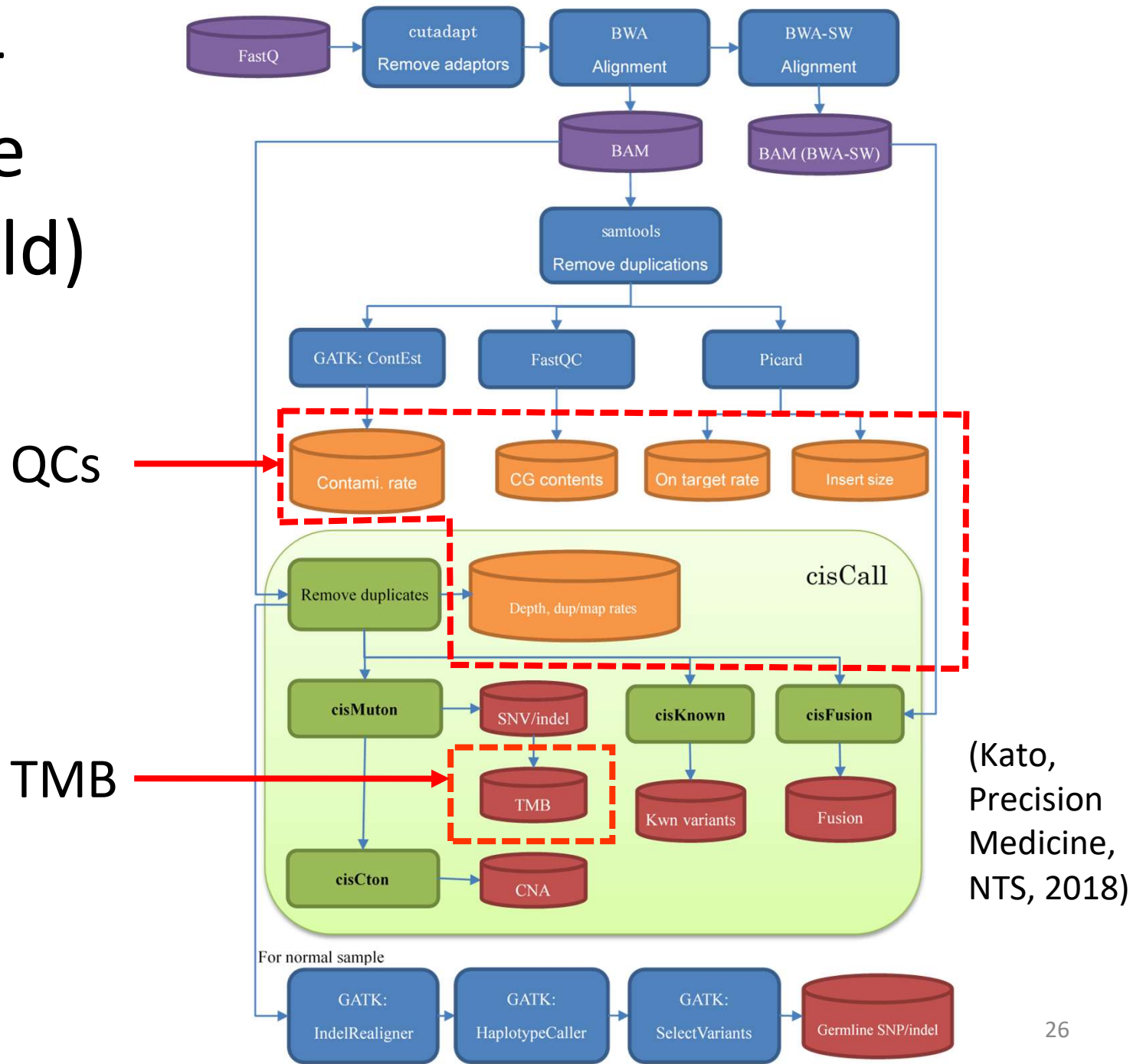
Chr	Start	End	Ref	Obs	Unmatch	Unmatch	Unmatch	Unmatch	Unmatch
1	11190595	11190595	C	T	204	999	54.97738	442	1897
1	65311423	65311423	T	C	72	13	50.84034	238	1489
1	110549659	110549659	G	A	123	999	51.62791	215	1935
1	115256605	115256605	G	C	102	Inf	44.05941	202	2038
1	154142069	154142069	C	T	125	Inf	51.45691	206	2109
1	156851142	156851142	G	A	66	Inf			
2	111906348	111906348	A	G	71				
3	37070437	37070437	G	A	52				
3	52675907	52675907	A	C	105	Inf			
4	1795720	1795720	C	T	106	Inf			
4	1807272	1807272	C	T	133				
4	55095489	55095490	AG	-	66				
4	55096180	55096180	T	A	71				
4	55099164	55099164	T	G	54				
4	55099865	55099865	-	GAC	73				
4	55100426	55100426	T	-	67				
4	55100489	55100489	G	A	79				
4	55102425	55102425	T	C	80				
4	55102559	55102559	T	A	58				
4	55124591	55124591	A	G	50				
4	55130078	55130078	T	C	68				
4	55130154	55130154	G	A	79				
4	55133726	55133726	T	G	65				
4	55133936	55133936	C	T	83				
4	55133959	55133959	C	T	78				

CNA, fusion genes

Chr	Gene	Unmatched.Log	Unmatched.Ca
15	IGF1 R	0.848472253	Neutral
16	AXIN1	-0.015863448	Neutral
16	CREBBP	0.124616533	Neutral
16	PALB2	-0.328081211	Neutral
17	TP53	-0.852884734	Neutral
17	MAP2K4	0.305506658	Neutral
17	NF1	0.123329601	Neutral
17	ERBB2	2.003989772	Amplification
17	STAT3	-0.451814449	Neutral
17	BRCA1	-0.31211305	Neutral
17	RAD51C	-0.595058397	Neutral
18	SMAD4	0.152026636	Neutral
19	STK11	0.066583685	Neutral
19	KEAP1	-0.314038266	Neutral

Gene1	Gene1:Breakpoint	Gene2	Gene2:Breakpoint	Unmatch
RET	chr1:0:43611109:down	KIF5B	chr1:0:32314854:down	1
ERBB4	chr2:212495032:down	BCL2L11	chr2:111901780:up	0
SLC34A2	chr4:25679697:up	AKT3	chr1:243865356:down	0
NOTCH1	chr9:139398332:up	ESRP1	chr8:95702774:down	0
SLC34A2	chr4:25679046:up	BCL2L11	chr2:111884121:up	0

# cisCall+ Pipeline Ver5 (old)





# 検査レポートの作成

cisInter

# 情報の流れ



変異検出プログラム(cisCall)

## 1. 変異情報データ

## 2. 実験情報カード

シーケンス情報	試料情報	切り出しの有無
シーケンス情報	試料情報	Qubit測定DNA量 (ug)
シーケンス情報	試料情報	qPCR測定DNA量 (ug)
シーケンス情報	試料情報	DNA品質 (qPCR/Qubit比)
シーケンス情報	測定情報	パネル
シーケンス情報	測定情報	試薬
シーケンス情報	測定情報	使用DNA量 (ug)
シーケンス情報	測定情報	シーケンサー
シーケンス情報	測定情報	シーケンサーラン日
シーケンス情報	測定情報	リードデータ名

## 3. 患者情報カード



患者情報	基礎情報	NA	診療科
患者情報	基礎情報	NA	文書同意日
患者情報	基礎情報	NA	性別
患者情報	基礎情報	NA	同意取得時年齢
患者情報	基礎情報	NA	臨床診断
患者情報	基礎情報	NA	遠隔転移部位
患者情報	基礎情報	NA	臓器機能にかかわる問題点
患者情報	基礎情報	NA	PS

### 大分類

患者情報	治療情報	1	レジメン
患者情報	治療情報	1	治療開始日
患者情報	治療情報	1	治療終了日
患者情報	治療情報	1	コース数
患者情報	治療情報	1	放射線
患者情報	治療情報	1	最良効果
患者情報	治療情報	1	中止理由

## 4. 病理情報カード

病理情報	試料情報	組織区分
病理情報	試料情報	採取法
病理情報	試料情報	採取日
病理情報	試料情報	組織型
病理情報	試料情報	腫瘍細胞率(%)
病理情報	試料情報	炎症細胞
病理情報	検査情報	EGFR 変異

レポート作成  
プログラム  
(cisInter)

遺伝子異常と分子標的薬  
の対応が書かれた  
データベース(表)

データベース (cisVids)

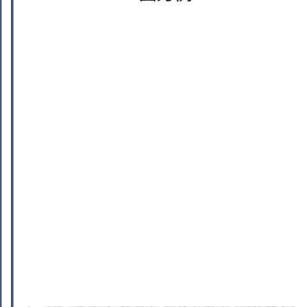
患者詳細画面 #1



シーケンスレポート  
出力例



エキスパートパネル・レポート  
出力例



専門家会議



承認されたレポート

電子カルテ

## 患者情報カード

大分類	分類	細目	項目	入力値
患者情報	識別情報	NA	患者ID	ABC001
患者情報	識別情報	NA	TOP-GEAR番号	5002
患者情報	識別情報	NA	匿名化番号	
患者情報	識別情報	NA	担当医	A先生

患者情報	基礎情報	NA	診療科	
患者情報	基礎情報	NA	文書同意日	
患者情報	基礎情報	NA	性別	
患者情報	基礎情報	NA	同意取得時年齢	
患者情報	基礎情報	NA		
患者情報	基礎情報	NA		
患者情報	基礎情報	NA		
患者情報	基礎情報	NA		

- マニユアルで電子カルテからエクセルに転記

## 病理情報カード

大分類	分類	項目	入力値	大分類	分類	項目	入力値
患者情報	識別情報	患者ID	ABC001	患者情報	識別情報	患者ID	ABC001
病理情報	識別情報	病理ID		病理情報	識別情報	遺伝子検査室ID	
病理情報	識別情報	担当病理医		病理情報	識別情報	担当検査医	
病理情報	試料情報	検体組織		病理情報	正常組織試料情報	区分	
病理情報	試料情報	組織区分		病理情報	正常組織試料情報	採取日	
病理情報	試料情報	採取法					
病理情報	試料情報	採取日					
病理情報	試料情報	組織型					
病理情報	試料情報	切片の大きさ					
病理情報	試料情報	腫瘍細胞率(%)					
病理情報	試料情報	炎症細胞					

病理情報	検査情報	EGFR 変異	
病理情報	検査情報	EGFR 変異種	
病理情報	検査情報	ALK IHC	
病理情報	検査情報	ALK FISH	
病理情報	検査情報	ALK FISH %	
病理情報	検査情報	HER2 IHC	
病理情報	検査情報	HER2 ISH	
病理情報	検査情報	HER2 ISH シグナル比	
病理情報	検査情報	HER2 ISH コピー数(倍)	
病理情報	検査情報	ER IHC	
病理情報	検査情報	ER IHC %	
病理情報	検査情報	ER IHC AllRed	
病理情報	検査情報	PgR IHC	
病理情報	検査情報	PgR IHC %	
病理情報	検査情報	PgR IHC AllRed	
病理情報	検査情報	KRAS 変異	
病理情報	検査情報	その他	

