肝癌研究会・肝胆膵外科学会・胆道学会

胆道癌患者におけるバイオマーカー検査の手引き

（2026 年 11 月　Ver. 1.1）

肝癌研究会・肝胆膵外科学会・胆道学会合同
「胆道癌患者におけるバイオマーカー検査の手引き作成」班

- 共同代表：　波多野　悦朗、大塚　将之、安田　一朗
- 班員：　金井　雅史、尾島　英知、森實　千種、上野　誠、池田　公史、石垣　和祥、井岡　達也、中川　勇人、林　秀幸、仲地　耕平、奥坂　拓志
- アドバイザー：西尾　和人、西原　広史、小無田 美菜
- 事務局：　奥坂　拓志

目次

1.　手引き作成の経緯と目的 2
2.　胆道癌領域におけるバイオマーカー検査 4
3.　バイオマーカー検査に用いる検体とその取扱い 12
4.　バイオマーカー検査の対象となる遺伝子とその異常 38
4-1. FGFR2 38
4-2. IDH1 44
4-3. HER2 49
4-4. BRAF V600E 58
4-5. MSI-High 62
4-6. TMB-High 68
4-7. NTRK1/2/3 73
4-8. RET 80
5.　編集履歴 84

1. 手引き作成の経緯と目的

胆道癌は、肝内胆管癌、肝外胆管癌（肝門部領域胆管癌、遠位胆管癌)、胆嚢癌、ファーター乳頭部癌を含む疾患群であり、解剖学的・病理学的に高い多様性を有する悪性腫瘍である。我が国においては高齢化の進展や画像診断技術の向上に伴い患者数は増加傾向にある一方、依然として早期発見が困難であり、診断時に切除不能例や再発例として治療介入を余儀なくされる症例が多い。そのため、胆道癌は長らく予後不良ながん種の一つとして位置づけられてきた。

近年、がんの分子生物学的理解の進展および解析技術の高度化により、胆道癌においても腫瘍の分子異常に基づく治療選択、すなわち個別化医療（precision medicine）が実臨床において重要な位置を占めるようになってきた。*FGFR2* 融合遺伝子や *IDH1* 変異をはじめ、*BRAF* 変異、*HER2* 陽性、*NTRK* 融合遺伝子、MSI-High など、治療標的または治療選択に直接関与するバイオマーカーが次々と明らかとなり、それらを対象とした分子標的治療薬や免疫チェックポイント阻害薬が臨床使用可能となっている。

これらの進展は、胆道癌治療の選択肢を拡大するとともに、従来の画一的な治療戦略から、腫瘍の分子特性に基づく治療戦略への転換を促すものであり、胆道癌診療の質の向上に大きく寄与している。一部の患者においては、従来治療では得られなかった治療効果や生存期間の延長が報告されており、バイオマーカー検査の臨床的意義は今後さらに高まることが予想される。

一方で、こうした医学的進歩が、すべての胆道癌患者に均等に還元されているとは言い難い現状がある。その要因の一つとして、バイオマーカー検査の実施体制や運用方法が、医療機関、診療科、地域によって大きく異なっている点が挙げられる。検査の適応と選定、実施時期、検体の取扱い、結果の解釈および治療への反映について、必ずしも統一された指針が存在せず、施設ごとの判断や経験に委ねられている部分が大きい。

胆道癌は、その解剖学的特徴から検体取得が容易ではない症例が多く、手術検体が得られない場合には、内視鏡下生検、経皮針生検、胆汁検体など限られた検体に依存せざるを得ない。その結果、検体量不足や腫瘍細胞含有割合の低さにより、バイオマーカー解析が実施できない、あるいは解析不能となる症例が一定数存在する。これらの問題は、検体採取段階から将来的なバイオマーカー検査を想定した対応が十分に共有されていないことにも起因している。

また、バイオマーカー検査を「どの時点で実施すべきか」という点についても、明確な共通認識が確立されていない。初回診断時に実施すべき検査、治療経過中や病勢進行時に再評価すべき検査など、治療戦略と連動した検査計画が求められるにもかかわらず、実臨床では必ずしも体系的に運用されていないのが現状である。

さらに、検査結果の解釈および治療選択への反映についても課題がある。バイオマーカーが検出された場合でも、それが現時点で保険診療としてどのような治療選択肢につながるのか、あるいは臨床試験の対象となり得るのかについて、情報が十分に整理されていない場合がある。特に胆道癌のような比較的希少ながん種においては、最新のエビデンスや治療動向が迅速に共有されにくい側面がある。

これらの状況は、診療に携わる医療者にとって意思決定の負担となるだけでなく、患者および家族にとっても不利益をもたらす可能性がある。がんゲノム医療の臨床実装に伴い、医療情報は高度化・専門化しており、適切な説明や情報共有がなされなければ、患者の理解不足や不安を助長するおそれがある。バイオマーカー検査の意義や限界、結果の解釈について、一定の共通理解に基づいた説明が求められている。

以上の背景を踏まえ、本書は、胆道癌診療に関わる医療者が、バイオマーカー検査を適切に理解し、診療の各段階において計画的かつ有効な活用を支援することを主たる目的として作成された。また、診療の質の均てん化を図る観点から、施設間・地域間の差を可能な限り縮小し、標準的な考え方を共有することも重要な目的の一つである。

また、胆道癌において臨床的意義が確立されている、あるいは今後重要性が高まると考えられるバイオマーカーについて、分子病態の背景、検査方法、検体の取扱い、検査実施の適切な時期、結果の解釈および治療選択への応用について、現時点での知見を整理した。特定の検査や治療を一律に推奨するものではなく、個々の患者背景、治療経過、医療環境を踏まえた臨床判断を支援するための指針として位置づけている。

なお、今回の手引きは固定的なものではなく、胆道癌診療およびがんゲノム医療の進展に応じて、継続的に改訂されるべきものである。新規バイオマーカーの発見、治療薬の承認、診療体制や制度の変化を適切に反映しながら、常に現場に即した情報を提供することが求められる。

本書が、胆道癌診療におけるバイオマーカー検査の適正な活用を促進し、治療選択の質の向上および患者予後の改善に寄与することを期待する。

2. 胆道癌領域におけるバイオマーカー検査

(1) 胆道癌におけるバイオマーカー

胆道癌は治療薬に直結するバイオマーカーが多いがん種の一つとされている。欧州臨床腫瘍学会（ESMO）のガイドラインでは切除不能症例に対して一次化学療法を開始した時点で、ゲノムプロファイリング検査を実施することが提案されており、*IDH1* 変異、*FGFR2*融合遺伝子、*BRAF*V600E、*HER2*遺伝子増幅、MSI-High/dMMR、*NTRK*融合遺伝子、*RET* 融合遺伝子が治療薬に直結する胆道癌のバイオマーカーとして挙げられている[1]。各バイオマーカーの詳細については各論を参照されたい。*IDH1* 変異に対するイボシデニブ、MSI-High/dMMR に対するペムブロリズマブ、*FGFR2* 融合遺伝子に対するタスルグラチニブ、*BRAF* V600E 変異に対するダブラフェニブ＋トラメチニブに対してはがん遺伝子パネル検査以外のコンパニオン診断薬が存在するが、その他のバイオマーカーについてはがん遺伝子パネル検査による評価が必要である。がんゲノム情報管理センター（C-CAT）登録データによると、胆道癌はがん遺伝子パネル検査の実施件数において膵癌、大腸癌に次いで 3 番目に多いがん種となっている[2]。

(2) がん遺伝子パネル検査を用いたバイオマーカー検査

2026 年 8 月現在、保険適用があるがん遺伝子パネル検査は 6 種類存在する（表 1）。コンパニオン診断薬としての承認はパネル検査毎に差があるが、がん遺伝子パネル検査をコンパニオン診断薬として用いた場合、国内の診療報酬制度では病院が赤字を被るリスクがあるため、包括的ゲノムプロファイリング（comprehensive genomic profiling：CGP）目的で用いられることの方が多かった。近年、がん遺伝子パネル検査をコンパニオン診断薬として用いれば初回治療開始前であっても検査申込が可能となるため、コンパニオン診断薬として用いてから、CGP として再度オーダーする施設も出てきている（図 1）[3,4]。

CGP 目的で用いれば、当該パネル検査でコンパニオン診断薬の薬事承認がないバイオマーカーが検出されても、エキスパートパネルで候補薬の投与が適切であると判断されれば保険診療で投与しても差し支えないと厚生労働省からも通知されている[5]。一方、がん遺伝子パネル検査を CGP 目的で用いる場合、実施タイミングは「標準治療が終了または終了見込み」という制約がある。胆道癌のように予後不良ながん種においては国内の実地臨床において二次治療へ移行できる患者の割合は約 44%というデータも報告されており[6]、標準治療が終了してから検査を申し込んでいたら結果返却が間に合わない可能性も高い。これらの事情を鑑み、2025 年にがんゲノム医療中核拠点診療ワーキンググループより「一次治療開始後の適切なタイミングで標準治療終了（見込まれる場合も含む）を臨床的に判断し、がん遺伝子パネル検査によるゲノムプロファイリング検査を実施する必要がある」との見解が発出されており[7]、担当医は個々の患者において適切なタイミングでがん遺伝子パネル検査を申し込むことが求められる。初回治療開始前の CGP 実施に関しては、2025 年 10 月、先進医療会議にて先進医療 A「進行または再発した固形がん患者に対して標準治療終了前に実施する包括的ゲノムプロファイリング検査」が承認されている[8]。検査費用の 560,000 円は全額患者負担となるものの、本制度を利用すれば、胆道癌患者においても治療開始前に CGP を実施することができる。

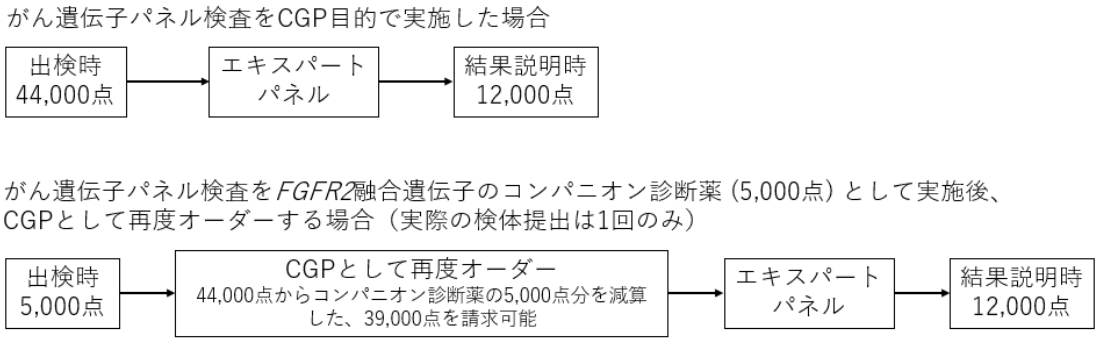


図 1　がん遺伝子パネル検査を CGP 目的で実施した場合とコンパニオン診断薬として開始して、CGP として再度オーダーする場合の診療報酬算定

表１　胆道癌に対し保険適用薬があるバイオマーカーとがん遺伝子パネル検査/コンパニオン診断薬

遺伝子異常	治療薬	がん遺伝子パネル検査						がん遺伝子パネル検査以外のコンパニオン診断薬			
		組織検体		組織検体＋血液検体		血液検体（リキッドバイオプシー）		組織検体			
		F1CDx	TSO	NOP	GMT	F1LCDx	G360CDx	オンコマインDxTT*2	FISH 法	PCR 法	IHC 法
FGFR2 **融合遺伝子**	ペミガチニブ	◎	○	○	○	○	○	△	×	×	×
	フチバチニブ	○	○	◎	○	○	○	△	×	×	×
	タスルグラチニブ	○	○	○	○	○	○	△	◎*3	×	×
IDH1 **変異**	イボシデニブ	○	○	○	○	○	○	◎	×	×	×
BRAF **V600E**	ダブラフェニブ＋トラメチニブ	○	○	○	○	○	○	△	×	◎*4	×
HER2 **遺伝子増幅**	トラスツズマブデルクステカン	○	○	○	○	○	◎	×	△	×	△
MSI-High/dMMR	ペムブロリズマブ	◎	△	○	○	△	○	×	×	◎*5	◎*6
TMB-High	ペムブロリズマブ	◎	△	○	○	○	×	×	×	×	×
NTRK 1/2/3 **融合遺伝子**	ラロトレクチニブ	◎	○	○	○	○	○*1	△	×	×	×
	エヌトレクチニブ	◎	○	○	○	◎	○*1	△	×	×	×
	レポトレクチニブ	◎	○	○	○	○	○*1	△	×	×	×
RET **融合遺伝子**	セルペルカチニブ	◎	○	○	○	○	○	△	×	×	×
ALK **融合遺伝子**	アレクチニブ*7	◎	○	○	○	○	○	△	×	×	×

F1CDx: FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル, TSO: TruSight Oncology Comprehensive パネルシステム, NOP: OncoGuide NCC オンコパネルシステム, GMT: GenMineTOP がんゲノムプロファイリングシステム, F1LCDx: FoundationOne Liquid CDx がんゲノムプロファイル, G360CDx: Guardant360 CDx がん遺伝子パネル

◎コンパニオン診断薬としての承認あり　○コンパニオン診断薬としての承認はないが、同バイオマーカーが検出され、候補薬剤がエキスパートパネルで推奨されれば保険診療で投与可能　△測定可能であるが、結果は参考情報扱いとなるため、候補薬剤を保険診療で投与するには追加の検査が必要　×測定不可

*1 *NTRK1* のみ評価可能　*2 オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム　*3AmoyDx FGFR2 Gene Break-apart FISH プローブキット　*4MEBGEN BRAF 3 キット　*5MSI 検査キット（FALCO）　*6 ベンタナ OptiView　*7 2026 年 5 月、*ALK* 融合遺伝子陽性の進行・再発の固形癌に対し臓器横断的に薬事承認

(3) リキッドバイオプシーによるバイオマーカー検査

がん遺伝子パネル検査に適したがん組織検体が利用できない場合、血液検体を用いてがん組織から血中に放出される血中循環腫瘍 DNA （circulating tumor DNA：ctDNA）を解析するがん遺伝子パネル検査が選択可能であり、リキッドバイオプシーと呼ばれている。リキッドバイオプシーは低侵襲で、組織検体を用いた検査と比べて結果が得られるまでの時間が短いといった利点も有するが[9]、偽陰性のリスクを伴うこと、特に融合遺伝子の検出感度が低下すること、一方、クローン性造血による、血液細胞由来の遺伝子異常が混入した場合、がん細胞由来の遺伝子変異と鑑別が困難であることに留意が必要である[10, 11]。国内におけるリキッドバイオプシーの保険適用要件は「医学的な理由で固形腫瘍の腫瘍細胞を検体とすることが困難な場合」もしくは「固形腫瘍の腫瘍細胞を検体として実施したパネル検査で包括的なゲノムプロファイルの結果を得られなかった場合」となっており、C-CAT 登録データによると胆道癌症例の約 1/4 はリキッドバイオプシーが選択されている[2]。

(4) オンコマイン DxTT を用いたバイオマーカー検査

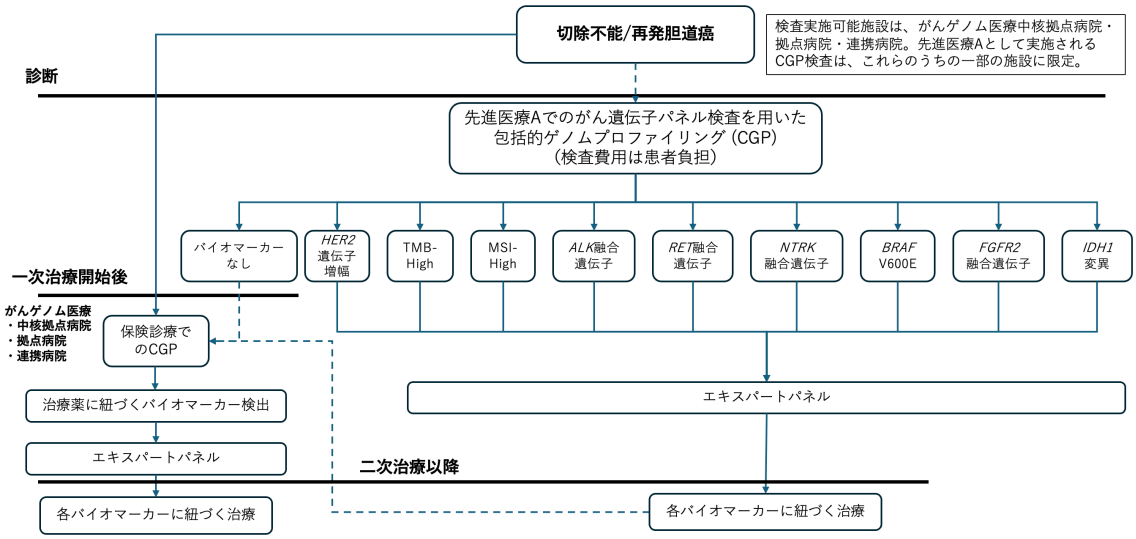
治療薬に直結するバイオマーカーが多い肺癌においては複数のマルチコンパニオン診断薬が薬事承認されており、バイオマーカー検査の中心となっている。*IDH1* 変異に対するイボシデニブの承認に伴い、肺癌領域でマルチコンパニオン診断薬として用いられているオンコマイン DxTT が、イボシデニブに対するコンパニオン診断薬として胆道癌に対しても保険適用となった。オンコマイン DxTT とがん遺伝子パネル検査との比較を表 2 にまとめた。オンコマイン DxTT は実施施設の制約はなく、がん薬物療法治療開始前でも申込が可能といった利点を有する。一方、胆道癌領域においては *IDH1* 変異しか薬事承認されておらず、それ以外のバイオマーカーは検出されても結果は参考情報扱いとなるため、紐づく治療薬を保険診療で投与することは認められておらず、薬事承認されているコンパニオン診断薬あるいはがん遺伝子パネル検査を用いた CGP で再確認する必要がある。実際の臨床現場では患者背景や各医療施設の事情によりこれらの検査が選択されることになるが、①がん遺伝子パネル検査で開始した場合、②オンコマイン DxTT で開始した場合、③その他のコンパニオン診断薬で開始した場合の代表的な流れについて図 2 にまとめた。

表 2　オンコマイン DxTT とがん遺伝子パネル検査との比較

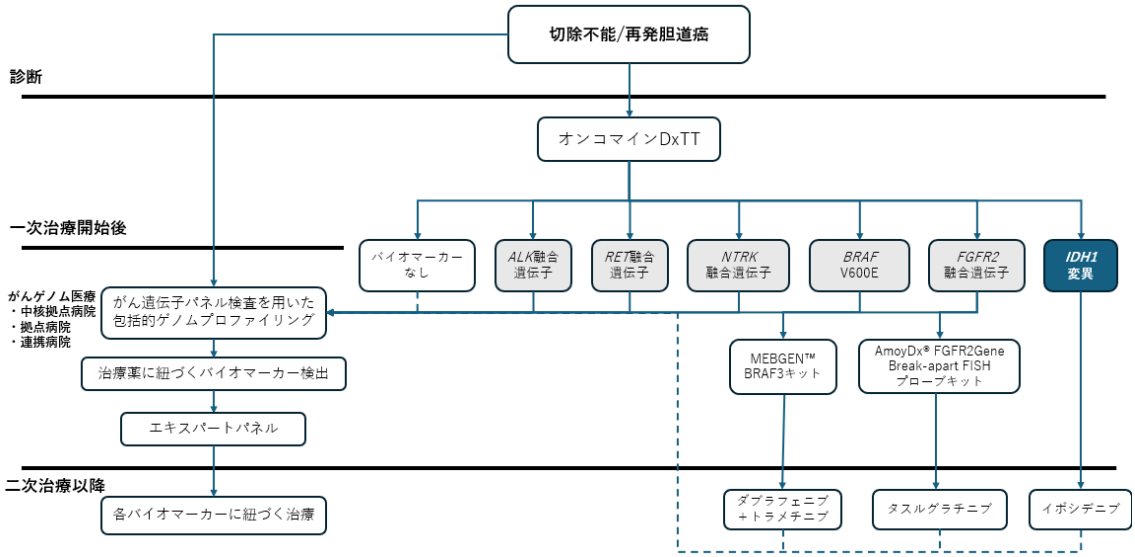
	オンコマイン DxTT	がん遺伝子パネル検査 （CGP として用いる場合）
検査タイミング	制約なし	標準治療終了後 （見込みを含む。先進医療 A を利用すれば標準治療開始前でも申し込み可）
検査実施可能施設	制約なし	がんゲノム医療中核拠点病院 がんゲノム医療拠点病院 がんゲノム医療連携病院
検査に必要な DNA 量 （がん組織検体を用いる場合）	10 ng 以上	50 ng 以上
結果返却までの時間	～10 日	4～8 週
エキスパート パネルでの検討	不要	原則必要
評価可能な バイオマーカー （胆道癌で薬事承認されているのは *IDH1* 変異のみで、他のバイオマーカーは検出されても参考情報扱い）	*IDH1* 変異, *FGFR2* 融合遺伝子, *BRAF* V600E, *NTRK* 融合遺伝子, *RET* 融合遺伝子, *ALK* 融合遺伝子	表 1 参照
評価できない バイオマーカー	*HER2* 遺伝子増幅, TMB-High, MSI-High	表 1 参照
薬事承認がない バイオマーカーが 検出された場合	薬事承認されているコンパニオン診断薬、またはがん遺伝子パネル検査を用いた CGP による再検査が必要	エキスパートパネルで推奨されれば、再検査を行わずとも各バイオマーカーに紐づく治療薬を保険診療で投与可能

図２　胆道癌におけるバイオマーカー検査の代表的な流れ

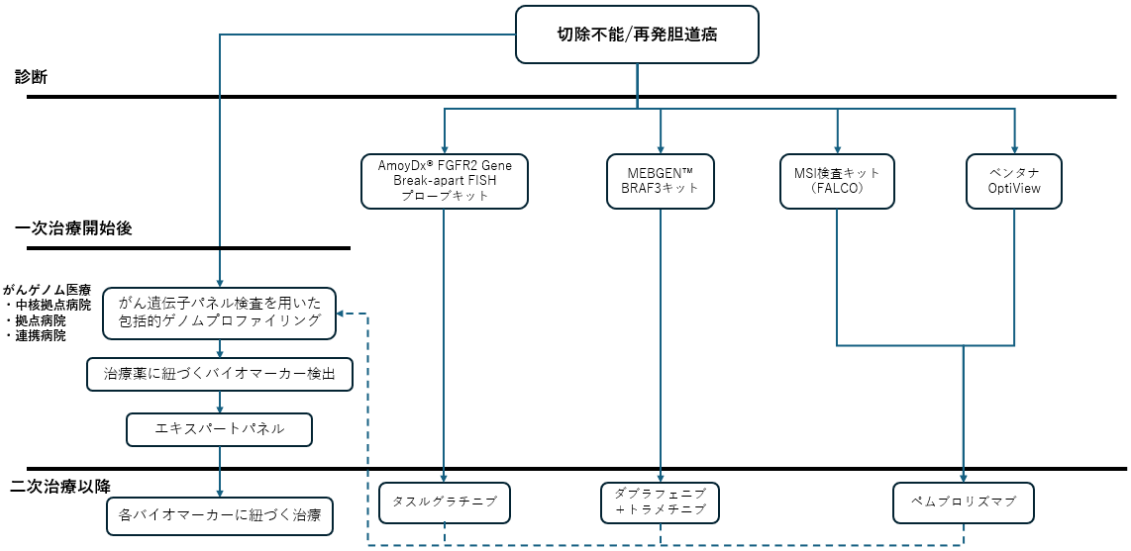
①がん遺伝子パネル検査で開始した場合



②オンコマイン DxTT で検査を開始した場合



③その他のコンパニオン診断薬で検査を開始した場合



参考文献

1. Vogel A, Ducreux M; ESMO Guidelines Committee. ESMO Clinical Practice Guideline interim update on the management of biliary tract cancer. ESMO Open. 2025;10(1):104003.
2. 国立がん研究センター がんゲノム情報管理センター. C-CAT がんゲノム医療検索ポータル. https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/ （Ver.20260226）
3. Kanai M. Current Status and Issues of Companion Diagnostics in Cancer Genomic Medicine. Gan To Kagaku Ryoho. 2024;51(4):388-391.
4. がんゲノム医療中核拠点病院等連絡会議診療ワーキンググループ. アストラゼネカ社が提供する「トルカプ® 錠（一般名：カピバセルチブ）のためのコンパニオン診断結果サポートプログラム」に関する意見書. https://www.ncc.go.jp/jp/c_cat/jitsumushya/090/wg/index.html
5. 厚生労働省保険局医療課：疑義解釈資料. 令和元年 6 月 4 日. https://www.mhlw.go.jp/content/12400000/000515343.pdf
6. Argoubi R, Reese ES, Furegato M, et al. Advanced or metastatic biliary tract cancer in Japan: a study using the Japan Medical Data Center payer claims database. J Comp Eff Res. 2023;12(6):e220201.
7. がんゲノム医療中核拠点病院等連絡会議診療ワーキンググループ. ゲノムプロファイル目的としてがん遺伝子パネル検査を実施する際の「標準治療終了（見込みを含む）」の臨床的解釈に関する見解. https://www.ncc.go.jp/jp/c_cat/jitsumushya/090/wg/index.html
8. 厚生労働省：第 147 回先進医療会議 議事録. 令和 7 年 10 月 3 日. https://www.mhlw.go.jp/content/10808000/001670775.pdf
9. Nakamura Y, Taniguchi H, Ikeda M, et al. Clinical utility of circulating tumor DNA sequencing in advanced gastrointestinal cancer: SCRUM-Japan GI-SCREEN and

GOZILA studies. Nat Med. 2020;26(12):1859-1864.
10. Berchuck JE, Facchinetti F, DiToro DF, et al. The clinical landscape of cell-free DNA alterations in 1671 patients with advanced biliary tract cancer. Ann Oncol. 2022;33(12):1269-1283.
11. Hu Y, Ulrich BC, Supplee J, et al. False-Positive Plasma Genotyping Due to Clonal Hematopoiesis. Clin Cancer Res. 2018;24(18):4437-4443.

