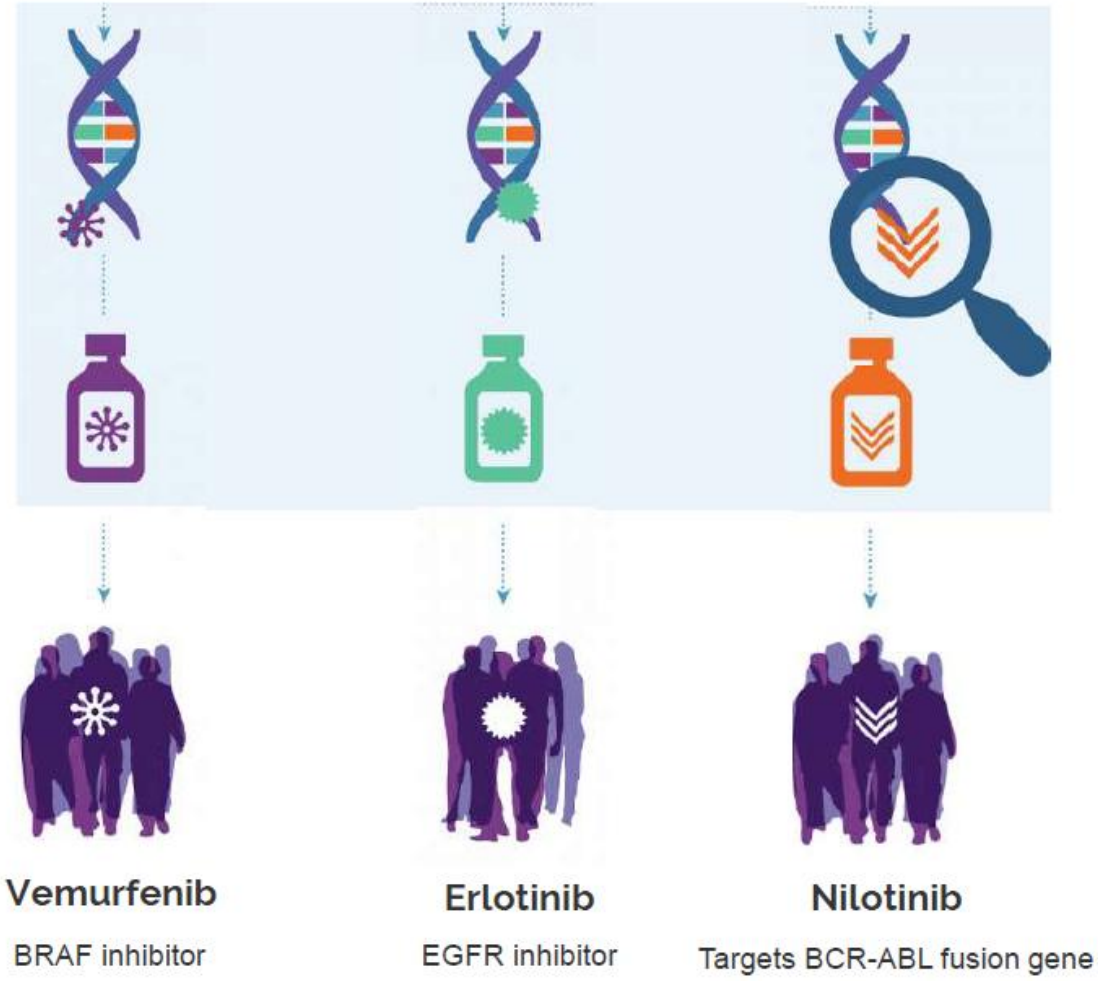
がんゲノムプロファイリング検査における エビデンス収集と評価

フィルジェン株式会社　バイオインフォマティクス部
(support@filgen.jp)

はじめに

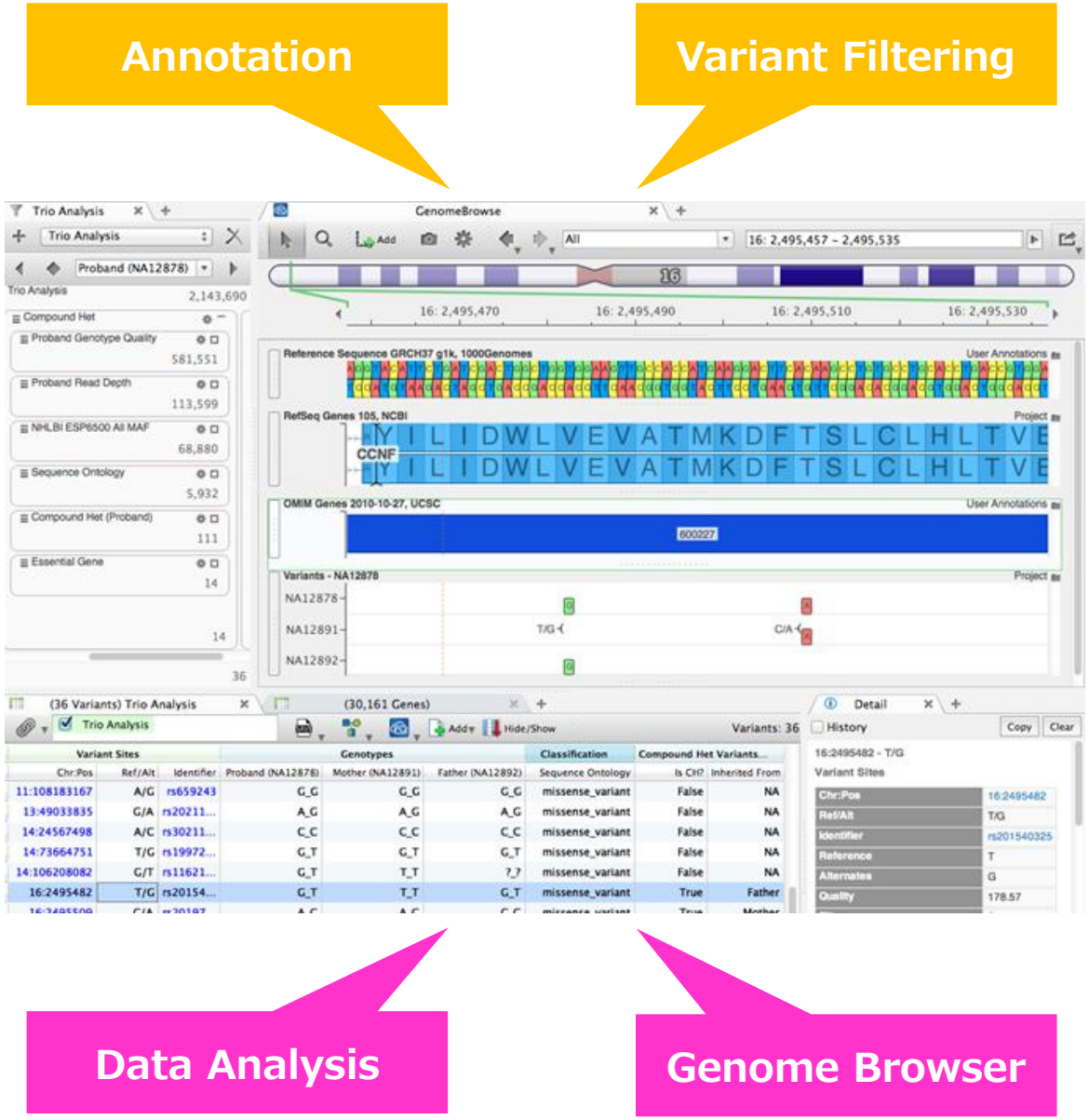
- がんゲノムプロファイリング検査では、次世代シークエンサーを使って検出された遺伝子バリアントの臨床的意義付けや治療方針の議論が必要で、これには専門的な知識が必要になり、臨床の現場の大きな負担となっています。