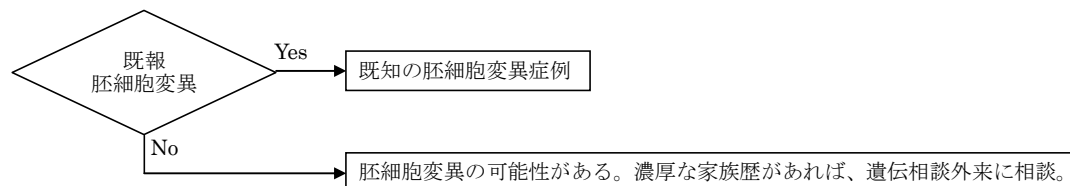
## 実験(シーケンス)情報カード

大分類	分類	項目	入力値
患者情報	識別情報	患者ID	ABC001
シーケンス情報	識別情報	遺伝子検査室ID	
シーケンス情報	識別情報	正常検体ID	NA
シーケンス情報	識別情報	シーケンスID	
シーケンス情報	識別情報	シーケンサーラン担当者	
シーケンス情報	試料情報	切り出しの有無	
シーケンス情報	試料情報	Qubit測定DNA量(ug)	
シーケンス情報	試料情報	qPCR測定DNA量(ug)	
シーケンス情報	試料情報	DNA品質(qPCR/Qubit比)	
シーケンス情報	正常組織測定情報	パネル	
シーケンス情報	正常組織測定情報	試薬	
シーケンス情報	正常組織測定情報	使用DNA量(ug)	
シーケンス情報	正常組織測定情報	シーケンサー	
シーケンス情報	正常組織測定情報	シーケンサーラン日	
シーケンス情報	正常組織測定情報	リードデータ名	

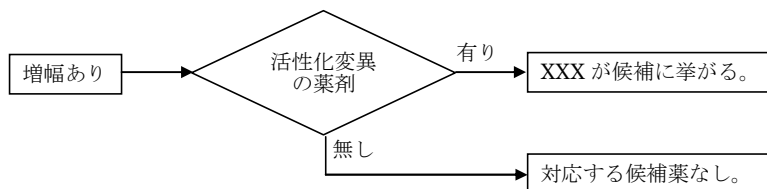
# 知識ベースと薬剤マッチング・システム

遺伝子名	記載対象変異							変異種別	活性化変異		機能欠失		機能獲得		耐性獲得		既報	胚細胞変異	遺伝子外来	備考
	増幅	融合	塩基置換	挿入/缺失	複製数異常	転座	融合		変異	薬剤	変異	薬剤	変異	薬剤	変異	薬剤				
ABL1	○	×	×	×	○	×	活性化	G250E Y253F E255K T315I									G250E Y253F E255K T315I			
ACTN4	○	×	×	×	○	×	活性化													
AKT1	○	×	×	×	○	×	活性化		AKT阻害剤									E17K		
AKT2	○	×	×	×	○	×	活性化		AKT阻害剤											
AKT3	○	×	×	×	○	×	活性化		AKT阻害剤											

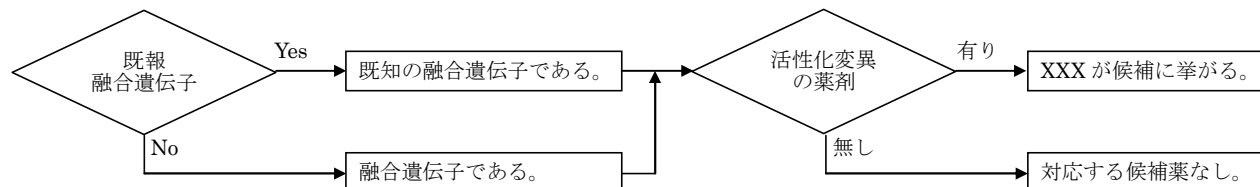
(ア) SNV( )文言作成手順



(ウ) CNV 文言作成手順



(エ) 融合遺伝子文言作成手順



- 国立がん研究センターの腫瘍内科医とがんゲノム学研究者が作成した、遺伝子異常と分子標的薬の対応表
- 検査で検出された変異に対し、対応する分子標的薬を挙げる

# cisInter Clinical Sequencing Information Integration Reporting system

The screenshot shows the 'Expert Panel' window of the cisInter system. On the left, a list of data input fields is shown, each with a red box and a callout bubble. The callouts are labeled in red text as follows:

- Patient info.
- Tumor pathological info.
- Normal tissue info.
- Tumor sequencing info.
- Normal sequencing info.
- Control sequencing info.
- SNV/indel info.
- CNA info.
- Fusion info.

The main window contains the following data input fields and their corresponding file paths:

Field Name	File Path	Action
患者情報	C:\Users\furukawa\Desktop\work\CLIAラボ\データ\Varidation\20160218_情報統合\input\L33\患者情報.xlsx	選択
病理情報	C:\Users\furukawa\Desktop\work\CLIAラボ\データ\Varidation\20160218_情報統合\input\L33\病理情報.xlsx	選択
正常組織情報	C:\Users\furukawa\Desktop\work\CLIAラボ\データ\Varidation\20160218_情報統合\input\L33\正常組織情報.xlsx	選択
腫瘍シーケンス情報	C:\Users\furukawa\Desktop\work\CLIAラボ\データ\Varidation\20160218_情報統合\input\L33\腫瘍シーケンス...	選択
正常シーケンス情報	C:\Users\furukawa\Desktop\work\CLIAラボ\データ\Varidation\20160218_情報統合\input\L33\正常シーケンス...	選択
コントロールシーケンス情報	C:\Users\furukawa\Desktop\work\CLIAラボ\データ\Varidation\20160218_情報統合\input\L33\コントロールシーク...	選択
変異情報(summary.xlsx)	C:\Users\furukawa\Desktop\work\CLIAラボ\データ\Varidation\20160218_情報統合\input\L33\summary.xlsx	選択
CNV情報(summary.cnr.lowess.xlsx)	C:\Users\furukawa\Desktop\work\CLIAラボ\データ\Varidation\20160218_情報統合\input\L33\summary.cnr.low...	選択
融合遺伝子情報(summary.fusion.xlsx)	C:\Users\furukawa\Desktop\work\CLIAラボ\データ\Varidation\20160218_情報統合\input\L33\summary.fusion...	選択

At the bottom of the window, there is a text input field for '患者ID' (Patient ID) with the value 'ABC001' and an '実行' (Execute) button.



# Expert-panel report

Expert Panel 報告書

Expert Panel 日 :

TOP-GEAR 番号 :                      検体番号 :                      性別 : 女性  
同意取得時年齢 :                      診療科 :                              担当医 :  
文書同意日 :                              臨床診断 : 卵巣がん、再発  
遠隔転移部位 : 肝 肺 腹膜 リンパ節 骨 脳 その他 (    )

これらのレポートがプログラムによって自動生成される

# Sequenced-variant report

TOPICS-1 Sequencing Report

#REP00050.1 '2014/02/25

■患者情報

診断名                                      gastric cancer

## Expert Panel からの意見

- ・ TP53 変異 : COSMIC データベースに多数の登録があり、機能欠失変異である可能性が高い。対応する治験薬なし。
- ・ BRCA1 変異 : 短縮型変異であり、機能欠失変異と考えられる。PARP 阻害剤は候補にあがるが、当院に P1 候補薬なし。生殖細胞系列変異の可能性があり、濃厚な家族歴があれば、遺伝相談外来に相談。
- ・ MYC 増幅 : PIM 阻害剤について検討の余地がある。
- ・ CCND1 増幅 : CDK4/6 阻害剤が候補に挙がる。

### Expert Panel からの意見

- ・ TP53 変異 : COSMIC データベースに多数の登録があり、機能欠失変異である可能性が高い。対応する治験薬なし。
- ・ BRCA1 変異 : 短縮型変異であり、機能欠失変異と考えられる。PARP 阻害剤は候補にあがるが、当院に P1 候補薬なし。生殖細胞系列変異の可能性があり、濃厚な家族歴があれば、遺伝相談外来に相談。
- ・ MYC 増幅 : PIM 阻害剤について検討の余地がある。
- ・ CCND1 増幅 : CDK4/6 阻害剤が候補に挙がる。

CDS変化	exon7:c.C742T
アミノ酸変化	p.R248W
COSMIC登録番号	COSM10656
COSMIC登録数	679
COSMIC_Status	Confirmed somatic variant
3 遺伝子名	EGFR
変異種類	amplification
物理位置 (染色体 : 塩基番号)	7:55,086,960-55,273,320
遺伝子コピー数比 (補正リード数比)	9.10
変異アレル頻度	-
CDS変化	-
アミノ酸変化	-
COSMIC登録番号	-
COSMIC登録数	-
COSMIC_Status	-

# 更新バージョン

担当医返却レポート							
レポートID: REP00001.1			Expert Panel日				
■ 患者情報							
[Redacted]							
■ 腫瘍検体情報							
検体組織	採取法	組織区分	腫瘍細胞率(%)				
皮膚	手術	転移巣	40%				
■ 前検査情報							
■ 検体情報							
Qubit測定DNA量(ug)		DNA品質 (qPCR/Qubit比)					
13.80		0.27					
■ 体細胞遺伝子変異情報							
遺伝子名	変異アレール頻度	CDS変化	アミノ酸変化	COSMIC ID			
TP53	53.1 (343/646)	exon7:c.T724C	p.C242R	COSM11738			
■ 体細胞遺伝子増幅情報							
遺伝子名	遺伝子コピー数比(補正リード数比)						
■ 体細胞遺伝子再構成(融合)融合情報							
遺伝子名	物理位置						
■ 生殖細胞系列遺伝子変異情報							
遺伝子名	変異アレール頻度	CDS変化	アミノ酸変化	ClinVar ID			
BRCA1	72.7 (579/796)	exon10:c.2767_2770del	p.923_924>I	RCV000047966			
■ 体細胞変異数							
領域区分		SNV		InDel		合計	
		変異数	変異率(※)	変異数	変異率	変異数	変異率
エキソン	nonsyn	1	2.9個/Mb	0	0	1	2.9個/Mb
	syn	0	0				
非エキソン		7	2.0個/Mb	0	0	7	2.0個/Mb
※ 変異率 = 変異数 ÷ ターゲット領域の(非)エキソン長							
Expert Panelからの意見							
<ul style="list-style-type: none"> <li>TP53 p.C242R: COSMICデータベースに多数の登録があり、機能欠失変異である可能性が高い。対応する候補薬なし。</li> <li>BRCA1 frameshift 変異: 機能欠失をもたらす胚細胞系列変異である。遺伝相談外来への受診を推奨する。PARP阻害剤が候補に挙がる。</li> </ul>							
候補となる治験薬:							

## Somatic gene aberration:

- Registered in the COMIC
- Truncating mutations in tumor suppressor genes.
- Amplification (Homozygous deletion)
- Gene fusion