3. バイオマーカー検査に用いる検体とその取扱い

目 次

3-1. 胆道癌診療における病理検体取扱いの重要性
3-2. 手術検体取扱いにおける注意事項（術中からホルマリン固定まで）
(1) 手術検体の受領と検体処理、凍結検体採取
(2) ホルマリン固定条件と臓器サイズへの配慮
3-3. 生検検体取扱いにおける注意事項（採取からホルマリン固定まで）
(1) 検体採取時の基本的な考え方
(2) 採取直後から固定開始までの時間管理
(3) 固定条件と検体容器の選択
(4) 分子解析を念頭に置いた検体の分配と保存
3-4. パラフィン包埋後の取扱いについて
(1) パラフィン包埋後の基本的な考え方
(2) パラフィン包埋と切片作製の留意点
(3) FFPE ブロックおよび切片の保存
3-5. 新鮮凍結組織検体の取扱いに関する注意事項
(1) 胆道癌における新鮮凍結検体の位置づけと採取戦略
(2) 採取から凍結までの時間管理と操作手順
(3) 腫瘍細胞の確認と凍結検体の品質管理
(4) 凍結検体採取時のコンタミネーション防止
(5) 凍結検体の保存条件と長期保管
3-6. 細胞検体の取扱いに関する注意事項
(1) 細胞検体の種類と胆道癌における位置づけ
(2) 採取後の基本的取扱い
(3) セルブロック作製と固定条件、コンタミネーションの防止
(4) LBC・塗抹標本の分子解析への活用と実際の運用
3-7. 血漿検体の取扱いに関する注意事項
(1) 胆道癌における血漿 ctDNA の位置づけ
(2) 採血手技と採血チューブの選択
(3) 採血後から血漿分離までの管理
(4) 血漿分離と遠心条件
(5) 血漿検体の保管条件
(6) 胆道癌における ctDNA の意義と胆汁 cfDNA との関係
3-8. 遺伝子パネル検査を行う際の検体取扱い上の注意点
(1) 腫瘍細胞含有割合（tumor cell content：TCC）
(2) 標本組織量
3-9. 検査精度の確保
(1) がんゲノム医療体制と第三者認定
(2) 内部・外部精度管理の具体的内容
(3) 胆道癌特有の留意点
参考文献
図と図の説明

3-1. 胆道癌診療における病理検体取扱いの重要性

胆道癌（肝内胆管癌を含む）はいまだ早期発見が難しく、多くが進行した病期で診断される。そのため、臨床医・病理医は、しばしば生検のような微小検体から診断・病期・治療戦略立案に必要な情報を最大限に引き出さざるを得ない。とりわけ、近年はコンパニオン診断と包括的ゲノムプロファイリング（comprehensive genomic profiling：CGP）を組み合わせた精密医療が胆道癌領域でも現実的な選択肢となりつつあり、マルチジーン次世代シーケンサー（next-generation sequencer：NGS）パネルの適切な活用が求められている[1–3]。

従来の組織学的診断や免疫染色に加えて、近年は *IDH1/2* 変異、*FGFR2* 融合遺伝子、*BRAF*V600E 変異、*HER2*遺伝子増幅、MSI-High や TMB-High、*NTRK/RET*融合遺伝子など、多様なゲノム異常に基づく分子標的治療およびコンパニオン診断が胆道癌領域でも現実味を増している[1,3–5]。ESMO や NCCN ガイドラインは、進行・再発胆道癌に対する包括的 NGS による網羅的分子プロファイリングのルーチン実施を推奨しており[3]、日本でも FoundationOne CDx / Liquid CDx、OncoGuide NCC Oncopanel およびオンコマイン Dx Target Test が保険収載され CGP が実臨床で用いられている[2,5]。これらのバイオマーカー検査・CGP 検査を確実に行うには、遺伝子解析に耐え得る質と量を兼ね備えた病理検体を確保することが不可欠である。検体取扱いは診療プロセス全体を左右する基盤的ステップであり、日本病理学会は「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」「ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程」を策定し、外科検体・バイオバンク検体を含む組織検体の採取・固定・保存に関する標準手順を提示している[6,7]。さらに、日本病理学会と日本臨床検査医学会は「がんゲノム検査全般に関する指針」を公表し、がんゲノム検査における検査室レベルの精度管理・品質保証の枠組みを示している[8]。なかでもホルマリン固定パラフィン包埋（formalin-fixed paraffin-embedded：FFPE）組織は、日常診療で最も汎用される保存形態である一方で、固定開始までの時間、固定液の種類・容量、固定時間、前処理条件などの差異が DNA・RNA の保持性や免疫染色性に大きな影響を及ぼし、ひいてはゲノム解析結果の再現性や信頼性を損ない得ることが知られている[2,6–9]。日本病理学会が示すゲノム診療用・研究用病理組織検体取扱い規程（以下、日本病理学会の規程）およびそれに基づくがんゲノム医療実践の実務指針では、FFPE ブロックの使用期限（作製後 3 年以内を推奨）や腫瘍細胞含有割合（tumor cell content：TCC）（推奨 30%以上、最低 20%）が明確に規定されており[6–8,10]、厚生労働省指定のがんゲノム医療中核・連携拠点病院においても準拠が推奨されている[10]。NGS パネル検査の成功率向上の観点からも、こうした規格に準拠した検体処理の標準化・均質化が強く求められる[2,5–8,10]。

以下では、胆道癌（肝内胆管癌を含む）の診療に用いられる各種検体について、まず手術検体・生検検体の採取から固定、パラフィン包埋後の取扱いまでに関する注意事項を解説する。ついで、新鮮凍結組織検体、細胞検体および血漿検体に特有の前処理・保存上の留意点を整理し、遺伝子パネル検査実施時の TCC や標本組織量の評価方法、ならびに検査精度を担保するための品質管理の要点を概説する。これにより、限られた胆道癌検体から病理診断とバイオマーカー解析の双方に資する情報を最大限に引き出し、個別化医療の基盤となる標準的な検体取扱いのあり方を提示することを目的とする。

3-2. 手術検体取扱いにおける注意事項（術中からホルマリン固定まで）

(1) 手術検体の受領と検体処理、凍結検体採取

胆道癌の手術検体（肝内胆管癌を含む）は、肝切除標本、胆管切除標本、膵頭十二指腸切除標本など多彩であり、腫瘍の局在、切除断端、胆道・血管浸潤の評価が必要となる。手術検体は摘出後できるだけ速やかに検体処理室または病理検査室へ搬送し、搬入・検体処理時刻を記録する（図1A）。血管遮断から標本摘出までの warm ischemia（温虚血時間）と、摘出後から固定開始までの cold ischemia（冷虚血時間）の双方を可能な限り短縮することが、組織形態および核酸・タンパク質の保持に重要とされている。大腸癌や乳癌、肝腫瘍を対象とした研究では、warm / cold ischemia の延長が遺伝子発現プロファイルやリン酸化タンパクの発現、免疫染色結果に影響しうることが示されており[9]、胆道癌においても同様の配慮が求められる。特にゲノム解析対象となる腫瘍部については、術中の操作時間や標本の放置時間を含めた総虚血時間を意識しつつ、可能な限り冷虚血時間を短く管理しなければならない。

外科医または病理医が、標本受領後速やかにマクロ観察を行い（図 1B)、腫瘍サイズ、部位、肉眼型、胆道狭窄や結石の有無、胆管内腫瘍進展、肝実質や周囲臓器への浸潤範囲などを観察・記録（デジタル写真撮影を多用）するとよい（図 1D)。手術検体では、新鮮組織からの凍結標本の採取が可能であり、胆道癌における研究・ゲノム診療の観点からも重要である。凍結検体の採取に際しても、摘出から液体窒素投入までの冷虚血時間を 30 分以内に抑える（直ちに処理できない場合は 4℃で 3 時間以内）（図 2）ことが、RNA や代謝物の保持に有利とされる[7]。したがって、バイオバンクなどのシステムが整っている場合は、腫瘍の代表部位（壊死の少ない領域）を選定し、病理診断に影響のない範囲で新鮮検体の採取を行う（図 2B,C)。さらに、腫瘍だけでなく、腫瘍周辺の非腫瘍胆管・肝実質などからも採取し、クライオチューブ等に収容して液体窒素で急速凍結する（図 2D,E,F)。凍結組織の採取部位は、マクロ写真やマッピング図上に記録し、対応する FFPE ブロックとの対応関係を明確にしておくことが、後の統合解析において有用である。サンプリングエラーの有無や形態学的所見との詳細な検討を想定するならば、迅速診断用の凍結組織切片作製用包埋剤（Optimal Cutting Temperature(OCT) compound）に包埋して密閉性の強いシーリングテープで梱包して保存する方法もある（図 3)。この場合、検体保存スペースが必要になるため、液体窒素ではなく–80℃の deep freezer で保存する（図 3D)。日本病理学会の規程の実証試験データにも示されているが[7]、密閉性が高い場合は 10 年以上たっても品質の保持された RNA を得ることができる。

一連の検体処理が終了したら、速やかに検体をホルマリンに浸漬する（図 1E)。特に分子標的治療や NGS パネル検査に供する腫瘍部位については、前述の cold ischemia 時間の管理が重要であり[9]、十分な TCC が確保され、広範な壊死や著明な血流障害のない領域を病理医が選択することが望ましい[10]。

なお、従前からの習慣で、外科医は家族に切除検体を提示しながら手術説明を行っていたが、デジタル写真を代わりに提示して説明するように変更することが望ましい。

(2) ホルマリン固定条件と臓器サイズへの配慮

胆道癌の手術検体はしばしば大型であり、中央部までホルマリンが速やかに浸透しにく

い。10%中性緩衝ホルマリンを用い、標本容量の少なくとも 10 倍以上の固定液で浸漬することに加え、固定前に肝実質や胆管腔からの切り込みや開放を行い、ホルマリンの浸透時間を短縮する必要がある。

摘出後できるだけ早期（1 時間以内）に、肝臓切除検体は肝臓部分を 10 mm 程度の厚さでスライス（図 1C-1)、肝外胆管は背側切開を加えた状態（図 1C-2）でホルマリン固定を開始することで（図 1E)、内層部の自己融解や RNA 分解を抑制できる。固定時間は標本サイズにより調整するが、一般には、室温で 6 時間以上 48 時間以内（CAP では 36 時間以内）が望ましいとし、過度な長期固定による核酸架橋の進行を避ける。また、warm / cold ischemia に加え、実際のホルマリン浸漬時間（fixation time）も、DNA ミスマッチ修復機構（mismatch repair：MMR）や HER2、リン酸化タンパクなどの免疫染色結果に影響し得るため、ASCO/CAP などの推奨範囲内で管理することが望ましい。固定開始・終了時刻を記録し、FFPE ブロック作製までの一連の工程をトレーサブルに管理することが、ゲノム解析時の品質保証に不可欠である。

3-3. 生検検体取扱いにおける注意事項（採取からホルマリン固定まで）

(1) 検体採取時の基本的な考え方

胆道癌の診断には、経内視鏡的胆道鏡下生検、胆道ブラシ細胞診、経皮的針生検、超音波内視鏡下穿刺吸引／生検（EUS-FNA/FNB）など、多様なアプローチが用いられ、得られる検体量は一般に少量である。再検が困難な症例も多いため、形態学的診断と分子病理学的解析の双方に利用可能なよう、初回採取時点から検体量・分割方法・保存方法を計画的に設計する必要がある[11,12]。

生検検体は、可能な限り壊死や胆汁による変性の少ない腫瘍実質から採取することが望ましく、画像所見（造影 CT、MRI、EUS など）と対比しながら、腫瘍の生物学的に代表性の高い部位を選択することが重要である。肝内胆管癌では、腫瘍コアに加えて非腫瘍肝のコアを別検体として採取し、前者を分子検査優先、後者を背景肝評価用とするとよい。

生検本数は、診断に十分な組織量を確保しつつ合併症リスクとバランスを取るが、NGS 等を前提とする場合、可能であれば十分な腫瘍量を確保するために複数本の生検採取が推奨されている[11]。しかし、現実的には困難なことが多いため、あらかじめ、臨床医はその後の治療戦略まで考えた採取計画を立てることが望ましい。

(2) 採取直後から固定開始までの時間管理

生検組織においても、採取からホルマリン固定開始までの時間（cold ischemia time）を可能な限り短縮することが必須である。胆道癌の生検検体は小さいがゆえに乾燥や自己融解の影響を受けやすく、またゲノム解析においても DNA・RNA の分解が成績に直結するため、採取直後に 10%中性緩衝ホルマリンに投入しなければならず、生食中放置やガーゼ上での放置は避けるべきである。採取時刻と固定開始時刻は、検体ラベルまたは依頼書に明示し、分子解析時の品質評価（許容可能な cold ischemia かどうか）に利用できるよう、情報のトレーサビリティを確保することが望まれる。

(3) 固定条件と検体容器の選択

生検検体は 10%中性緩衝ホルマリンで固定し、組織体積の少なくとも 10 倍量以上の固定液に入れる。生検コアが折れ曲がったり壁面に強く圧迫されたりすると評価可能長が短縮するため、やや余裕のある容器を選択し、必要に応じ濾紙やスポンジなどで固定する。

複数本の生検コアを一括投入する場合でも、腫瘍コアと非腫瘍コア、あるいは異なる部位からのコアを識別できるよう、別容器・別カセットでの分割や番号付けなどを組み合わせる。

固定時間は一般に室温（25℃）で 6〜48 時間の範囲が用いられるが、小生検では過固定による DNA 架橋・抗原性低下の影響を受けやすいため、施設内で標準化するのが望ましい。MMR などの免疫染色では、短すぎる固定および 90 時間を超える過固定の双方で染色不良が増加することが示されており、胆道癌生検でも一定時間内での固定完了が重要である。

(4) 分子解析を念頭に置いた検体の分配と保存

胆道癌では少量の検体しか得られないため、組織の枯渇を避けつつ、病理診断および分子プロファイリングを含む最大限の検査を計画的に実施できる体制を構築する必要がある。多くの施設においては、FFPE ブロックが分子解析の主要なソースであることから、初回薄切時にヘマトキシリン・エオジン（hematoxylin and eosin：HE）染色、免疫組織化学（immunohistochemistry：IHC)、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（fluorescence in situ hybridization：FISH)、次世代シーケンス（next-generation sequencing：NGS）など用途別にスライドを計画的に確保する戦略が求められる。この際、不要な再薄切・深切を減らすため、検体提出時に臨床医は検体採取目的を明確に記載（確定診断、分子解析、またはその両方など）し、検体量が少ない時は、どの検査を優先させるかも明記することが重要である。さらに、極少量検体では、初回の段階で複数枚のブランクスライドを先行作製して将来のNGSや追加IHCに備えておくことで、再薄切に伴う組織損失を回避しつつ、後日のバイオマーカー解析の選択肢を確保することが可能となる。なお、FFPE ブロックの長期保存中にも DNA は徐々に分解するため、分子診断を想定した症例では、採取から数年以内（3 年以内）の使用が望ましい。

3-4. パラフィン包埋後の取扱いについて

(1) パラフィン包埋後の基本的な考え方

FFPE は形態保存と長期保管に優れる一方で、前処理や固定・保存条件の違いが核酸品質とゲノム解析の成否を大きく左右することが報告されている [6–8,13]。固定条件（濃度・時間・温度）、組織処理、包埋、薄切、IHC 等の追加処理、さらにブロック・切片の保存環境を、施設内で標準化し記録することが重要である。

(2) パラフィン包埋と切片作製の留意点

パラフィン包埋は、標準的な自動組織処理装置を用い、段階的アルコール脱水後にキシレン置換を経てパラフィン浸透を行う。その際、過度な脱水、高温（60℃以上で長時間）でのパラフィン浸透は DNA 断片化と架橋を助長する可能性があり、固定時間（6〜48 時間）とあわせて機器設定を一定に保つ。

DNA パネル検査では TCC 20%以上が望ましく、可能であれば 30〜35%以上が理想的とされる。従って、十分な TCC を確保するために、切片作製に際しては、まず 4〜5 μm の HE 染色スライドを作製し、病理医が腫瘍領域をマーキングする。この HE をリファレンスとして、連続して薄切した未染スライド群からマクロダイセクションを行うことで、腫瘍細胞含有割合の高い領域のみを選択的に回収できる（図 4,5）[6]。これにより、非腫瘍成分を極力除去し、遺伝子発現プロファイルやバリアント判定への混入影響を軽減できる。胆道癌特有の注意点として、胆道癌は線維性間質や炎症細胞浸潤が豊富な場合が多く、低倍率で腫瘍分布を俯瞰した上で、腺管構造・胞巣優位な領域を選択してスクレイピングすることが重要である。壊死巣や胆汁うっ滞・石灰化部は核酸品質が低く、原則として除外する。

(3) FFPE ブロックおよび切片の保存

FFPE ブロックは室温でも長期保存可能だが、温度・湿度・保存年数が核酸およびタンパク質抗原の劣化に直結する。

ブロック保存温度としては、室温保存では経時的に DNA/RNA のインテグリティが低下し、4℃保存で劣化速度は低下し、–20℃以下では劣化がほぼ防がれることが報告されている（動物組織での最大 9 年観察）[13]。一方で、保存年数の影響として、非小細胞肺癌の FFPE アーカイブ検討では、DNA 品質は 6〜8 年程度から、RNA 品質は 10 年以降で有意に低下し、IHC シグナルも 6〜8 年以降で減弱することが示されている [14]。日本病理学会の規程ではがんゲノム検査には概ね 3 年以内のブロック提出を推奨している。

切片（未染スライド）の保存に関しては、低温保管やパラフィンコーティングなどの核酸品質劣化防止対策を行うことが望ましいが、NGS や RNA ISH を行う場合は、可能な限り解析直前に新規薄切すべきである。ただし、胆道癌のように検体量が限られる腫瘍では、初回薄切時に HE、IHC、FISH、NGS 用ブランクスライドを必要最小限かつ計画的に確保することや、不要な再薄切と深切を避け、ブロック残存腫瘍量を温存することが、将来的な治療戦略を考えるうえで重要である。

3-5. 新鮮凍結組織検体の取扱いに関する注意事項

(1) 胆道癌における新鮮凍結検体の位置づけと採取戦略

新鮮凍結組織は、FFPE と比較して化学修飾や断片化が少なく、DNA・RNA・タンパク質を最も高品質に保存できる検体であり、全ゲノム解析、ロングリード解析、RNA-seq、メチル化解析、プロテオーム解析、空間オミクスなど高度解析のゴールドスタンダードとなる。一方で、DNase・RNase 活性も保持されているため、採取から凍結までの取扱いが不適切だと急速に分解が進行しうる。

胆道癌では腫瘍径が小さい、胆管壁内に限局する、線維化優位などの理由で、腫瘍細胞量が限られやすく、どの程度を凍結検体として採取するかは非常に重要な判断となる。特に、胆管癌・肝内胆管癌では、腫瘍中心壊死部や広範な線維化巣では腫瘍細胞がほとんど含まれないことが多く、凍結用検体採取は画像・肉眼所見に基づいた慎重な判断が必要である。

(2) 採取から凍結までの時間管理と操作手順

新鮮凍結検体では、室温での放置時間が実質的な cold ischemia time となり、RNA や一部タンパク質の分解が急速に進む。乳癌や肝腫瘍の生体試料を用いた研究では、15〜60 分の遅延でも発現プロファイルやリン酸化タンパクが大きく変動し得ることが示されている。胆道癌でも、日本病理学会の規程に沿い、検体採取からできる限り 30 分以内に凍結開始することが望まれる。そのためには、手術室から検体処理室または病理診断科への搬送の迅速化（専用ルート・連絡体制の整備）が重要である（3-2. (1) 手術検体の受領と検体処理、凍結検体採取　参照)。

(3) 腫瘍細胞の確認と凍結検体の品質管理

新鮮凍結検体では、腫瘍細胞が十分含まれているかを事前に確認しないと“空振り凍結”となりうる。特に胆道癌では、胆汁うっ滞・炎症が高度な周辺部や中心部広範線維化巣では腫瘍細胞が乏しく、偽陰性の分子結果につながる。このためにも、採取部位に関しては、術前情報に基づく肉眼所見の詳細な観察から、適切な部位からの採取を行う。空振り凍結を避ける手段として、凍結組織切片作製用包埋剤（OCT compound）に包埋する方法（3-2. (1) 手術検体の受領と検体処理、凍結検体採取　参照）（図 3）のほか、腫瘍量が多く採取できる場合（肝内胆管癌の腫瘤形成型など）には、腫瘍部の割面から FFPE とペアリングできるように腫瘍を採取する方法がある。後者では、一方を液体窒素で新鮮凍結し、他方を FFPE として通常の HE で TCC・分布を評価することで、凍結検体の腫瘍代表性を FFPE 側から間接的に保証できる。

なお、TCC の基準に関しても、DNA／RNA 解析の多くは、TCC 20%以上（可能なら 30〜40%）を推奨しており、凍結切片 HE でも同様の目安を用いる。

(4) 凍結検体採取時のコンタミネーション防止

非腫瘍部の凍結検体をゲノム解析に用いることも想定されるため、非腫瘍部の検体に腫

瘍部の検体がコンタミしないように注意しなければならない。腫瘍部に割を入れた際のナイフで非腫瘍部採取用に割を入れたり、腫瘍部採取で用いた鑷子を非腫瘍部に用いたりしてはならない。作業はすべて、非腫瘍部採取・格納、腫瘍部採取・格納の順番が鉄則である。

(5) 凍結検体の保存条件と長期保管

新鮮凍結組織は、–80℃または液体窒素タンク（–150〜–196℃）で長期保存することが推奨される。–80℃保存では、多くの報告で5〜10年程度まで実用的なDNA・RNA品質が保たれるとされるが、腫瘍種や解析感度により許容期間は異なる。超長期保存や高感度の発現解析では液体窒素レベルでの保存がより望ましいとされる。なお、再凍結・解凍の繰り返しはRNA・タンパク劣化を加速するため、初回分注時に1検体を複数チューブに分割しておくことが望ましい。複数の凍結検体を同一チューブ内に保存する場合は、再凍結・解凍の繰り返しを避けるため、チューブ先端部の“ヘリ”に分割した状態で配置して凍結することで、必要量を迅速に回収して残検体を有効に使用することができる（図2D）。

3-6. 細胞検体の取扱いに関する注意事項

(1) 細胞検体の種類と胆道癌における位置づけ

細胞検体は、穿刺吸引（EUS FNA、経皮 FNA など）や擦過（胆管ブラッシング）で得られる非液状検体と、胆汁、体腔液（胸水・腹水・心嚢液）、胆道洗浄液などの液状検体に大別される。がんゲノム検査において、組織生検が困難な症例では、ERCP 下胆道ブラッシング、胆汁細胞診、FNA 等の細胞診検体（液状検体）を前提としたゲノム検査体制の構築が望まれる [15]。アルコール系固定（エタノール固定、メタノール固定を用いる液状検体細胞診（liquid-based cytology：LBC）など）を主体とする細胞検体は、FFPE より DNA・RNA の保存性が良好であり、長期保存後でも NGS に十分耐えうる高品質 DNA を供給しうる材料と位置づけられている。しかし一方で、胆道癌では腫瘍細胞量が少なく背景非腫瘍成分が豊富な傾向があるため、採取から処理・固定・標本作製・評価の各ステップでのロスやコンタミネーションの有無が、そのまま NGS 成功率に影響する。したがって、施設内で標準化されたトリアージと前処理・保存プロトコールの整備が不可欠である。

(2) 採取後の基本的取扱い

細胞検体採取後は核酸劣化を防ぐため、可及的速やかな処理が推奨される。採取エリアと処理エリアが離れている場合や処理遅延が予想される場合には、4℃での冷蔵一時保管を行う。細胞診検査（LBC 法）用の細胞固定・保存液使用時は常温保存も可能だが、直射日光を避け、高温・多湿環境を回避する必要がある。非液状検体は塗抹標本および LBC 標本として、液状検体は塗抹・LBC に加えセルブロックとして処理されることが多く、採取段階から診断用とゲノム用の分画計画を立てることが望ましい。

胆汁や体腔液などの液状検体では、検体量と細胞量に応じて、沈渣塗抹、セルブロック、保存用分画（ペレット凍結など）を組み合わせる効率的な前処理フローの構築が必要と考えられる。セルブロック以外の液状検体で検体量が十分な場合には、診断用と核酸抽出用のペア検体（二分割）として処理することも考慮する。

(3) セルブロック作製と固定条件、コンタミネーションの防止

セルブロックは液状検体から作る FFPE であるため、IHC・FISH・NGS を同一ブロックで実施できる利点を持つ一方、ホルマリン固定による DNA 断片化・架橋やパラフィンブロック特有の低レベルコンタミに留意する必要がある [16]。前処理と固定としては、採取から前処理（遠心・上清廃棄）までは 4℃冷蔵を基本とし、可及的速やかに 10%中性緩衝ホルマリンで 6〜24 時間程度固定することが推奨され、数日以上の過固定は NGS ライブラリ作製失敗率を高めるため回避する。作製法には遠心管法やアルギン酸ナトリウム法など複数の方法があり、本邦でも複数のバリエーションが用いられているが、いずれの方法でも検体ごとの器具交換と包埋カセット内での他症例との混在防止を徹底し、低レベルコンタミを最小限に抑える必要がある。密閉式自動固定包埋装置内のコンタミネーション（癌細胞の漏れ出し）にも配慮する必要がある。包埋・保存は通常の FFPE ブロックと同様に室温・乾燥環境で管理し、一定期間内の使用を目標とする。

(4) LBC・塗抹標本の分子解析への活用と実際の運用

アルコール系固定（95%エタノール、メタノール系 LBC など）は DNA・RNA の保存性が高く、多色染色や再抽出にも適することから、胆道癌の液状検体における第一選択の固定法となる。残余 LBC 検体は、数年保存後でも NGS 可能な高品質 DNA を保持しうることが示されており、アーカイブ塗抹標本からも適切な抽出法を用いれば高品質 DNA が得られ、FFPE やセルブロックを補完する材料となりうる。

検体量が限られる場合には、原則として、まず悪性／良性および組織型の確実な形態診断を優先しつつ、可能であれば、同一採取からゲノム用分画（セルブロック・ペレット・未染スライドなど）を同時に確保することも望まれる。診断に用いた標本は、バーチャルスライドに保存することで、検体が極少量な場合でも、形態診断とゲノム診断の両立が可能になる。セルブロックは FFPE ブロックとして FFPE 組織の保管法に準拠して室温・乾燥環境で管理し、アルコール固定液中の懸濁細胞・凍結ペレットは–20〜–80℃で保存することで将来の追加 NGS への応用も可能になるかもしれないので、捨てずに分注保存する運用も考慮される。

