

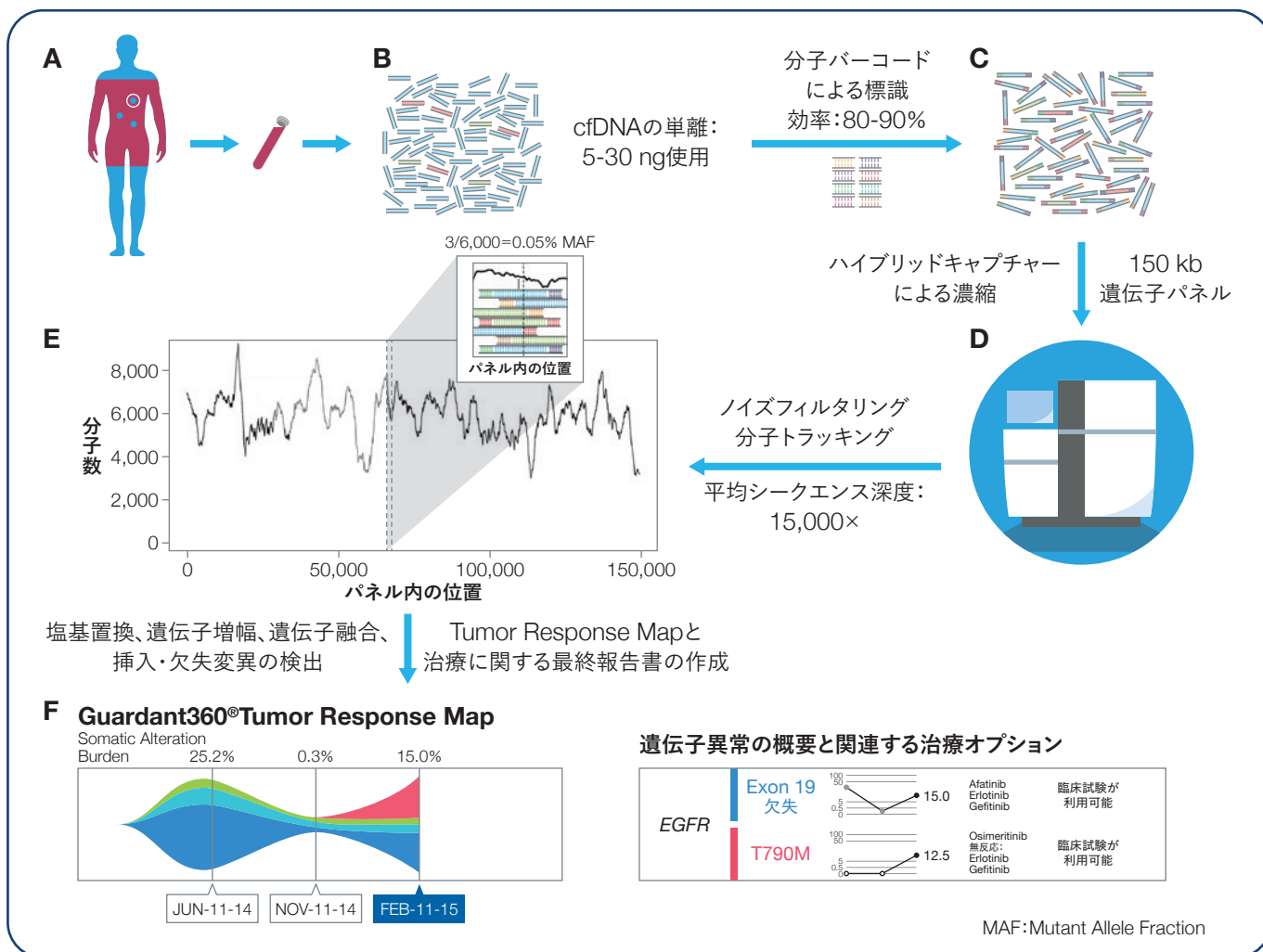
# デジタルシーケンスを用いた ctDNA\*解析

\*:循環腫瘍DNA

セルフリーDNA(cfDNA)の発見からその後の多くの研究を経て、リキッドバイオプシーが臨床現場で本格的に利用されるようになりました。ガーダントヘルスは、がん治療における血液検査のリーディングカンパニーとして、リキッドバイオプシーから遺伝子異常を検出する独自の技術と解析パイプラインを開発しています。高精度なリキッドバイオプシーを支えるテクノロジーを紹介します。