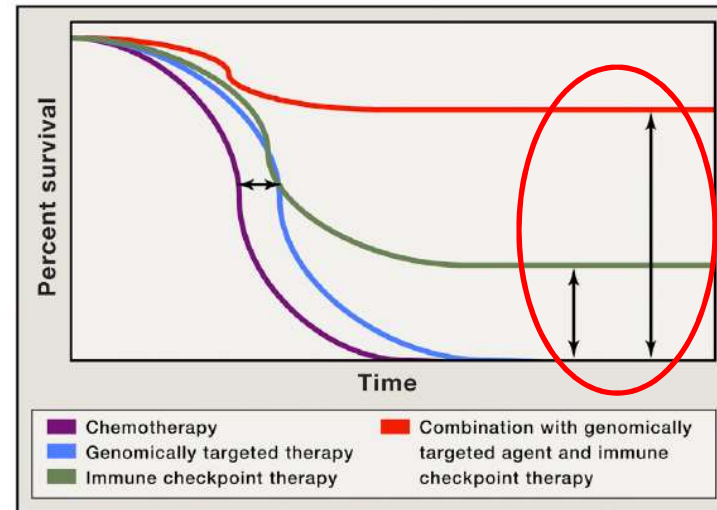
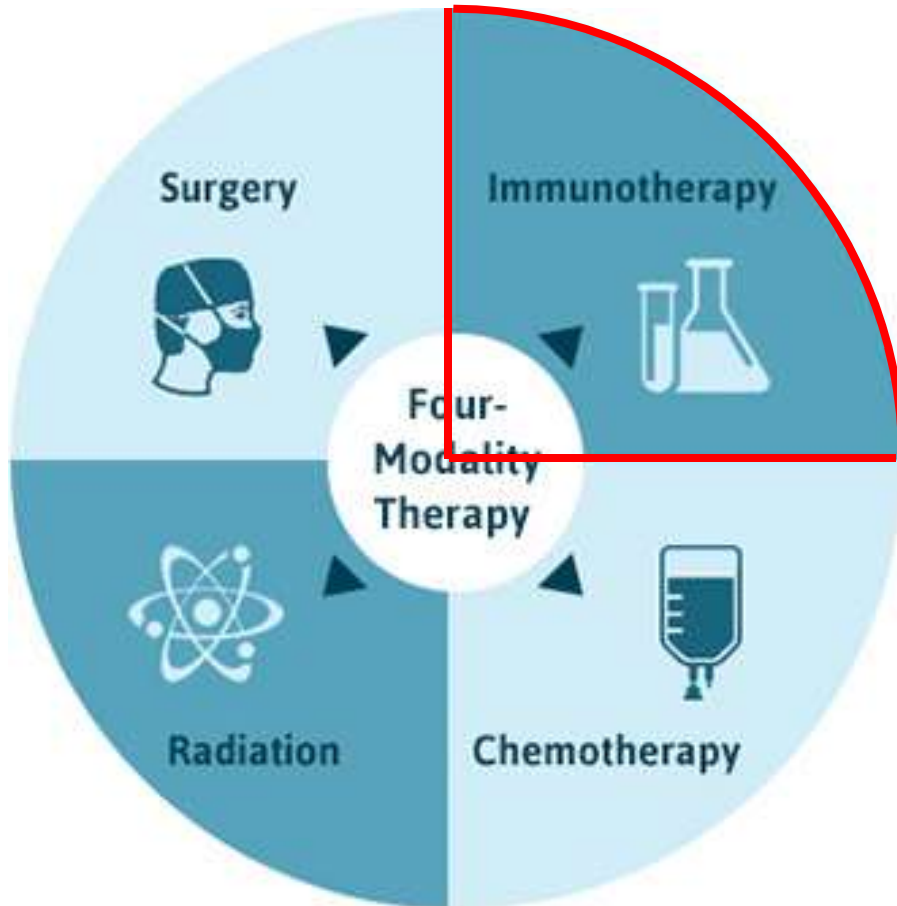
## Germline mutation:

12 genes: APC, BRCA1, BRCA2, MLH1, MSH2, PTEN, RB1, RET, STK11, TP53, TSC1, VHL

- "Pathogenic" or "Likely pathogenic" in the ClinVar
- Truncating mutation

## Tumor mutation burden 変異負荷

# プロジェクト途中で導入された変異負荷のデータは、免疫チェックポイント阻害薬適用の参考情報となった

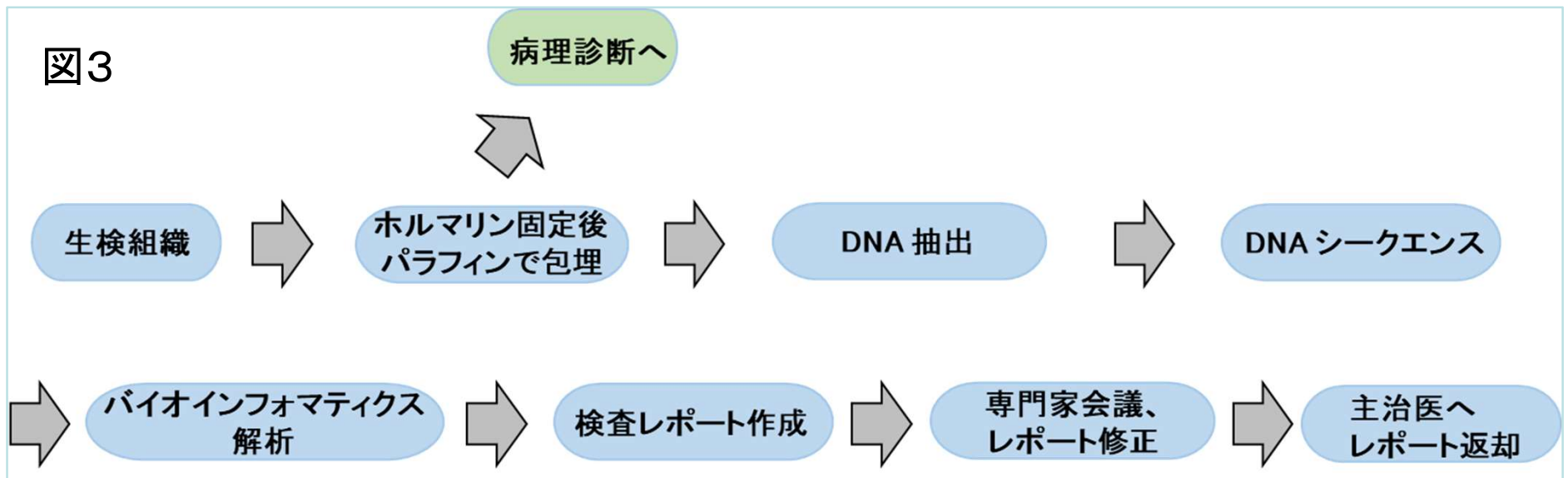


(Sharma et al, 2015, *Cell*)

# 臨床シーケンスの運用

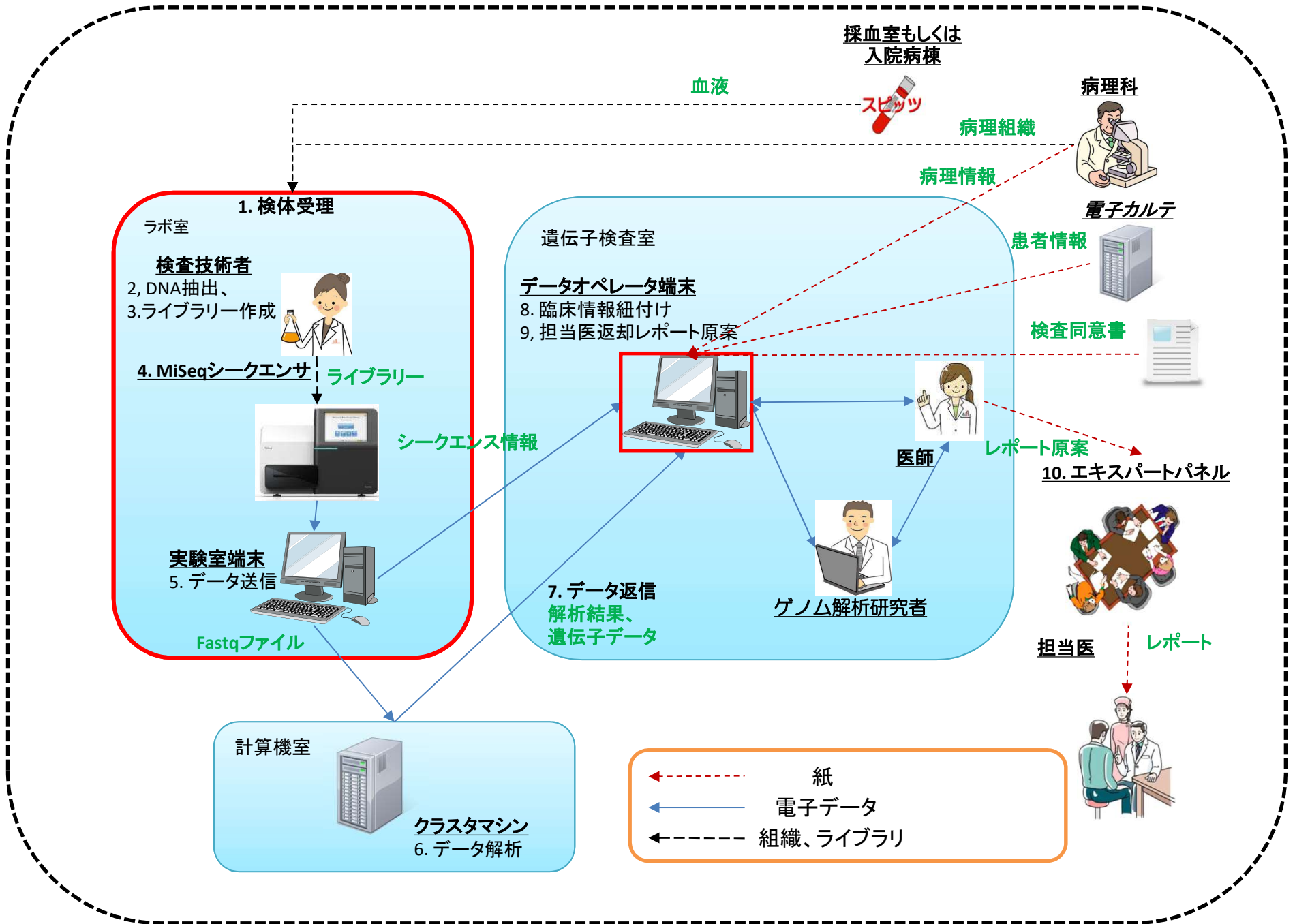


# 運用フロー



(加藤、「がんのプレジジョン・メディシン」、アンチ・エイジング医学、2017)

# System flow in practice



DNA 抽出



シーケンス  
(MiSeq)



シーケンス  
(NextSeq)