3-7. 血漿検体の取扱いに関する注意事項

(1) 胆道癌における血漿 ctDNA の位置づけ

胆道癌では、腫瘍組織の採取が困難な症例が多い。血漿中の細胞遊離 DNA（cell-free DNA：cfDNA）から分離する、がん由来の循環腫瘍 DNA（circulating tumor DNA：ctDNA）を用いたリキッドバイオプシーは、組織が得られない／不足する症例でのゲノムプロファイリングの代替手段、あるいは術後の微小残存病変（minimal residual disease：MRD）評価や再発モニタリング、治療反応・耐性獲得の経時的評価の手段として有望性が報告されている [17,18]。進行胆道癌では、ctDNA により *FGFR2* 融合、*IDH1* 変異、*ERBB2* 増幅など多数のアクショナブル変異が検出可能であり、切除例においても ctDNA 陽性が DFS・OS不良と強く関連することが示されており予後層別化マーカーとして有望視されている。しかし、一方で、血漿検体では組織と異なり「TCC」「組織像」「DNA 収量」に基づく品質評価が困難であり、採血からの処理が偽陰性リスクに直結する [19,20] ため、前処理標準化が必須である。

(2) 採血手技と採血チューブの選択

採血時の溶血・血球破壊が生じると、白血球由来の正常ゲノム DNA（genomic DNA：gDNA）が血漿中に漏れ出し、総 cfDNA 量が増加する。この gDNA の混入は、標的である腫瘍由来 ctDNA を希釈し、検出感度の低下を招く。溶血を最小化するため、各種標準採血法ガイドラインに準拠し、不必要な強陰圧や長時間駆血の回避、翼状針等を用いた静脈穿刺、採血管の強い振盪を避け、6〜8 回程度の緩徐な反転混和を徹底する。採血量は、検査目的と感度要求（例：MRD 評価）に応じて検討する。また、採血管に関しても、診断薬メーカーや製造販売業者の指示に従った選択を行う。cfDNA プロファイル安定化剤入りの各種専用採血管が推奨されているが、安定化剤入りの採血管が利用できない場合、内在性 DNase 抑制と PCR 阻害の少なさから、抗凝固剤として EDTA 入り採血管が他の抗凝固剤入り採血管より望ましい。一般血漿検査では、EDTA 採血管（K2EDTA／K3EDTA）を用いるのが標準であるため、ctDNA に適する。なお、ヘパリン採血管は PCR 阻害のため ctDNA 解析には使用しない。

(3) 採血後から血漿分離までの管理

EDTA 採血管を使用する場合、白血球融解による cfDNA 背景上昇は採血後数時間で顕著となるため、多くの cfDNA 解析プロトコールで目安として採血後 4〜6 時間以内の血漿分離が推奨される。6 時間を超える遅延が避けられない場合は、4℃保存とすることで cfDNA 上昇速度をある程度抑制できるが、24 時間を上限とし、それ以上の遅延は避ける。保存剤入り cfDNA 採血管を使用する場合、通常室温（18〜25℃）で 5〜7 日程度まで保存可能であるため、中央ラボなどへの送付に適しているが、保存中は強い振動・衝撃を避け、確実な反転混和（8〜10 回）を行う。

(4) 血漿分離と遠心条件

採血後の時間経過や強い衝撃によって白血球が壊れると、そこから gDNA が血漿中に漏れ出してしまう。この gDNA 混入による腫瘍 DNA（ctDNA） 希釈を最小化するため、二段階遠心（ダブルスピン）が推奨されている [19,20]。

①第 1 遠心：

- 1600～2000 g、10 分、2～8℃
- 上清血漿を新しいチューブへ慎重に回収し、白血球層（バフィーコート）を巻き込まないよう注意（白血球からの核酸の混入を避けるため）

②第 2 遠心：

- 14000～16000 g、10 分、2～8℃
  （高速遠心機がない場合の 2 回目の遠心操作は、より低い g、例えば 3000～5000 g、2～8℃、20 分間）
- 残存細胞・血小板を除去して cfDNA のみを含む上清を得る [19]。

(5) 血漿検体の保管条件

分離後血漿は、小分けアリコートとして、2～8℃では 24 時間まで保存可能である。それ以上の長期間の保存は、–20℃以下で行う。ctDNA 解析を前提とする場合は、cfDNA の分解防止のために血漿の–80℃保存が推奨されており [20]、前処理や保存条件が cfDNA の安定性に影響するとされている。

(6) 胆道癌における ctDNA の意義と胆汁 cfDNA との関係

胆道癌では、血漿 ctDNA によりドライバー変異・融合（*FGFR2*、*IDH1*、*ERBB2* など）の検出、組織検査困難例でのゲノムプロファイリング、術後 MRD や再発モニタリングが可能性として示されており、組織検査と高いコンコーダンスおよび予後予測能が有望視されている [17]。一方で、胆汁 cfDNA は腫瘍近接ゆえに変異検出率や変異アレル頻度（variant allele frequency：VAF）が血漿より高いことが複数の研究で示されており、現時点では診断時の分子診断には組織／胆汁 cfDNA を優先し得るのに対し、血漿 ctDNA は「全身病勢の把握」「経時モニタリング」に適応するといった役割分担が提案されている [17,18]。

3-8. 遺伝子パネル検査を行う際の検体取扱い上の注意点

(1) 腫瘍細胞含有割合（tumor cell content：TCC）

TCC は、「解析対象となる有核細胞のうち腫瘍細胞核が占める割合」を意味し、マクロ／マイクロダイセクションを行う場合には、「ダイセクションされた領域内における有核腫瘍細胞の割合」として評価する必要がある。腫瘍細胞占有率（面積比）と混同しないよう注意が必要であり、割合評価は腫瘍細胞を正確に同定できる病理診断医が担うべき指標である。

胆道癌に対する組織型がん遺伝子パネル検査（CGP）の検体は、他がん種と同様に FFPE 標本が原則であり、手術切除標本、生検標本（内視鏡的胆道生検、経皮的肝生検など)、セルブロック化した細胞診検体が対象となる。新鮮凍結組織や凍結セルブロックからの解析も技術的には可能だが、いずれの場合も TCC の評価が必須である。胆道癌はしばしば線維化や炎症を背景とした硬い腫瘍で、腫瘍細胞が散在・低密度に存在し、肺癌などに比べても十分な TCC を確保しにくい検体が多い点に留意する必要がある（図 6)。

①TCC の重要性と目安

NGS によるシーケンスでは、TCC が低いと VAF が低下し、シーケンスエラー由来の偽陽性と統計学的に識別するために設けられたカットオフ値（Limit of Detection：LOD）を下回り、偽陰性となるおそれがある。実臨床では、多くの NGS パネルで少なくとも TCC 20%程度以上が推奨されており、これを下回ると安定した変異検出が困難となることが報告されている [21,22]。BTC アーカイブ組織サンプルの約 1/4 が、主として TCC＜20%により NGS 解析不成功であった [22] との報告もあり、実際、1021 遺伝子パネルの検証では、TCC 20%以上かつ 3 mm×3 mm 以上の組織量があれば、ほぼ全例で解析が可能であったと報告されている [21]。

肺癌 NGS の運用経験や多遺伝子パネルの検証結果を踏まえると、胆道癌 CGP における TCC の目安としては 30%以上を推奨し、下限として 20%前後を許容しつつ、それを下回る場合には偽陰性リスクが高まると考えるのが現実的かつ妥当と考えられる。

②検体種別ごとの胆道癌特有の注意点

・手術切除標本（肝内胆管癌・遠位胆管癌・胆嚢癌など）

摘出後速やかな冷却と 10%中性緩衝ホルマリン固定により DNA・RNA の変性を最小化する。病理医が HE 標本で腫瘍領域をマーキングし、線維化の強い部分や壊死を避け、腫瘍細胞が密な領域をマクロダイセクションすることで実効 TCC を高める（図 4,5)。

・胆道・肝生検標本

細い針生検や内視鏡生検では 1 本あたりの腫瘍量が少ないため、複数本・複数個採取を前提とした計画が望ましい。特に非腫瘍部肝細胞が含まれる肝生検検体では、腫瘍細胞の細胞密度に比して非腫瘍部肝細胞密度はかなり高く、相対的に TCC の著しい低下を招く（図 7)。また、肝細胞の DNA 量は他の体細胞の 2 倍であるため、複数の生検組織から病理医が HE 標本で腫瘍領域が多いコアを選別することが極めて重要である。なお、

診断用とは別に「ゲノム解析用コア」を確保する運用は TCC 確保に有用とされているが、胆道癌では難しい場合が少なくない。

・セルブロック検体（胆汁・擦過・穿刺細胞診）

胆道癌では胆汁細胞診・擦過細胞診の診断的価値が高く、セルブロック化により CGP への利用が可能となる。しかし、粘液・壊死物質・炎症細胞が多く、腫瘍細胞が背景に埋もれやすいため、HE 標本で腫瘍集簇部位を厳密に指定し、背景成分を極力避けてマクロダイセクションを行う必要があるが、胆道癌では難しい場合が少なくない。

③TCC が低い場合の対応

・TCC が基準未満の場合

可能であれば再生検（より太い針、別部位、胆汁セルブロック併用など）を検討する。血漿 ctDNA パネルは、組織量が乏しい場合の補完的手段として有用だが、早期例や腫瘍量の少ない症例では感度低下と偽陰性の問題が指摘されており [21]、組織検体を優先することが原則である。

・再生検が望めない低 TCC 検体の場合

主治医およびエキスパートパネルと協議し、「偽陰性リスクが高いことを明示したうえで提出する」かどうかを検討する。コピー数異常や遺伝子再構成は、特に低 TCC では感度が低下することが知られており、検出限界と解釈の限界をレポート上で明示することが望ましい。

(2) 標本組織量

遺伝子パネル検査に用いる検体の適否は「TCC」と「標本組織量」の 2 つで決定される。標本組織量は、FFPE ブロックから作製される未染色切片の面積×枚数（＝体積の目安）で評価し、パネル系ごとの必要 DNA・RNA 量から逆算して判断する [2]。

①標本組織量の一般的な目安

実務的な最小基準として、FFPE 未染色切片では、厚さ 5 μm の切片を 10 枚以上用意し、合計組織体積がおおむね 1 mm^3 以上（例：10 mm × 2 mm 大の標本を 0.005 mm（＝5 μm）で薄切した場合、10 枚で約 1 mm^3 など）確保されていれば、多くの遺伝子パネルで解析が可能とされる [2]。針生検検体については、長さ 10 mm・太さ 1 mm 程度のコアが複数本あれば、オンコマイン DxTT、OncoGuide NCC Oncopanel、FoundationOne CDx など多くのパネルで解析可能と考えられている。

胆道癌では、生検検体やセルブロック検体が小さいことが多く、これらの最小基準を下回る症例も少なくない。そのため、初回採取時点から「遺伝子パネル検査を念頭に置いた組織量の確保」を図ることも考慮する必要がある（図 6,7）。

②検体種別ごとの標本組織量のポイント

・手術切除標本

原則として十分な体積が確保可能であるが、固定・標本作製過程でのロスを考慮し、切り出し時に診断用とは別の CGP 用の「ゲノム用ブロック」を確保しておくことが望ましい（図 1-F,G,H,I)。また、強い線維化・胆管炎を含む領域は有核細胞が少ないため、同じ面積でも実効組織量が少ない点に注意する。

・胆道・肝針生検標本

肝内胆管癌や遠位胆管癌では、細径針での 1〜2 本のみの採取では体積不足となることが多い（図 6,7)。肺癌の EBUS 針生検と同様に、複数パスやコア生検の併用により、NGS に十分な組織体積を確保できることが示されている。既に述べたように、肝生検材料は非腫瘍部肝細胞の存在が TCC に大きく影響することに注意する（図 7)。

・セルブロック検体（胆汁・擦過・穿刺細胞診）

FFPE セルブロックからは、通常 4〜5 μm 厚で 10 枚以上の切片作製を目標とする。ただし、粘液・壊死・炎症細胞が多い胆道癌では、プレパラート上の腫瘍細胞が集積している範囲が狭いことが多く、同じ枚数でも有効な腫瘍組織量が不足しうる。病理医が HE 標本を用いて適切に検体評価（腫瘍細胞含有率や組織量の確認）を行い、十分な腫瘍細胞が確保されていることを確認してから提出することが望ましい。

③標本組織量不足時の対応

・TCC は基準を満たすが組織量が不足：

運用にあたってはエキスパートパネル等での検討が前提となるが、必要組織量が少なくて済む小規模パネルへの切り替えを選択肢として考慮しうる。肺癌など他がん種では、少量検体に対しても比較的高い解析成功率が報告されている。胆道癌においても、オンコマイン DxTT などの小規模パネルも選択肢となる。

・TCC も標本量も不足：

再生検（より太い針でのコア採取や、別ルートからの生検)、胆汁セルブロック作成、血漿 ctDNA パネルの併用を検討する。

3-9. 検査精度の確保

胆道癌に対するがん遺伝子パネル検査（CGP）においても、他がん種と同様に、検査室の品質保証体制と検体取扱いの標準化による精度担保が必須である。本邦では2018年の医療法改正により、医療機関等における遺伝子関連・染色体検査の精度管理が医療法上の義務として明確化されており、責任者の配置、内部精度管理と職員教育、外部精度管理調査への参加が求められる。また、ISO 15189 や CAP などの第三者認定取得と EQA への継続的参加が、オンコロジーバイオマーカー検査の成績向上とエラー低減に寄与することが報告されている[23]。

(1) がんゲノム医療体制と第三者認定

がんゲノム医療中核拠点病院・拠点病院の指定要件として「第三者認定を受けた臨床検査室・病理検査室」が求められており、本邦でも ISO 15189 認定取得施設が増加している。特に FFPE 検体を扱う病理・分子検査室において、品質マネジメント、内部監査、リスクマネジメント、EQA 参加を含む包括的な品質保証体制を整備することにより、DNA/RNA 品質のばらつきや解析失敗率を低減しうることが示されている。

胆道癌は線維化・炎症背景が強くサンプリングも困難なため、NGS 解析の手技的精度のみならず、標本選択（腫瘍優位領域の選定）、TCC と組織量の適切な評価、胆汁・擦過細胞診セルブロックや EUS-FNA/FNB 検体など特殊検体に対する前処理工程の標準化と継続的な品質改善（PDCA）が重要となる。

(2) 内部・外部精度管理の具体的内容

内部精度管理として、ISO 15189 の品質管理基準に準じた品質マネジメントシステムの整備、文書管理、内部監査、リスク管理、occurrence management の運用が求められる[23]。一方で、外部精度管理としては、ISO 15189 に基づく品質管理体制の枠組みのもと、CAP Proficiency Testing 等の外部精度管理プログラムへの参加が推奨されている[23]。

(3) 胆道癌特有の留意点

①希少・高度専門治療の対象であること

胆道癌は症例数が少なく、大学病院やがん専門病院に症例が集中しやすい。がんゲノム医療中核拠点病院ネットワークや分子腫瘍ボード（エキスパートパネル）を活用し、検体適否の判断から結果解釈・治療方針決定まで多職種で議論することが、検査精度の「運用面」での担保となる。

②コピー数変化・遺伝子融合の検出

胆道癌では *FGFR2* 融合、*ERBB2* 増幅などが治療標的として重要であり、コピー数異常や多様な融合形式の検出には十分な腫瘍細胞量と高品質ライブラリ、十分なカバレッジ深度が必要となる。TCC 低値や組織量不足では偽陰性リスクが高まるため、生検戦略

の最適化や必要に応じた再生検・液体生検の併用を含めて検査前に検討し、残存リスクはレポート上で明示することが推奨される。

③結果の解釈と還元

CGP 検査は数百遺伝子規模の情報を扱い、actionable 変異の検出率は 40〜60%に上る一方、実際に治療へ到達する割合は 10%前後にとどまり、希少変異やエビデンスレベルの低い変異も多く含まれる。胆道癌でも分子サブタイプ間で頻度の異なる多彩な変異が報告されていることから、バイオインフォマティクス解析、ACMG/AMP 等の標準化されたバリアント分類基準、および臨床・病理情報を統合して解釈できる体制を検査精度確保の一部として重視すべきである。

参考文献

1. Mie T, Sasaki T, Okamoto T, et al. Current Status of Targeted Therapy for Biliary Tract Cancer in the Era of Precision Medicine. Cancers (Basel). 2024;16(5):879.
2. Yatabe Y, Sunami K, Goto K, et al. Multiplex gene-panel testing for lung cancer patients. Pathol Int. 2020;70(12):921-931.
3. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. Ann Oncol. 2020;31(11):1491-1505.
4. Hua H, He W, Chen N, et al. Genomic and transcriptomic analysis of MSI-H colorectal cancer patients with targetable alterations identifies clinical implications for immunotherapy. Front Immunol. 2023;13:974793.
5. Kanai M. Current Clinical Practice of Precision Medicine Using Comprehensive Genomic Profiling Tests in Biliary Tract Cancer in Japan. Curr Oncol. 2022;29(10):7272-7284.
6. 日本病理学会. ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程. 2018.
7. 日本病理学会. ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程 第 2 版. 2025.
8. 日本病理学会, 日本臨床検査医学会. がんゲノム検査全般に関する指針. 2022.
9. von der Heyde S, Raman N, Gabelia N, et al. Tumor specimen cold ischemia time impacts molecular cancer drug target discovery. Cell Death Dis. 2024;15(9):691.
10. Hatanaka Y, Kuwata T, Morii E, et al. The Japanese Society of Pathology Practical Guidelines on the handling of pathological tissue samples for cancer genomic medicine. Pathol Int. 2021;71:725-740.
11. Fassan M, Angerilli V, Normanno N, et al. Practical guidelines for molecular testing of cholangiocarcinoma in clinical practice: Italian experts' position paper. Crit Rev Oncol Hematol. 2024;194:104224.
12. Vogel A, Bridgewater J, Edeline J, et al. Biliary tract cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2023;34(2):127-140.
13. Groelz D, Viertler C, Pabst D, et al. Impact of storage conditions on the quality of nucleic acids in paraffin embedded tissues. PLoS One. 2018;13(9):e0203608.
14. Eccher A, Seminati D, L'Imperio V, et al. Pathology Laboratory Archives: Conservation Quality of Nucleic Acids and Proteins for NSCLC Molecular Testing. J Pers Med. 2024;14(4):333.
15. Akahane T, Yamaguchi T, Kato Y, et al. Comprehensive validation of liquid-based cytology specimens for next-generation sequencing in cancer genome analysis. PLoS One. 2019;14(6):e0217724.
16. 日本臨床細胞学会. がんゲノム診療における細胞検体の取扱い指針 第 2 版. 2024.
17. Rizzo A, Ricci AD, Tavolari S, et al. Circulating Tumor DNA in Biliary Tract Cancer: Current Evidence and Future Perspectives. Cancer Genomics Proteomics. 2020;17(5):441-452.
18. de Scordilli M, Bortolot M, Torresan S, et al. Precision oncology in biliary tract cancer: the emerging role of liquid biopsy. ESMO Open. 2025;10(5):105079.
19. Risberg B, Tsui DWY, Biggs H, et al. Effects of Collection and Processing Procedures on Plasma Circulating Cell-Free DNA from Cancer Patients. J Mol Diagn.

2018;20(6):883-892.
20. Johansson G, Andersson D, Filges S, et al. Considerations and quality controls when analyzing cell-free tumor DNA. Biomol Detect Quantif. 2019;17:100078.
21. Meintani A, Ozdogan M, Touroutoglou N, et al. Comprehensive Evaluation of a 1021-Gene Panel in FFPE and Liquid Biopsy for Analytical and Clinical Use. Int J Mol Sci. 2025;26(13):5930.
22. Lamarca A, Kapacee Z, Breeze M, et al. Molecular Profiling in Daily Clinical Practice: Practicalities in Advanced Cholangiocarcinoma and Other Biliary Tract Cancers. J Clin Med. 2020;9(9):2854.
23. Schneider F, Maurer C, Friedberg RC. International Organization for Standardization (ISO) 15189. Ann Lab Med. 2017;37(5):365-370.

図と図の説明

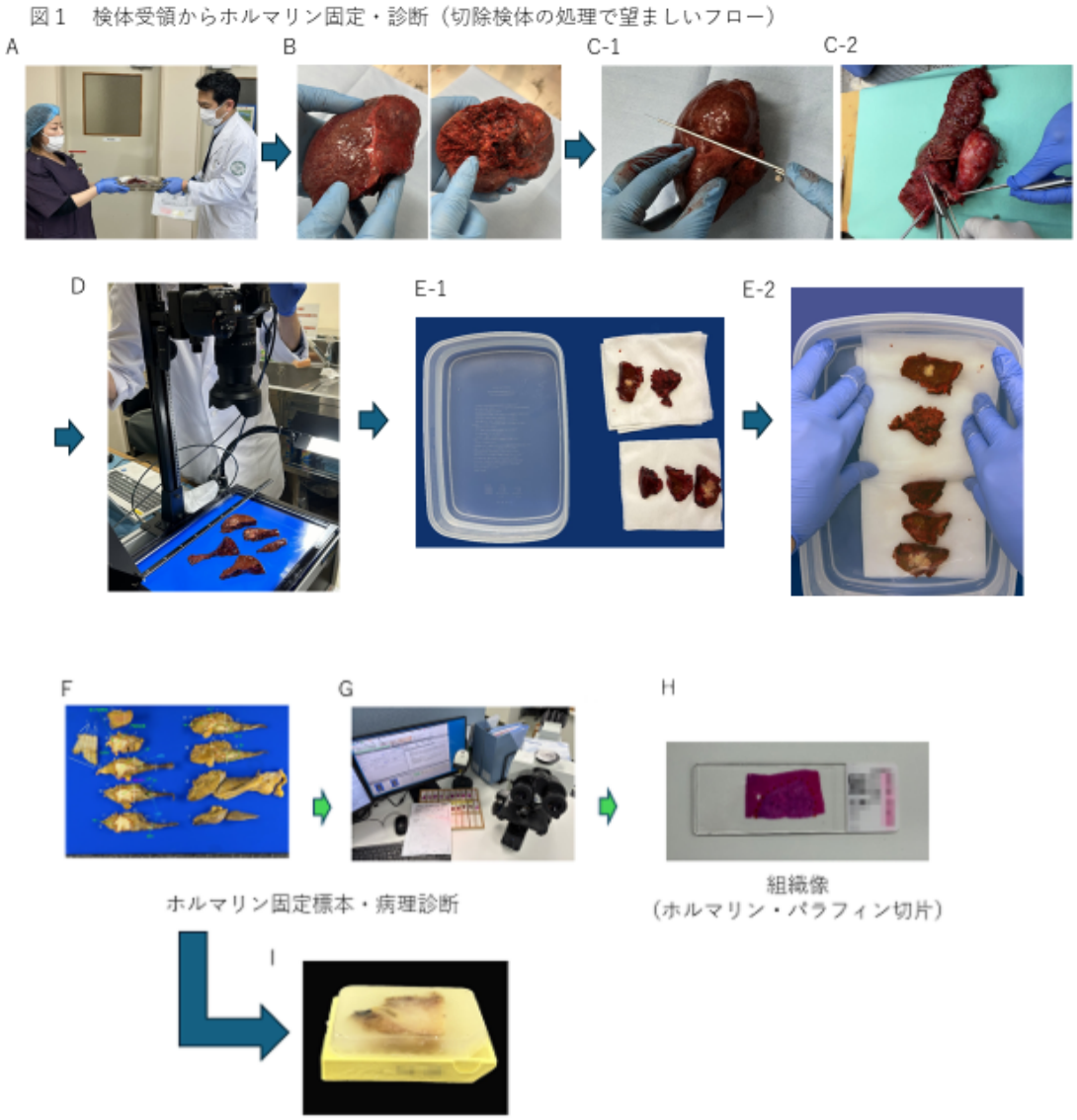


図 1　検体受領からホルマリン固定・診断（切除検体の処理で望ましいフロー）：切除検体は摘出後速やかに手術室から搬出し、外科医または病理医に受け渡す（A)。その後、検体の観察を行い（B)、肝臓腫瘍の場合は、可能な限り水平断（C-1)、肝外胆管腫瘍は胆管に背側切開（C-2）を加えて観察を行う。検体の写真は全ての段階でデジタル写真として撮影することが望ましい（D)。検体の写真撮影後は、検体が湾曲しないようにガーゼに静置して（E-1）速やかにホルマリンに浸透させる。これらの作業は、なるべく 30 分以内に終了させる。従って、従来行われていた切除検体を直に供覧しての患者家族への説明は廃止することが望まれ、検体のデジタル写真を見せることで代用を考慮する。ホルマリン固定は、十分な液量（10 倍以上）で行い（E-2)、48 時間以内に切り出しを行う（F)。切り出しの際は、理想的には、この段階で診断用（G,H）とは別のゲノム解析用の FFPE ブロックを確保（I）することも検討すべきである。