- Golden Helix社VarSeq®の有償アドオンであるVSClinical AMPでは、体細胞バリアントなどのバイオマーカーの臨床エビデンスや治療薬、臨床試験情報を提供することで、これらの負担を軽減します。



VarSeq®

Filgen® biosciences & nanosciences



■ 様々なデータベースを用いて、バリアントデータ（VCFファイル）へアノテーション付けを実行

- RefSeq Genes
- dbSNP
- ClinVar
- OMIM
- CIViC
- ICGC / TCGA
- MSK Impact
- Orphanet
- BRCA Exchange
- PMKB
- dbNSFP
- REVEL
- CADD
- 1000 Genomes
- NHLBI 6500 Exomes
- ExAC Variant
- gnomAD Exomes/Genomes
- GenomeAsia 100K
- 各種遺伝子パネルのターゲットデータ

...など

■ アノテーション付けされたバリアントデータより、任意の検索条件でデータのフィルタリングを行うワークフローを作成

■ カバレッジ計算やトリオ解析、表現型情報に基づく遺伝子ランキングなどの解析アルゴリズムを搭載

■ ゲノムブラウザーにより、サンプルのバリアントデータやリードアライメントデータ（BAM/CRAMファイル）、また各種アノテーションを可視化

■ 有償アドオンによる機能拡張で、CNV検出や臨床的意義の自動評価、パイプライン機能などが利用可能

VSClinical

VSClinical®

VSClinical (ACMG)

- メンデル遺伝病における生殖細胞系列バリアントを、ACMGガイドラインの33種類の評価基準に基づいて分類し、病原性（Pathogenic）や良性（Benign）の判定を行う
- ガイドラインのうち18種類の評価基準については、バリアントのアレル頻度、機能予測、臨床情報データベースなどを用いて、自動分類を実行
- 専用の分類用ツールを実行することで、VCFファイルに含まれる全バリアントに対して一括で評価を行い、評価結果に基づきバリアントのフィルタリングが可能

VSClinical (AMP)

- がんにおける体細胞バリアントの臨床的意義の評価に使用
- 各種バイオマーカー（SNV, InDels, CNV, 融合遺伝子, TMB/MSIなど）をAMPガイドラインのエビデンスレベルで分類し、がんの治療薬や臨床試験情報を含めたレポートを作成
- 主要ながんにおけるバイオマーカー情報などを収録した、専用の知識ベースGolden Helix CancerKBが利用可能
- 体細胞バリアントの腫瘍原性（Oncogenicity）をスコアで評価

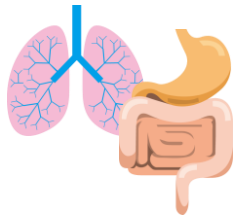
AMPガイドライン

Tier	Classification (Therapeutic, Prognostic, Diagnostic)	Evidence Level	Evidence
I	Variants of Strong Clinical Significance	1A	FDA-approved therapy; included in professional guidelines
		1B	Well-powered studies with consensus from field experts
II	Variants of Potential Clinical Significance	2C	FDA-approved therapies in another tumor type or investigational therapies; multiple small studies w/consensus
		2D	Preclinical trials or a few case reports without consensus
III	Variants of Unknown Clinical Significance	3	Not observed at a significant allele frequency in the general or specific subpopulation databases, or pan-cancer or tumor-specific variant databases
IV	Benign or Likely Benign Variants	4	Observed at significant allele frequency in the general or specific subpopulation databases No existing published evidence of cancer association

Li et al. "Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Somatic Variants in Cancer", 2017

- バイオマーカーに対する、がんの治療方法のアクショナビリティに基づいた分類ガイドライン
- 治療薬の感受性や耐性、さらに予後／診断に関する臨床的な評価を、エビデンスレベルで分類を行う
- 同一バイオマーカーの場合でも、がん種ごとに分類結果は異なる
- VSClinical AMPでは、知識ベースから情報を引き出し、バイオマーカーごとのエビデンスレベルを、ソフトウェアが自動的に分類を行う

バリアント評価の実行手順



がん種情報

バイオマーカー

Golden Helix CancerKB

Biomarker	Tumor Type	Clinical Significance
EGFR L858R	Non-Small Cell Lung Cancer	Tier I Level A
TP53 R273H	Non-Small Cell Lung Cancer	Tier II Level C
RET Activating Mutation	Non-Small Cell Lung Cancer	Tier I Level A

✓ エビデンスレベル分類

\+

✓ 臨床的解釈

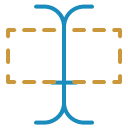
✓ 候補治療薬

✓ 論文リスト

レポート出力

- がん種とバイオマーカーを入力すると、Golden Helix CancerKBに照合が行われ、自動的にエビデンスレベルや各種の臨床評価情報などが出力される
- Golden Helix CancerKBからの出力結果は、他の知識ベースの情報を参照しながら、編集が可能