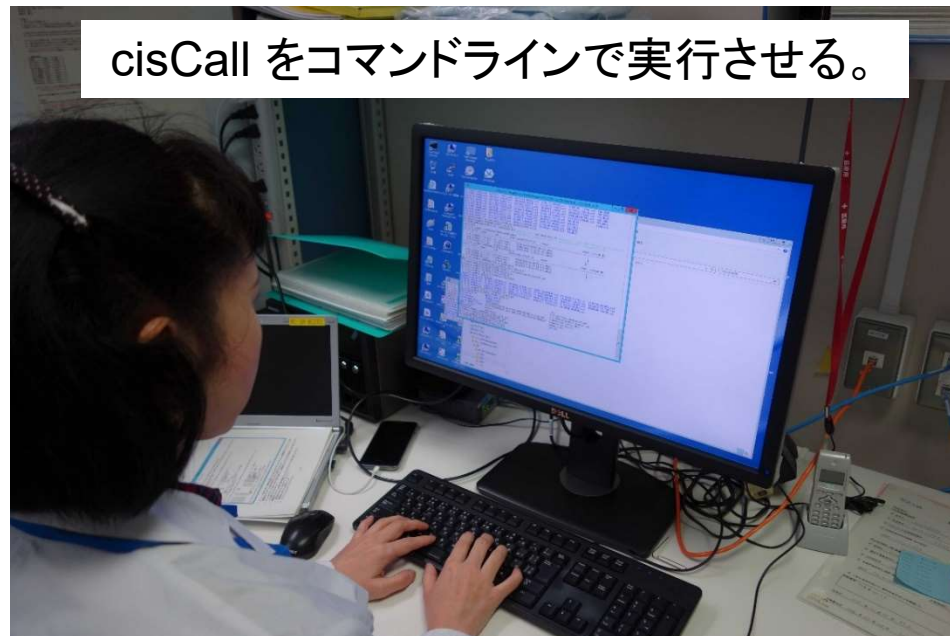




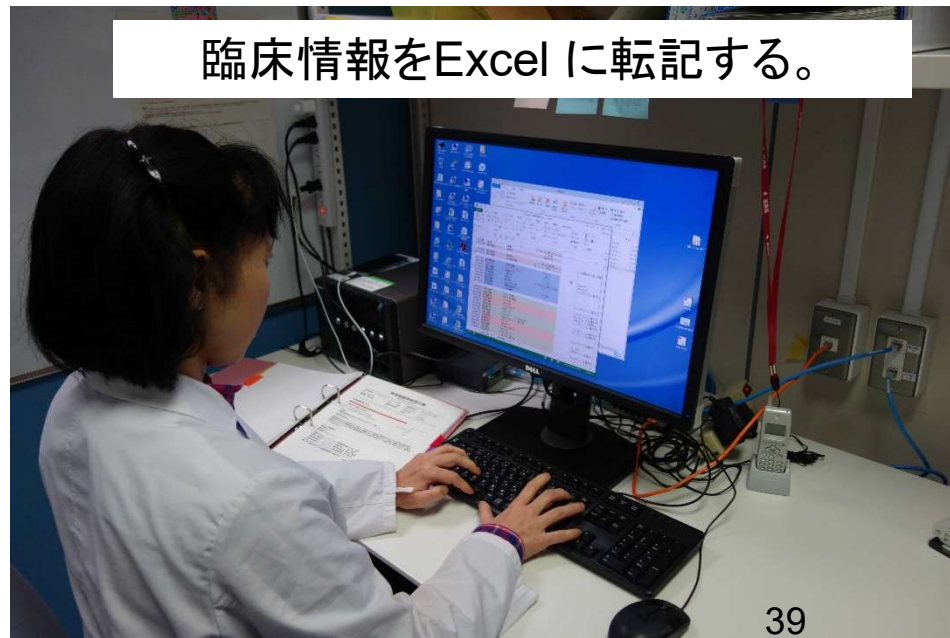
配列データがサーバに送られる。

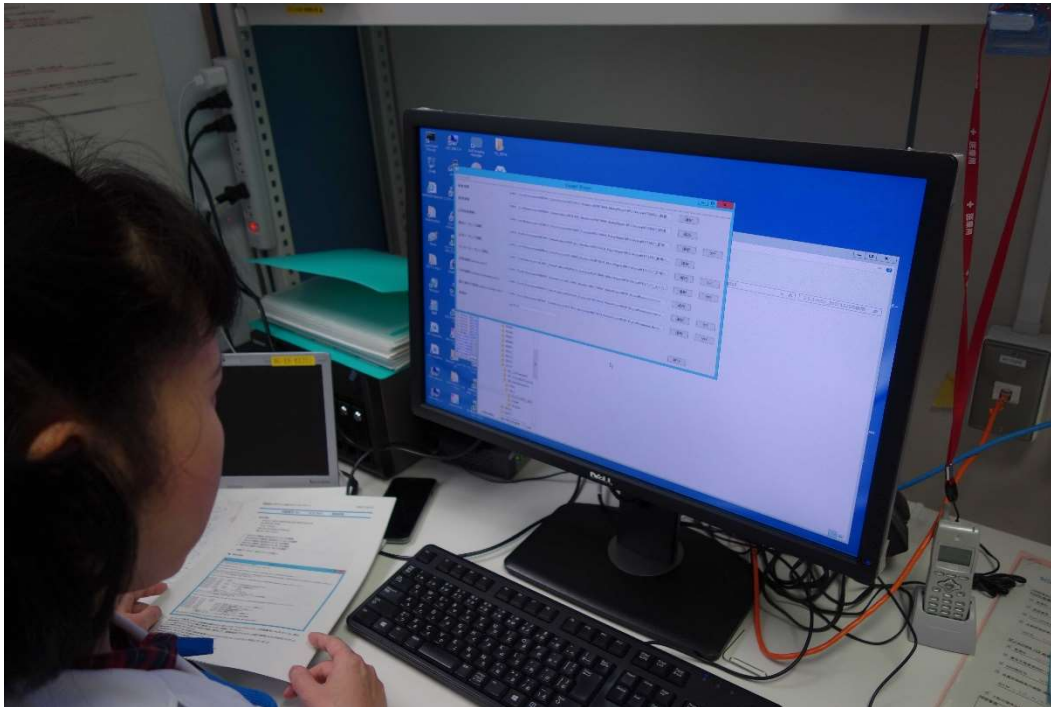


cisCall をコマンドラインで実行させる。



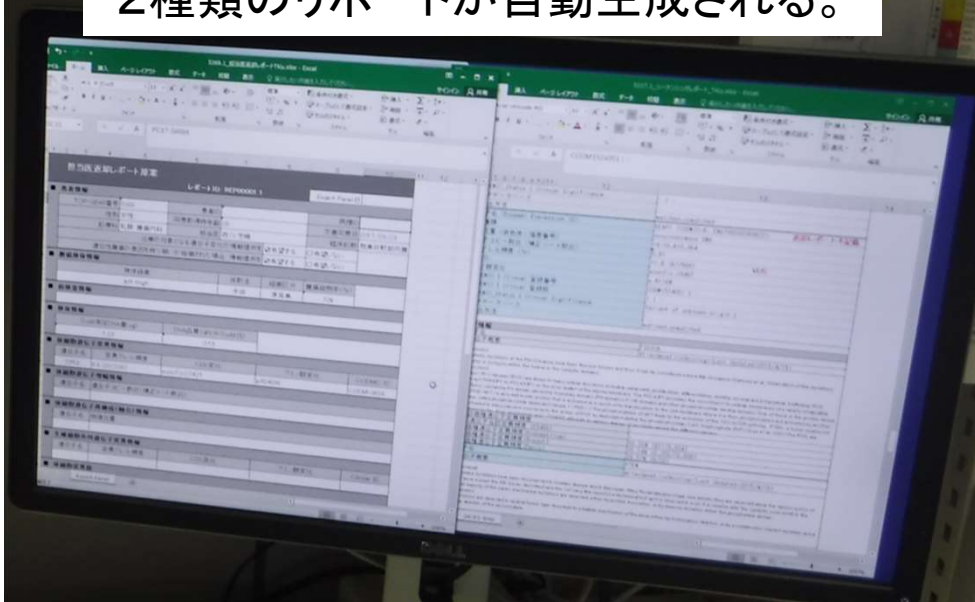
臨床情報をExcel に転記する。



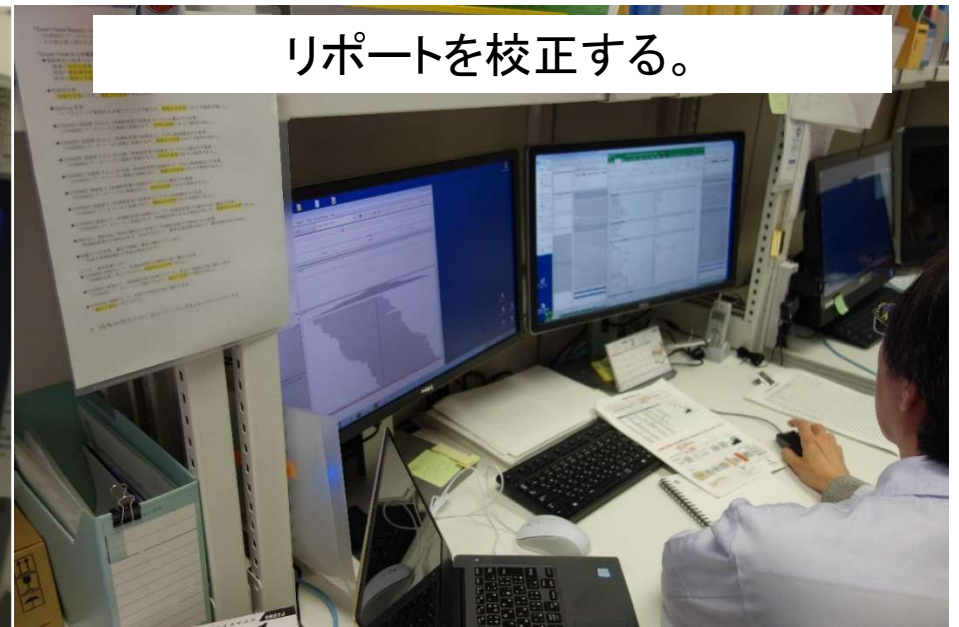


変異情報ファイル(cisCall 出力)  
と  
臨床情報ファイル(Excel)  
の場所(path)を指定して  
cisInter (Java GUI)  
を実行する。

実行の結果、  
2種類のレポートが自動生成される。



レポートを校正する。





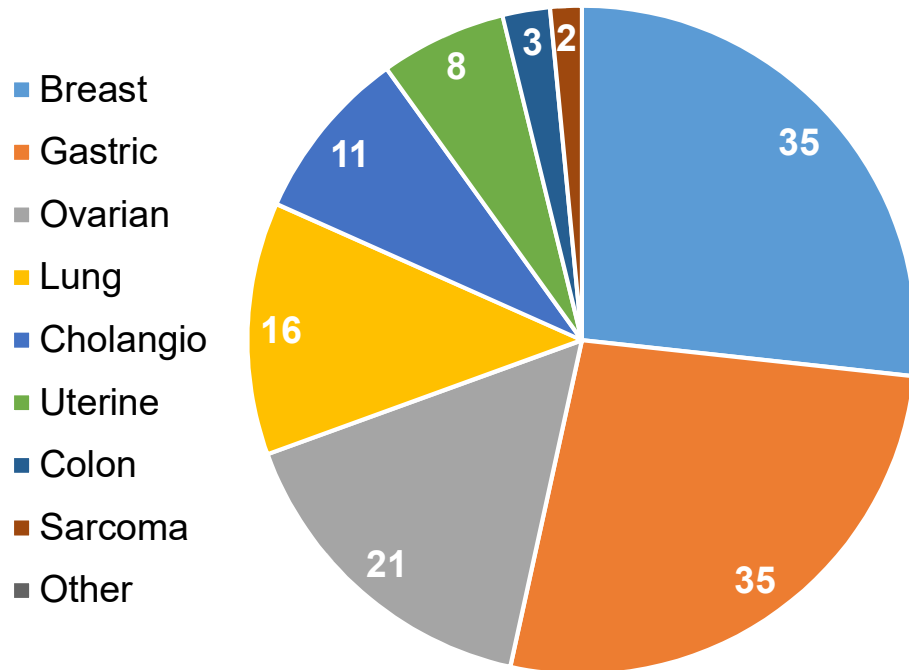
# エキスパートパネル (Tumor Board)



# 集計

# TOP-GEAR 研究 第一期に登録された症例と 検出された遺伝子異常

患者数 (n=131)