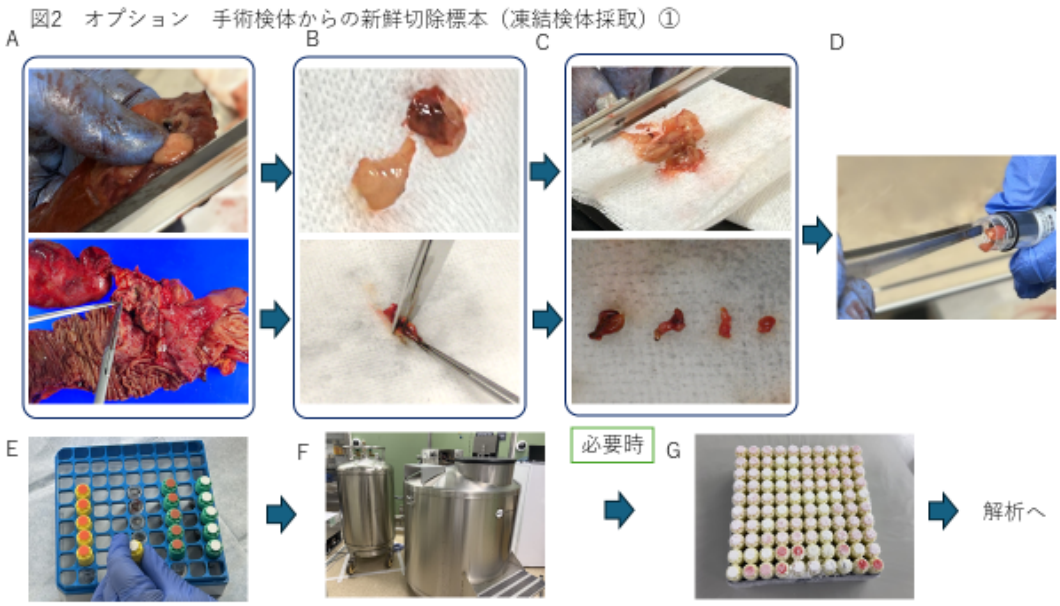


図 2　オプション　手術検体からの新鮮切除標本（凍結検体採取）①
マンパワー等に余裕のある施設は、手術検体処理時に、診断に影響のない範囲で、検体採取を行うことが望まれる。特に肝内に腫瘤を形成する胆管癌の場合（A 上図）は、多くの検体を採取することが可能である。肝外胆管癌の場合は、ごく微量しか採取できないことが多い（A 下図）が、診療に影響のない範囲で採取する（B)。これら一連の作業は、経験豊富な病理医のもとで行うことが理想である。一般的には、2〜3 mm 角の大きさに刻み（C)、保管用のチューブのふちに貼り付けるように入れる（D)。検体採取後は、速やかに格納用ボックスに収納し（E)、液体窒素内（コンタミネーションを避けるため気相での保存）に格納する（F,G)。この際、注意することとしては、チューブの ID、格納ボックス内の位置を間違えないように管理することである。

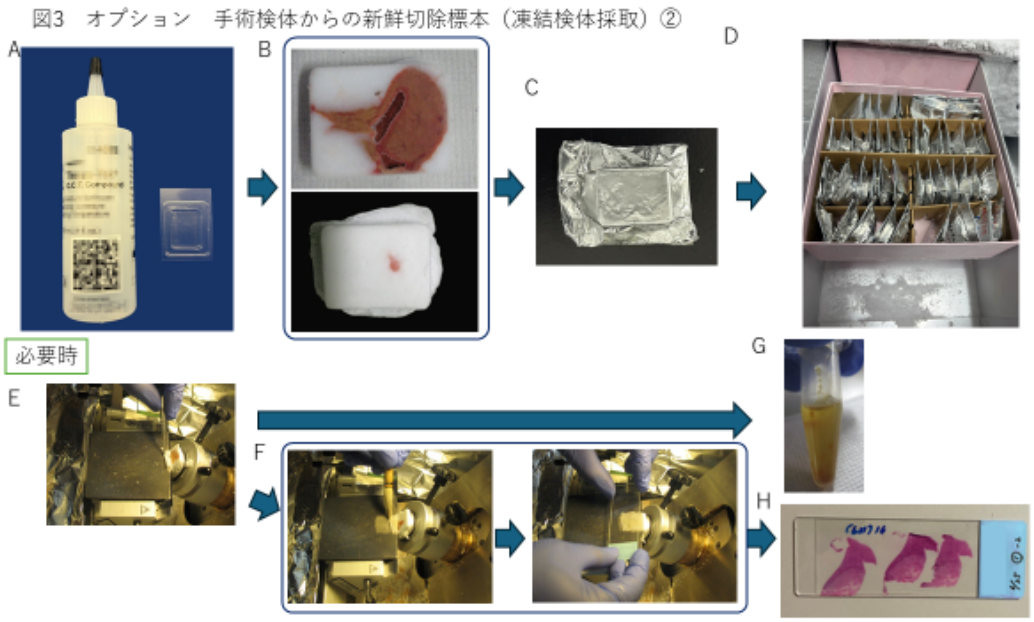
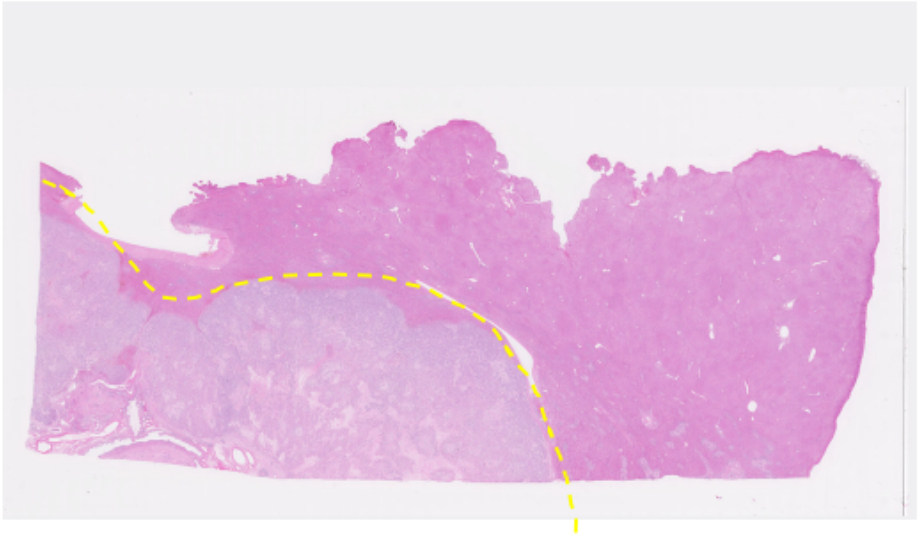


図 3　オプション　手術検体からの新鮮切除標本（凍結検体採取）②
肝外胆管癌はサンプリングエラーが特に生じやすいが、肝内の胆管癌組織を多く採取できた場合も含め、適切な部分からの採取が実現されているか確認することが、空振り解析を避けるためにも望まれる。形態学的な確認を行ったうえでゲノム解析を行う方法として、OCT コンパウンドで検体を包埋して保存する方法がある。これにより、検体から遺伝子抽出する場合にも、まずは形態を HE 標本で確認することが可能になる（A　左：OCT コンパウンド　右：包埋専用容器)。採取した検体を OCT コンパウンド内に包埋して凍結させる（B　上：肝臓組織　下：肝外胆管癌組織)。凍結後はシーリングテープで密閉（C）し、–80℃の Deep Freezer 内に専用ボックスに入れて保存（D）する。必要時には、クリオスタット庫内をアルミホイルなどで被覆して、RNase 除去（薄切刃も行う）したうえで、凍結切片を作製（E,F）し、HE 染色による形態を確認（H)、その後、遺伝子抽出用の検体採取を行う（G)。

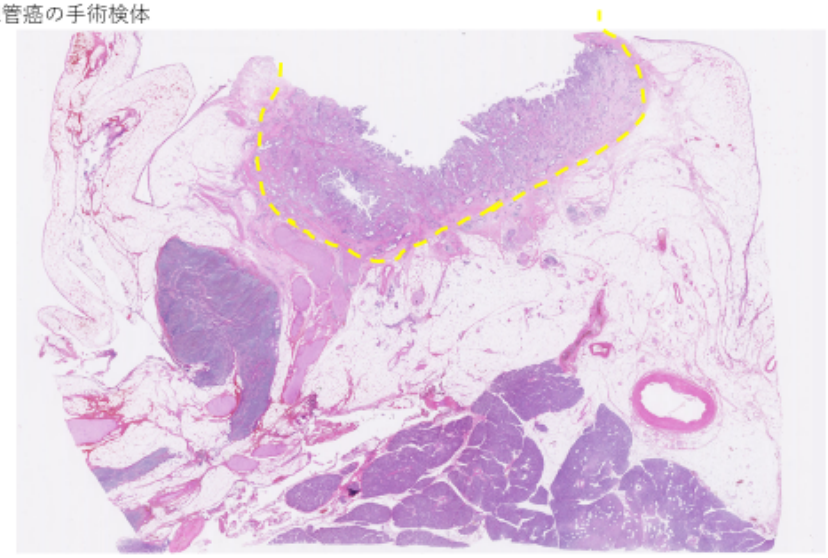
図4　肝内胆管癌の手術検体



マクロダイセクション（黄色点線ライン）で十分な腫瘍量を確保可能

図４　肝内胆管癌の手術検体
マクロダイセクション（黄色点線ライン）で十分な腫瘍量を確保可能。

図5　肝内胆管癌の手術検体



マクロダイセクション（黄色点線ライン）で十分な腫瘍量を確保可能

図５　肝内胆管癌の手術検体
マクロダイセクション（黄色点線ライン）で十分な腫瘍量を確保可能。

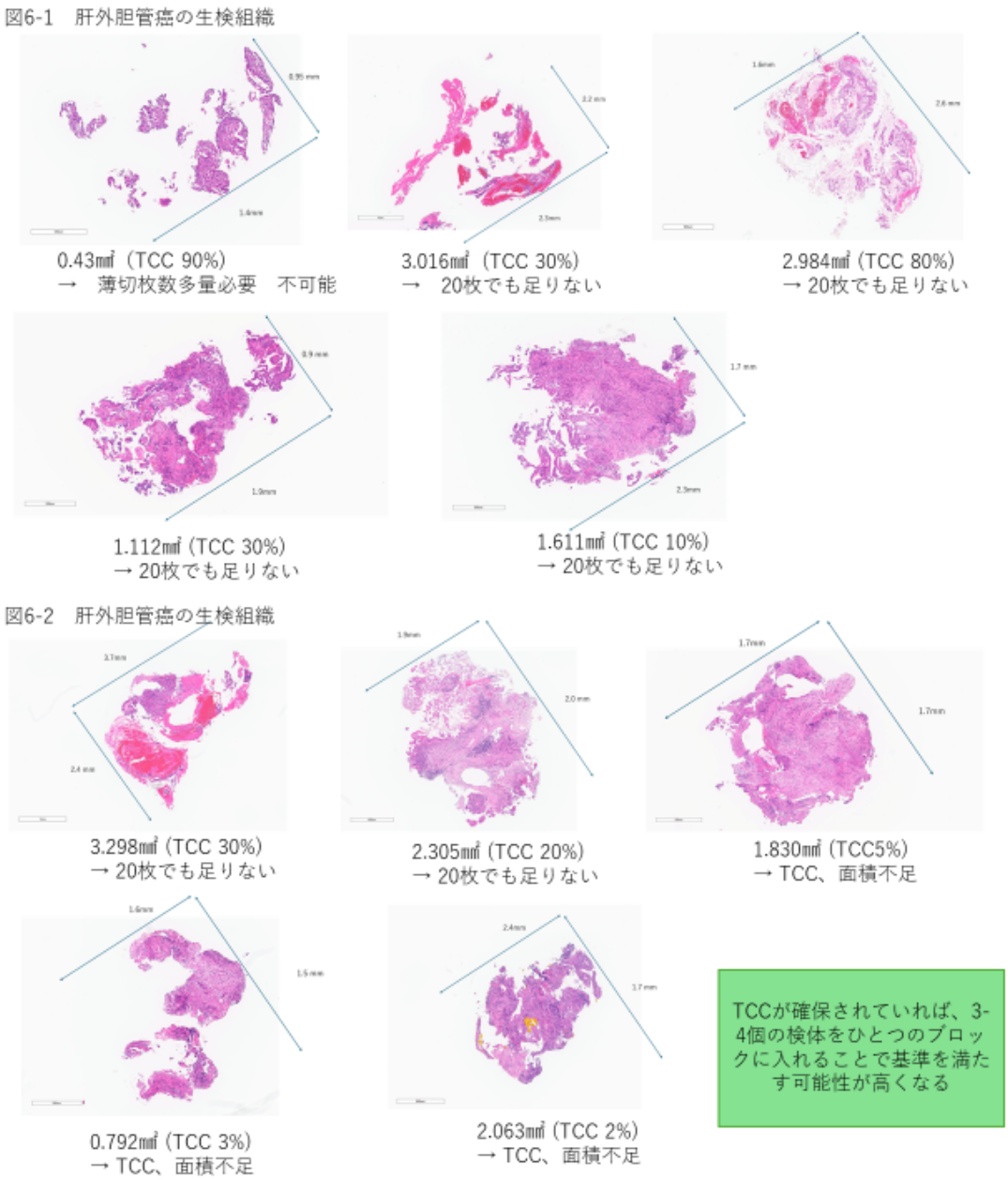


図 6　肝外胆管癌の生検組織
検体が微小であり、さらに TCC が低いことから、TCC が確保された 3〜4 個の検体をひとつのブロックに入れることで基準を満たす可能性が高くなる。

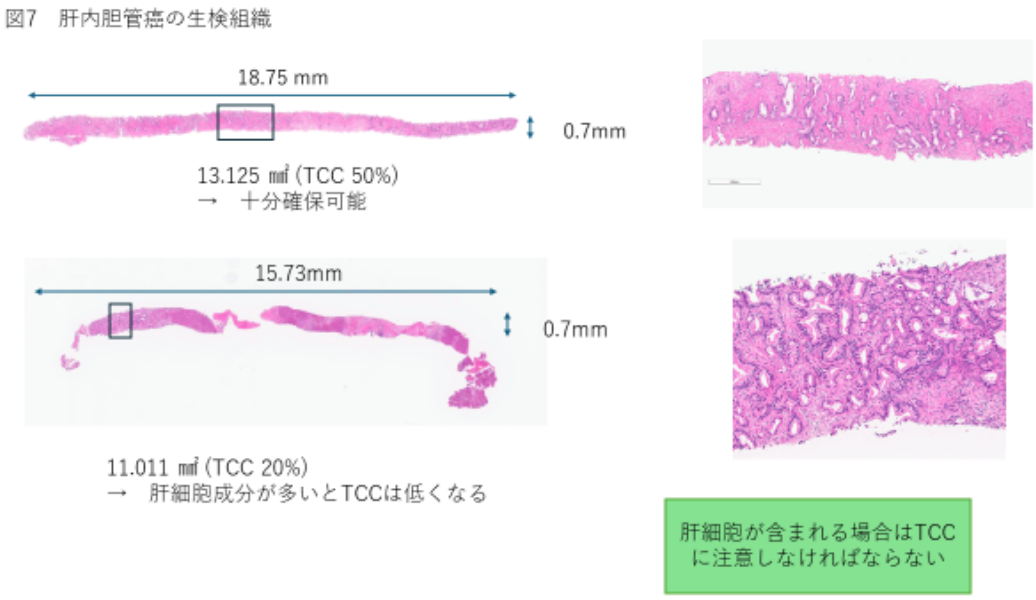


図 7　肝内胆管癌の生検組織
背景肝組織が含まれる場合は TCC に注意しなければならない。

4. バイオマーカー検査の対象となる遺伝子とその異常

4-1. FGFR2

(1) *FGFR* 遺伝子と *FGFR2* 融合遺伝子/再構成

線維芽細胞増殖因子受容体（Fibroblast growth factor receptor：FGFR）ファミリーは、FGFR1、2、3、4 の 4 種類の受容体型チロシンキナーゼで構成される。リガンド（FGF）が結合すると、二量体化、チロシンキナーゼドメインのリン酸化が起こり、それにより MAPK、PI3K/AKT、JAK/STAT 系などが活性化され、増殖・分化・生存・血管新生などに関与する。*FGFR2*融合遺伝子は、染色体転座や逆位などの遺伝子再構成により、*FGFR2* 遺伝子の一部（主にキナーゼドメインを含む 3'末端側）が他のパートナー遺伝子の 5'末端側と結合することで形成される。この融合により、パートナー遺伝子が持つ coiled-coil ドメインや SAM ドメインなどを介して、リガンド非依存的な恒常的活性化を引き起こす。その結果、前述の下流経路が過剰に駆動され、細胞のがん化を促進する強力なドライバー遺伝子として機能する。パートナー遺伝子は多岐にわたり、*BICC1* が多く報告されているが、他にも多種多様な遺伝子が同定されている。一方で、E18-truncated *FGFR2*（*FGFR2Δ E18*）など、特定の融合パートナーを持たない遺伝子の構造異常（再構成：rearrangement）も胆道癌を含む複数のがん種で強力なドライバー変異となり得ることが報告されている [1]。

(2) *FGFR2* 融合遺伝子/再構成陽性胆道癌の頻度と臨床病理学的特徴

特定の遺伝子異常を検出し分子標的治療薬を投与するという、いわゆる Precision medicine が胆道癌で実臨床に応用された最初の例がこの遺伝子異常に対するペミガチニブである。当初、切除組織の凍結検体を用いた RNA シーケンスによる報告では *FGFR2* 融合遺伝子/再構成は肝内胆管癌患者の 13.6%に認められると報告されていた [2]。しかし、その後大規模な臨床研究により、薬物療法が適応となる進行・再発症例における頻度は当初の報告よりも低いことが示されている。日本の多施設共同観察研究である Prelude 試験 [3] では、進行・再発肝内胆管癌における頻度は 7.4%（20/272）であった。さらに最近の報告 [4] でも、切除不能な進行肝内胆管癌における頻度は 7.4%（23/309）と報告されている。両研究とも、肝門部領域胆管癌においても、3.6%[3]、1.4%[4] と稀ながら検出されている一方で、それ以外の臓器での評価も行った Prelude 試験では遠位胆管癌、胆嚢癌、ファーター乳頭部癌については陽性例は認められなかった [3]。以上より *FGFR2* 融合遺伝子/再構成は、胆道癌の中で主に肝内胆管癌において検出される、重要な治療標的といえる。*FGFR2* 融合遺伝子/再構成は *KRAS*変異、*BRAF*変異、*IDH1*変異とは相互排他的と報告されている [2,5,6]。

FGFR2 融合遺伝子/再構成陽性胆道癌には以下の臨床病理学的特徴が認められる。

- 肝内胆管癌の腫瘤形成型にみられ、病理学的分類における small duct タイプに多く認められる [6,7]。
- 年齢： 非保持者と比較して、50 代から 60 代前半の若年者に多い傾向がある [3,4]。
- 性別： 報告により差はあるが、女性にやや多い傾向が指摘されている [4]。

・　背景因子： HBs 抗原や HCV 抗体との関連が報告されており[3,4,7]、慢性的な炎症が遺伝子再構成に関与している可能性が示唆されている。

上記のように、*FGFR2* 融合遺伝子・再構成が検出されやすい集団が複数報告されているが、それに該当しない患者集団で検出されない、ということではない点は注意が必要である。

(3) *FGFR2* 融合遺伝子/再構成陽性胆道癌に対する臨床試験

既治療の *FGFR2* 融合遺伝子/再構成陽性胆道癌を対象に、複数の経口 FGFR 阻害薬が良好な成績を収めている。

ペミガチニブは、FGFR1～3 を選択的に阻害する可逆的阻害薬であり、前治療後に増悪した陽性患者 108 名（107 名が肝内胆管癌）を対象とした第 2 相試験（FIGHT-202）の最終解析結果において、奏効割合（ORR）37%を達成し、無増悪生存期間（PFS）中央値7.0か月、全生存期間（OS）中央値 17.5 か月という成績を示した[8]。

フチバチニブは、FGFR1～4 を不可逆的に阻害する共有結合型阻害薬である。1 ライン以上の全身療法後に進行した *FGFR2* 融合遺伝子/再構成陽性の肝内胆管癌患者 103 名を対象とした国際共同第 2 相試験（FOENIX-CCA2）において、ORR 42.0%、PFS 中央値 9.0 か月、OS 中央値 21.7 か月という成績を示した[9]。

タスルグラチニブは FGFR1～3 を選択的に阻害する薬剤であり、日本人および中国人の既治療患者 63 名（61 名が肝内胆管癌）を対象とした第 2 相試験においてORR 30.2%を達成し、PFS 中央値 5.4 か月、OS 中央値 13.1 か月という成績を示した[10]。

上記 3 薬剤はいずれも日本で承認が得られ、日常診療として用いられている。FGFR 阻害薬の有害事象については、高リン血症、脱毛、下痢、倦怠感、味覚異常、口内炎、皮膚の乾燥、手足症候群（掌蹠感覚不全症候群)、爪の異常、漿液性網膜剥離などの眼障害が挙げられる。漿液性網膜剥離は可逆性で休薬により視力障害は軽快することが多い。

表 1　*FGFR2* 融合遺伝子/再構成陽性胆道癌に対する FGFR 阻害薬の主な臨床成績

薬剤名	試験名	登録 患者数	奏効割合	無増悪 生存期間 中央値	全生存期間 中央値
ペミガチニブ	FIGHT-202	108 名	37.0%	7.0 か月	17.5 か月
フチバチニブ	FOENIX-CCA2	103 名	42%	9.0 か月	21.7 か月
タスルグラチニブ	E7090-J000-201	63 名	30.2%	5.4 か月	13.1 か月

薬剤耐性

FGFR 阻害薬による薬剤耐性機序として、FGFR2 キナーゼドメインにおける二次的な点突然変異による獲得耐性が報告されている。代表的な耐性変異として、ゲートキーパー部

位の V565 や、分子ブレーキ部位の N549/N550 が知られている[11,12]。これらの変異は阻害薬の結合を立体的に妨げることで感受性を低下させる。

フチバチニブは不可逆的阻害薬であることから結合力が強いとされており、可逆的阻害薬に耐性となった一部の変異に対しても活性を維持することが期待されている。また、タスルグラチニブも前臨床モデルで、N549K/H 変異に対し増殖抑制活性を示すことが報告されている[13]。近年では FGFR 阻害薬に対する 1 次耐性および獲得耐性例に対する治療開発も行われており、新規 FGFR 阻害薬である Tinengotinib では、*FGFR2* 融合遺伝子陽性かつ前治療の FGFR 阻害薬に対する獲得耐性例に奏効割合 30.0%と有望な結果も報告されている[14]。

(4) *FGFR2* 融合遺伝子/再構成の検査

①がん遺伝子パネル検査

次世代シーケンサー（next-generation sequencer：NGS）の手法を用いたがん遺伝子パネル検査は多数の遺伝子異常を同時に解析できる点が大きなメリットである。FoundationOne CDx がんゲノムプロファイルはペミガチニブのコンパニオン診断薬（CDx）として承認されている。DNA のハイブリッドキャプチャ法を用いており、未知のパートナーとの融合も同定可能である。OncoGuide NCC オンコパネル システムはフチバチニブのコンパニオン診断薬として承認されている。このように薬剤ごとに CDx が設定されている一方で、いずれのパネルで検出されたとしても、「がん遺伝子パネル検査後に開催されるエキスパートパネルが、添付文書・ガイドライン・文献等を踏まえ、当該遺伝子異常に係る医薬品投与が適切であると推奨した場合であって、主治医が当該医薬品投与について適切であると判断した場合は、改めてがん遺伝子パネル検査以外の CDx 検査を行うことなく当該医薬品を投与しても差し支えない」（厚生労働省保険局医療課 疑義解釈資料の送付について（その 15））ため、臨床現場ではコンパニオン診断を強く意識して検査法を選択する必要はない。詳細は別章に譲るが、NGS は提出必要となる検体量や腫瘍細胞含有割合の条件があり、結果判明までに組織を用いた場合は 6〜8 週程度の長期間を要する点、検査実施タイミングにも保険制度上の制約がある点が課題である。血液検体を用いたリキッドバイオプシー（FoundationOne Liquid CDx がんゲノムプロファイルや Guardant360 CDx がん遺伝子パネル）においても *FGFR2* 融合遺伝子/再構成は検査対象の遺伝子に含められているが、一般的にリキッドバイオプシーは融合遺伝子の検出感度は低いといわれており、組織検体での検査が可能であればそちらを優先させるべきである。近年ではリキッドバイオプシーでも高率に検出可能であったという報告もあり、今後の開発・検討が期待される[9]。表 2 に、胆道癌における *FGFR2* 融合遺伝子/再構成の陽性頻度を提示する[15]。

表 2　胆道癌における *FGFR2* 融合遺伝子/再構成の陽性頻度　（C-CAT ポータル, Ver.20260226）

	肝内 胆管癌 n (%)	肝門部 胆管癌 n (%)	肝外 胆管癌 n (%)	胆嚢癌 n (%)	乳頭部癌 n (%)	全体 n (%)
FoundationOne CDx がんゲノム プロファイル	100/2360 (4.2)	3/750 (0.4)	2/940 (0.2)	1/1553 (0.1)	1/442 (0.2)	107/6045 (1.8)
OncoGuide NCC オンコパネル システム	19/400 (4.8)	0/147 (0)	0/85 (0)	0/226 (0)	0/54 (0)	19/912 (2.1)
GenMineTOP がんゲノム プロファイル	8/163 (4.9)	0/61 (0)	1/58 (1.7)	0/135 (0)	0/42 (0)	9/459 (2.0)
組織全体	127/2923 (4.3)	3/958 (0.3)	3/1083 (0.3)	1/1914 (0.1)	1/538 (0.2)	135/7416 (1.8)
FoundationOne Liquid CDx がんゲノム プロファイル	18/704 (2.6)	1/425 (0.2)	2/175 (1.1)	0/489 (0)	0/49 (0)	21/1842 (1.1)
Guardant360 CDx	4/120 (3.3)	0/89 (0)	1/51 (2.0)	0/114 (0)	0/10 (0)	5/384 (1.3)
Liquid 全体	22/824 (2.7)	1/514 (0.2)	3/226 (1.3)	0/603 (0)	0/59 (0)	26/2226 (1.2)
CGP 全体	149/3747 (4.0)	4/1472 (0.3)	6/1309 (0.5)	1/2517 (0.04)	1/597 (0.2)	161/9642 (1.7)

C-CAT 登録件数検索（https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/）の検索結果をもとに作成（Ver.20260226）

②FISH 法

FISH 法は蛍光プローブを用いて顕微鏡下で遺伝子の再構成を直接観察する手法であり、タスルグラチニブのコンパニオン診断薬として、AmoyDx FGFR2 Gene Break-apart FISH プローブキットが該当する。NGS と比較して必要とする組織量が 3〜5 μm×3 枚と少なくて済み、がんゲノム医療中核拠点病院・拠点病院・連携病院以外でも検査可能な点、8〜14 日で結果が判明する点などのメリットがある。プローブが遺伝子の切断点の前後を挟み込むように結合し、異常がない場合は 1 つ、遺伝子の再構成があると 2 つに分かれて見えることを利用した Break-apart 法という手法から、パートナー遺伝子にかかわらず検出可能だが、パートナー遺伝子が何なのか、という情報は得られない。検査の実施タイミングに

制約はないため、臨床上自由度が高い。微小な生検検体しか得られない場合や、早期の治療開始を要する症例において有用な選択肢となる。

参考文献

1. Zingg D, Bhin J, Yemelyanenko J, et al. Truncated FGFR2 is a clinically actionable oncogene in multiple cancers. Nature. 2022;608:609-617.
2. Arai Y, Totoki Y, Hosoda F, et al. Fibroblast Growth Factor Receptor 2 Tyrosine Kinase Fusions Define a Unique Molecular Subtype of Cholangiocarcinoma. Hepatology. 2014;59:1427-1434.
3. Maruki Y, Morizane C, Arai Y, et al. Molecular detection and clinicopathological characteristics of advanced/recurrent biliary tract carcinomas harboring the FGFR2 rearrangements: a prospective observational study (PRELUDE Study). J Gastroenterol. 2021;56:250-260.
4. Satake T, Morizane C, Isayama H, et al. Multicenter observational study to characterize fibroblast growth factor receptor 2 fusions or rearrangements in patients with advanced/metastatic cholangiocarcinoma. Hepatol Res. 2025;55:1005-1014.
5. Lowery MA, Ptashkin R, Jordan E, et al. Comprehensive Molecular Profiling of Intrahepatic and Extrahepatic Cholangiocarcinomas: Potential Targets for Intervention. Clin Cancer Res. 2018;24:4154-4161.
6. Zou Y, Zhu K, Pang Y, et al. Molecular Detection of FGFR2 Rearrangements in Resected Intrahepatic Cholangiocarcinomas: FISH Could Be An Ideal Method in Patients with Histological Small Duct Subtype. J Clin Transl Hepatol. 2023;11:1355-1367.
7. Zhang X, Bai Q, Wang Y, et al. FGFR2 fusion/rearrangement analysis in intrahepatic cholangiocarcinoma using DNA/RNA-based NGS and FISH. Virchows Arch. 2025;487:1103-1115.
8. Vogel A, Sahai V, Hollebecque A, et al. An open-label study of pemigatinib in cholangiocarcinoma: final results from FIGHT-202. ESMO Open. 2024;9(6):103488.
9. Goyal L, Meric-Bernstam F, Hollebecque A, et al. Futibatinib for FGFR2-Rearranged Intrahepatic Cholangiocarcinoma. N Engl J Med. 2023;388:228-239.
10. Shen L, Duan H, Kuwahara T, et al. Tasurgratinib (E7090) for cholangiocarcinoma with fibroblast growth factor receptor 2 fusions/rearrangements: a multicenter, open-label, Phase 2 study. Jpn J Clin Oncol. 2025;55(11):1229-1236.
11. Tangermann C, Ghosh A, Ziegler M, et al. Saturation mutagenesis identifies activating and resistance-inducing FGFR kinase domain mutations. Nat Genet. 2026;58:157-168.
12. Wu Q, Ellis H, Siravegna G, et al. Landscape of Clinical Resistance Mechanisms to FGFR Inhibitors in FGFR2-Altered Cholangiocarcinoma. Clin Cancer Res. 2024;30:198-208.
13. Kawano S, Kawada MI, Fukushima S, et al. Antitumor Activity of Tasurgratinib as an Orally Available FGFR1-3 Inhibitor in Cholangiocarcinoma Models With FGFR2-fusion. Anticancer Res. 2024;44:2393-2406.