VSClinical AMPの特長

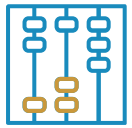


SNVs/Indels, CNVs & Fusion Analysis, Genomic Signatures

様々な遺伝子バリアントの解析に対応

Evaluation Scripts

スクリプトを利用して、TSO-500、Archer、Ion Torrentなどの結果データをダイレクトにインポート



Combination Biomarkers

陰性所見も含めた、遺伝子バリアントの複雑な組み合わせにも対応

Golden Helix CancerKB

専門家がキュレーションした、究極の体細胞変異解釈エンジンである知識ベースを搭載

Oncogenicity Classifier

遺伝子パネル、全エクソーム／全ゲノムシークエンスよりドライバー変異を抽出

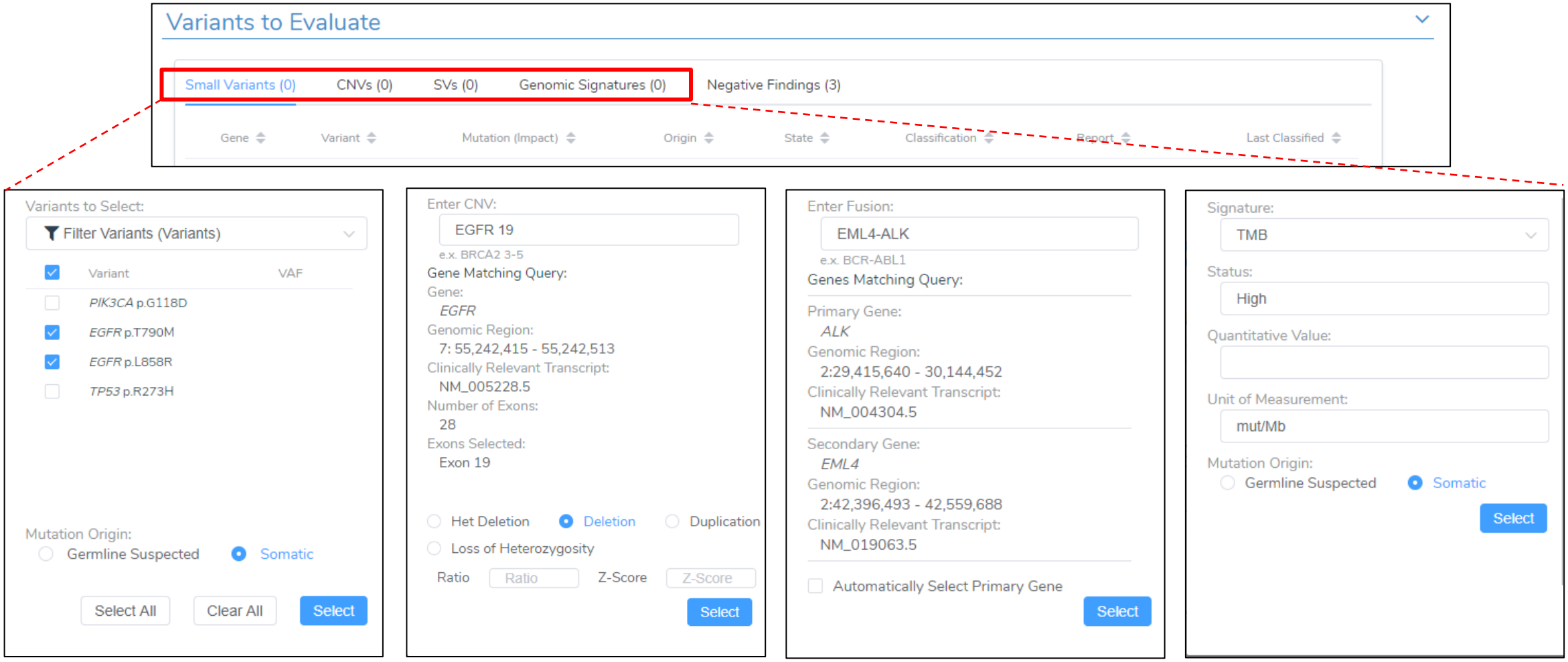
Global Clinical Trials

高度な検索とフィルターを備えた、グローバルな臨床試験情報が使用可能

Golden Helix CancerKB

- Golden Helix社の臨床エキスパートがマニュアルキュレーションで作成した、がんゲノム医療向けの知識ベース
- 遺伝子またはバイオマーカーごとに、該当がん種のクリニカルエビデンス、臨床的解釈や候補治療薬の組み合わせ、参考論文などの情報が収録されている
- 約1,000個の完全にキュレーションされた遺伝子を掲載
- 主要がん遺伝子について、腫瘍特異的なアウトカムと頻度を提供
- 150個以上の新しい血液バイオマーカーの説明
- 診断および予後の解釈が100%以上増加
- NCCNガイドライン推奨薬物療法からの200個以上の新しい薬剤感受性解釈
- 患者の治療選択肢とエビデンスの参考となる約65,000件の臨床試験情報