検出されたDNA 異常

**1.93** mutations / patient  
 0.50 (**26%**) truncating mutations  
 0.76 (**39%**) COSMIC mutations  
**0.29** amplifications / patient  
**1** fusion / 131 patients

Tanabe et al. *Molecular Cancer* (2016) 15:73  
 DOI 10.1186/s12943-016-0553-z

Molecular Cancer

LETTER TO THE EDITOR

Open Access

Comprehensive screening of target molecules by next-generation sequencing in patients with malignant solid tumors: guiding entry into phase I clinical trials



(Tanabe et al, Mol. Cancer, 2016)

Yuko Tanabe<sup>1,2,7</sup>, Hitoshi Ichikawa<sup>3,4</sup>, Takashi Kohno<sup>3</sup>, Hiroshi Yoshida<sup>3,5</sup>, Takashi Kubo<sup>3</sup>, Mamoru Kato<sup>6</sup>, Satoru Iwasa<sup>1</sup>, Atsushi Ochiai<sup>3,5</sup>, Noboru Yamamoto<sup>1</sup>, Yasuhiro Fujiwara<sup>2</sup> and Kenji Tamura<sup>1,2,7\*</sup>

# アクションナブル変異の詳細

遺伝子	患者数	候補薬	<u>NCCでの臨床試験?</u>
<b>Activating mutations (COSMIC DB-registered):</b>			
<i>PIK3CA</i>	15	PI3K inhibitor, AKT inhibitor	Yes
<i>AKT1</i>	2	AKT inhibitor	Yes
<i>ERBB2</i>	2	HER2 inhibitor	No
<i>PDGFRB</i>	2	PDGFR inhibitor	No
<i>DDR2</i>	1	DDR2 inhibitor	No
<i>ERBB3</i>	1	ERBB inhibitor	No
<i>FGFR2</i>	1	FGFR inhibitor	Yes
<i>MAP2K1</i>	1	MEK inhibitor	No
<b>Inactivating mutations (3' truncation):</b>			
<i>BRCA2</i>	9	PARP inhibitor	Yes
<i>CDKN2A</i>	4	CDK4/6 inhibitor	Yes
<i>BRCA1</i>	3	PARP inhibitor	Yes
<i>NF1</i>	3	MEK inhibitor	No
<i>PTCH1</i>	2	Hedgehog inhibitor	No
<i>TSC1</i>	2	mTOR inhibitor	No
<b>Amplifications:</b>			
<i>CCND1</i>	12	CDK4/6 inhibitor	Yes
<i>ERBB2</i>	10	HER2 inhibitor, HER2 antibody	No
<i>EGFR</i>	3	EGFR inhibitor, EGFR antibody	No
<i>MDM2</i>	2	MDM2 inhibitor	Yes
<i>FGFR1</i>	2	FGFR inhibitor, FGFR antibody	Yes



**≥1 in 59 of 131 (45%) patients**

(Tanabe et al, Mol. Cancer, 2016)

# フェーズI 臨床試験への登録

Patients with actionable alteration: **59/131 (45%)**

Potentially matched patients: **31/131 (24%)**

Entry to phase 1 trials: **28/131 (21%)**

Entry to matched phase 1 trials: **11/131 (8%)**

BRCA1/2	4 cases	PARP inhibitor
PIK3CA	3 cases	PI3K inhibitor, AKT inhibitor
AKT1	1 case	AKT inhibitor
FGFR2	1 case	FGFR inhibitor

Objective response: **3/9 (33%)**



# 社会実装へ向けた マイルストーン

# 国立がん研究センター TOP-GEARプロジェクト 2012年から



担当医による  
検査の説明



解析試料の  
採取・選択  
(FFPE試料+末梢血)



NCCオンコパネルによる  
品質保証下の  
遺伝子異常検出



エキスパートパネル  
による意義付け



担当医による  
結果の説明・治療選択

- 本邦に適したがんゲノム医療の実現法・運用法の研究
- 国産技術の開発
- 有用性の検証
- 課題の抽出

Nov. 2015

Jan. 2016

国立研究開発法人 国立がん研究センター

ホーム 交通案内

検索

文字サイズ | 拡大 | 標準 | 縮小 |

ホーム 国立がん研究センターについて 情報公開 研究推進 お知らせ 法人に関する情報

プレスリリース

ホーム > プレスリリース > 国際基準に準拠した遺伝子検査室を院内開設

ゲノム医療実現を目指した「TOP-GEAR(トップ-ギア)プロジェクト」

**国際基準に準拠した遺伝子検査室を院内開設**

網羅的遺伝子診断を患者さんの治療選択に導入

2015年11月13日  
国立研究開発法人国立がん研究センター  
in English

国立研究開発法人国立がん研究センター(理事長:堀田知光、所在地:東京都中央区、略称:国がん)は、これまで研究や医薬品の開発段階でしか行われていなかった次世代シーケンサー(ネクストジェネレーション・シーケンサー;NGSとも呼称)を用いた網羅的遺伝子検査を日常診療に導入するため、国際基準に準拠した検査室を中央病院(院長:荒井保明)内に開設しました。同検査室の稼働に伴い、がん患者さんの遺伝子情報を直接治療選択に役立てるための臨床研究「TOP-GEARプロジェクト」第二弾(TOPICS-2試験)を2016年1月より開始し、遺伝子情報に基づくがん診療の確立を目指します。

1. 背景

現在、日常診療で行われている遺伝子検査は、特定の薬剤の効果や副作用に関連する特定の遺伝子を調べるもの(コンパニオン診断と呼ばれる)

国立研究開発法人 国立がん研究センター

ホーム | 交通案内 |

検索

文字サイズ | 拡大 | 標準 | 縮小 |

ホーム 国立がん研究センターについて 情報公開 研究推進 お知らせ 法人に関する情報

プレスリリース

ホーム > プレスリリース > 中央病院「遺伝子診療部門」開設

**中央病院「遺伝子診療部門」開設**

全診療科のゲノム診療をサポート、日常診療に本格導入

2016年1月12日  
国立研究開発法人国立がん研究センター

国立研究開発法人国立がん研究センター(理事長:堀田知光、東京都中央区、略称:国がん)は、がん診療に網羅的な遺伝子診断に基づく診療を本格導入するため、中央病院(病院長:荒井保明)に「遺伝子診療部門」を開設いたしました。

ゲノム診療の現状

ゲノム診療は大きく分けて、遺伝的にがんになりやすい方への「個別化予防」と、個々のがん患者さんの遺伝子異常に基づく「個別化治療」があります。

「個別化予防」としてのゲノム診療は、これまで当院でも遺伝相談外来で行ってまいりました。反面、「個別化治療」としてのゲノム診療には、検査の品質管理、遺伝子解析情報の臨床的意義付け、患者さんへの伝達方法、情報の取り扱いなど様々な課題が残っており、世界的にも日常診療への本格導入が進んでいません。一方、遺伝子解析技術が進歩し、治療標的となるがんの遺伝子異常も次々と明らかにされており、「個別化治療」としてのゲノム診療を日常診療に導入することが喫緊の課題となっています。

中央病院の取り組み

中央病院では、1998年より遺伝相談外来を設置し遺伝性のがんについての相談、遺伝子検査、早期発見等の診療支援、臨床試験への協力などを行ってまいりました。2013年からは個々の患者さんの治療選択における網羅的遺伝子検査の有用性を検証する臨床研究「TOP-GEAR(トップ-ギア)プロジェクト」を開始し、2015年末には十分な精度管理が担保された網羅的遺伝子検査室を院内に設置、「個別化治療」としてのゲノム診療を開始するための体制整備を進めてまいりました。

「遺伝子診療部門」は、中央病院や研究所など各部門のゲノム診療や研究に関わるメンバーで構成され、専門家チームによる最終診断、解析結果レポートの作成、診療コンサルテーション、遺伝相談外来併診など、中央病院の全診療科をサポートします。同部門の開設により、ゲノム診療を日常診療に本格導入する体制が整いました。

# 技術移転

情報技術: cisCall & cisInter ➡ 三井情報

運用技術



## ニュースリリース

経営・事業

2017年06月05日

### シスメックス、理研ジェネシス、三井情報によるゲノム医療における協業推進に向けた包括提携契約の締結について

シスメックス株式会社（本社：神戸市、代表取締役会長兼社長：家次 恒 以下「シスメックス」）とシスメックスの子会社である株式会社理研ジェネシス（本社：東京都品川区、代表取締役社長 近藤 直人 以下「理研ジェネシス」）、および三井情報株式会社（本社：東京都港区、代表取締役社長 小日山 功 以下「三井情報」）は、ゲノム医療における協業推進に向けた包括提携契約を締結しましたのでお知らせします。

ゲノム医療は、次世代シーケンサー<sup>※1</sup>などを用いて個々人のゲノム情報（以下「遺伝配列情報」）を調べ、その結果をもとに、より効率的・効果的にがんなどの病気の診断と治療、予防などを行うものです。診断や治療に利用することを目的に、高い品質保証下で遺伝子配列情報を高精度に解析する検査は、臨床的シーケンズ検査と呼ばれており、ゲノム医療の推進にとって重要な要素です。

シスメックスは、これまで国立がん研究センター（以下「NCC」）中央病院内に臨床的シーケンズラボ「Sysmex Cancer Innovation Laboratory（以下「SCI-Lab」）」を設置し、次世代シーケンサー、NCCが開発した遺伝子診断パネル<sup>※2</sup>、NCCと三井情報が共同開発した解析プログラムから構成される「がん関連遺伝子パネル検査システム」を用いて患者さんの検体（がん組織）の網羅的な遺伝子解析を行い、治療方針の決定や投薬の判断などへの活用を目指した研究を実施してきました。

また、シスメックスの子会社であり、国内で初めてCLIA<sup>※3</sup>を取得した実績を持ち、品質管理に強みを有する理研ジェネシスがSCI-Labの運営を行うことで、国際的な品質保証基準に準拠した信頼性の高い検査を提供してきました。

このたび、シスメックス、理研ジェネシスおよび三井情報は、ゲノム医療における協業推進を目的に包括提携契約を締結しました。

本包括契約の下、2017年2月28日に厚生労働省より体外診断用医薬品の先駆け審査指定制度<sup>※4</sup>として初の対象品目の指定を受けた、「がん関連遺伝子パネル検査システム」の開発に3社で取り組みます。また、理研ジェネシスと三井情報は業務提携契約を締結し、新たながん臨床的シーケンズ検査受託サービスを開始します。本サービスでは、検体の測定から解析までを国内で実施するため、患者さんへより迅速な検査結果の報告が可能となります。



## 国立がん研究センター開発のがん変異抽出プログラムcisCallを用いた体細胞変異検出データ解析サービス

データ解析にお困りではありませんか？  
SureSelect NCC oncopanelをご利用の皆様、  
データ解析サービスをお手頃な価格でご提供します。

国立がん研究センターのバイオインフォマティクス部門長 加藤 謙 先生により開発された、がん変異抽出アルゴリズムcisCall (Clinical Sequence Call) system を用いて、正常組織および癌組織から取得したシーケンズデータを比較し体細胞特異的な変異を検出します。cisCallでは、SNV/InDel 検出、融合遺伝子検出、コピー数変化の解析が可能です。検出された変異情報に対して、さらに有用なデータベースからアノテーション情報を付加し、お客様に解析結果をお返しいたします。

### ■特徴

- ・ Agilent technologies 社の SureSelect NCC oncopanel に最適化されたアルゴリズム。
- ・ 新鮮凍結組織だけでなく、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織でも高い精度で変異を検出可能。

### ■ご提供いただくデータについて

癌組織、正常組織から標準シーケンズ条件下で取得されたデータセット (FASTQ 形式もしくは BAM 形式ファイル)。

推奨シーケンズ条件	
シーケンサー	Illumina 社製 (HiSeq, MiSeq)
組織サンプル	新鮮凍結組織およびFFPE組織
ターゲットエンリッチメント	Agilent SureSelect NCC oncopanel
平均読取り深度	500~1500x

### ■価格・納期

価格：20,000円 (税抜) ※変異解析標準をご確認ください。  
納期：データ受領から約3営業日

### ■納品物

2種類の解析結果報告書を納品いたします。

#### ①SNV/InDel 解析結果 (エクセル形式)

- ・ サンプル名、コントロール名、ゲノムのポジション情報、Ref 塩基とAlt 塩基
- ・ コドンの変化、フレームシフトやアミノ酸置換などの影響
- ・ 検出されたアレル頻度や変異のコール率
- ・ 変異コールのスコアや変異の機能、変異がアミノ酸に与える効果
- ・ DBsnp、COSMIC、1000genome、HGVD 等の公共DB 情報
- ・ Depth、Mapping 情報

#### ②変異情報一覧

Sample	Chr	Pos	Ref	Alt	Depth	Mapping	DBsnp	COSMIC	1000g	HGVD
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...