14. Javle M, Fountzilas C, Liao C-Y, et al. Tinengotinib for adults with advanced or metastatic cholangiocarcinoma: a multicentre, open-label, phase 2 trial. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2026;11:137-149.
15. 国立がん研究センター がんゲノム情報管理センター（C-CAT）．C-CAT 登録件数検索．https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/（Ver.20260226）

4-2. IDH1

(1) *IDH1* 遺伝子とその遺伝子変異

イソクエン酸デヒドロゲナーゼ 1（isocitrate dehydrogenase 1：IDH1）は、細胞質およびペルオキシソームに局在する代謝酵素であり、イソクエン酸から α-ケトグルタル酸（α-KG）への変換を触媒する。癌において認められる *IDH1* 変異は主に R132 残基に生じる点突然変異であり、変異型 IDH1 は本来の酵素活性を失う一方で、α-KG から 2-ヒドロキシグルタル酸（2-HG）を産生する新規機能を獲得する。2-HG はオンコメタボライトとして作用し、DNA およびヒストン脱メチル化酵素を阻害することで、広範なエピジェネティック異常を引き起こす[1]。その結果、細胞分化の阻害や腫瘍形成が促進され、*IDH1* 変異は胆道癌、特に肝内胆管癌における発癌ドライバー異常の一つと位置づけられている[2]。

(2) *IDH1* 変異陽性胆道癌の頻度と臨床病理学的特徴

IDH1 変異は胆道癌全体の中では限られたサブグループに認められるが、肝内胆管癌（intrahepatic cholangiocarcinoma：ICC）に比較的高頻度に存在することが知られている。報告によりばらつきはあるものの、ICC における *IDH1* 変異の頻度はおおむね 10～20%前後とされ、肝外胆管癌や胆嚢癌では稀である[2]。

分子学的には、*IDH1* 変異は *FGFR2* 融合遺伝子など他の代表的ドライバー異常と相互排他的に認められることが多く、比較的均一な分子サブタイプを形成する。また、*IDH1* 変異陽性胆道癌は、一般に低腫瘍遺伝子変異量（tumor mutational burden：TMB）であり、免疫チェックポイント阻害薬に対する感受性は高くないとされている[3]。

(3) *IDH1* 変異陽性胆道癌に対する臨床試験

①イボシデニブ（Ivosidenib）の作用機序

イボシデニブは、変異型 IDH1 を選択的に阻害する低分子阻害薬であり、変異型 IDH1 による 2-HG 産生を抑制することで、エピジェネティック異常の是正と腫瘍増殖抑制をもたらす。野生型 IDH1 に対する阻害作用は弱く、*IDH1* 変異を有する腫瘍に対して選択的に効果を示す点が特徴である[4]。

②*IDH1* 変異陽性胆道癌に対するイボシデニブの臨床的有効性

ClarIDHy 試験は、*IDH1* 変異を有する治癒切除不能または再発胆道癌患者を対象とした、国際多施設共同・無作為化・二重盲検・プラセボ対照第 III 相試験である[5]。本試験では、少なくとも 1 レジメン以上の全身化学療法歴を有する患者が登録され、イボシデニブ群とプラセボ群に 2：1 の割合で無作為割付が行われた。主要評価項目は無増悪生存期間（progression-free survival：PFS）であり、副次評価項目として全生存期間（overall survival：OS）、奏効割合（overall response rate：ORR）、安全性などが設定された。また、病勢進行後にはプラセボ群からイボシデニブへのクロスオーバーが許可されていた点が、本試験の解釈において重要な特徴である。

・無増悪生存期間（PFS）

独立画像評価委員会による解析では、PFS 中央値はイボシデニブ群で 2.7 か月、プラセボ群で 1.4 か月と、イボシデニブ群で有意な延長が認められた（ハザード比 0.37）。6 か月 PFS 割合および 12 か月 PFS 割合もイボシデニブ群で一貫して良好であり、腫瘍増殖の抑制効果が持続的であることが示された。本試験における特徴として、PFS 中央値の絶対差は比較的小さいものの、長期に病勢が安定する患者集団が存在する点が挙げられ、分子標的治療としての特性を反映した結果と考えられる。

・奏効割合および病勢制御

イボシデニブ群の奏効割合（完全奏効＋部分奏効）は 2%と限定的であった。一方で、病勢安定（stable disease）を含めた病勢制御割合はイボシデニブ群で 53%であり、多くの症例で腫瘍増大の抑制が得られていた。

この結果は、イボシデニブが腫瘍縮小を主目的とする治療ではなく、腫瘍進行を抑制する治療薬であることを示しており、治療効果判定においては RECIST 上の奏効だけでなく、PFS や治療継続を含めた評価が重要である。

・全生存期間（OS）

ITT 解析における OS 中央値は、イボシデニブ群とプラセボ群の間で統計学的有意差は認められなかった。これは、プラセボ群の約 7 割の症例が病勢進行後にイボシデニブへクロスオーバーしたことが大きく影響していると考えられる[6]。

一方で、クロスオーバーを補正した解析では、イボシデニブ群で OS 延長傾向が示されており、*IDH1* 変異を標的とした治療が生存に寄与する可能性が示唆されている。ただし、OS に関しては解釈に注意を要し、PFS 改善を主要な臨床的意義として位置づけるのが妥当である。

・安全性

イボシデニブの安全性プロファイルは比較的良好であり、有害事象の多くは軽度から中等度であった。頻度の高い有害事象としては、倦怠感、悪心、下痢、食欲不振などが報告されているが、重篤な有害事象の発現割合は低く、長期投与が可能な忍容性を有することが確認された。

(4) *IDH1* 遺伝子変異の検査

ClarIDHy 試験の結果から、イボシデニブは既治療 *IDH1* 変異陽性胆道癌において、腫瘍進行を有意に抑制する分子標的治療薬であることが示された。奏効割合は高くないものの、治療選択肢が限られる胆道癌において、分子異常に基づく標準的治療オプションとして重要な位置を占める。表に胆道癌での *IDH1* 変異の頻度を示す[7]。以上より、胆道癌診療においては、初期段階から *IDH1* 変異の有無を評価し、適切な治療ラインでイボシデニブを導

入できる体制を整えることが、個別化医療の観点から重要である。

近年、「オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム」（オンコマイン DxTT）について、*IDH1* 遺伝子変異陽性の胆道癌を対象とするイボシデニブのコンパニオン診断薬として、一部変更承認がなされた。本承認により、本検査はイボシデニブの適応判定に用いることが可能な体外診断用医薬品（コンパニオン診断システム）として正式に位置づけられている。

オンコマイン DxTT は、次世代シーケンサーを用いた腫瘍組織由来 DNA の解析により、複数のがん関連遺伝子変異を同時に検出可能なマルチコンパニオン診断薬である。本システムでは、*IDH1* 遺伝子の代表的ホットスポットである R132 変異を高感度に検出することができ、胆道癌における *IDH1* 変異の有無を臨床的に信頼性高く評価することが可能である。

今回の一部変更承認により、オンコマイン DxTT を用いて *IDH1* 遺伝子変異陽性と判定された胆道癌患者は、イボシデニブ治療の適格患者として判断することが可能となった。これにより、包括的がんゲノムプロファイリング検査に加え、独自の単一検査として実施可能なコンパニオン診断の選択肢が拡充された点は、実臨床において大きな意義を有する。

臨床的には、腫瘍組織検体を用いた本検査により、治療ラインを見据えた早期段階で *IDH1* 変異の有無を把握することが可能となり、既治療例における迅速なイボシデニブ導入に寄与すると考えられる。本検査が、中核拠点病院・拠点病院・連携病院以外でも施行可能な点も重要である。一方で、検体量や腫瘍細胞含有割合など、検査前条件が結果の信頼性に影響する点には留意が必要であり、検査適格性の判断は病理学的評価と併せて慎重に行う必要がある。

表　胆道癌における *IDH1* 変異の頻度　（C-CAT ポータル, Ver.20260312）

	肝内 胆管癌 n (%)	肝門部 胆管癌 n (%)	肝外 胆管癌 n (%)	胆嚢癌 n (%)	乳頭部癌 n (%)	全体 n (%)
FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル	377/2376 (15.9)	17/758 (2.2)	8/950 (0.8)	21/1572 (1.3)	8/445 (1.8)	431/6101 (7.1)
OncoGuide NCC オンコパネルシステム	56/403 (13.9)	1/149 (0.7)	1/86 (1.2)	4/228 (1.8)	1/54 (1.9)	63/920 (6.8)
GenMineTOP がんゲノムプロファイル	27/172 (15.7)	0/64 (0.0)	0/59 (0.0)	1/139 (0.7)	0/47 (0.0)	28/481 (5.8)
組織全体	460/2951 (15.6)	18/971 (1.9)	9/1095 (0.8)	26/1939 (1.3)	9/546 (1.6)	522/7502 (7.0)
FoundationOne Liquid CDx がんゲノムプロファイル	76/710 (10.7)	7/426 (1.6)	4/178 (2.2)	7/494 (1.4)	1/49 (2.0)	95/1857 (5.1)
Guardant360 CDx	10/121 (8.3)	0/91 (0.0)	1/51 (2.0)	2/116 (1.7)	0/10 (0.0)	13/389 (3.3)
Liquid 全体	86/831 (10.3)	7/517 (1.4)	5/229 (2.2)	9/610 (1.5)	1/59 (1.7)	108/2246 (4.8)
CGP 全体	546/3782 (14.4)	25/1488 (1.7)	14/1324 (1.1)	35/2549 (1.4)	10/605 (1.7)	630/9748 (6.5)

C-CAT 登録件数検索（https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/）の検索結果をもとに作成（Ver.20260312）

参考文献

1. Dang L, White DW, Gross S, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. Nature. 2009;462(7274):739-744.
2. Lowery MA, Ptashkin R, Jordan E, et al. Comprehensive Molecular Profiling of Intrahepatic and Extrahepatic Cholangiocarcinomas: Potential Targets for Intervention. Clin Cancer Res. 2018;24(17):4154-4161.
3. Farshidfar F, Zheng S, Gingras MC, et al. Integrative Genomic Analysis of Cholangiocarcinoma Identifies Distinct IDH-Mutant Molecular Profiles. Cell Rep. 2017;18(11):2780-2794.
4. Popovici-Muller J, Lemieux RM, Artin E, et al. Discovery of AG-120 (Ivosidenib): A

First-in-Class Mutant IDH1 Inhibitor for the Treatment of IDH1 Mutant Cancers. ACS Med Chem Lett. 2018;9(4):300-305.
5. Abou-Alfa GK, Macarulla T, Javle MM, et al. Ivosidenib in IDH1-mutant, chemotherapy-refractory cholangiocarcinoma (ClarIDHy): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. Lancet Oncol. 2020;21(6):796-807.
6. Zhu AX, Macarulla T, Javle MM, et al. Final Overall Survival Efficacy Results of Ivosidenib for Patients With Advanced Cholangiocarcinoma With IDH1 Mutation: The Phase 3 Randomized Clinical ClarIDHy Trial. JAMA Oncol. 2021;7(11):1669-1677.
7. 国立がん研究センター がんゲノム情報管理センター（C-CAT）．C-CAT 登録件数検索．https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/（Ver.20260312）

4-3. HER2

(1) *HER2*遺伝子とその遺伝子増幅/タンパク過剰発現

HER2（human epidermal growth factor receptor 2、別名 ERBB2）は、上皮成長因子受容体（EGFR）ファミリーに属する受容体型チロシンキナーゼであり、細胞増殖、分化、生存シグナルの制御に重要な役割を果たす。HER2 はリガンド非依存的に二量体を形成しやすい特徴を有しており、過剰発現や遺伝子増幅が生じると、恒常的な下流シグナル活性化を介して腫瘍増殖や浸潤能の亢進を引き起こす[1,2]。

HER2 異常は乳癌や胃癌を代表とする複数の固形癌において確立した治療標的であり、HER2 を標的とした分子標的治療は、これらのがん種において予後を大きく改善してきた。胆道癌においても、*HER2* 遺伝子増幅やタンパク過剰発現、活性化変異が一部症例に認められ、治療標的となり得る分子異常として位置づけられている[1,2]。

胆道癌における HER2 異常は、主として *HER2* 遺伝子増幅およびタンパク過剰発現として検出されるが、近年では次世代シーケンサー（next-generation sequencer：NGS）を用いた包括的ゲノムプロファイリング（comprehensive genomic profiling：CGP）により、*HER2* 活性化変異の存在も報告されている[1,2]。これらの異常は、HER2 標的治療に対する感受性と関連する可能性があり、治療選択肢拡大の観点から臨床的意義が高い。

(2) HER2 異常胆道癌の頻度と臨床病理学的特徴

胆道癌における HER2 異常の頻度は、原発部位により大きく異なることが知られている。報告によりばらつきはあるものの、胆嚢癌および肝外胆管癌において比較的高頻度に認められ、肝内胆管癌では頻度が低い傾向にある。

既報の解析では、HER2 タンパク過剰発現あるいは遺伝子増幅の頻度は、胆道癌全体でおおむね 5〜15%前後とされている。特に胆嚢癌では 10〜20%程度とする報告もあり、胆道癌の中でも HER2 標的治療の恩恵を受け得る代表的サブタイプと位置づけられている。一方、肝内胆管癌では HER2 異常の頻度は低く、数%程度にとどまるとされる[3,4]。表 1 に、胆道癌における *HER2*（*ERBB2*）遺伝子増幅の頻度を提示する[5]。

表 1　胆道癌における *HER2*（*ERBB2*）遺伝子増幅の頻度　（C-CAT ポータル, Ver.20260316）

	肝内 胆管癌 n (%)	肝門部 胆管癌 n (%)	肝外 胆管癌 n (%)	胆嚢癌 n (%)	乳頭部癌 n (%)	全体 n (%)
FoundationOne CDx がんゲノム プロファイル	147/2376 (6.2)	60/758 (7.9)	104/950 (10.9)	314/1572 (20.0)	53/445 (11.9)	678/6101 (11.1)
OncoGuide NCC オンコパネル システム	5/403 (1.2)	4/149 (2.7)	1/86 (1.2)	20/228 (8.8)	3/54 (5.6)	33/920 (3.6)
GenMineTOP がんゲノム プロファイル	5/172 (2.9)	4/64 (6.3)	1/59 (1.7)	8/139 (5.8)	2/47 (4.3)	20/481 (4.2)
組織全体	157/2951 (5.3)	68/971 (7.0)	106/1095 (9.7)	342/1939 (17.6)	58/546 (10.6)	731/7502 (9.7)
FoundationOne Liquid CDx がんゲノム プロファイル	16/710 (2.3)	8/426 (1.9)	9/178 (5.1)	46/494 (9.3)	2/49 (4.1)	81/1857 (4.4)
Guardant360 CDx	6/121 (5.0)	2/91 (2.2)	2/51 (3.9)	9/116 (7.8)	0/10 (0)	19/389 (4.9)
Liquid 全体	22/831 (2.6)	10/517 (1.9)	11/229 (4.8)	55/610 (9.0)	2/59 (3.4)	100/2246 (4.5)
CGP 全体	179/3782 (4.7)	78/1488 (5.2)	117/1324 (8.8)	397/2549 (15.6)	60/605 (9.9)	831/9748 (8.5)

C-CAT 登録件数検索（https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/）の検索結果をもとに作成（Ver.20260316）

分子学的特徴として、HER2 異常は他の代表的ドライバー異常（*FGFR2* 融合遺伝子や *IDH1* 変異など）とは相互排他的に認められることが多く、独立した分子サブタイプを形成する傾向がある。また、HER2 陽性胆道癌は、比較的高い増殖能を示し、臨床的に進行が速い症例が含まれる可能性が報告されている [2]。

(3) HER2 陽性胆道癌に対する臨床試験

胆道癌における HER2 標的治療は、HER2 陽性例に対する有効性が示されており（表 2)、既治療例を中心に治療選択肢の一つとして位置づけられている。

①抗 HER2 抗体療法

HER2 タンパク過剰発現または遺伝子増幅を有する胆道癌を対象とした後方視的解析や小規模前向き試験において、トラスツズマブとの併用により一定の奏効割合が報告されている。

・MyPathway 試験 [6]

HER2 遺伝子増幅または過剰発現を有する既治療転移性胆道癌を対象に、ペルツズマブ＋トラスツズマブ併用療法の有効性を検討した第 II 相バスケット試験である。39 例を解析対象とした結果、奏効割合は 23%、病勢制御割合は 51%であり、奏効持続期間中央値は 10.8 か月と、二次治療以降として良好な腫瘍制御が示された。HER2 陽性胆道癌における二重 HER2 阻害の有効性を前向きに示した重要なエビデンスと位置づけられ、海外では承認されている国もあるが、国内では未承認である。

②抗体薬物複合体（ADC）

トラスツズマブ デルクステカン（T-DXd）などの ADC は、HER2 タンパク発現を標的として細胞内に細胞障害性薬剤を送達する治療薬である。T-DXd は HER2 陽性の進行・再発の固形癌（標準的な治療が困難な場合に限る）に対して、2026 年 3 月に保険適用となった。なお、コンパニオン診断薬としては、Guardant360 CDx のみとなっている。

・DESTINY-PanTumor02 試験 [7]

既治療の HER2 発現（IHC 3+または 2+）局所進行・転移性固形癌（子宮体癌、子宮頸癌、卵巣癌、胆道癌など）を対象に、T-DXd（5.4 mg/kg、3 週毎）の有効性と安全性を検討した国際多施設単群第 II 相試験である。全 267 例を対象とした解析において、奏効割合は 37.1%と良好な抗腫瘍効果を示し、主要評価項目を達成した。また、HER2 高発現（IHC 3+）集団では奏効割合 61.3%とさらに高い有効性が認められ、がん種横断的に強い効果が示された。全体集団における病勢制御割合も高く、奏効期間中央値は 11.3 か月、無増悪生存期間中央値は 6.9 か月、全生存期間中央値は 13.4 か月と、前治療後の集団において持続的な治療効果が確認された。安全性については、Grade 3 以上の治療関連有害事象は 40.8%に認められ、主なものとして好中球減少や貧血が報告された。間質性肺疾患は 10.5%に認められ、致死例も報告されており、慎重なモニタリングが必要である。

・HERALD 試験[8]

cfDNA 解析により *HER2* 遺伝子増幅が検出された進行固形癌を対象に、T-DXd の有効性と安全性を検討した国内多施設単群第 II 相バスケット試験である。62 例（16 がん種）を対象とした解析において、奏効割合は 56.5%と高い抗腫瘍効果を示し、主要評価項目を達成した。病勢制御割合は 90.3%と高率であり、奏効期間中央値は約 8.8 か月、無増悪生存期間中央値は 7.0 か月、全生存期間中央値は 14.6 か月と、前治療後の集団において持続的な腫瘍制御が示された。

また、本試験は組織ではなく cfDNA による *HER2* 遺伝子増幅検出に基づく治療選択を行った点が特徴であり、腫瘍横断的に幅広いがん種で有効性が確認された。さらに、治療早期に cfDNA 中の *HER2*遺伝子増幅が消失した症例では奏効割合が 88.0%と高く、バイオマーカーとしての有用性も示唆された。安全性については、主な Grade 3 以上の治療関連有害事象として貧血や好中球減少が報告された。間質性肺疾患は 26%と比較的高頻度に認められ、多くは低 Grade であったが、慎重なモニタリングが必要である。

・HERB 試験[9]

ゲムシタビン含有レジメンによる療法後に増悪した切除不能または再発胆道癌を対象に、T-DXd の有効性と安全性を検討した国内多施設単群第 II 相試験である。IHC 3+ または IHC 2+/ISH+の HER2 高発現の 22 例を主要解析集団とした結果、奏効割合は 36.4%と良好な結果で主要評価項目を達成した。病勢制御割合は 81.8%、無増悪生存期間中央値は約 5 か月であり、二次治療以降として良好な腫瘍制御が示された。また、HER2 低発現例においても、奏効割合 12.5%と有効性が示された。安全性については、主な Grade 3 以上の治療関連有害事象として貧血や好中球減少が報告され、間質性肺疾患は 25%に認められ、慎重なモニタリングが必要である。

現在、未治療 HER2 陽性胆道癌を対象として、T-DXd＋rilvegostomig（PD-1/TIGIT 二重特異性抗体)、T-DXd 単剤、ゲムシタビン＋シスプラチン＋デュルバルマブを比較する第 III 相試験（DESTINY-BTC01）[10]が進行中である。

③HER2 チロシンキナーゼ阻害薬

HER2 陽性胆道癌に対する HER2 チロシンキナーゼ阻害薬である tucatinib などが報告されている。

・SGNTUC-019 試験[11]

既治療 HER2 陽性胆道癌に対する tucatinib＋トラスツズマブ併用療法により、奏効割合 46.7%、無増悪生存期間中央値 5.5 か月と良好な抗腫瘍効果が示された。化学療法を併用しない HER2 標的治療として忍容性も良好であるが、胆道癌に対する国内での承認は未定である。

④二重特異性抗 HER2 抗体

Zanidatamab は、HER2 の 2 つの異なるエピトープに同時結合する二重特異性抗体であり、*HER2* 遺伝子増幅胆道癌において高い受容体阻害活性と抗腫瘍効果を示す。

・HERIZON-BTC-01 試験 [12,13]

HERIZON-BTC-01 試験は、ゲムシタビンなどの一次治療後に増悪した *HER2* 遺伝子増幅胆道癌を対象とした第 II 相単群試験であり、zanidatamab 単剤により奏効割合 41.3%、無増悪生存期間中央値 5.5 か月、奏効持続期間中央値 12.9 か月と良好な抗腫瘍効果が示された。主な有害事象は下痢や注入時反応で、重篤な毒性は少なく、HER2 陽性胆道癌に対する有望な分子標的治療と位置づけられるが、現時点では国内未承認である。

現在、進行・転移性 HER2 陽性胆道癌の一次治療例において、標準治療（シスプラチン＋ゲムシタビン ± 免疫チェックポイント阻害薬）に zanidatamab を上乗せする第 III 相試験（HERIZON-BTC-302）[14] が進行中である。

⑤臨床的位置づけ

HER2 陽性胆道癌に対する HER2 標的治療は、既治療例を中心に有効性が示唆されている。胆道癌診療ガイドライン改訂第 4 版 [15] では、切除不能胆道癌に対する二次治療以降の薬物療法として、特定の遺伝子異常を有する場合には、当該分子異常を標的とした治療を推奨または提案するとされている。その中で、HER2 陽性胆道癌に対する HER2 標的治療は、推奨度 2（エビデンスレベル C）として位置づけられている。NCCN ガイドライン [16] では、HER2 は切除不能・再発胆道癌における治療標的分子として位置づけられ、二次治療以降に HER2 陽性例で分子標的治療を検討することが「特定状況下で有用」として推奨されている。ESMO Clinical Practice Guidelines では、HER2 は胆道癌における治療標的分子の一つと位置づけられ、切除不能・再発例において分子プロファイリングに基づき、主として二次治療以降で HER2 標的治療を検討することが提案されている。

(4) HER2 異常の検査

HER2 異常の検出方法としては、免疫組織化学染色（immunohistochemistry：IHC）によるタンパク発現評価、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（fluorescence in situ hybridization：FISH）等による遺伝子増幅評価が従来用いられてきたが、近年では CGP 検査により、*HER2* 遺伝子増幅および活性化変異を同時に評価することが可能となっており、遺伝子解析による包括的評価の重要性が増している。胆道癌における HER2 異常の評価には、*HER2* 遺伝子増幅および変異を含む包括的評価が可能な CGP が中心に用いられる。その他の HER2 陽性のスクリーニングとして有用な IHC、IHC 2+症例の確定診断のための FISH が挙げられる [17,18]。