## デジタルシーケンシングを用いたctDNA解析のプロセス

末梢血(全血)からcfDNAを抽出後(A)、多種類の既知配列のオリゴヌクレオチドアダプター(分子バーコード)を両末端に高効率で付与することで、1分子ごとに固有の標識をし(B)、シーケンスライブラリーを構築します(C)。ハイブリッドキャプチャーによりシーケンスライブラリーを濃縮後、平均深度約15,000×でシーケンシングします(D)。シーケンス情報をリファレンスゲノムにマッピングします。バイオインフォマティクスにて、一本鎖ごとに識別された分子バーコード情報を使ってエラーを排除します(E)。体細胞系列の遺伝子異常を生殖細胞系列の変異から切り分けて同定し、臨床的意義・治療オプションとともに最終報告書が作成されます(F)。



Reprinted from Clin Cancer Res. 2018; 24(15): 3539-3549, Odegaard JI, et al., Validation of a Plasma-Based Comprehensive Cancer Genotyping Assay Utilizing Orthogonal Tissue- and Plasma-Based Methodologies, copyright 2018, with permission from AACR. 著者にガーダントヘルスの株式を所有する者、同社から研究助成金を受領している者および同社の従業員等が含まれる。

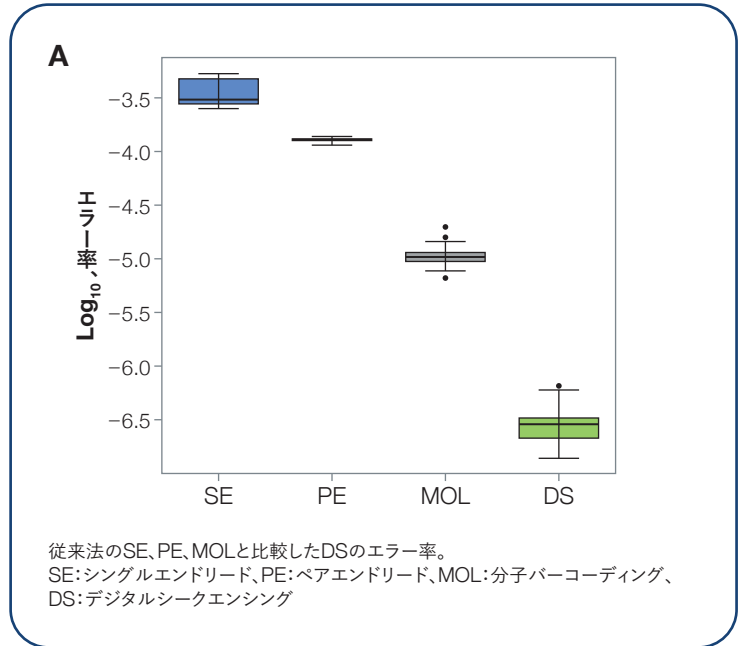
\*Guardant360<sup>®</sup> CDxの保険適用: 算定要件をご参照の上、ご使用を判断してください。

### 高度管理医療機器

販売名: Guardant360 CDx がん遺伝子パネル  
 一般的名称: 遺伝子変異解析プログラム(がんゲノムプロファイリング検査用)  
 体細胞遺伝子変異解析プログラム(抗悪性腫瘍薬適応判定用)  
 承認番号: 30300BZX00345000

## ctDNA解析の技術的な性能特性

デジタルシーケンシングを用いた解析方法は、シングルエンド解析と比較して、次世代シーケンシングのプロセスに内在する塩基置換および挿入・欠失変異の読み取りエラーを3桁以上抑制しました(塩基あたり約 $10^{-3.5}$ から $10^{-6.5}$ まで抑制、A)。それにより、正確な遺伝子異常の検出が可能になりました。



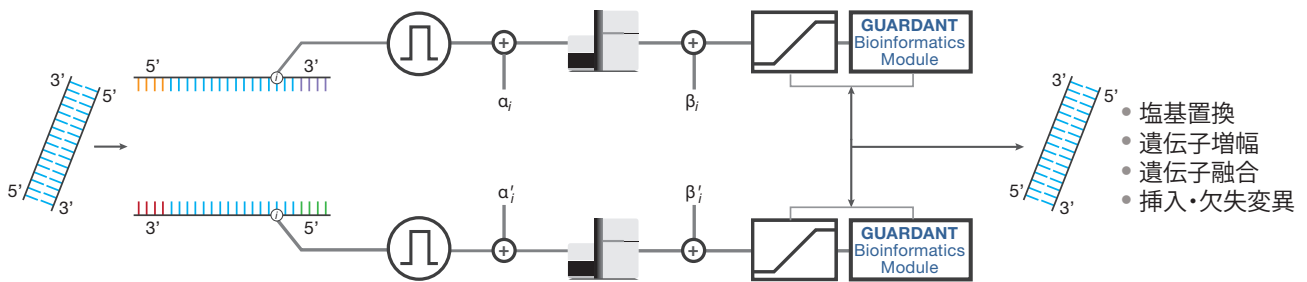
\*Guardant360 CDxの分析性能については「Guardant360 CDx がん遺伝子パネル 製品リーフレット」を参照ください。