バイオマーカーの入力



✓ Small Variant

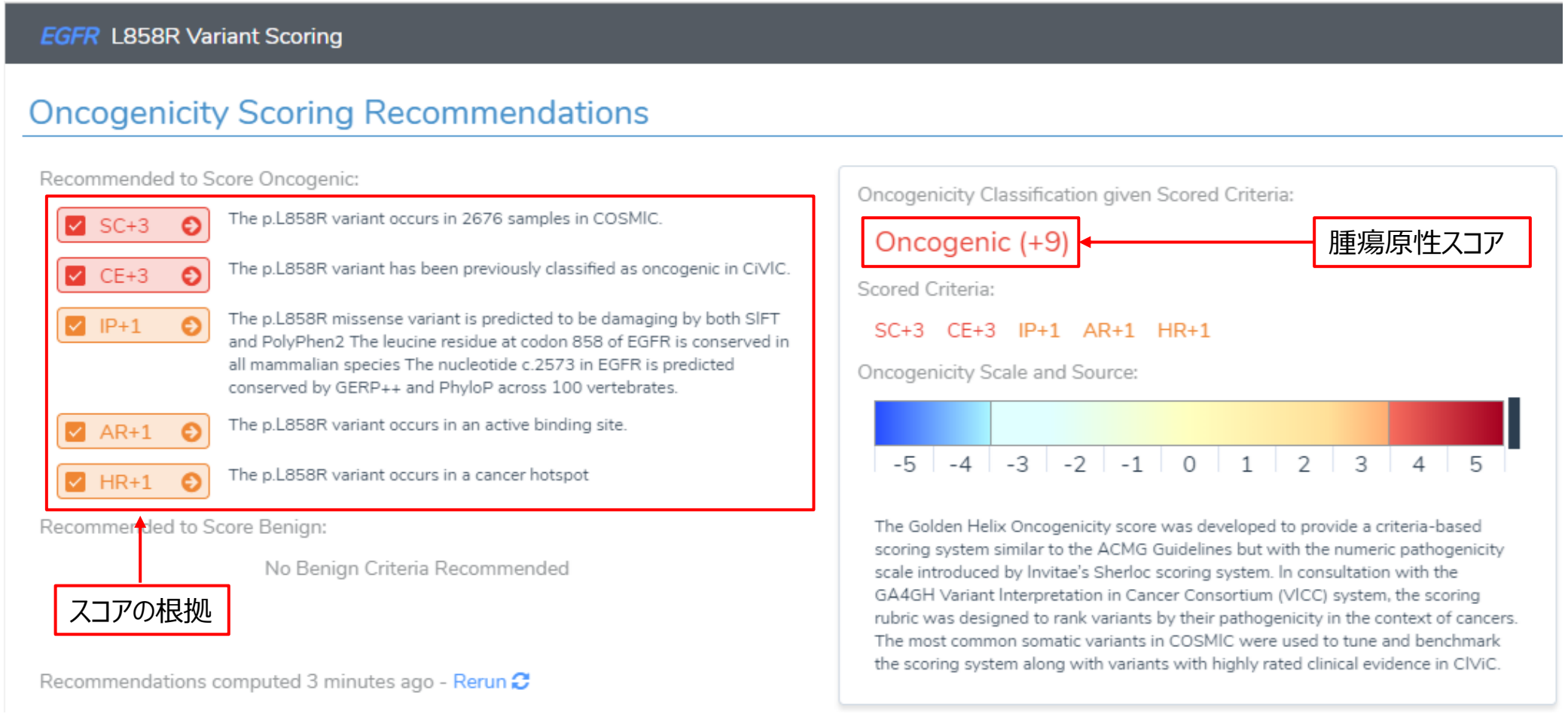
✓ CNV

✓ Fusion Gene (SV)

✓ Genomic Signature

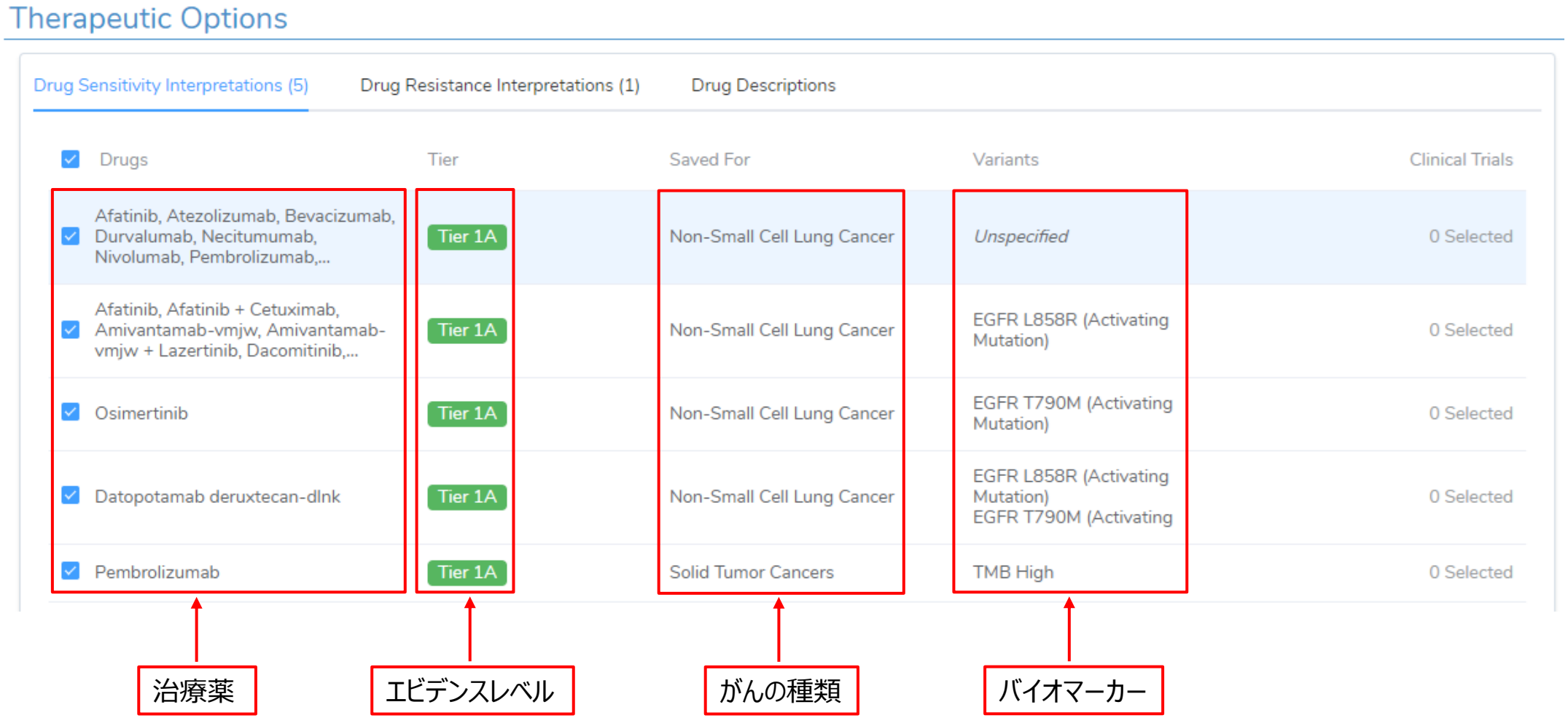
- 評価に用いるバイオマーカーは、VCFファイル内のバリアントを選択するか、またはバリアント名を手動で入力
- Small Variantでは体細胞／生殖細胞の選択や、CNVは重複／欠失の設定も行う