①CGP

NGS による CGP では、*HER2* 遺伝子増幅に加えて、*HER2* 活性化変異を同時に検出することが可能である。現時点（2026 年 4 月）では、HER2 標的治療薬であるトラスツズマブ デルクステカン（T-DXd）のコンパニオン診断薬としては、Guardant360 CDx が承認されている。FoundationOne や NCC オンコパネル、GenMineTOP、FoundationOne Liquid CDx の CGP 検査でも *HER2* 遺伝子増幅は検出可能で、エキスパートパネルで推奨される場合は T-DXd は使用可能である。

②IHC

IHC は、腫瘍細胞における HER2 タンパクの発現量を評価する方法であり、比較的簡便かつ広く実施可能である。胆道癌においても、乳癌や胃癌に準じたスコアリング（0、1+、2+、3+）が用いられることが多い。一般に、IHC 3+は HER2 タンパク過剰発現と判断され、HER2 標的治療の適格性を示唆する。一方、IHC 2+は判定保留（equivocal）とされ、遺伝子増幅の有無を確認するために追加検査（FISH 等）が推奨される。IHC 0〜1+は HER2 陰性と判断される。

③FISH

FISH などの in situ ハイブリダイゼーション法は、*HER2* 遺伝子増幅を直接評価する検査法である。IHC 2+症例における確定診断として用いられることが多く、HER2 タンパク過剰発現と遺伝子増幅との整合性を確認する上で重要な役割を担う。

表 2　HER2 標的治療薬の治療成績

治療分類	試験名	治療レジメン	対象	症例数	奏効割合	無増悪 生存期間 （中央値）	全生存期間 （中央値）
抗 HER2 抗体療法	MyPathway	ペルツズマブ＋ トラスツズマブ	既治療 HER2 陽性	39	23%	4.0 か月	10.9 か月
抗体薬物複合体	HERB	トラスツズマブ デルクステカン	既治療 HER2 高発現	22	36.4%	5.1 か月	7.1 か月
抗体薬物複合体	DESTINY- PanTumor02	トラスツズマブ デルクステカン	HER2 陽性	41	22% （IHC3+ 56.3%）	4.6 か月	7.0 か月
抗体薬物複合体	HERALD	トラスツズマブ デルクステカン	cfDNA *HER2* 遺伝子 増幅	4	25%	NR	NR
HER2 チロシン キナーゼ阻害薬	SGNTUC-019	Tucatinib＋ トラスツズマブ	既治療 HER2 陽性	30	46.7%	5.5 か月	15.5 か月
二重特異性 抗 HER2 抗体	HERIZON-BTC-01	Zanidatamab	既治療 *HER2* 遺伝子 増幅	80	41.3%	5.5 か月	15.5 か月

参考文献

1. Jain A, Javle M. Molecular profiling of biliary tract cancer: a target rich disease. J Gastrointest Oncol. 2016;7:797-803.
2. Nakamura H, Arai Y, Totoki Y, et al. Genomic spectra of biliary tract cancer. Nat Genet. 2015;47:1003-1010.
3. Camera S, Rossari F, Foti S, et al. HER2 Pathway in Biliary Tract Cancer: A Snapshot of the Current Understanding and Future Directions. Target Oncol. 2025;20(2):269-280.
4. Theocharopoulos C, Ziogas IA, Mungo B, et al. HER2-targeted therapies:Unraveling their role in biliary tract cancers. Crit Rev Oncol Hematol. 2025;208:104655.
5. 国立がん研究センター がんゲノム情報管理センター（C-CAT）. C-CAT 登録件数検索. https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/（Ver.20260316）
6. Javle M, Lowery M, Shroff RT, et al. Pertuzumab and trastuzumab for HER2-positive metastatic biliary tract cancer (MyPathway): a multicentre, open-label, phase 2a basket study. Lancet Oncol. 2021;22:1290-1300.
7. Meric-Bernstam F, Makker V, Oaknin A, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-expressing solid tumors: results from the DESTINY-PanTumor02 phase II trial. J Clin Oncol. 2023;41:47-58.
8. Yagisawa M, Taniguchi H, Satoh T, et al. Trastuzumab deruxtecan in advanced solid tumors with HER2 amplification identified by plasma cell-free DNA testing (HERALD/EPOC1806). J Clin Oncol. 2024;42:1-9.
9. Ohba A, Ikeda M, Morizane C, et al. Trastuzumab deruxtecan in patients with HER2-expressing biliary tract cancer (HERB): a multicenter, single-arm, phase 2 study. J Clin Oncol. 2024;42:3207-3217.
10. Ikeda M, Kuang M, Oh DY, et al. DESTINY-BTC01: A randomized phase 3 study of trastuzumab deruxtecan with or without rilvegostomig versus standard of care in first-line HER2-expressing biliary tract cancer. Ann Oncol. 2024;35(suppl_4):S1450-S1504.
11. Nakamura Y, Mizuno N, Sunakawa Y, et al. Tucatinib plus trastuzumab for previously treated HER2-positive biliary tract cancer (SGNTUC-019): a phase II basket study. J Clin Oncol. 2023;41:5569-5578.
12. Harding JJ, Fan J, Oh DY, et al. Zanidatamab in HER2-amplified biliary tract cancers (HERIZON-BTC-01): a multicenter, single-arm, phase 2b study. Lancet Oncol. 2023;24:772-782.
13. Pant S, Fan J, Oh DY, et al. Zanidatamab in HER2-positive metastatic biliary tract cancer: final results from HERIZON-BTC-01. JAMA Oncol. 2025;12:106-109.
14. Macarulla T, Harding JJ, Pant S, et al. HERIZON-BTC-302: A phase III study of zanidatamab with standard-of-care therapy versus standard-of-care alone for first-line treatment of HER2-positive advanced/metastatic biliary tract cancer (BTC). Ann Oncol. 2024;35(suppl_2):S237.
15. 日本肝胆膵外科学会 胆道癌診療ガイドライン作成委員会編. エビデンスに基づいた胆道癌診療ガイドライン改訂第 4 版. 医学図書出版. 2025.
16. NCCN Clinical Practice Guideline in Oncology: Biliary Tract Cancers version 2.2026.
17. Vogel A, Ducreux M. ESMO Clinical Practice Guideline interim update on the management of biliary tract cancer. ESMO Open. 2025;10:104003.

18. Hofmann M, Stoss O, Shi D, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. Histopathology. 2008;52:797-805.

4-4. BRAF V600E

(1) *BRAF*遺伝子とその遺伝子変異

BRAF（v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1）は RAF ファミリーに属するセリン/スレオニンキナーゼであり、細胞内シグナル伝達経路の 1 つである MAPK 経路（RAS-RAF-MEK-ERK 経路）において RAS の下流に位置し、RAS からのシグナルを下流に伝達することで細胞の分化・増殖に関与している。*BRAF* V600E 変異は、BRAF キナーゼを活性化し、さらに下流のシグナルである ERK の恒常的なリン酸化を引き起こすことで癌化に関与する [1]。*BRAF*遺伝子変異は、BRAF タンパク質の activation loop をコードするコドン 599〜602 と、phosphate binding loop をコードするコドン 464〜469、およびこれらの周辺に集中している [2]。*BRAF* 遺伝子変異は、有毛細胞白血病・悪性黒色腫・甲状腺癌・大腸癌・小腸癌などで比較的多く認めるとされている [3]。

*BRAF*遺伝子変異は BRAF 自体のキナーゼ活性への影響の程度に加えて、上流 RAS シグナルへの依存性および BRAF/CRAF との二量体形成の有無により 3 種類のクラスに分類される [4]。Class I 変異はホットスポットである 600 番目のバリン残基の変異であり、上流 RAS からのシグナル非依存的にかつ単量体で BRAF のキナーゼ活性を亢進させる（主な class I 変異：V600E、V600K、V600D など)。Class II 変異は上流 RAS からのシグナル非依存的に BRAF のキナーゼ活性を亢進できるものの、その活性化には BRAF/CRAF との二量体形成が必要である（主な class II 変異：K601E、L597Q、G469A、*BRAF* fusion など)。Class III 変異は class I/II 変異とは異なり BRAF のキナーゼ活性の亢進は誘導しないものの、BRAF/CRAF との二量体を形成し上流 RAS からのシグナルを受け、MAPK シグナル伝達経路全体の活性を増幅する。

BRAF 遺伝子変異の中で最も多いのが V600E 変異（class I）であり、V600E 変異は BRAF の 600 番目のアミノ酸であるバリン（V）がグルタミン酸（E）に変わるという変異である。V600E 変異以外の *BRAF* non-V600E 変異も多く存在するが、病的意義が不明なものも多く、これまでのところ固形癌に対する BRAF を標的とした治療開発は、V600E 変異が主な対象となっている。

(2) *BRAF* V600E 変異陽性胆道癌の頻度と臨床病理学的特徴

胆道癌における *BRAF* V600E 変異は、肝内胆管癌で特に多いとされており、3.1〜7.4%の頻度と報告されている [5–8]。Goeppert らの病理学的コホートでは、*BRAF* V600E 変異を胆道癌全体の約 1%に認め、かつ肝内胆管癌のみに認めたと報告されている [7]。さらに、Xin らによる肝内胆管癌 1175 例を対象とした大規模コホートでは、*BRAF*遺伝子変異を 49 例（4.2%）に認め、その内訳として V600E が 13 例（1.1%）と最も多かった [9]。10 万人以上の固形癌の大規模コホートの研究結果では、固形癌全体で *BRAF*遺伝子変異を 3.9%に認め、最も多い遺伝子変異は V600E で、*BRAF* 遺伝子変異の 62.1%（全体の 2.4%）を占めていた [3]。Class II/IIIの遺伝子変異は、*BRAF*遺伝子変異全体の 16.5%/17.7%であった。胆道癌コホート 2068 人中、*BRAF* 遺伝子変異を認めた患者は 79 例（3.8%）であり、Class I / II /III/分類不能がそれぞれ 38 人（1.8%）/12 人（0.6%）/27 人（1.3%）/2 人（0.1%）であった。表に、胆道癌における *BRAF* V600E 変異の頻度を提示する [10]。

表　胆道癌における *BRAF* V600E 変異の頻度　（C-CAT ポータル, Ver.20260226）

	肝内 胆管癌 n (%)	肝門部 胆管癌 n (%)	肝外 胆管癌 n (%)	胆嚢癌 n (%)	乳頭部癌 n (%)	全体 n (%)
FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル	29/2360 (1.2)	6/750 (0.8)	2/940 (0.2)	5/1553 (0.3)	3/442 (0.7)	45/6045 (0.7)
OncoGuide NCC オンコパネルシステム	3/400 (0.8)	0/147 (0)	0/85 (0)	1/226 (0.4)	0/54 (0)	4/912 (0.4)
GenMineTOP がんゲノムプロファイル	3/163 (1.8)	0/61 (0)	0/58 (0)	1/135 (0.7)	0/42 (0)	4/459 (0.9)
組織全体	35/2923 (1.2)	6/958 (0.6)	2/1083 (0.2)	7/1914 (0.4)	3/538 (0.6)	53/7416 (0.7)
FoundationOne Liquid CDx がんゲノムプロファイル	3/704 (0.4)	1/425 (0.2)	0/175 (0)	2/489 (0.4)	0/49 (0)	6/1842 (0.3)
Guardant360 CDx	2/120 (1.7)	0/89 (0)	0/51 (0)	0/114 (0)	0/10 (0)	2/384 (0.5)
Liquid 全体	5/824 (0.6)	1/514 (0.2)	0/226 (0)	2/603 (0.3)	0/59 (0)	8/2226 (0.4)
CGP 全体	40/3747 (1.1)	7/1472 (0.5)	2/1309 (0.2)	9/2517 (0.4)	3/597 (0.5)	61/9642 (0.6)

C-CAT 登録件数検索（https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/）の検索結果をもとに作成（Ver.20260226）

(3) *BRAF* V600E 変異陽性胆道癌に対する臨床試験

BRAF 阻害薬はこの V600E 変異による癌の増殖を抑える薬だが、BRAF 阻害薬を単独で投与した場合、様々な機序（*NRAS* 変異、CRAF を介した経路の活性化）で MEK/ERK の再活性化が起こることが知られている。MEK 阻害薬を併用することで、そのような耐性化機序が抑えられるため、*BRAF* V600E 変異陽性に対する薬物療法は、BRAF 阻害薬と MEK 阻害薬の併用が基本となっている。*BRAF* V600E 変異陽性の胆道癌（固形癌）に対するダブラフェニブ＋トラメチニブ併用療法の基盤となるエビデンスは、希少がんを対象とした国際多施設共同・単群第 II 相バスケット試験である ROAR 試験（NCT02034110）の胆道癌コホートの結果である[11]。*BRAF* V600E 変異を有する切除不能・進行/再発胆道癌で既治療例を登録して（ダブラフェニブ 150 mg 1 日 2 回＋トラメチニブ 2 mg 1 日 1 回）治療し

たところ、43 例中奏効割合は主治医判定で 51%（95%信頼区間：36–67）、独立判定でも 47%（95%信頼区間：31–62）と高い奏効が得られ、追跡約 10 か月時点での奏効期間・無増悪生存期間・全生存期間の中央値（95%信頼区間）は 9（6–14）か月、9（5–10）か月、14（10–33）か月であった。毒性は概ね管理可能で、治療関連死亡は認められなかった。Grade≥3 の有害事象として γ-GTP 上昇（12%）が比較的多く、それ以外には発熱・白血球減少・高血圧・低ナトリウム血症（それぞれ 7%）などを認めた。以上のことから、胆道癌においても *BRAF* V600E 変異は臨床的に重要な治療標的となり得ると考えられる。

ROAR 試験（NCT02034110）は、胆道癌以外の多くの固形癌も対象となっていたが、ほとんどのコホートで奏効割合が 50%以上と *BRAF* V600E 変異に対するダブラフェニブ＋トラメチニブ併用療法の治療効果は良好であった [12]。NCCH1901 試験（BELIEVE 試験）のダブラフェニブ＋トラメチニブ併用療法のコホートの結果は、奏効割合が 28%と ROAR 試験よりも低い結果であった [13]。*BRAF* V600E 以外の変異も一部（6%）含まれていたこと、がん遺伝子パネル検査後の治療であるため、治療開始時にすでに病勢が進行しており、治療効果が十分得られなかった可能性が考えられた。*BRAF* V600E 以外の変異に対しては、class Ⅰ変異であればダブラフェニブ＋トラメチニブ併用療法の奏効が期待されるが、class Ⅱ・Ⅲにおいては現時点で十分なデータがない。現時点では *BRAF* V600E 変異のみが、ダブラフェニブ＋トラメチニブ併用療法の治療対象となっている。

(4) *BRAF* V600E 遺伝子変異の検査

MEBGEN BRAF 3 キットを用いた PCR-rSSO（polymerase chain reaction-reverse sequence specific oligonucleotide）法による *BRAF* V600E 変異検査が、*BRAF* V600E 変異陽性の切除不能進行・再発固形腫瘍（結腸・直腸癌を除く）・有毛細胞白血病に対するダブラフェニブ＋トラメチニブ併用療法のコンパニオン診断薬となっている。MEBGEN BRAF 3 キットの必要検体量は厚さ 5〜10 μm の未染標本スライドが 5 枚と多く、また腫瘍細胞含有割合も 10%以上必要なため、十分な検体量が得られないことの多い切除不能胆道癌に対して、実臨床で *BRAF* 遺伝子異常の検査のみを行うことはほとんどない。また、検査実施料/判断料が 5000 点/100 点と単独の遺伝子検査ではあるが、コストも高額である。がん遺伝子パネル検査でも *BRAF* の遺伝子検査は可能であり、エキスパートパネルで推奨されれば、ダブラフェニブ＋トラメチニブ併用療法の使用も可能である。イボシデニブ（IDH1 阻害剤）のコンパニオン診断薬であるオンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム（参考情報有）でも *BRAF* V600E 変異の検出は可能であるが、本検査は胆道癌における *BRAF* V600E 変異に対するダブラフェニブ＋トラメチニブ併用療法のコンパニオン診断薬としては承認されておらず、得られた結果はあくまで参考所見として扱われる点に注意が必要である。オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システムで *BRAF* V600E 変異を認めた場合にダブラフェニブ＋トラメチニブ併用療法を行うためには、コンパニオン診断薬である MEBGEN BRAF 3 キット（もしくは、がん遺伝子パネル検査）で *BRAF* V600E 変異を再確認する必要がある。

参考文献

1. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. Nature. 2002;417:949-954.
2. Pratilas CA, Xing F, Solit DB. Targeting oncogenic BRAF in human cancer. Curr Top Microbiol Immunol. 2012;355:83-98.
3. Owsley J, Stein MK, Porter J, et al. Prevalence of class I-III BRAF mutations among 114,662 cancer patients in a large genomic database. Exp Biol Med (Maywood). 2021;246:31-39.
4. Yao Z, Yaeger R, Rodrik-Outmezguine VS, et al. Tumours with class 3 BRAF mutants are sensitive to the inhibition of activated RAS. Nature. 2017;548:234-238.
5. Mie T, Sasaki T, Okamoto T, et al. Current Status of Targeted Therapy for Biliary Tract Cancer in the Era of Precision Medicine. Cancers (Basel). 2024;16(5):879.
6. Simbolo M, Fassan M, Ruzzenente A, et al. Multigene mutational profiling of cholangiocarcinomas identifies actionable molecular subgroups. Oncotarget. 2014;5:2839-2852.
7. Goeppert B, Frauenschuh L, Renner M, et al. BRAF V600E-specific immunohistochemistry reveals low mutation rates in biliary tract cancer and restriction to intrahepatic cholangiocarcinoma. Mod Pathol. 2014;27:1028-1034.
8. Robertson S, Hyder O, Dodson R, et al. The frequency of KRAS and BRAF mutations in intrahepatic cholangiocarcinomas and their correlation with clinical outcome. Hum Pathol. 2013;44:2768-2773.
9. Xin HY, Sun RQ, Zou JX, et al. Association of BRAF Variants With Disease Characteristics, Prognosis, and Targeted Therapy Response in Intrahepatic Cholangiocarcinoma. JAMA Netw Open. 2023;6:e231476.
10. 国立がん研究センター がんゲノム情報管理センター（C-CAT）．C-CAT 登録件数検索．https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/（Ver.20260226）
11. Subbiah V, Lassen U, Élez E, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF(V600E)-mutated biliary tract cancer (ROAR): a phase 2, open-label, single-arm, multicentre basket trial. Lancet Oncol. 2020;21:1234-1243.
12. Subbiah V, Kreitman RJ, Wainberg ZA, et al. Dabrafenib plus trametinib in BRAFV600E-mutated rare cancers: the phase 2 ROAR trial. Nat Med. 2023;29:1103-1112.
13. Shimoi T, Sunami K, Tahara M, et al. Dabrafenib and trametinib administration in patients with BRAF V600E/R or non-V600 BRAF mutated advanced solid tumours (BELIEVE, NCCH1901): a multicentre, open-label, and single-arm phase II trial. EClinicalMedicine. 2024;69:102447.

4-5. MSI-High

(1) MMR と MSI-High

MSI-High（Microsatellite Instability-High）とは、DNA ミスマッチ修復機構（mismatch repair：MMR）の機能不全により、マイクロサテライトと呼ばれる短い反復配列領域に高頻度の変異が蓄積した状態を指す[1]。MMR は DNA 複製時に生じる塩基のミスマッチや挿入・欠失を修復する重要な機構であり、*MLH1*、*MSH2*、*MSH6*、*PMS2*などの MMR 関連遺伝子の変異や発現消失によって破綻することが知られている[1]。

MSI-High 腫瘍では体細胞変異数が著しく増加し、腫瘍特異的ネオアンチゲンが多く産生されるため、免疫原性が高いという生物学的特徴を有する[2]。この特性により、MSI-High はがん種を問わず免疫チェックポイント阻害薬に対する高い治療効果を予測するバイオマーカーとして確立されている[3]。実際、抗 PD-1 抗体は MSI-High／MMR 欠損腫瘍に対して、がん種横断的に有効性が示され、治療選択における重要な判断材料となっている[3,4]。

(2) MSI-High 胆道癌の頻度と臨床病理学的特徴

胆道癌における MSI-High は頻度としては稀であるが、治療方針に直接影響を及ぼす重要な分子学的サブタイプである。

頻度については、胆道癌全体では約 1〜3%と報告されている[5–7]。がん種別にみると、肝内胆管癌および肝門部胆管癌では 1%前後と低頻度である一方、遠位胆管癌や胆嚢癌ではやや高率とする報告も存在する[6,8]。ただし、検査方法（PCR 法、ミスマッチ修復タンパク免疫染色、次世代シーケンス）や対象集団の違いにより、報告間でばらつきがみられる[7,9]（表 1）。

分子学的背景として、MSI-High 胆道癌は MMR の破綻を本態とし、*MLH1*、*MSH2*、*MSH6*、*PMS2* などの MMR 関連遺伝子の機能喪失が関与する[1]。散発例では *MLH1* プロモーター領域の高メチル化による発現低下が主要な機序とされており、リンチ症候群に関連する生殖細胞系列変異は胆道癌では比較的稀である[1]。

MSI-High 胆道癌は腫瘍遺伝子変異量（tumor mutational burden：TMB）が高いことを特徴とし、フレームシフト変異を含む多数の遺伝子異常を有する[3]。これによりネオアンチゲンが豊富に産生され、腫瘍局所では CD8 陽性 T 細胞の浸潤増加など、免疫原性の高い腫瘍微小環境が形成される[3]。

表 1　胆道癌における MSI-High の頻度　（C-CAT ポータル, Ver.20260226）

	肝内 胆管癌 n (%)	肝門部 胆管癌 n (%)	肝外 胆管癌 n (%)	胆嚢癌 n (%)	乳頭部癌 n (%)	全体 n (%)
FoundationOne CDx がんゲノム プロファイル	62/2360 (2.6)	22/750 (2.9)	5/940 (0.5)	12/1553 (0.8)	3/442 (0.7)	104/6045 (1.7)
OncoGuide NCC オンコパネル システム	13/400 (3.3)	5/147 (3.4)	0/85 (0)	1/226 (0.4)	1/54 (1.9)	20/912 (2.2)
GenMineTOP がんゲノム プロファイル	3/163 (1.8)	0/61 (0)	0/58 (0)	1/135 (0.7)	0/42 (0)	4/459 (0.9)
組織全体	78/2923 (2.7)	27/958 (2.8)	5/1083 (0.5)	14/1914 (0.7)	4/538 (0.7)	128/7416 (1.7)
FoundationOne Liquid CDx がんゲノム プロファイル	23/704 (3.3)	5/425 (1.2)	0/175 (0)	1/489 (0.2)	0/49 (0)	29/1842 (1.6)
Guardant360 CDx	2/120 (1.7)	2/89 (2.2)	0/51 (0)	0/114 (0)	0/10 (0)	4/384 (1.0)
Liquid 全体	25/824 (3.0)	7/514 (1.4)	0/226 (0)	1/603 (0.2)	0/59 (0)	33/2226 (1.5)
CGP 全体	103/3747 (2.7)	34/1472 (2.3)	5/1309 (0.4)	15/2517 (0.6)	4/597 (0.7)	161/9642 (1.7)

C-CAT 登録件数検索（https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/）の検索結果をもとに作成（Ver.20260226）

(3) MSI-High 胆道癌に対する臨床試験（ICI 奏効性との関連）

①免疫チェックポイント阻害薬単独療法

KEYNOTE-158 試験は、MSI-High または MMR 欠損（dMMR）を有する進行固形癌患

者を対象とした多施設共同第Ⅱ相試験であり、腫瘍種横断的にペムブロリズマブ単剤の有効性と安全性を評価した[10]。本試験には胆道癌も含まれており、症例数は限られているものの、MSI-High 胆道癌においても客観的奏効が確認された。

KEYNOTE-158 試験全体では、MSI-High 固形癌に対するペムブロリズマブの客観的奏効割合（overall response rate：ORR）は約 30%であり、多くの奏効例で反応は長期間持続した[10]。奏効持続期間中央値は未到達で、24 か月時点においても奏効が維持されている症例が多数認められた。胆道癌サブセットにおいても、従来の化学療法では得られにくい長期病勢制御が観察され、腫瘍種に依存せず MSI-High という分子学的特徴が治療効果を規定することが示唆された[10]。

胆道癌は一般に免疫抑制的な腫瘍微小環境を有し、ICI 単独療法の効果は限定的とされてきた。しかし、MSI-High 胆道癌では CD8 陽性 T 細胞浸潤の増加や PD-L1 発現上昇など、いわゆる免疫学的に“hot tumor”の特徴を示すことが多く、PD-1 阻害薬であるペムブロリズマブの作用機序と整合する腫瘍背景を有している[11]。

以上より、KEYNOTE-158 試験の結果を踏まえると、MSI-High 胆道癌においてペムブロリズマブは、治療ラインを問わず検討すべき有効な治療選択肢である。頻度は低いながらも、明確な奏効と長期効果が期待できる患者群であり、胆道癌診療において MSI/MMR 評価を routine に行う意義は極めて大きいと考えられる。

②ICI と殺細胞性抗がん剤の併用療法

KEYNOTE-966 試験は、未治療の進行胆道癌を対象に、ペムブロリズマブ＋ゲムシタビン／シスプラチン併用療法と、化学療法単独を比較した国際共同第Ⅲ相試験である[12]。本試験では、併用療法群において全生存期間（overall survival：OS）の有意な延長が示され、免疫療法を胆道癌一次治療に組み込む有効性が初めて前向きに証明された。一方で、無増悪生存期間（progression-free survival：PFS）や ORR の改善は限定的であり、ICI の恩恵を強く受ける集団の存在が示唆された。

MSI-High 胆道癌は KEYNOTE-966 試験全体の中ではごく少数であり、統計学的に十分なサブグループ解析は行われていない[12]。しかし、MSI-High 腫瘍は DNA ミスマッチ修復機構の破綻により腫瘍変異量が高く、ネオアンチゲンが豊富であることから、PD-1 阻害薬に高い感受性を示すことが、腫瘍種横断的試験や KEYNOTE-158 試験で一貫して報告されている[10,11]。MSI-High 胆道癌では、もともと CD8 陽性 T 細胞浸潤や PD-L1 発現が高い傾向にあり、ペムブロリズマブ単剤でも高い奏効が期待されるが、一次治療においては化学療法併用により初期の腫瘍制御を確保しつつ、免疫療法の効果を最大化する戦略は合理的である。