Adapted from Clin Cancer Res. 2018; 24(15): 3539-3549, Odegaard JI, et al., Validation of a Plasma-Based Comprehensive Cancer Genotyping Assay Utilizing Orthogonal Tissue- and Plasma-Based Methodologies, copyright 2018, with permission from AACR.

### 解説 デジタルシーケンスとは

cfDNA分子の両末端に分子バーコードを付与することで、各々のcfDNA分子を識別できるデジタルシーケンスライブラリーを構築します。ライブラリーをセンス・アンチセンス鎖から読み取り、分子バーコード情報をもとにライブラリー構築に伴う転写エラーノイズを低減し、元のcfDNA分子の遺伝子配列を同定します。これにより、1分子レベルでの遺伝子配列読み取りを実現しました。デジタル通信でエラー低減に用いられる差動伝送になぞらえ、デジタルシーケンシングと呼ばれています<sup>1)</sup>。

このライブラリー構築では、使用したcfDNA分子への分子バーコードの付与効率が80-90%、ライブラリーへの変換効率が60-85%と、プロトコルの最適化が行われています<sup>2)</sup>。この変換効率は、既存の方法の2-10倍以上に向上しました<sup>3,4,5)</sup>。高い変換効率は感度に直結し、非常に重要です。



Lanman RB, et al. PLoS One. 2015;10:e0140712.  
 本研究はガーダントヘルスから資金提供を受けている。著者に同社から給与を受領している者が含まれる。

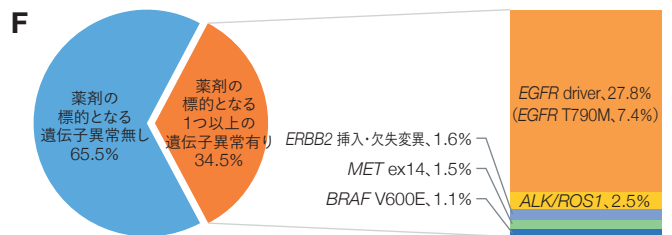
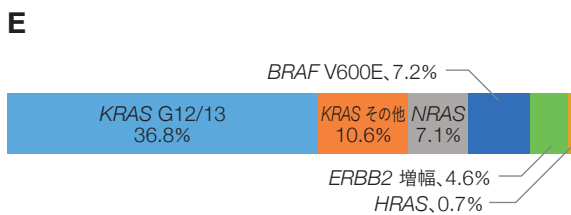
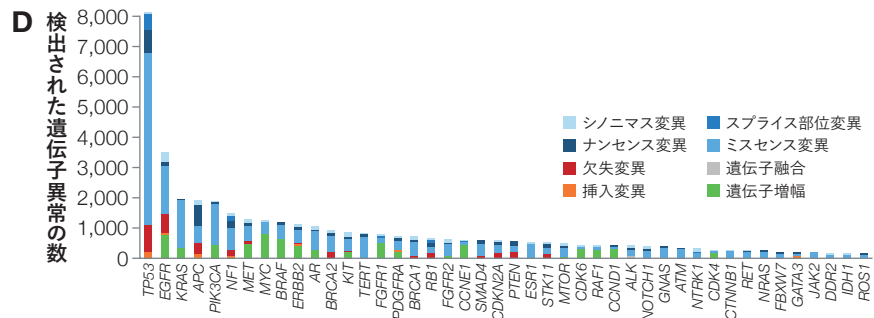
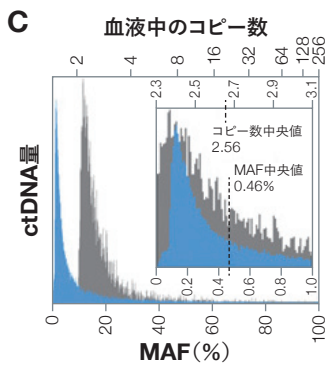
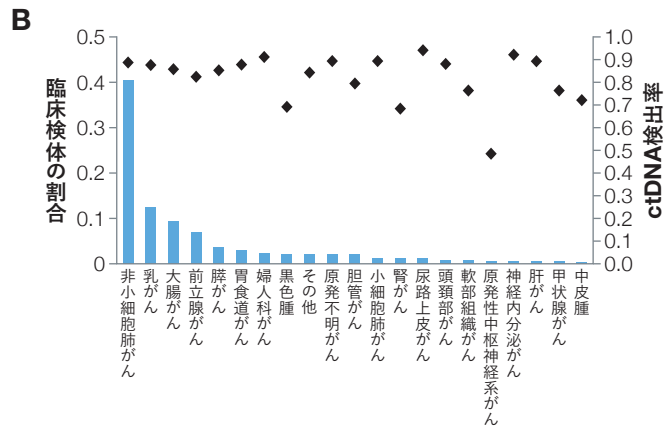
1) Lanman RB, et al. PLoS One. 2015;10:e0140712.  
 2) Odegaard JI, et al. Clin Cancer Res. 2018;24:3539-3549.  
 3) Norton SE, et al. Clin Biochem. 2013;46:1561-1565.  
 4) Diehl F, et al. Nat Methods. 2006;3:551-559.  
 5) Forshew T, et al. Sci Transl Med. 2012;4:136ra68.