Oncogenicity Scoring



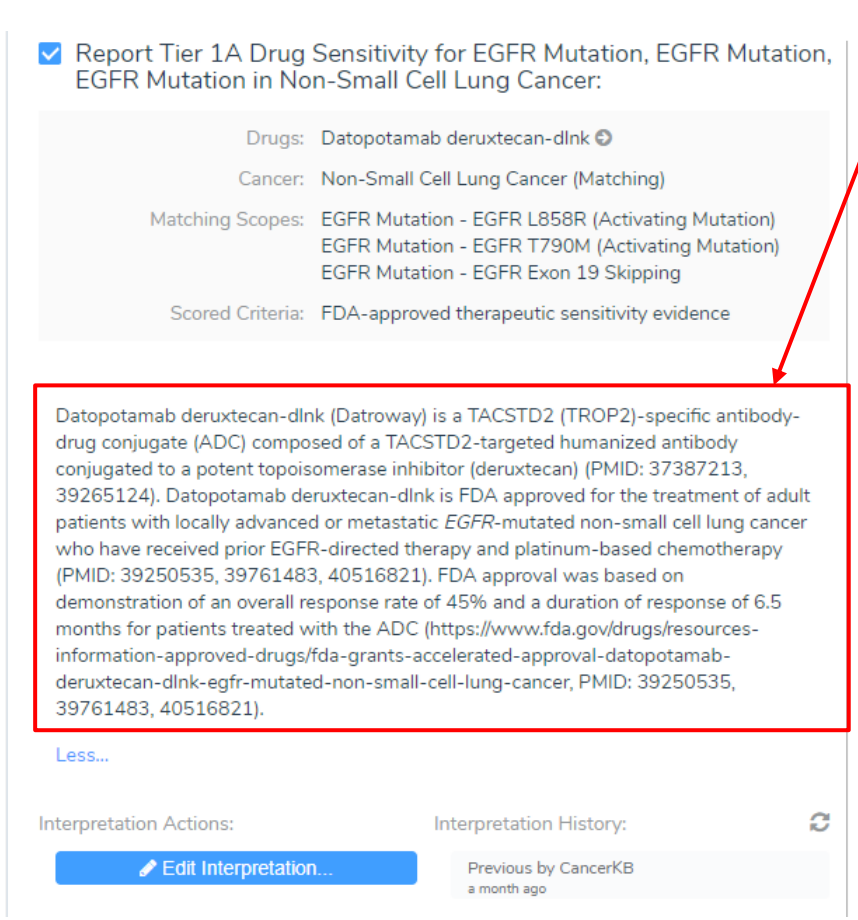
- Small Variantを入力すると、バリアントごとの腫瘍原性のスコアと分類（Oncogenic, Benign, VUSなど）が表示される
- 腫瘍原性スコアは、データベースの情報やバイオインフォマティクス解析によりソフトウェアが自動で計算し、スコアの算出結果の根拠なども確認が可能

クリニカルエビデンスの確認

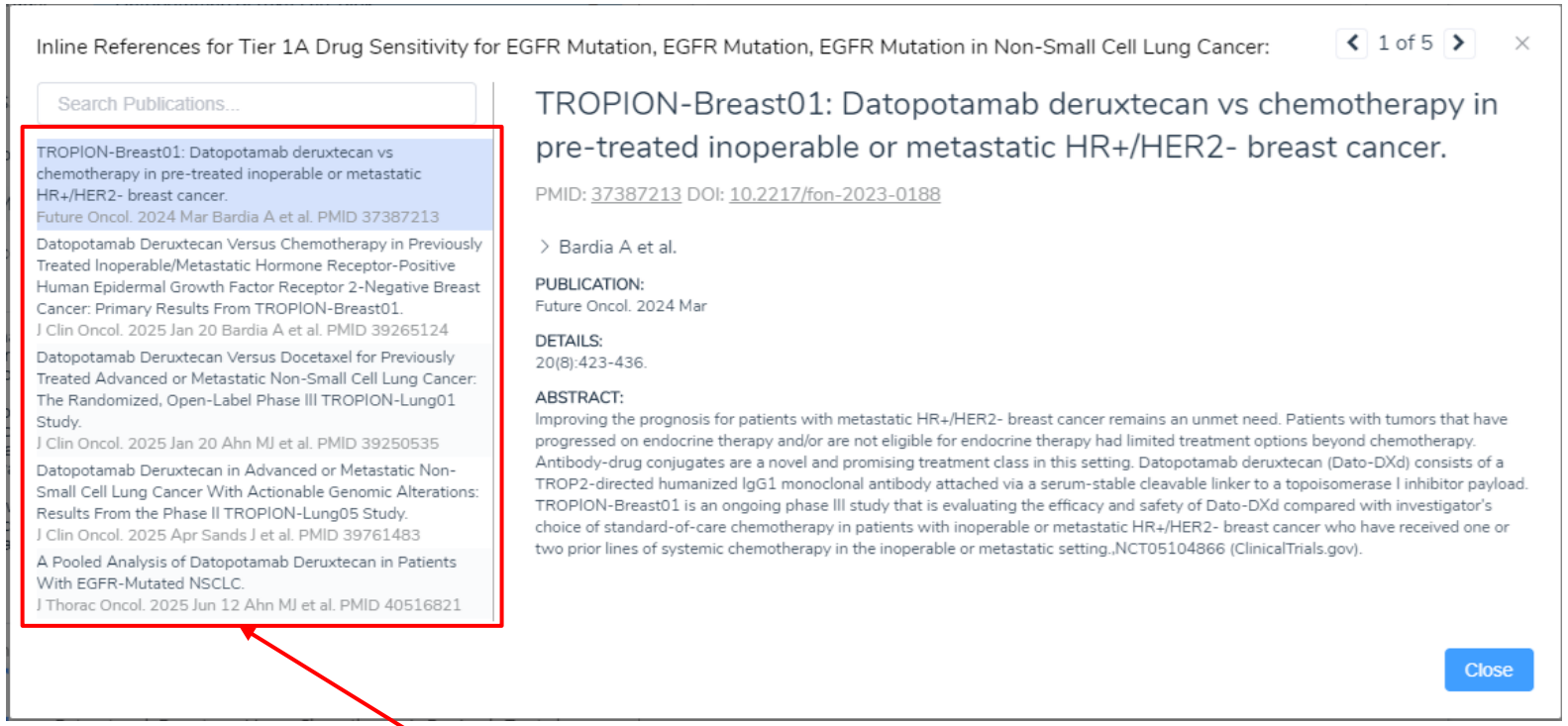


- バイオマーカーとがんの種類を入力すると、治療薬における薬剤感受性などのエビデンス候補の一覧が表示される
- 薬剤感受性の他、薬剤耐性、診断、予後に関する情報も表示される

臨床的解釈と論文リスト



薬剤感受性に関する臨床的解釈



参考論文の一覧

- エビデンスをクリックすると、臨床的解釈が表示される
- 解釈に用いられた論文とアブストラクトの一覧も表示される

様々な臨床的解釈

✓ 遺伝子ごとの解釈

Report *EGFR* Clinical Significance:

Interpretation Saved for: All Cancers

Interpretation: Clear

EGFR (*epidermal growth factor receptor*) is a proto-oncogene, that encodes a member of the EGFR/ErbB family of tyrosine kinases which also includes ERBB2 (HER2), ERBB3 (HER3), and ERBB4 (PMID: 18259690, 19208461, 22239438, 32219702). EGFR is a cell surface transmembrane glycoprotein and is expressed in tissues of epithelial, mesenchymal, and neuronal origin. EGFR has an important role in regulating normal cellular processes including proliferation, differentiation, development, and survival (PMID: 14666659, 29991287, 32124699, 32593400, 35840984). Oncogenic *EGFR* amplification or mutations in the *EGFR* intracellular domain lead to EGFR overexpression and ligand-independent activation of downstream signaling pathways, resulting either directly or indirectly in increased cell proliferation, angiogenesis, invasion, and metastasis (PMID: 25870793, 29991287, 32069320, 35867821). Germline mutations in the *EGFR* kinase domain are associated with a predisposition to lung cancer (PMID: 30225213, 34670806). Somatic *EGFR* alterations have been reported in lung cancer, glioblastoma, and a variety of additional tumor types (cBioPortal, COSMIC). The most common oncogenic EGFR alterations are gene amplification and missense substitutions

✓ バリアントごとの解釈

Report EGFR L858R Biomarker Summary:

Matching Scope: EGFR L858R

Cancer: Non-Small Cell Lung Cancer

The *EGFR* p.L858R mutation in exon 21 is one of two classical *EGFR*-activating mutations found in non-small cell lung cancer (NSCLC) (PMID: 30473385, 36099878). *EGFR* p.L858R occurs in the kinase domain within exon 21 and results in ligand-independent phosphorylation of EGFR and other ERBB family proteins (PMID:19922469, 15284455). Structural studies have demonstrated that *EGFR* p.L858R causes destabilization of the inactive conformation of EGFR, resulting in increased receptor dimerization and constitutive EGFR activation (PMID: 17349580, 18031935, 20026433, 22579287). *EGFR* p.L858R results in aberrant downstream signaling through the MAPK and PI3K/AKT pathways, thereby promoting tumorigenesis via altered cell proliferation, differentiation, and migration (PMID: 18045542, 22263017, 25855240, 34455092).

✓ 薬剤ごとの解釈

Report Datopotamab deruxtecan-dlnk: 16 of 16

Name: Datopotamab deruxtecan-dlnk

Commercial Labels: Datroway

Class: Antibody-drug conjugate

Mechanism of Action: TACSTD2 (TROP2)

Status: Approved

Approved For: HR-positive, HER2-negative Breast Cancer, and EGFR-mutated Non-Small Cell Lung Cancer

Indication for Use:

Datopotamab deruxtecan-dlnk (Datroway) is a TACSTD2 (TROP-2)-directed antibody-drug conjugate that is FDA approved for treatment of adult patients with unresectable or metastatic HR-positive, HER2-negative (IHC 0, IHC 1+ or IHC 2+/ISH-) breast cancer who have received prior endocrine-based therapy and chemotherapy (PMID: 37387213, 39265124). This antibody-drug conjugant is also approved for treatment of adults with locally advanced or metastatic *EGFR*-mutated

Description:

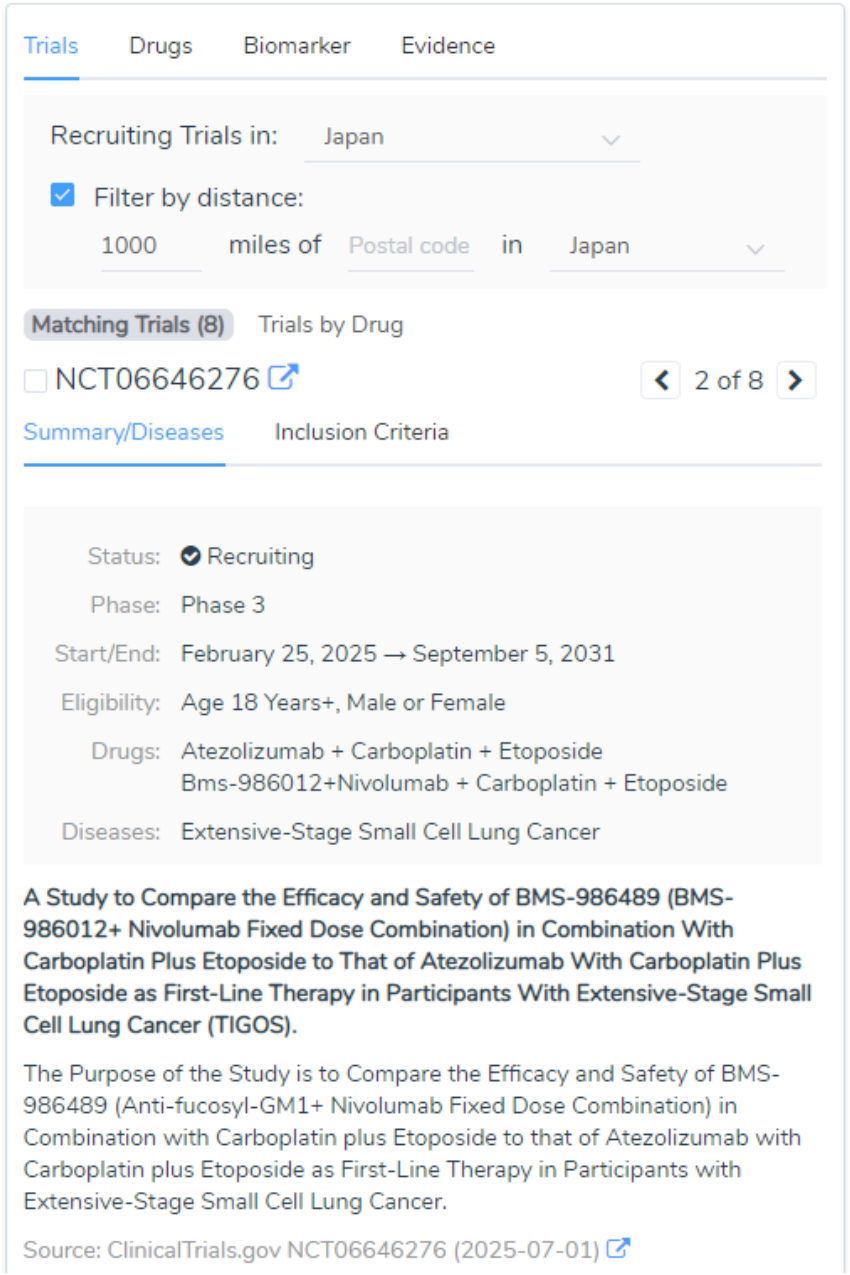
Datopotamab deruxtecan-dlnk is a TACSTD2 (TROP2)-specific antibody-drug conjugate (ADC) composed of a TACSTD2-targeted humanized antibody conjugated to a potent topoisomerase inhibitor (deruxtecan) (PMID: 37387213, 39265124). Selective binding of the ADC to TACSTD2 triggers internalization of the ADC complex, deruxtecan-mediated topoisomerase inhibition with accumulation of DNA damage, and cell death (PMID: 34413126, 38434801, 39121594, 39585341).