以上より、KEYNOTE-966 試験は胆道癌全体におけるペムブロリズマブ併用療法の有効性を示した試験であるが、MSI-High 胆道癌という観点から見ると、その臨床的意義はより明確となる。すなわち、MSI-High という強力な予測バイオマーカーを有する症例では、ペムブロリズマブの効果が化学療法の上に上乗せされ、長期生存や持続的奏効につながる可能性が高い。頻度は低いものの、KEYNOTE-966 の結果を踏まえると、初回治療時から MSI/MMR 評価を行い、免疫療法を治療戦略に組み込む重要性は今後さらに高まると考えられる。

一方、TOPAZ-1 試験では、GC 療法に抗 PD-L1 抗体デュルバルマブを併用することで、OS の有意な延長が示され、現在の標準治療として位置づけられている [13]。同試験でも、MSI-High 症例は極めて少数であったことから、観察された治療効果は TMB や MSI といった特定の分子バイオマーカーに依存しない集団全体での効果と考えられている。

以上より、現時点では、胆道癌において MSI は GC＋ICI 併用療法の治療効果を予測する確立したバイオマーカーとは言えず、補助的指標として位置づけられるが、もし、MSI-High であれば、ペムブロリズマブを含めた免疫チェックポイント阻害薬を殺細胞性抗がん剤に併用する臨床的意義が非常に高いと考えられ、胆道癌におけるもう一つの標準療法であるゲムシタビン＋シスプラチン＋S-1（GCS）療法を選択しないことになると推察される。また、GC＋ICI 療法を選択した場合でも、もし、殺細胞性抗がん剤の副作用が過大であれば、免疫チェックポイント阻害薬のみでの治療を提案することも合理的だと考えられる。従って、切除不能胆道癌患者が MSI-High であるか、否かは治療開始前に検査すべきだと考える。

(4) MSI-High の検査

MSI-High の検査は、腫瘍における MMR の破綻を評価することを目的として行われ、現在の臨床では主に PCR 法、免疫組織化学（immunohistochemistry：IHC）法、次世代シーケンサー（next-generation sequencer：NGS）法の三つが用いられている [1]（表 2)。

PCR 法は、腫瘍組織と正常組織のマイクロサテライト領域を比較し、反復配列の長さ変化を検出する方法である。BAT25、BAT26 などの標準マーカーを用いた解析が広く行われ、複数のマーカーで不安定性が認められた場合に MSI-High と判定される [14]。MSI を直接評価できる点が特徴であり、免疫チェックポイント阻害薬の臨床試験を含め、多くのエビデンスの基盤となってきた。

免疫組織化学法では、MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 といった MMR タンパクの腫瘍細胞核内発現を評価する。これらのタンパクのいずれかに発現消失を認めた場合、MMR 欠損（dMMR）と判断され、MSI-High が強く示唆される [15]。病理標本を用いて比較的簡便に実施できることに加え、異常の原因となる MMR 遺伝子を推定できる点から、スクリーニング検査として広く用いられている。

近年は、がん遺伝子パネル検査に代表される NGS 法による MSI 評価も臨床導入が進んでいる。多数のマイクロサテライト領域を網羅的に解析し、得られた変異パターンから MSI 状態を推定する方法であり、他の治療標的遺伝子異常を同時に評価できる点が大きな利点である [2]。一方で、腫瘍細胞含有割合や解析アルゴリズムの影響を受けるため、結果の解釈には注意を要する。

これらの検査法はいずれも一定の一致率を示すものの、がん種や検体条件によって結果が乖離することがある。そのため、臨床的には検査の目的や状況に応じて手法を選択し、必要に応じて複数の検査結果を統合して MSI-High の有無を判断することが重要である [1,2,14,15]。

表 2　MSI-High の検査方法の相違

検査法	評価対象	主な方法・原理	利点	限界・注意点	主な 臨床的位置づけ
PCR 法 （MSI 検査）	マイクロサテライトの長さ変化	腫瘍組織と正常組織のマイクロサテライト配列を比較（BAT25、BAT26 など）	・MSI を直接評価できる ・長年のエビデンス蓄積 ・判定基準が明確	・正常組織が必要 ・検体量が不足すると困難 ・一部がん種では感度低下	標準的 MSI 判定法、 免疫療法適応判断
免疫組織化学 （immunohistochemistry：IHC）法	MMR タンパクの発現	MLH1、MSH2、MSH6、PMS2 の核内発現を評価	・簡便で迅速 ・病理標本で実施可能 ・原因遺伝子の推定が可能	・MSI を直接測定していない ・染色条件や判定に熟練を要する	スクリーニング検査、 原因推定
NGS 法 （がん遺伝子パネル）	多数のマイクロサテライト＋遺伝子変異	網羅的配列解析から MSI 状態を推定	・他の遺伝子異常を同時評価 ・進行がんで有用 ・追加検体不要	・解析アルゴリズム依存 ・低腫瘍細胞含有割合で精度低下 ・結果解釈に注意	ゲノム医療、 治療選択の包括的判断

参考文献

1. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. Gastroenterology. 2010;138(6):2073-2087.
2. Hause RJ, Pritchard CC, Shendure J, et al. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types. Nat Med. 2016;22(11):1342-1350.
3. Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. Science. 2017;357(6349):409-413.
4. 日本癌治療学会編. がん免疫療法ガイドライン. 金原出版.
5. Churi CR, Shroff R, Wang Y, et al. Mutation profiling in cholangiocarcinoma: prognostic and therapeutic implications. PLoS One. 2014;9(12):e115383.
6. Nakamura H, Arai Y, Totoki Y, et al. Genomic spectra of biliary tract cancer. Nat Genet. 2015;47:1003-1010.
7. Jusakul A, Cutcutache I, Yong CH, et al. Whole-genome and epigenomic landscapes of cholangiocarcinoma. Cancer Discov. 2017;7:1116-1135.
8. Goeppert B, Roessler S, Renner M, et al. Mismatch repair deficiency is a rare but putative therapeutically relevant finding in non-liver fluke associated cholangiocarcinoma. Br J Cancer. 2019;120(1):109-114.
9. 国立がん研究センター がんゲノム情報管理センター（C-CAT）. C-CAT 登録件数検索. https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/（Ver.20260226）
10. Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, et al. Efficacy of Pembrolizumab in Patients with Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study. J Clin Oncol. 2020;38:1-10.
11. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. N Engl J Med. 2015;372:2509-2520.
12. Kelley RK, Ueno M, Yoo C, et al. Pembrolizumab in combination with gemcitabine and cisplatin compared with gemcitabine and cisplatin alone for patients with advanced biliary tract cancer (KEYNOTE-966): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. Lancet. 2023;401:1853-1865.
13. Oh D-Y, He AR, Qin S, et al. Durvalumab plus Gemcitabine and Cisplatin in Advanced Biliary Tract Cancer. NEJM Evidence. 2022;1:EVIDoa2200015.
14. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, et al. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer. J Natl Cancer Inst. 2004;96(4):261-268.
15. Shia J. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer. J Mol Diagn. 2008;10(4):293-300.

4-6. TMB-High

(1) 腫瘍遺伝子変異量および TMB-High とは

腫瘍遺伝子変異量（tumor mutational burden：TMB）は、解析対象となるゲノム領域 1 メガベース（Mb）あたりに存在する体細胞変異数（mut/Mb）として定義され、腫瘍に蓄積した体細胞変異の総量を反映する指標である。体細胞変異の増加はネオアンチゲン産生を介して腫瘍免疫原性を高める可能性があり、TMB は免疫チェックポイント阻害薬（immune checkpoint inhibitor：ICI）の治療効果を予測し得るバイオマーカーとして注目されてきた [1–3]。近年は全エクソーム解析に代わり、実臨床で利用可能な包括的ゲノムプロファイリング（comprehensive genomic profiling：CGP）検査による TMB 推定が広く用いられている。KEYNOTE-158 試験では、TMB-High（≧10 mut/Mb）固形腫瘍において抗 PD-1 抗体ペムブロリズマブの奏効割合が非 TMB-High 群と比較して有意に高いことが示され、本結果に基づき TMB-High 固形腫瘍に対する臓器横断的適応が承認された [4]。この結果を踏まえ、実臨床においては一般に TMB-High は≧10 mut/Mb を指すものとして扱われている。

一方で、TMB の臨床的意義はがん種により大きく異なり、測定法や解析プラットフォームによるばらつきも存在するため、その解釈には注意が必要である。特に胆道癌においては、後述するように、TMB 単独で ICI 奏効性を規定する指標としてのエビデンスは限定的であり、腫瘍免疫微小環境など他の要因と統合的に評価する必要がある。

(2) 胆道癌における TMB-High の頻度と臨床病理学的特徴

胆道癌は一般に低 TMB 腫瘍に分類され、TMB-High（≧10 mut/Mb）の頻度は多くの報告で数%程度とされている [5–8]。一方で、切除例を中心とした全エクソーム解析や特定集団を対象とした研究では、より高い頻度が報告される場合もあり、病期、原発部位、症例選択や解析手法の違いが影響している可能性がある [9]。C-CAT データベースに登録された症例を対象とした本邦の解析では、胆道癌における TMB-High の頻度は約 5〜7%程度と報告されており、表に 2026 年 2 月 26 日時点における原発部位別および解析プラットフォーム別の TMB-High の頻度を示す [10]。

分子背景として、TMB-High 胆道癌の一部はミスマッチ修復機構異常（mismatch repair deficient：dMMR）やマイクロサテライト不安定性高頻度（MSI-High）を伴うが、その割合は限定的であり、多くは MSI 非依存性である [11,12]。また、*BRCA1/2* や *PALB2* などの変異に起因する相同組換え修復異常、および *POLE* や *POLD1* の変異による DNA 複製時の校正機能欠損に起因する変異蓄積が TMB 上昇に関与することが報告されている [13]。これらの知見から、胆道癌における TMB-High は単一の分子機序で規定されるものではなく、遺伝学的背景や発癌・進展過程の異なる多様な腫瘍集団を内包する概念と考えられる。

表　胆道癌における TMB-High（≧10 mut/Mb）の頻度　（C-CAT ポータル, Ver.20260226）

	肝内 胆管癌 n (%)	肝門部 胆管癌 n (%)	肝外 胆管癌 n (%)	胆嚢癌 n (%)	乳頭部癌 n (%)	全体 n (%)
FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル	142/2360 (6.0)	55/750 (7.3)	36/940 (3.8)	138/1553 (8.9)	19/442 (4.3)	390/6045 (6.5)
OncoGuide NCC オンコパネルシステム	33/400 (8.3)	21/147 (14.3)	5/85 (5.9)	22/226 (9.7)	6/54 (11.1)	87/912 (9.5)
GenMineTOP がんゲノムプロファイル	7/163 (4.3)	3/61 (4.9)	1/58 (1.7)	11/135 (8.1)	0/42 (0)	22/459 (4.8)
全体	182/2923 (6.2)	79/958 (8.2)	42/1083 (3.9)	171/1914 (8.9)	25/538 (4.6)	499/7416 (6.7)

C-CAT 登録件数検索（https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/）の検索結果をもとに作成（Ver.20260226）

(3) TMB-High 胆道癌と ICI 奏効性との関連

①ペムブロリズマブ単剤療法との関連

ペムブロリズマブは、KEYNOTE-158 試験に基づき、TMB-High（≧10 mut/Mb）を有する進行・再発固形腫瘍に対して臓器横断的に承認されている[4]。同試験では、TMB-High（≧10 mut/Mb）固形腫瘍における全奏効割合（overall response rate：ORR）は 29%と、non-TMB-High 群の 6%と比較して良好であった。しかし同試験では、63 例の胆道癌コホートのうち、TMB-High 症例はなく、奏効は non-TMB-High 群で 2/63 例にとどまっているため、本試験のみから胆道癌における TMB-High の有効性を直接支持することはできない。

一方、胆道癌を対象とした後方視的解析やリアルワールドデータでは、TMB 高値症例においてペムブロリズマブを含む ICI 治療後の無増悪生存期間（progression-free survival：PFS）や奏効割合が良好であったとする報告があり、TMB が一定の予測因子となり得る可能性が示唆されている[14]。しかしながら、ミスマッチ修復正常（microsatellite stable：MSS）の胆道癌を対象に行われた、ペムブロリズマブ単剤療法の前向き第 II 相試験では、TMB は奏効予測因子とはならず、NK 細胞活性や Th1 免疫応答などの腫瘍免疫微小環境の指標が、治療奏効と強く関連していたと報告されている[15]。このように、胆道癌における TMB-High とペムブロリズマブ奏効性との関連は一貫しておらず、現時点でのエビデンスは限定的である。

②GC＋ICI 併用療法（デュルバルマブ／ペムブロリズマブ）との関連

ゲムシタビン＋シスプラチン（GC）療法に ICI を併用する複合免疫療法は、治癒切除不能胆道癌の一次治療として有効性が確立されている。TOPAZ-1 試験では、GC 療法に抗 PD-L1 抗体デュルバルマブを併用することで、全生存期間（overall survival：OS）の有意な延長が示され、現在の標準治療として位置づけられている [16]。同試験では TMB 値は評価項目に含まれておらず、MSI-High 症例も極めて少数であったことから、観察された治療効果は TMB や MSI といった特定の分子バイオマーカーに依存しない集団全体での効果と考えられている。一方、GC＋デュルバルマブ±抗 CTLA-4 抗体トレメリムマブ併用療法の第 II 相試験において実施された探索的解析では、TMB 値の上位四分位（cut-off 値 約 2.5 mut/Mb）を用いた層別解析が行われ、OS および PFS に有意差は認められなかった [17]。ただし、本解析は TMB-High（≧10 mut/Mb）症例を対象とした検討ではなく、低 TMB 領域における相対的高値を用いた解析結果である点に留意が必要である。

KEYNOTE-966 試験では、GC 療法にペムブロリズマブを併用することで、プラセボ群と比較して OS の有意な延長が示され、本レジメンも治癒切除不能胆道癌の一次治療として承認された [18]。しかしながら本試験においても、TMB と治療効果との関連性は事前規定された解析項目に含まれておらず、TMB に基づくサブグループ解析は報告されていない。

最近報告された GC＋デュルバルマブ併用療法を受けた進行胆道癌患者を対象とした多施設後方視的解析では、CGP 検査により TMB が評価された症例のうち、TMB≧10 mut/Mb 群（n=6）は、TMB<10 mut/Mb 群（n=42）と比較して PFS が有意に延長しており、多変量解析においても独立した関連が示されている [8]。本解析結果は、GC＋デュルバルマブ併用療法下において TMB-High が病勢制御の持続性と関連する可能性を示唆するものの、後方視的解析であること、症例数が限られていること、さらに GC 単独療法との比較が行われていないことなどの問題点がある。

一方、日本の C-CAT データを用いた最新の大規模解析における胆道癌のデータでは、ICI 治療後の生存期間において、TMB 10〜20 mut/Mb 群と TMB-low 群（<10 mut/Mb）の間に明確な差は認められず、TMB≧20 mut/Mb の集団においてのみ予後改善が示された [19]。この結果から、TMB 10 以上の中でも、特に 20 以上の高値群において、より高い ICI 治療効果や予後改善が期待される可能性が示唆される。また、本解析における胆道癌症例では、ICI 治療としてペムブロリズマブ単剤に加え、GC＋ICI などの複合免疫療法を含む実臨床データが解析対象となっており、ICI 治療全体における予後との関連を示したものと考えられる。

以上より、現時点では、胆道癌において TMB は、ICI 単剤および GC＋ICI 併用療法の治療効果を規定する確立した予測バイオマーカーとまでは言えない。しかし、TMB が高値、特に高度に上昇した一部症例においては、ICI 奏効性や予後と関連する可能性が示唆されており、今後のさらなる検証によりその臨床的意義が明確化されることが期待される。

(4) TMB および TMB-High の検査

本邦で承認されている腫瘍組織を用いた CGP 検査では、いずれも TMB の算出が可能であるが、解析対象領域や算出方法は検査ごとに異なる。現在、ペムブロリズマブのコンパニオン診断薬として承認されているのは FoundationOne CDx における TMB≧10 mut/Mb

であり、それ以外の CGP 検査で得られた TMB 値については、エキスパートパネルにおいて総合的に解釈する必要がある。

また、血液検体を用いたリキッドバイオプシーにより算出される blood TMB（bTMB）は、腫瘍由来 circulating tumor DNA（ctDNA）の割合に依存するため、変異検出感度の低下による過小評価や、クローン性造血に由来する変異混入による過大評価の可能性がある[20,21]。一方で、ctDNA 量が十分に高い症例では組織 TMB との相関が認められており、組織採取が困難な場合や迅速な結果が求められる場合に、補助的情報として活用できる可能性がある。bTMB のカットオフ値は現時点で確立されておらず、組織 TMB（≧10 mut/Mb）と同一の基準を用いる施設や、既報[22]に基づき bTMB≧14 mut/Mb とする施設などがある。したがって、ctDNA 量なども踏まえ、各施設のエキスパートパネルにおいて個別に解釈されているのが現状である。

参考文献

1. Goodman AM, Kato S, Bazhenova L, et al. Tumor Mutational Burden as an Independent Predictor of Response to Immunotherapy in Diverse Cancers. Mol Cancer Ther. 2017;16:2598-2608.
2. Chan TA, Yarchoan M, Jaffee E, et al. Development of tumor mutation burden as an immunotherapy biomarker: utility for the oncology clinic. Ann Oncol. 2019;30:44-56.
3. Samstein RM, Lee CH, Shoushtari AN, et al. Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types. Nat Genet. 2019;51:202-206.
4. Marabelle A, Fakih M, Lopez J, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study. Lancet Oncol. 2020;21:1353-1365.
5. Lin J, Cao Y, Yang X, et al. Mutational spectrum and precision oncology for biliary tract carcinoma. Theranostics. 2021;11:4585-4598.
6. Huang C, Qiu Z, Huang H, et al. Alterations in genomic features and the tumour immune microenvironment predict immunotherapy outcomes in advanced biliary tract cancer patients. Br J Cancer. 2025;132:1072-1082.
7. Zhang R, Li Q, Fu J, et al. Comprehensive analysis of genomic mutation signature and tumor mutation burden for prognosis of intrahepatic cholangiocarcinoma. BMC Cancer. 2021;21:112.
8. Pirrone C, Malapelle U, Pepe F, et al. Genomic pathway alterations and their prognostic impact in biliary tract cancer: Insights from a multinational cohort treated with cisplatin, gemcitabine, and durvalumab. Eur J Cancer. 2025;230:116035.
9. Jin B, Wang Y, Zhang B, et al. Immune checkpoint inhibitor-related molecular markers predict prognosis in extrahepatic cholangiocarcinoma. Cancer Med. 2023;12:20470-20481.
10. 国立がん研究センター がんゲノム情報管理センター（C-CAT）．C-CAT 登録件数検索．https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/（Ver.20260226）
11. Lowery MA, Ptashkin R, Jordan E, et al. Comprehensive Molecular Profiling of Intrahepatic and Extrahepatic Cholangiocarcinomas: Potential Targets for Intervention.

Clin Cancer Res. 2018;24:4154-4161.
12. Goeppert B, Roessler S, Renner M, et al. Mismatch repair deficiency is a rare but putative therapeutically relevant finding in non-liver fluke associated cholangiocarcinoma. Br J Cancer. 2019;120:109-114.
13. Campbell BB, Light N, Fabrizio D, et al. Comprehensive Analysis of Hypermutation in Human Cancer. Cell. 2017;171:1042-1056.e10.
14. Liddell SS, Chakrabarti S, Wintheiser GA, et al. Tumor Mutational Burden Is a Potential Predictive Biomarker for Response to Immune Checkpoint Inhibitors in Patients With Advanced Biliary Tract Cancer. JCO Precis Oncol. 2022;6:e2200003.
15. Kim R, Park JK, Kwon M, et al. Comprehensive molecular characterization to predict immunotherapy response in advanced biliary tract cancer: a phase II trial of pembrolizumab. Oncol Res. 2025;33:57-65.
16. Oh DY, Ruth He A, Qin S, et al. Durvalumab plus Gemcitabine and Cisplatin in Advanced Biliary Tract Cancer. NEJM Evidence. 2022;1:EVIDoa2200015.
17. Oh DY, Lee KH, Lee DW, et al. Gemcitabine and cisplatin plus durvalumab with or without tremelimumab in chemotherapy-naive patients with advanced biliary tract cancer: an open-label, single-centre, phase 2 study. Lancet Gastroenterol Hepatol. 2022;7:522-532.
18. Kelley RK, Ueno M, Yoo C, et al. Pembrolizumab in combination with gemcitabine and cisplatin compared with gemcitabine and cisplatin alone for patients with advanced biliary tract cancer (KEYNOTE-966): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. Lancet. 2023;401:1853-1865.
19. Saito Y, Horie S, Kogure Y, et al. Real-world clinical utility of comprehensive genomic profiling in advanced solid tumors. Nat Med. 2026;32(2):690-701.
20. Razavi P, Li BT, Brown DN, et al. High-intensity sequencing reveals the sources of plasma circulating cell-free DNA variants. Nat Med. 2019;25:1928-1937.
21. Woodhouse R, Li M, Hughes J, et al. Clinical and analytical validation of FoundationOne Liquid CDx, a novel 324-Gene cfDNA-based comprehensive genomic profiling assay for cancers of solid tumor origin. PLoS One. 2020;15:e0237802.
22. Mishima S, Nakamura Y, Tukachinsky H, et al. Validity and utility of blood tumor mutational burden (bTMB) is dependent on circulating tumor DNA (ctDNA) shed: SCRUM-Japan MONSTAR-SCREEN. J Liq Biopsy. 2023;1:100003.

4-7. NTRK1/2/3

(1) *NTRK*融合遺伝子とその遺伝子変異

Neurotrophic tropomyosin receptor kinase（*NTRK*）遺伝子は、1q23.1 に位置する *NTRK1*、9q21.33 に位置する *NTRK2*、15q25.3 に位置する *NTRK3*から構成され、それぞれトロポミオシン受容体キナーゼ（TRK）である TRKA、TRKB、TRKC をコードしている。TRK は膜貫通型の受容体チロシンキナーゼで、神経栄養因子のリガンド結合により活性化される。活性化された TRK は、RAS/MAPK、PI3K/AKT、PKC などのシグナル経路を介して、神経細胞の発生、分化および生存維持に重要な役割を果たす [1]。成人における TRK の発現は主に神経系で高く、神経栄養因子シグナルを通じて神経細胞の機能を制御する。一方、胃や膵管、乳腺などの一部非神経組織でも低レベルの発現が認められる [2]。

NTRK が染色体上で遺伝子融合を起こすと、*NTRK* 側の 3′ 側領域とパートナー遺伝子の 5′ 側領域が融合して、キナーゼ領域を保持した TRK 融合タンパクが生成される。この融合タンパクは制御を失い、リガンド非依存的に恒常活性化される。その結果、持続的に下流のシグナルを活性化し、細胞の生存および増殖シグナルを供給し続けることで腫瘍形成を促す（図）。このため、*NTRK*融合遺伝子は多くの腫瘍において oncogenic driver として機能する [3]。*NTRK*融合遺伝子は、1986 年に Martin-Zanca らによりヒト大腸癌由来の細胞株で初めて同定された [4]。特定の腫瘍群では高頻度に認められ、先天性線維肉腫や乳腺・唾液腺の分泌癌では約 70〜90%の症例で *NTRK* 融合遺伝子が検出される。これに対し、一般的な固形腫瘍では *NTRK* 融合遺伝子は非常に稀で、集団解析では概ね 1%未満と報告されている [5]。なお、本邦のがんゲノム情報管理センター（Center for Cancer Genomics and Advanced Therapeutics：C-CAT）のデータベース解析によると、全固形腫瘍 88,688 症例中、*NTRK* 融合遺伝子は 0.2%（175 症例）で検出されたと報告されている [6]。また、*NTRK* 融合遺伝子は、腫瘍の種類によって高頻度に認められるサブタイプが異なる。小児線維肉腫や乳腺・唾液腺分泌癌では主に *NTRK3* 融合が検出されるのに対し、中枢神経系腫瘍では *NTRK2*融合が比較的多く報告されている。一方、*NTRK1*融合は肺腺癌や甲状腺乳頭癌などの固形腫瘍で稀に認められる。これらの知見は、各 *NTRK* 遺伝子融合が腫瘍タイプごとに偏在することを示しており、診断や治療戦略の策定において腫瘍特異的な理解が重要である [3]。

(2) *NTRK*融合遺伝子陽性胆道癌の頻度と臨床病理学的特徴

胆道癌における *NTRK* 融合遺伝子は稀であるが、複数の研究からその存在が報告されている [7]。米国において FDA 承認を受けているがん遺伝子パネル検査のうち MSK-IMPACT を用いた解析では胆道癌 787 例のコホートにおいて 2 例（0.25%）[8]、また FoundationOne CDx を用いた解析では胆道癌 9,997 例のコホートにおいて 20 例（0.20%）[9] が報告されている。また、胆道癌 153 症例を対象としたコホート研究において、*NTRK* 融合遺伝子の検出を目的として、免疫組織化学染色（pan-TRK immunohistochemistry：IHC）によるスクリーニングと RNA-based next generation sequencing（NGS）検査を組み合わせた二段階診断アプローチが適用された。その結果、全症例中 1 例（0.7%）のみが *NTRK*融合遺伝子陽性であり、当該症例は *ETV6-NTRK3* 融合を有していた [10]。なお、胆道癌において報告されている *NTRK* 融合遺伝子は、報告症例の大半が *ETV6–NTRK3* 融合である一方、

NTRK1 を含む複数の融合パートナーも散発的に確認されている。しかしながら、いずれも症例数が限られているため、融合様式間の詳細な頻度差については明らかではない。

(3) *NTRK* 融合遺伝子陽性胆道癌に対する臨床試験

NTRK 融合遺伝子を有する腫瘍に対しては、TRK 阻害薬の有効性が示されている。本邦においては、TRKA/B/C に高い阻害活性を有するラロトレクチニブおよび TRK に加えて ROS1 および ALK も標的とするエヌトレクチニブが第一世代 TRK 阻害薬として胆道癌を含む *NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発固形癌に対して保険承認されている。さらに、これら第一世代 TRK 阻害薬の長期投与により出現するゲートキーパー変異や solvent front 変異などの耐性変異に対しては、TRK に加えて ROS1 および ALK も標的とする第二世代 TRK 阻害薬であるレポトレクチニブが有効とされ、同様の適応で保険承認されている。