#### マッピング率

Sample	Mapping Rate
...	...

#### 読み取り深度

Sample	Mean Depth	Min Depth	Max Depth
...	...	...	...



# 2018年 先進医療認定

中央病院について	診療科案内	受診・相談案内	共通部
----------	-------	---------	-----

[トップページ](#) > 中央病院におけるゲノム医療

## 中央病院におけるゲノム医療

▶ 先進医療Bでの遺伝子検査  
「個別化医療に向けたマルチプレックス遺伝子パネル検査研

▶ 網羅的遺伝子検査の院内臨床研究  
「TOP-GEAR (トップギア) プロジェクト」

▶ 希少がんの研究開発・ゲノム医療を産学共同で推進  
「MASTER KEY プロジェクト」

先 - 2  
30. 3. 8

別紙 2

先進医療B評価用紙(第2号)

評価者 構成員: 山口 俊晴 技術専門委員:

### 先進技術としての適格性

先進医療の名称	個別化医療に向けたマルチプレックス遺伝子パネル検査
社会的妥当性 (社会的倫理的 問題等)	<input checked="" type="radio"/> A. 倫理的問題等はない。 <input type="radio"/> B. 倫理的問題等がある。
現時点での 普及性	<input type="radio"/> A. 罹患率、有病率から勘案して、かなり普及している。 <input type="radio"/> B. 罹患率、有病率から勘案して、ある程度普及している。 <input checked="" type="radio"/> C. 罹患率、有病率から勘案して、普及していない。
効率性	既に保険導入されている医療技術に比較して、 <input checked="" type="radio"/> A. 大幅に効率的。 <input type="radio"/> B. やや効率的。 <input type="radio"/> C. 効率性は同程度又は劣る。
将来の保険収 載の必要性	<input checked="" type="radio"/> A. 将来的に保険収載を行うことが妥当。なお、保険導入等の評価に際しては、以下の事項について検討する必要がある。  <input type="radio"/> B. 将来的に保険収載を行うべきでない。
総 評	総合判定: <input checked="" type="radio"/> 適 ・ 条件付き適 ・ 否 コメント: 本技術の有用性と限界が正確に被験者に伝わることを確認する必要がある。また、個人情報適切に管理できたかも厳重にチェックしたうえで、保険収載されるべきである。



**がんゲノム初承認へ**  
 厚生労働省は、がん患者の遺伝子変異を調べる「がんゲノム医療」用の検査システムの販売を初めて承認することを決めた。1カ月前程度で医療機器として正式承認し、その後「がんゲノム医療」の数千万円かかる患者の検査費負担が軽減される見通し。4月に始めた治療法を受けたが効果

OncoGuide™  
 NCC onco-panel system

Combination Medical Device of  
 1) Software, and  
 2) Reagents

*cisCall and cisInter,*  
 which we developed

果がなくなったや、確立された治療法がない希少がん、がんなどの患者がなくなる。シスメツの製品は1〜4種類の遺伝子を

First Medical Device approved by the Japanese government in cancer genome medicine

**6月から保険適用対象に**  
**がんゲノム医療 検査受けやすくなる**  
**遺伝子解析 最適な治療探る**  
 時時刻刻

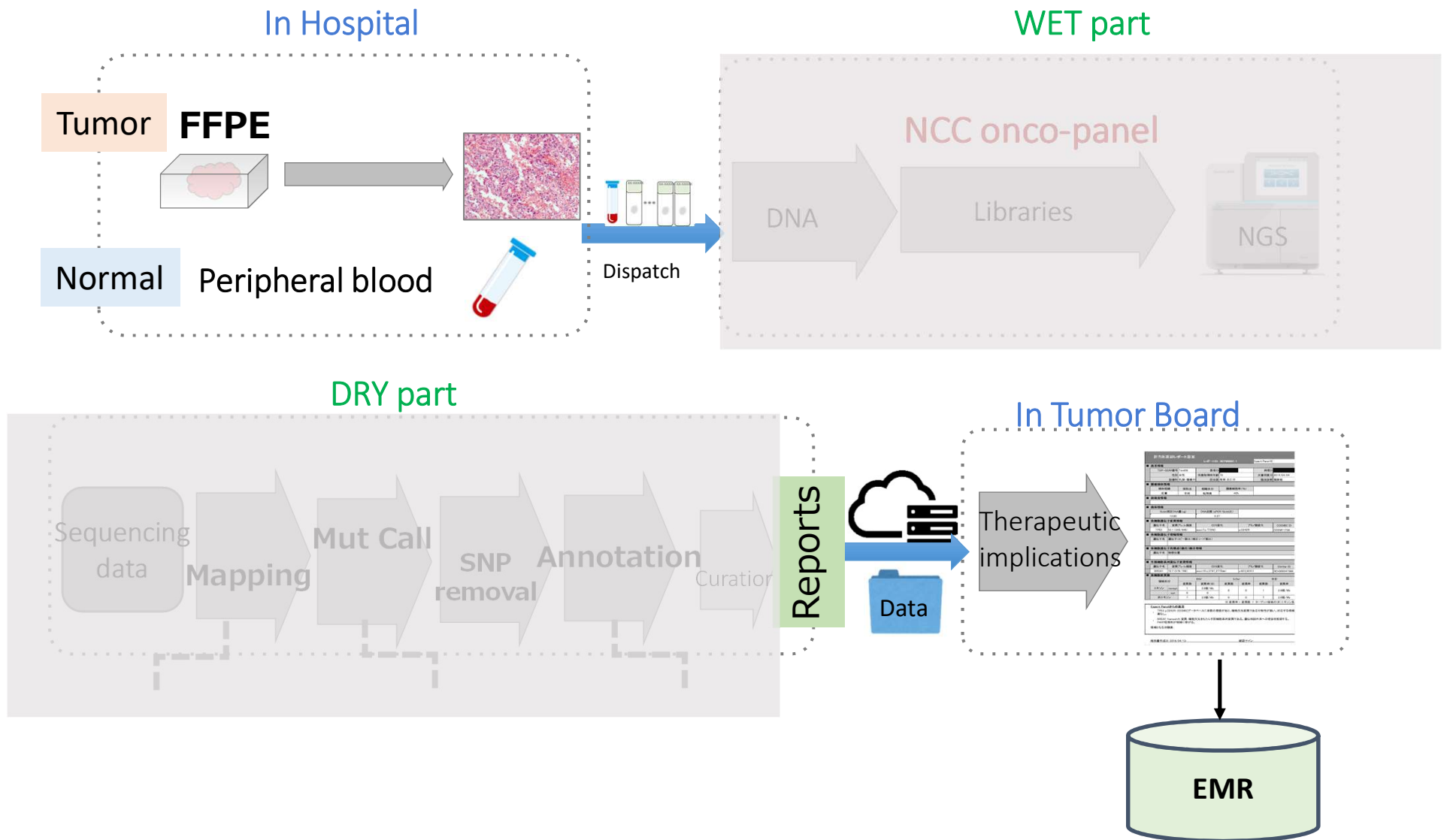
がんゲノム医療の流れ  
 1 主治医が説明し、患者が同意  
 2 がん細胞の準備  
 3 100種類以上の遺伝子を一度に解析  
 4 変異を特定  
 5 エキスパート(パネル)による分析  
 6 最適な治療を提案

がんゲノム医療の体制のイメージ  
 年内に30の拠点病院を新設予定

地域	中核拠点病院	連携病院の数の数
北海道	北海道大病院	6
東北	東北大病院	7
関東甲信越	国立がん研究センター東病院 国立がん研究センター中央病院	48
中部	東京大病院 慶応大病院 名古屋大病院	28
近畿	京都大病院 大阪大病院	30
中国四国	岡山大病院	22
九州・沖縄	九州大病院	15

結果による差別「禁止を」  
 がんゲノム医療「遺伝子検査」の普及に伴い、遺伝子検査の結果をめぐり民間の医療保険への加入や勤務先の採用に不利な扱いを受けるおそれがある。厚生労働省は、遺伝子検査の結果をめぐり差別を禁ずるルールの整備を進める方針だ。