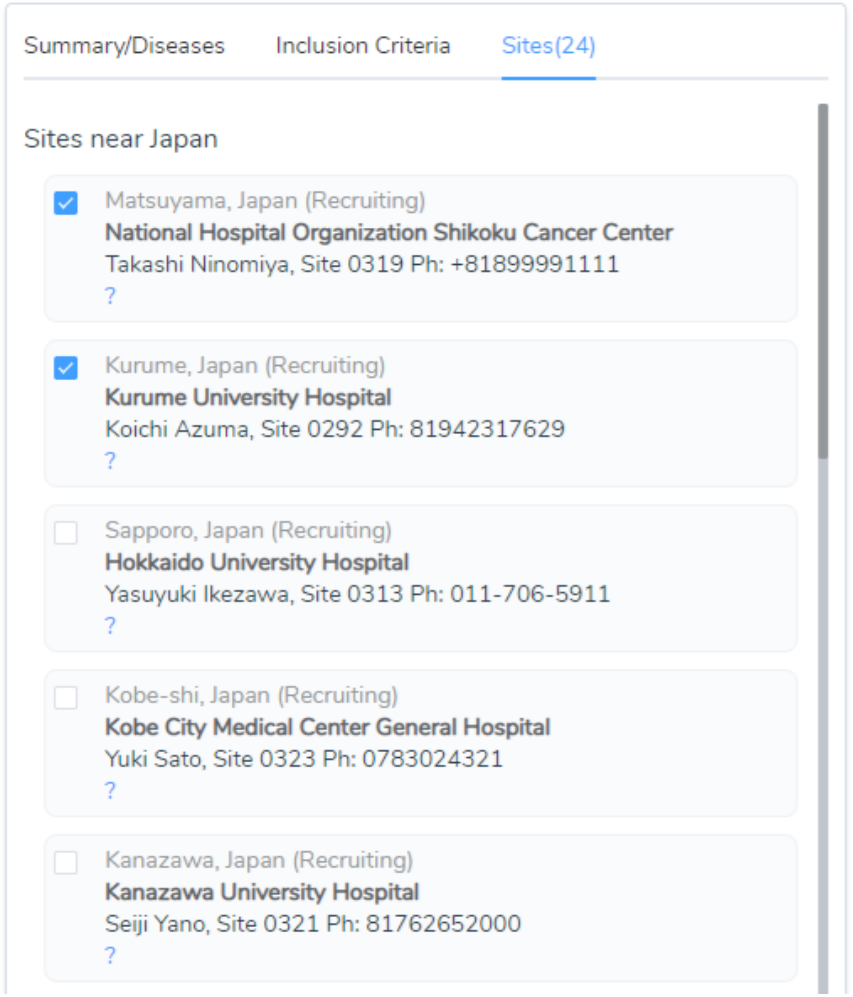
Resistance Description:

It appears that datopotamab deruxtecan resistance mechanisms may develop over time of therapy in response to adaptation of cancer cells. Potential mechanisms that have been identified include loss of SLFN11, a putative DNA/RNA helicase that sensitizes cells to DNA-damaging agents (PMID: 33653945, 34413126, 34663950). Other possible mechanisms may include alteration in topoisomerase expression, reduction expression of TACSTD2, mutation of *TADSTD2*, altered expression of drug efflux pumps, enhanced DNA damage repair, and activation of pro-survival signaling pathways (PMID: 30897808, 33953682, 34413126).