## 臨床への応用

成人進行性固形がん患者10,593例から採取した血液検体を用いた試験では、高い解析成功率(99.6%)および感度(ctDNA検出率:85.3%)が示されました(A、B)。FDA承認された適応治療オプションがある遺伝子異常は16.7%(A)、治療法があるか臨床試験に関連する遺伝子異常は72.0%に認められ、高い潜在的治療可能性が示されました。多くの遺伝子異常がごく少量でしか検出されないため(MAF中央値:0.46%)(C)、高感度の診断法の必要性が示されました。検出された遺伝子異常は、以前の報告とほぼ一致していました(D)。大腸がん患者の66.7%が抗EGFR抗体療法への耐性に関連する遺伝子異常を有し、そのうち54.9%のみが一般的なKRAS検査で検出可能でした(E)。非小細胞肺癌では、薬剤の標的となる1つ以上の遺伝子異常が認められた割合は34.5%でした(F)。

**A 全検体数** **n=10,593**

解析成功率	99.6% (n=10,547)
ctDNAが検出できた検体の割合	85.3% (n=9,000)
各検体の最大MAF値[中央値(範囲)]	1.6% (0.01-97.7%)
各遺伝子異常のMAF値[中央値(範囲)]	0.46% (0.01-97.7%)
塩基置換/挿入・欠失変異/遺伝子増幅 検体あたりの変異数[中央値(範囲)]	3.6/0.5/0.8 (0-102)
FDAで承認された適応治療のある 遺伝子異常の割合	16.7% (n=1,766)



(A) 本試験の各種統計量、(B) がん種別の臨床検体の割合(青棒)およびctDNA検出率(◆)、(C) 体細胞系列の遺伝子異常の最大MAF値(下横軸)またはコピー数(上横軸)で表した腫瘍ctDNA量の分布、(D) 遺伝子別に示した体細胞系列の遺伝子異常の検出数、(E) 抗EGFRモノクローナル抗体療法への耐性に関連した遺伝子異常の頻度、(F) 非扁平上皮非小細胞肺癌患者4,521例における治療標的となる遺伝子異常の頻度。

## まとめ

- デジタルシーケンシングによるctDNA解析では、末梢血から抽出したcfDNAを分子バーコードにより標識し、シーケン斯拉イブラリーを高効率に構築します。
- 平均深度約15,000×でペアエンドリードにて一本鎖ごとにシーケンスを行い、リファレンスゲノムにマッピングします。バイオインフォマティクスにて、一本鎖ごとに識別された分子バーコード情報を使ってエラーを排除します。
- 成人進行性固形がん患者10,593例の試験では、デジタルシーケンシングの高い感度と解析成功率、治療標的となる遺伝子異常が組織を用いた解析と同等に検出されたことが確認されました。

\*Guardant360® CDxの保険適用:算定要件をご参照の上、ご使用を判断してください。

ガーダントヘルスジャパン株式会社 〒105-7590 東京都港区海岸1-7-1 東京ポートシティ竹芝オフィスタワー10F



ウェブサイト：<https://www.guardanthealthjapan.com>



クライアントサービス:0120-545-041



お問い合わせ：[japan.clientservices-amea@guardanthealth.com](mailto:japan.clientservices-amea@guardanthealth.com)