# Operation after full completion of technology transfer

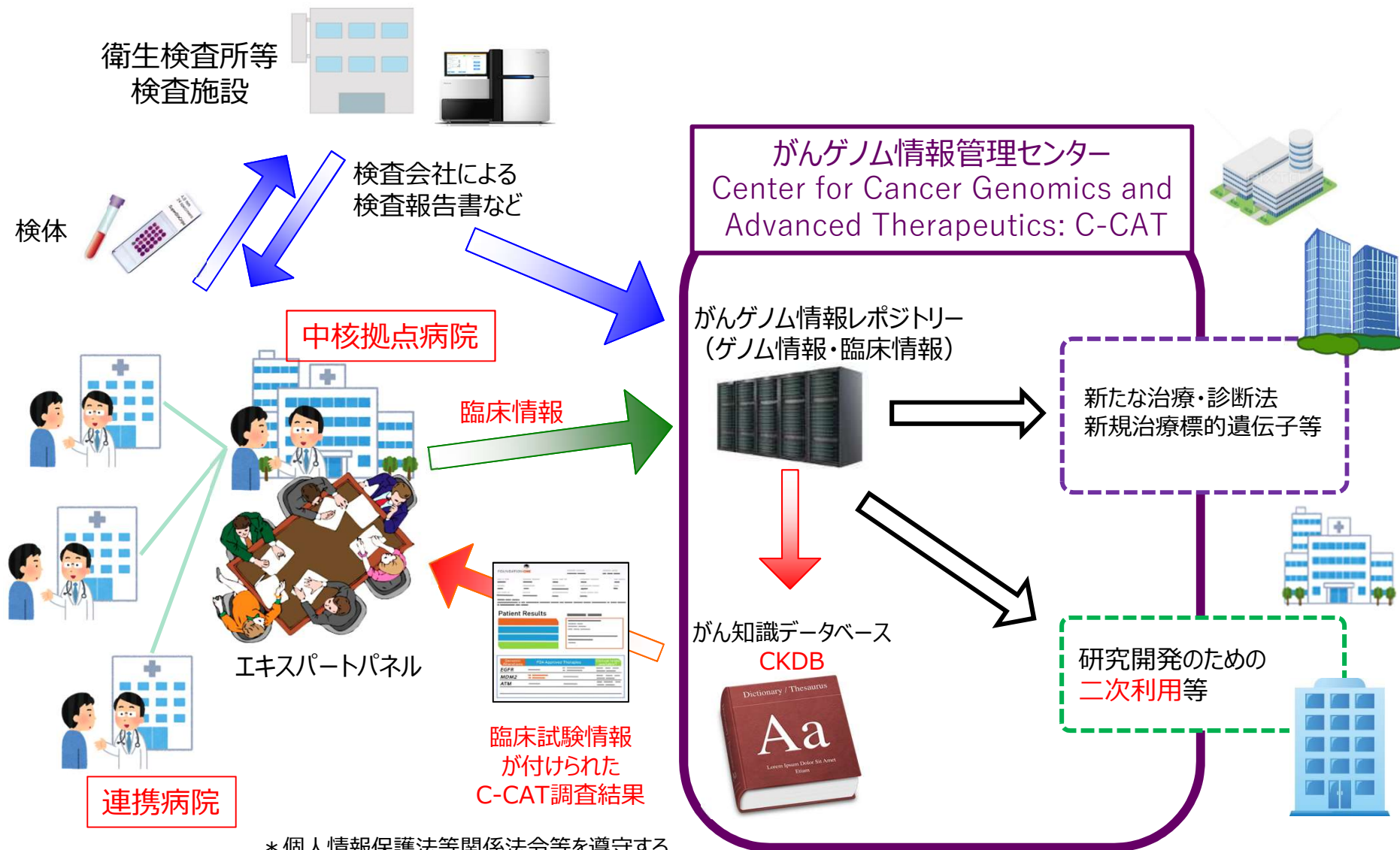


# TOP-GEAR で感じていた問題点

- **他院の臨床試験情報が無い**
  - 臨床試験であれば、経済的負担が軽減された形で、新薬を享受できるメリットがある
  - 院内臨床試験の情報を、先端医療科の先生方が持ち寄る形態では限界
  - せっかく変異が分子標的薬とマッチしたのに。。。
- **システマティックで継続的な患者情報のフォローアップ体制の欠落**
  - 薬は効いたのか、その後...？
  - 臨床試験情報の更新
- **臨床情報と付随したデータベースの欠落**
  - 変異の集計データベースは作成した。しかし、臨床情報が。。。
  - 薬剤応答などの臨床情報と関連するDNA の特徴を、発見できる可能性

# 2018年 C-CAT (がんゲノム情報管理センター)、および がんゲノム医療 中核・連携体制

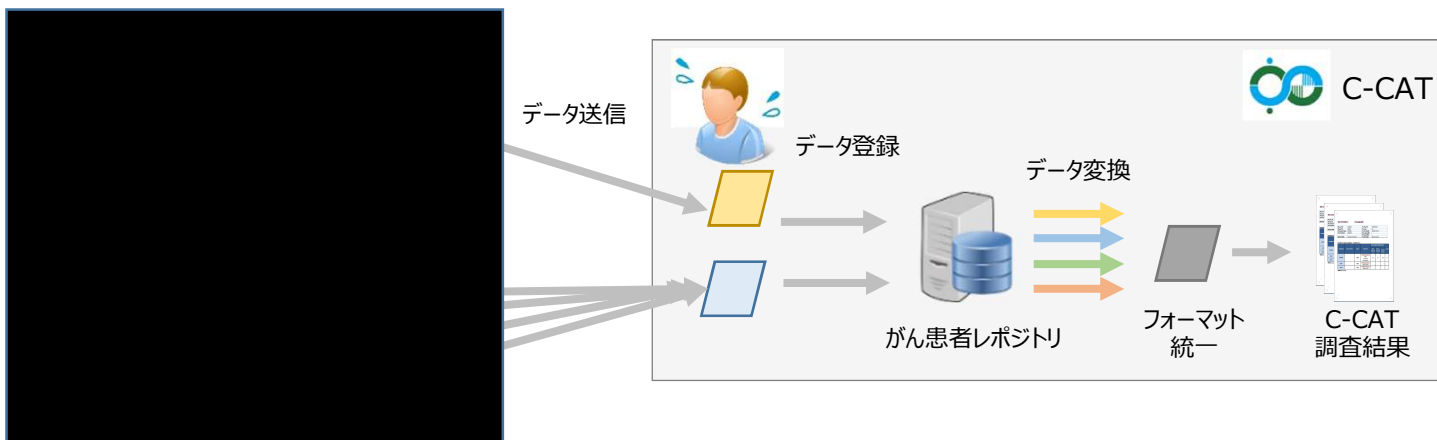
(2018年6月 がんゲノム情報管理センター記者発表会 がんゲノム情報管理センター資料より改変)





# データ転送とC-CAT 調査結果

- 現在2社の製品が、保険適用されている



## C-CAT調査結果

c-cat-findings\_20191220\_5123456789

### 1 基本項目

#### 1-1 患者

登録ID	5123456789	患者識別ID	NOA18073105	検体識別番号	1616006918073100
年齢	62	性別	女	がん種	BREAST

#### 1-2 医療機関

中核拠点病院	大学病院E	連携病院	テスト病院E1
--------	-------	------	---------

#### 1-3 検査

検体採取日	2019/05/11	パネル名	NCC oncopanel v4.1
-------	------------	------	--------------------

### 2 調査結果

概要

▲ 薬剤への到達性の指標をご参照ください。

検出変異数	国内承認薬	国内臨床試験中	国内適応外薬	海外臨床試験中	FDA承認薬
体細胞変異: 8 生殖細胞系列変異: 2	3	6	3	26	6

No.	マーカー	エビデンスタイプ	臨床的意義	エビデンスレベル	薬剤	薬剤への到達性	米国エビデンスレベル
1	ATM E2444K 0.39 (165/421)	Predictive	Sensitivity/Response	E	olaparib	国内承認薬 国内臨床試験中 (1件) FDA承認薬	Tier 2C Likely Pathogenic 海外臨床試験中 (10件)

## C-CAT 調査結果： 遺伝子異常に適合する分子標的薬と、臨床試験が載ったレポート

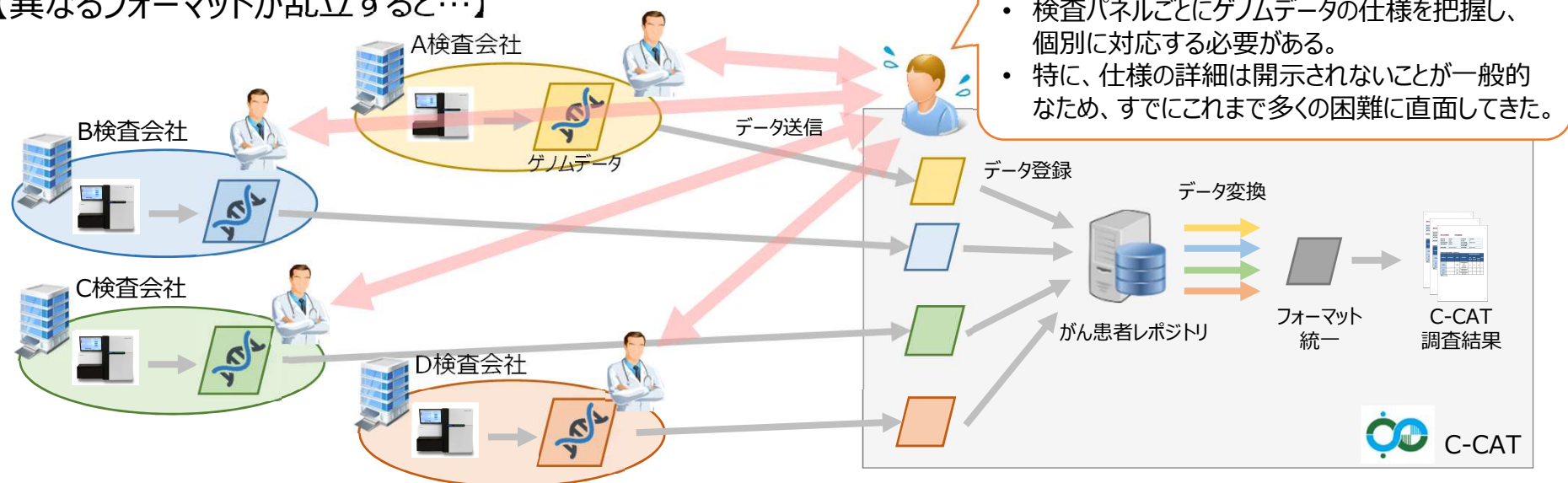
### 塩基置換、挿入、欠失 (DNA)

No.	マーカー	エビデンスタイプ	臨床的意義	エビデンスレベル	薬剤	薬剤への到達性	米国エビデンスレベル
1	ATM E2444K 0.39 (165/421)	Predictive	Sensitivity/Response	E	olaparib	国内承認薬 国内臨床試験中 (1件) FDA承認薬	Tier 2C Likely Pathogenic 海外臨床試験中 (10件)
		Oncogenic	Likely Pathogenic	F			
2	TP53 c.994-1G>A 0.80 (376/469)	Predictive	Sensitivity/Response	E	doxorubicin hydrochloride	国内承認薬 FDA承認薬	Tier 2C Pathogenic 海外臨床試験中 (1件)
		Oncogenic	Likely Oncogenic	F			
3	ABL1 F317L 0.26 (548/2141)						Tier 3 Uncertain Significance
4	BRCA2 V2109I 0.51 (387/755)				avelumab + talazoparib (Trial Condition)	国内臨床試験中 (1件)	Tier 3 Uncertain Significance