- 臨床的解釈は、遺伝子レベルやバリアントレベル、さらに薬剤レベルごとのものが確認可能
- 解釈に用いられた論文リストも閲覧可能

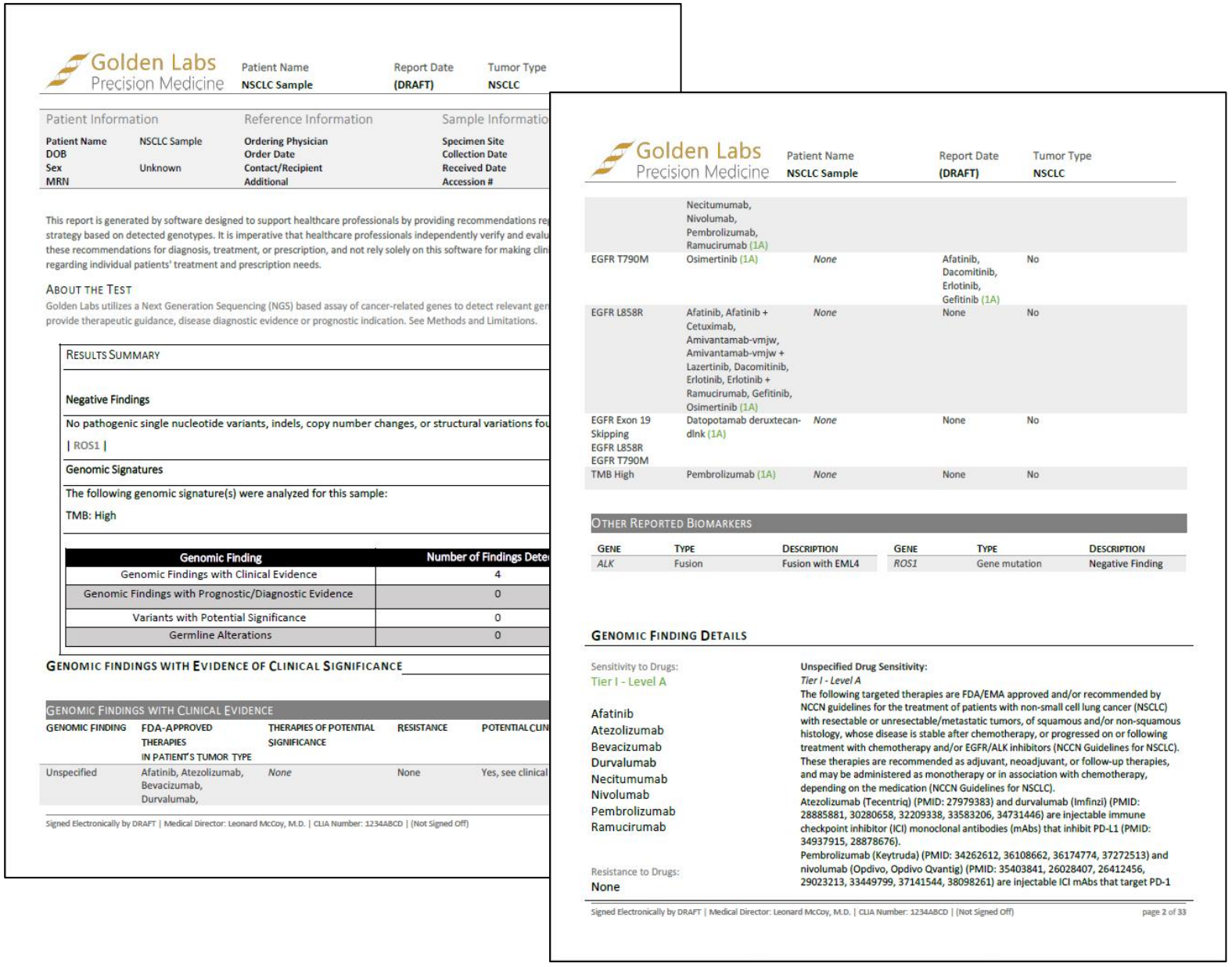
臨床試験情報





- 臨床試験情報の設定エリアにて国名を選択すると、薬剤ごとの臨床試験が下に表示され、内容を確認できる
- 試験名にチェックを入れると、レポートに臨床試験の実施サイトを記載することが可能

レポートの作成



Golden Labs Precision Medicine

Patient Name: NSCLC Sample | Report Date: (DRAFT) | Tumor Type: NSCLC

Patient Information

Patient Name	NSCLC Sample
DOB	
Sex	Unknown
MRN	

Reference Information

Ordering Physician	
Order Date	
Contact/Recipient	
Additional	

Sample Information

Specimen Site	
Collection Date	
Received Date	
Accession #	

This report is generated by software designed to support healthcare professionals by providing recommendations re strategy based on detected genotypes. It is imperative that healthcare professionals independently verify and evalu these recommendations for diagnosis, treatment, or prescription, and not rely solely on this software for making clin regarding individual patients' treatment and prescription needs.

ABOUT THE TEST

Golden Labs utilizes a Next Generation Sequencing (NGS) based assay of cancer-related genes to detect relevant ger provide therapeutic guidance, disease diagnostic evidence or prognostic indication. See Methods and Limitations.

RESULTS SUMMARY

Negative Findings

No pathogenic single nucleotide variants, indels, copy number changes, or structural variations fou

| ROS1 |

Genomic Signatures

The following genomic signature(s) were analyzed for this sample:

TMB: High

Genomic Finding	Number of Findings Dete
Genomic Findings with Clinical Evidence	4
Genomic Findings with Prognostic/Diagnostic Evidence	0
Variants with Potential Significance	0
Germline Alterations	0

GENOMIC FINDINGS WITH EVIDENCE OF CLINICAL SIGNIFICANCE

GENOMIC FINDINGS WITH CLINICAL EVIDENCE

GENOMIC FINDING	FDA-APPROVED THERAPIES IN PATIENT'S TUMOR TYPE	THERAPIES OF POTENTIAL SIGNIFICANCE	RESISTANCE	POTENTIAL CLIN
Unspecified	Afatinib, Atezolizumab, Bevacizumab, Durvalumab,	*None*	None	Yes, see clinical

Signed Electronically by DRAFT | Medical Director: Leonard McCoy, M.D. | CLIA Number: 1234ABCD | (Not Signed Off)

Golden Labs Precision Medicine

Patient Name: NSCLC Sample | Report Date: (DRAFT) | Tumor Type: NSCLC

	Necitumumab, Nivolumab, Pembrolizumab, Ramucirumab (1A)			
EGFR T790M	Osimertinib (1A)	*None*	Afatinib, Dacomitinib, Erlotinib, Gefitinib (1A)	No
EGFR L858R	Afatinib, Afatinib + Cetuximab, Amivantamab-vmjw, Amivantamab-vmjw + Lazertinib, Dacomitinib, Erlotinib, Erlotinib + Ramucirumab, Gefitinib, Osimertinib (1A)	*None*	None	No
EGFR Exon 19 Skipping EGFR L858R EGFR T790M	Datopotamab deruxtecan-dlnk (1A)	*None*	None	No
TMB High	Pembrolizumab (1A)	*None*	None	No

OTHER REPORTED BIOMARKERS

GENE	TYPE	DESCRIPTION	GENE	TYPE	DESCRIPTION
ALK	Fusion	Fusion with EML4	*ROS1*	Gene mutation	Negative Finding

GENOMIC FINDING DETAILS

Sensitivity to Drugs:
Tier I - Level A

Afatinib
Atezolizumab
Bevacizumab
Durvalumab
Necitumumab
Nivolumab
Pembrolizumab
Ramucirumab

Resistance to Drugs:
None

Unspecified Drug Sensitivity:
Tier I - Level A
The following targeted therapies are FDA/EMA approved and/or recommended by NCCN guidelines for the treatment of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) with resectable or unresectable/metastatic tumors, of squamous and/or non-squamous histology, whose disease is stable after chemotherapy, or progressed on or following treatment with chemotherapy and/or EGFR/ALK inhibitors (NCCN Guidelines for NSCLC). These therapies are recommended as adjuvant, neoadjuvant, or follow-up therapies, and may be administered as monotherapy or in association with chemotherapy, depending on the medication (NCCN Guidelines for NSCLC).
Atezolizumab (Tecentriq) (PMID: 27979383) and durvalumab (Imfinzi) (PMID: 28885881, 30280658, 32209338, 33583206, 34731446) are injectable immune checkpoint inhibitor (ICI) monoclonal antibodies (mAbs) that inhibit PD-L1 (PMID: 34937915, 28878676).
Pembrolizumab (Keytruda) (PMID: 34262612, 36108662, 36174774, 37272513) and nivolumab (Opdivo, Opdivo Qvantig) (PMID: 35403841, 26028407, 26412456, 29023213, 33449799, 37141544, 38098261) are injectable ICI mAbs that target PD-1

Signed Electronically by DRAFT | Medical Director: Leonard McCoy, M.D. | CLIA Number: 1234ABCD | (Not Signed Off) page 2 of 33

- レポート出力ボタンをクリックすると、バリアントや臨床的解釈、治療薬、出典論文などの情報をまとめたレポートが作成される
- レポートテンプレートを編集することで、レポートのカスタマイズも可能
- レポートは様々なフォーマットで出力可能
  - ✓ Word
  - ✓ PDF
  - ✓ JSON

お問い合わせ先：フィルジェン株式会社

TEL: 052-624-4388 (9:00～18：00)

FAX: 052-624-4389

E-mail: support@filgen.jp