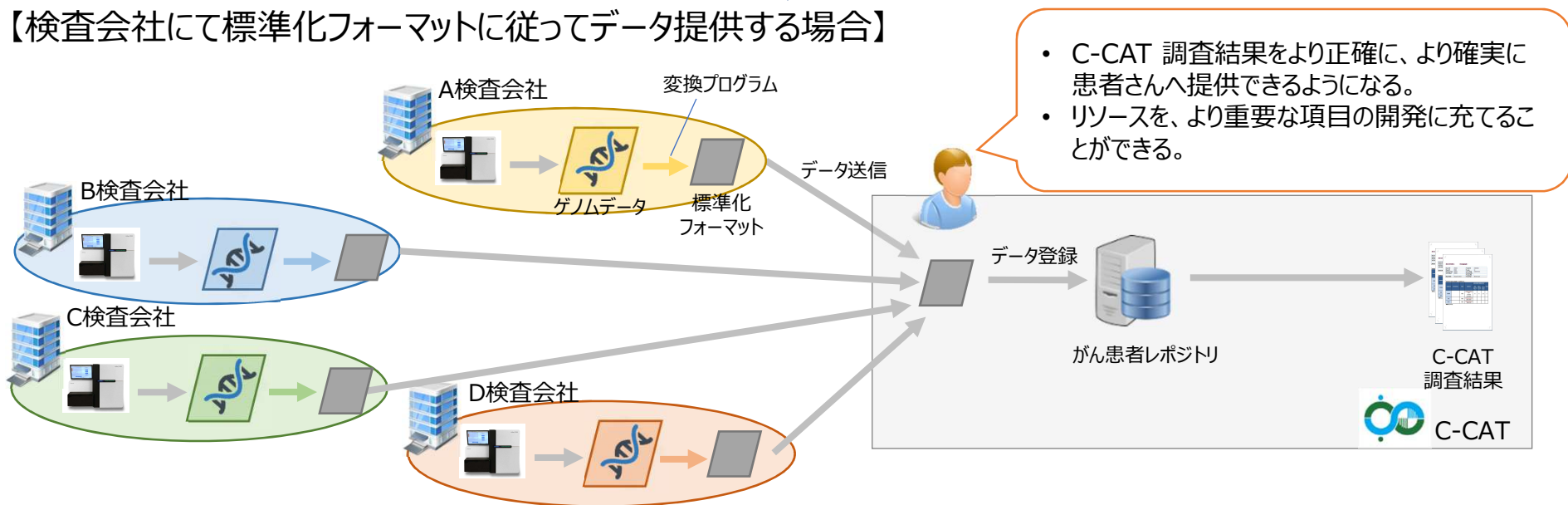


# 「がんゲノム検査標準化フォーマット」の策定

## 【異なるフォーマットが乱立すると…】



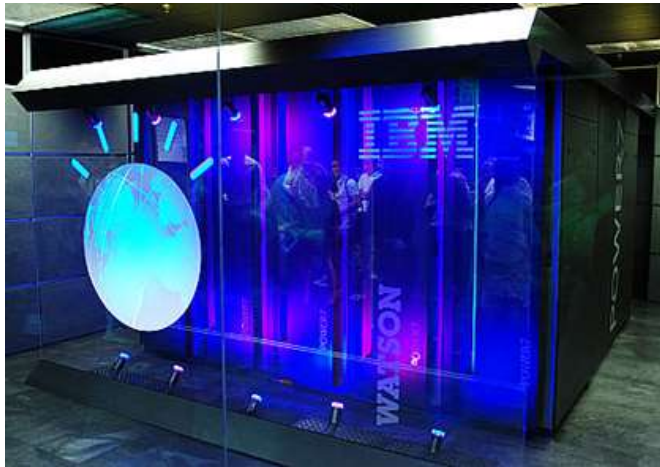
## 【検査会社にて標準化フォーマットに従ってデータ提供する場合】



将来

# 人工知能による解釈

- IBM Watson (from IBM)



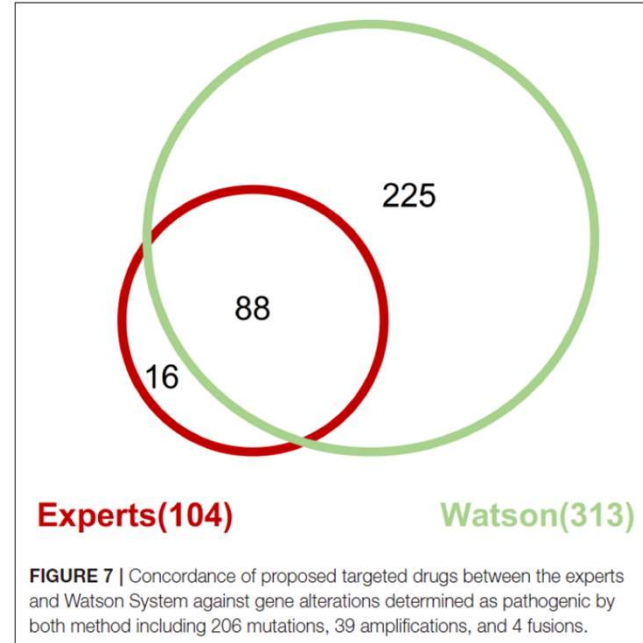
- Watson は、ウェブ上にあるすべてのPubMed アブストラクト 2500 万件以上を「読んで」といわれている。
- ドライバー遺伝子および分子標的薬の提案をする。
- 医師の負担を軽減できる可能性がある

## TOP-GEAR プロジェクトへの適用 (Itahashi et al, 2018, Frontiers in Med.)

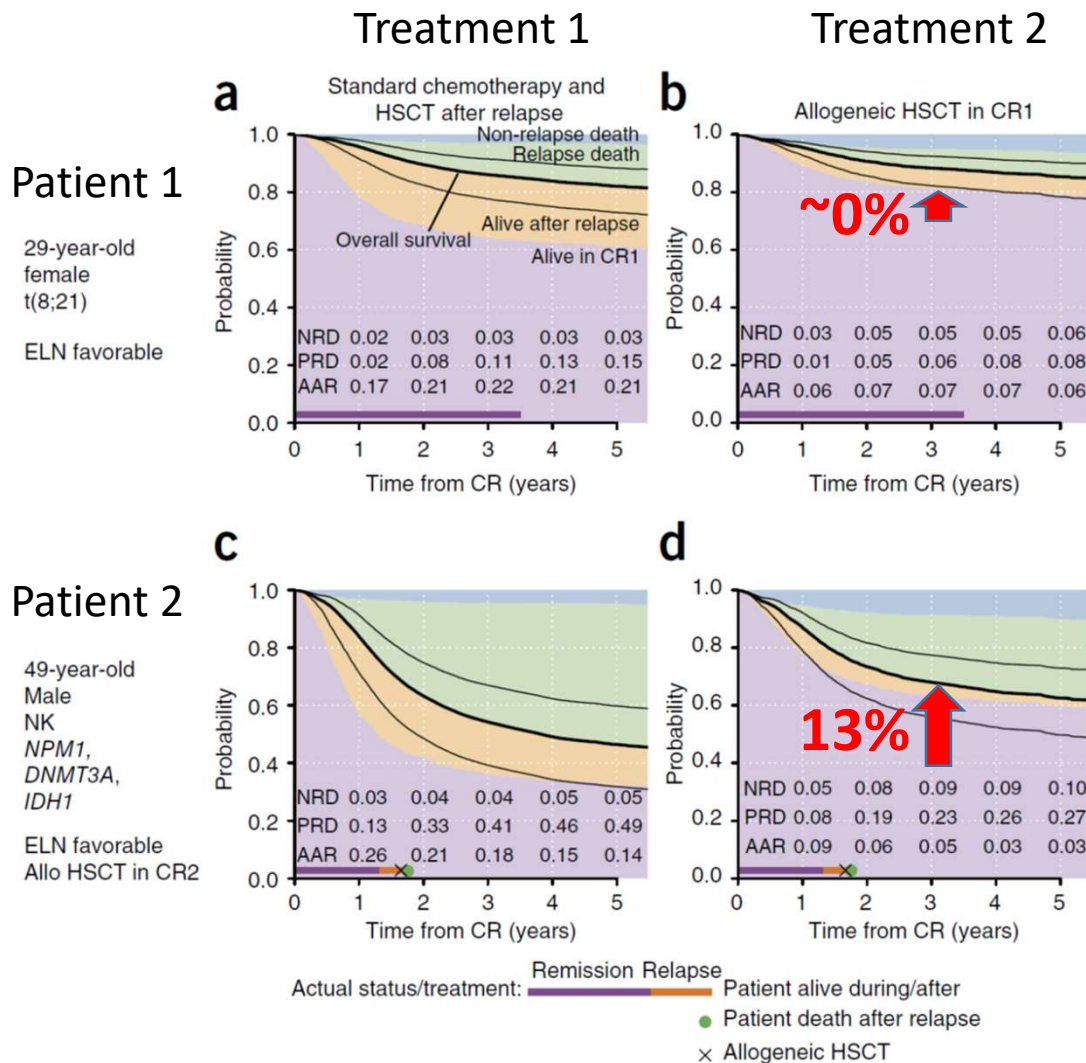
### Evaluating Clinical Genome Sequence Analysis by Watson for Genomics

Kota Itahashi<sup>1</sup>, Shunsuke Kondo<sup>1,2\*</sup>, Takashi Kubo<sup>3</sup>, Yutaka Fujiwara<sup>1</sup>, Mamoru Kato<sup>4</sup>, Hitoshi Ichikawa<sup>3,5</sup>, Takahiko Koyama<sup>6</sup>, Reitaro Tokumasu<sup>1</sup>, Jia Xu<sup>8</sup>, Claudia S. Huettnner<sup>8</sup>, Vanessa V. Michellini<sup>9</sup>, Laxmi Parida<sup>6</sup>, Takashi Kohno<sup>3,9</sup> and Noboru Yamamoto<sup>1</sup>

1. 変異が病的かどうかに関して、国立がん研究センターの専門家との一致率は、94.5%
2. 提案される治療法の一致



# A new type of precision medicine utilizing multiple variables (via AI in the future)?



- 1,540 acute myeloid leukemia
- 111-gene target sequencing
- Used all 111 genes as variables
- Treatment is also variable
  - The standard, or allogeneic hematopoietic stem cell transplant (HSCT)
- Treatment is decided based on predicted survival curves

(Gerstung et al, 2017, Nat Genet)

# まとめ 1

- 2018年12月、がんゲノム医療の検査機器が、PMDA（本邦の薬事承認機関）によって、国内で初めて薬事承認された。
- 2019年6月、当該検査機器による検査が保険適用され、がんゲノム医療が保険診療として開始されることとなった。
- がんゲノム学の発展と分子標的薬の増加が、がんゲノム医療実践の基礎となっている。
- 特に、次世代シーケンサーの登場が、ターニングポイントであった。
- 次世代シーケンサーは大量のデータを産出し、データを処理するためバイオインフォマティクス（生物情報学的）技術が必須となる。
  
- 国立がん研究センターでは2012年から、TOP-GEARプロジェクトという臨床シーケンス（がんゲノム医療）の研究を開始した。
- 国産技術の開発はその目的の一つであり、我々はcisCall, cisInter というバイオインフォマティクス・プログラムを開発した。
- このプログラム、さらに、知識ベースや運用技術は、企業に技術移転され、2018年先進医療として認定され、そして2019年がんゲノム医療として国内初の保険適用となった。
- 開発途中で、ニボルマブのような免疫チェックポイント阻害薬が医療現場に出現し、それに対する対応も行った。

# まとめ 2

- 現在のがんゲノム医療は、遺伝子パネル検査である。
  - 約100-300 個の遺伝子に関するDNA 異常(変異)を検出し、それに対応する薬剤を処方する。
  - 変異には、点変異・コピー数異常・融合遺伝子などがある
- 情報処理技術
  - 次世代シーケンサーで決定したがんDNA の配列を、アライメント技術によって標準ヒトゲノム配列に対応づける。これによって、がんDNA 配列のゲノム上での位置が突き止められる。
  - 点変異・コピー数異常・融合遺伝子を検出するには、生物学的背景を考慮したアルゴリズムを使用する。
  - レポート作成プログラムでは、検出された遺伝子異常と既存知識のデータベースとを突き合わせ、適応可能な分子標的薬を提案する
- 社会実装
  - がんゲノム医療 中核・連携体制が構築された
  - C-CAT(がんゲノム情報管理センター)
    - 上記体制および検査会社と連携して、国内の保険診療がんゲノム・データを集約(海外流出の防止)
    - 将来の分子標的薬開発、および、より良い適用方法開発のためのデータベース
    - 適応薬剤、および全国の臨床試験情報を付与した「C-CAT 調査結果」を発行
    - 「がんゲノム検査標準化フォーマット」を策定中
- 未来
  - 人工知能
    - 医師の負担を軽減できる可能性
  - 個人型の精密医療
    - 現在は、層別型



END