エヌトレクチニブは、*NTRK1/2/3*、*ROS1* 又は *ALK* 融合遺伝子陽性の進行・再発の固形癌患者を対象とした、2 つの海外第 I 相試験（ALKA-372-001 試験：ALKA 試験、RXDX-101-01: STARTRK-1 試験）と、日本を含む国際共同第 II 相臨床試験（RXDX-101-02: STARTRK-2 試験）及び小児を対象とした海外第 I 相臨床試験（RXDX-101-03: STARTRK-NG 試験）の結果を踏まえ、本邦において「*NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発固形癌」を対象として保険適用となった。ALKA 試験、STARTRK-1 試験、STARTRK-2 試験の統合解析の結果、54 例の *NTRK* 融合遺伝子陽性固形腫瘍患者を対象に、主要評価項目である奏効割合は 56.9%（95%CI: 43.2–70.8）（うち完全奏効（complete response: CR）は 4 例（7%）、部分奏効（partial response: PR）は 27 例（50%））であり、信頼区間の下限値は事前に定めた閾値 20%を上回っていた。なお本解析において、胆道癌患者は 1 例含まれており（遺伝子型は不明）、部分奏効が得られていた [11]。

ラロトレクチニブは、2 つの国際共同試験（NAVIGATE 試験および SCOUT 試験）と 1 つの海外第 I 相試験（LOXO-TRK-14001 試験）から得られた臨床試験成績等に基づいて、本邦において「*NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発固形癌」を対象として保険適用となった。12 歳以上の *NTRK* 融合遺伝子陽性進行・再発固形癌患者 116 例を対象とした国際共同第 II 相試験（NAVIGATE 試験）の中間解析において、主要評価項目の奏効割合は 65.2%（80%CI: 57.9–71.9）であった。また、21 歳以下の進行・再発固形癌患者 88 例を対象とした国際共同第 I/II 相試験（SCOUT 試験）では、主要評価項目の奏効割合は 88.9%（95%CI: 73.9–96.9）であり、いずれも良好な成績を示した。また、これらの 3 つの臨床試験の統合解析の結果、159 例の *NTRK* 融合遺伝子陽性固形腫瘍患者を対象に、主要評価項目である奏効割合は 79%（95%CI: 72–85）（うち CR は 24 例（16%）、PR は 97 例（63%））と高い臨床的有効性が示された。なお本解析において、胆道癌患者は 2 例含まれており（遺伝子型は不明）、1 例で部分奏効が得られていた [12]。

レポトレクチニブは、*ROS1*、*NTRK* 又は *ALK* 融合遺伝子陽性の進行・再発固形癌患者を対象とした国際共同第 I/II 相試験（TRIDENT-1 試験）における第 II 相パートの結果、並びに 25 歳以下の *ROS1*、*NTRK* 又は *ALK* 融合遺伝子陽性の進行・再発固形癌患者を対象とした海外第 I/II 相試験（CARE 試験）における *NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発の固形癌患者の結果に基づき、「*NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発固形癌」を対象として保険適用となった。TRIDENT-1 試験の第 II 相パートにおいて *NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発の固形癌患者 135 例を対象に、主要評価項目である奏効割合は（1）TRK 阻害薬

の治療歴のない患者で 60.0%（95%CI: 42.1–76.1）（21/35 例）、（2）TRK 阻害薬の治療歴を有する患者（日本人患者 1 例を含む）で 52.3%（95%CI: 36.7–67.5）（23/44 例）であり、いずれも良好な成績を示した。なお本解析において、胆道癌患者は 2 例含まれており（遺伝子型は不明）、1 例で部分奏効が得られていた[13]。また、CARE 試験において *NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発の固形癌患者 19 例を対象に、主要評価項目である奏効割合は、それぞれ（1）TRK 阻害薬の治療歴のない患者で 50.0%（95%CI: 1.3–98.7）（1/2 例）、（2）TRK 阻害薬の治療歴を有する患者で 25.0%（95%CI: 0.6–80.6）（1/4 例）であった。なお本解析において、胆道癌患者は含まれていなかった。

一方、第一世代 TRK 阻害薬では、長期投与により *NTRK1* F589L、*NTRK2* F633L, *NTRK3* F617L などのゲートキーパー変異、*NTRK1* G595R、*NTRK2* G639R, *NTRK3* G623R などの solvent front 変異に代表されるキナーゼドメイン内耐性変異の出現が報告され、これらの耐性変異を克服する目的で、レポトレクチニブのほか、selitrectinib、taletrectinib などの第二世代 TRK 阻害薬が開発されてきた。しかし、*NTRK1* G667C/G667S/G667A, *NTRK2* G709C、*NTRK3* G696A/G696C などの xDFG 変異は第二世代 TRK 阻害薬に対する耐性を示すことが明らかとなっており、これらを克服する新たな治療戦略として、選択的 type II TRK 阻害薬の開発が現在進められている[14]。

(4) *NTRK* 融合遺伝子の検査

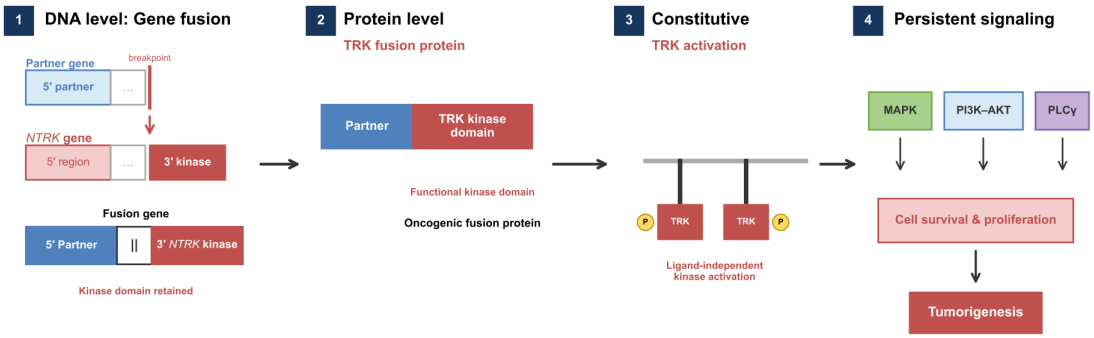
NTRK 融合遺伝子の検出には、次世代シーケンス（next generation sequencing：NGS）法のほか、免疫組織化学（immunohistochemistry：IHC）法、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション（fluorescence in situ hybridization：FISH）法、逆転写 PCR（reverse transcription polymerase chain reaction：RT-PCR）法が用いられるが[15]、胆道癌において保険適用されているのは NGS 法を用いたがん遺伝子パネル検査による *NTRK* 融合遺伝子の検出である。2026 年 8 月現在、本邦においては腫瘍組織検体を用いた検査として NCC オンコパネル検査、FoundationOne CDx 検査、GenMineTOP 検査、TSO Comprehensive 検査、血液検体を用いたリキッドバイオプシー検査として FoundationOne Liquid CDx 検査、Guardant360 CDx 検査が保険診療下で実施可能である（表 1）。

FoundationOne CDx 検査は包括的ゲノムプロファイル機能のほか、エヌトレクチニブ、ラロトレクチニブ、レポトレクチニブに対するコンパニオン診断機能を有する。*NTRK* 融合遺伝子検出に関する同等性試験の結果は、エヌトレクチニブに関しては 18 歳以上の *NTRK*、*ROS1* 又は *ALK* 融合遺伝子陽性の進行・再発の固形癌患者を対象とした国際共同第 II 相試験（STARTRK-2 試験）の 19 例及び陰性調達検体 50 例を用いて、STARTRK-2 試験の組み入れに用いられた測定法との同等性を評価した結果、陽性一致率（positive percent agreement: PPA）は 73.68%（14/19）（95% CI：48.80–90.85）、陰性一致率（negative percent agreement: NPA）は 100.00%（50/50）（95% CI：92.89–100.00）であった。ラロトレクチニブに関しては 18 歳以上の進行固形腫瘍を有する患者を対象とした第 I 相試験（試験 20288）、12 歳以上の *NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発の固形癌患者を対象とした国際共同第 II 相試験（試験 20289）、及び 21 歳以下の進行・再発の小児固形癌患者を対象とした国際共同第 I/II 相試験（試験 20290）で臨床試験測定法（clinical trial assay: CTA）によって *NTRK* 融合遺伝子陽性と判定された 45 例、陰性と判定された 24 例

及び陰性調達検体 206 例を用いて、組み入れ時にスクリーニング検査として用いられた測定法との同等性を評価した結果、PPA は 84.1%（37/44）（95% CI：69.9–93.4）、NPA は 100.00%（226/226）（95% CI：98.4–100.0）であった。また、レポトレクチニブに関しては *ROS1*、*NTRK* 又は *ALK* 融合遺伝子陽性の進行・再発の固形癌患者を対象とした国際共同第 I/II 相試験である TRIDENT-1 試験で、本試験の組み入れに用いられた検査（ローカル検査）を用いて *NTRK* 融合遺伝子陽性と判定された 93 例、並びに FMI 保管または調達陰性検体 160 例を用いて、本品とローカル検査との同等性を評価した結果、PPA は 53.06%（26/49）（95% CI：39.38–66.30）、NPA は 100.00%（159/159）（95% CI：97.64–100.00）であった。

リキッドバイオプシー検査の FoundationOne Liquid CDx 検査も包括的ゲノムプロファイル機能のほか、エヌトレクチニブに対するコンパニオン診断機能を有する。STARTRK-2 試験に由来する検体及び陰性調達検体のうち、DNA 量 30 ng 以上の 85 例を用いて、STARTRK-2 試験の組み入れに用いられた測定法との同等性を評価した結果、PPA は 47.4%（95% CI：32.5–62.7）、NPA は 100%（95% CI：92.4–100）であった。リキッドバイオプシー検査による融合遺伝子の検出は、腫瘍組織検体を用いた検査と比較して一般に検出感度が低下するため、検査実施の際は患者の病勢や腫瘍量を考慮して提出する検査を選択することが重要である。一方、RNA シーケンスを併用する GenMineTOP 検査および TSO Comprehensive は、RNA として発現している融合遺伝子を直接検出できるため、一般に DNA シーケンスで検出が困難な融合遺伝子も捉えることが可能であり、他の検査に比べて *NTRK* 融合遺伝子の検出感度が高いとされている。

なお、遺伝子再構成（gene rearrangement）とは、染色体転座や逆位などの構造異常により遺伝子配列が再編成される現象を指す。遺伝子再構成のうち、機能的な融合転写産物が形成されたものは融合遺伝子（fusion gene）と定義されるが、パートナー遺伝子が同定されない場合や、RNA レベルで融合転写産物が確認されない場合、あるいは臨床的意義が不明な場合には、融合遺伝子とは区別して「rearrangement」としてレポートに記載されることがある。*NTRK* 遺伝子再構成が検出された症例に対して TRK 阻害薬を推奨するか否かについては、分子学的所見および既存エビデンスを踏まえ、エキスパートパネルにおいて総合的に判断される。



執筆者作図

図　*NTRK* 融合遺伝子による腫瘍形成メカニズム

表 1　各がん遺伝子パネル検査が融合遺伝子検出のために解析対象とする *NTRK* 融合遺伝子と TRK 阻害薬に対するコンパニオン診断機能

検査名	OncoGuide NCC オンコパネルシステム	FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル	GenMineTOP がんゲノムプロファイリングシステム	TruSight Oncology Comprehensive パネルシステム	FoundationOne Liquid CDx がんゲノムプロファイル	Guardant360 CDx がん遺伝子パネル
解析対象遺伝子数［融合遺伝子数］	124［13］	324［36］	737［455］ 27 遺伝子の遺伝子発現	517［23］	324［36］	74［6］
対象検体	腫瘍組織（FFPE）DNA, 非腫瘍組織（全血）DNA	腫瘍組織（FFPE）DNA	腫瘍組織（FFPE）DNA, RNA, 非腫瘍組織（全血）DNA	腫瘍組織（FFPE）DNA, RNA	血中循環 DNA	血中循環 DNA
融合遺伝子検出のために解析対象とする *NTRK* 遺伝子	*NTRK1*, *NTRK2*, *NTRK3*	*NTRK1*, *NTRK2* （*NTRK3* は対象としていないが、*ETV6* 側から *ETV6-NTRK3* は検出可能）	*NTRK1*, *NTRK2*, *NTRK3*	*NTRK1*, *NTRK2*, *NTRK3*	*NTRK1*, *NTRK2* （*NTRK3* は対象としていないが、*ETV6* 側から *ETV6-NTRK3* は検出可能）	*NTRK1*
TRK 阻害薬に対するコンパニオン診断機能	なし	エヌトレクチニブ, ラロトレクチニブ, レポトレクチニブ	なし	なし	エヌトレクチニブ	なし

表 2　胆道癌における *NTRK1/2/3* 融合遺伝子の頻度　（C-CAT ポータル, Ver.20260226）[16]

	肝内胆管癌 n (%)	肝門部胆管癌 n (%)	肝外胆管癌 n (%)	胆嚢癌 n (%)	乳頭部癌 n (%)	全体 n (%)
FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル	0/2360 (0)	0/750 (0)	0/940 (0)	1/1553 (0.06)	0/442 (0)	1/6045 (0.02)
OncoGuide NCC オンコパネルシステム	0/400 (0)	0/147 (0)	0/85 (0)	0/226 (0)	0/54 (0)	0/912 (0)
GenMineTOP がんゲノムプロファイル	0/163 (0)	0/61 (0)	0/58 (0)	0/135 (0)	0/42 (0)	0/459 (0)
組織全体	0/2923 (0)	0/958 (0)	0/1083 (0)	1/1914 (0.05)	0/538 (0)	1/7416 (0.01)
FoundationOne Liquid CDx がんゲノムプロファイル	2/704 (0.28)	0/425 (0)	0/175 (0)	0/489 (0)	0/49 (0)	2/1842 (0.11)
Guardant360 CDx	0/120 (0)	0/89 (0)	0/51 (0)	0/114 (0)	0/10 (0)	0/384 (0)
Liquid 全体	2/824 (0.24)	0/514 (0)	0/226 (0)	0/603 (0)	0/59 (0)	2/2226 (0.09)
CGP 全体	2/3747 (0.05)	0/1472 (0)	0/1309 (0)	1/2517 (0.04)	0/597 (0)	3/9642 (0.03)

C-CAT 登録件数検索（https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/）の検索結果をもとに作成（Ver.20260226）

参考文献

1. Hsiao SJ, Zehir A, Sireci AN, et al. Detection of Tumor NTRK Gene Fusions to Identify Patients Who May Benefit from Tyrosine Kinase (TRK) Inhibitor Therapy. J Mol Diagn. 2019;21(4):553-571.
2. Shibayama E, Koizumi H. Cellular localization of the Trk neurotrophin receptor family in human non-neuronal tissues. Am J Pathol. 1996;148(6):1807-1818.
3. Cocco E, Scaltriti M, Drilon A. NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy. Nat Rev Clin Oncol. 2018;15(12):731-747.
4. Martin-Zanca D, Hughes SH, Barbacid M. A human oncogene formed by the fusion of truncated tropomyosin and protein tyrosine kinase sequences. Nature. 1986;319(6056):743-748.
5. O'Haire S, Franchini F, Kang YJ, et al. Systematic review of NTRK 1/2/3 fusion prevalence pan-cancer and across solid tumours. Sci Rep. 2023;13(1):4116.
6. Nishikubo H, Kawabata K, Kanei S, et al. Multi-Cancer Genome Profiling for Neurotrophic Tropomyosin Receptor Kinase (NTRK) Fusion Genes: Analysis of Profiling Database of 88,688 Tumors. Cancers (Basel). 2025;17(13).
7. Lamarca A, Barriuso J, McNamara MG, et al. Molecular targeted therapies: Ready for "prime time" in biliary tract cancer. J Hepatol. 2020;73(1):170-185.
8. Solomon JP, Linkov I, Rosado A, et al. NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. Mod Pathol. 2020;33(1):38-46.
9. Westphalen CB, Krebs MG, Le Tourneau C, et al. Genomic context of NTRK1/2/3 fusion-positive tumours from a large real-world population. NPJ Precis Oncol. 2021;5(1):69.
10. Demols A, Rocq L, Perez-Casanova L, et al. A Two-Step Diagnostic Approach for NTRK Gene Fusion Detection in Biliary Tract and Pancreatic Adenocarcinomas. Oncologist. 2023;28(7):e520-e525.
11. Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. Lancet Oncol. 2020;21(2):271-282.
12. Hong DS, DuBois SG, Kummar S, et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. Lancet Oncol. 2020;21(4):531-540.
13. Besse B, Lin JJ, Bazhenova L, et al. Repotrectinib in NTRK fusion-positive advanced solid tumors: a phase 1/2 trial. Nat Med. 2026;32:682-689.
14. Xiang S, Lu X. Selective type II TRK inhibitors overcome xDFG mutation mediated acquired resistance to the second-generation inhibitors selitrectinib and repotrectinib. Acta Pharm Sin B. 2024;14(2):517-532.
15. Solomon JP, Benayed R, Hechtman JF, et al. Identifying patients with NTRK fusion cancer. Ann Oncol. 2019;30(Suppl_8):viii16-viii22.
16. 国立がん研究センター がんゲノム情報管理センター（C-CAT）．C-CAT 登録件数検索．https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/（Ver.20260226）

4-8. RET

(1) *RET* 遺伝子とその遺伝子融合/再構成、変異

RET は 1985 年に高橋らにより初めて報告された癌原遺伝子である [1]。線維芽細胞にヒト悪性リンパ腫の DNA を導入した際に、遺伝子再構成が確認されたことを契機に発見されたことから rearranged during transfection （*RET*）と命名された。ヒトの *RET* は 10 番染色体（10q11.2）に位置しており、21 個のエクソンからなる [2]。RET は膜貫通型受容体チロシンキナーゼであり、正常胚発生における腎臓および腸管神経系の発達において重要な役割を担うと考えられている。一方、がんにおいては、*RET* 細胞内キナーゼドメインを含む融合遺伝子を生成する染色体再構成によるものと、RET タンパクの機能獲得型ミスセンス変異によって活性化され、無秩序な細胞増殖が引き起こされる。がんにおける *RET* 遺伝子異常の頻度は疾患により異なり、甲状腺乳頭癌では 5〜20%で *RET* 融合遺伝子が認められるとされる [3]。また、非小細胞肺癌では 1〜2%で *RET* 融合遺伝子が認められる [4,5]。一方、*RET* 活性型点変異は甲状腺髄様癌に多く認められ [6]、特に生殖細胞系列の *RET* 遺伝子変異は多発性内分泌腫瘍症 2 型の原因遺伝子であることが報告されている。*RET* 遺伝子再構成は 1987 年に甲状腺乳頭癌で初めて同定された [7]。放射線被曝による甲状腺乳頭癌では *RET* 再構成の頻度が著しく高く、チェルノブイリ原発事故や日本の被曝歴のある甲状腺乳頭癌患者の約50〜80%でこれらの異常が報告されている。体細胞で生じる *RET* 再構成は、RET のキナーゼドメインをコードする 3′ 領域と、パートナー遺伝子の 5′ 領域を伴う。*RET* の染色体切断点は主にイントロン 11 内に生じ、RET の細胞質領域との融合を引き起こす。まれに、切断点がイントロン 7 および 10 に生じ、RET の膜貫通ドメインを含む融合タンパクが生成される [8,9]。これまでに、35 以上の遺伝子が *RET* と融合遺伝子を形成することが報告されている。パートナー遺伝子は、coiled-coil ドメインなど二量体化ドメインを有し、融合タンパクの二量体化をきたし、恒常的にキナーゼが活性化され細胞増殖につながる [10]。甲状腺乳頭癌においては、*CCDC6-RET* および *NCOA4-RET* が最も頻度の高い *RET* 再構成であり、これらは染色体 10 番長腕における逆位を介して生じる [11]。また非小細胞肺癌では *KIF5B-RET* および *CCDC6-RET* の頻度が高いことが報告されている [9]。

(2) *RET* 遺伝子異常胆道癌の頻度と臨床病理学的特徴

胆道癌における *RET* 遺伝子の頻度に関するまとまった報告はなく、かなりまれと考えられる。C-CAT ポータルサイトでの調査によれば、胆道癌 9642 例のうち *RET* 遺伝子異常は 7 例（0.07%）に認められた [12]。その内訳は融合遺伝子が 4 例（*CCDC6-RET* 2 例、*ERC1-RET* 1 例、*NCOA4-RET* 1 例）、*RET* 遺伝子再構成が 3 例であり *RET* 遺伝子変異は認められなかった。年齢中央値は 67 歳（範囲：50〜76）、男性 5 例、疾患内訳は肝内胆管癌 3 例、肝門部領域癌 1 例、肝外胆管癌 1 例、胆嚢癌 2 例であった。検査方法は 1 例のみ FoundationOne Liquid CDx、他はすべて FoundationOne CDx であった（表 1）。

表 1　胆道癌における *RET* 遺伝子異常の頻度　（C-CAT ポータル, Ver.20260226）

	肝内 胆管癌 n (%)	肝門部 胆管癌 n (%)	肝外 胆管癌 n (%)	胆嚢癌 n (%)	乳頭部癌 n (%)	全体 n (%)
FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル	3/2360 (0.1)	1/750 (0.1)	1/940 (0.1)	1/1553 (0.1)	0/442 (0)	6/6045 (0.1)
OncoGuide NCC オンコパネルシステム	0/400 (0)	0/147 (0)	0/85 (0)	0/226 (0)	0/54 (0)	0/912 (0)
GenMineTOP がんゲノムプロファイル	0/163 (0)	0/61 (0)	0/58 (0)	0/135 (0)	0/42 (0)	0/459 (0)
組織全体	3/2923 (0.1)	1/958 (0.1)	1/1083 (0.1)	1/1914 (0.1)	0/538 (0)	6/7416 (0.1)
FoundationOne Liquid CDx がんゲノムプロファイル	0/704 (0)	0/425 (0)	0/175 (0)	1/489 (0.2)	0/49 (0)	1/1842 (0.1)
Guardant360 CDx	0/120 (0)	0/89 (0)	0/51 (0)	0/114 (0)	0/10 (0)	0/384 (0)
Liquid 全体	0/824 (0)	0/514 (0)	0/226 (0)	1/603 (0.2)	0/59 (0)	1/2226 (0.04)
CGP 全体	3/3747 (0.1)	1/1472 (0.1)	1/1309 (0.1)	2/2517 (0.1)	0/597 (0)	7/9642 (0.1)

C-CAT 登録件数検索（https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/）の検索結果をもとに作成（Ver.20260226）

(3) *RET* 融合遺伝子陽性固形癌に対する臨床試験

RET 融合遺伝子陽性の胆道癌のみを対象とした、薬物療法の臨床試験は現在のところ報告がない。非小細胞肺癌と甲状腺癌を除く *RET* 融合遺伝子陽性の固形癌に対するセルペルカチニブの第 1・2 相試験（LIBRETTO-001, tumor-agnostic population）の結果が報告されている [13]。当初 45 例の治療成績が報告されていたが、52 例（日本人 11 例を含む）のアップデート解析が公表された [14]。疾患の内訳は膵癌、結腸直腸癌が各 13 例（25%）、唾液腺癌 4 例（7.7%）に次いで胆道癌 3 例（5.8%）が登録された（表 2）。全体の奏効割合は 44.2%（95%信頼区間: 30.5–58.7）であり、CR は 3 例（5.8%）に認められ、胆道癌は 3 例中 1 例に奏効例を認めた。無増悪生存期間中央値は 13.2 か月（95%信頼区間: 5.6–26.2）、奏効期間中央値は 37.2 か月（95%信頼区間: 13.3–not estimable）、生存期間中央値は 18.0 か月（95%信頼区間: 10.7–39.2）であった。セルペルカチニブは *RET* 融合遺伝子陽性の固

形癌に対して保険適用となっている。

(4) *RET*遺伝子異常の検査

現在のところ、*RET*融合遺伝子、*RET*変異の検出は、腫瘍組織検体を用いた検査としてNCC オンコパネル検査、FoundationOne CDx 検査、GenMineTOP 検査、血液検体を用いたリキッドバイオプシー検査として FoundationOne Liquid CDx 検査、Guardant360 CDx 検査が保険診療下で実施可能である。また、セルペルカチニブのコンパニオン診断薬として FoundationOne CDx のみが承認されている。

表 2　LIBRETTO-001　疾患内訳

	N=52 (%)
膵臓	13 (25.0)
大腸	13 (25.0)
胆道	3 (5.8)
直腸神経内分泌腫瘍	1 (1.9)
小腸	1 (1.9)
乳房	2 (3.8)
カルチノイド	1 (1.9)
神経内分泌腫瘍	1 (1.9)
卵巣	1 (1.9)
肺癌肉腫	1 (1.9)
唾液腺	4 (7.7)
肉腫	3 (5.8)
小細胞肺癌	1 (1.9)
皮膚	2 (3.8)
黄色肉芽腫	3 (5.8)
原発不明	2 (3.8)

参考文献

1. Takahashi M, Ritz J, Cooper GM. Activation of a novel human transforming gene, ret, by DNA rearrangement. Cell. 1985;42:581-588.
2. Ishizaka Y, Itoh F, Tahira T, et al. Human ret proto-oncogene mapped to chromosome 10q11.2. Oncogene. 1989;4:1519-1521.
3. Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. Cell. 2014;159:676-690.
4. Wang R, Hu H, Pan Y, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol. 2012;30:4352-4359.
5. Tsuta K, Kohno T, Yoshida A, et al. RET-rearranged non-small-cell lung carcinoma: a clinicopathological and molecular analysis. Br J Cancer. 2014;110:1571-1578.
6. Ciampi R, Romei C, Ramone T, et al. Genetic Landscape of Somatic Mutations in a Large Cohort of Sporadic Medullary Thyroid Carcinomas Studied by Next-Generation Targeted Sequencing. iScience. 2019;20:324-336.
7. Fusco A, Grieco M, Santoro M, et al. A new oncogene in human thyroid papillary carcinomas and their lymph-nodal metastases. Nature. 1987;328:170-172.
8. Mizukami T, Shiraishi K, Shimada Y, et al. Molecular mechanisms underlying oncogenic RET fusion in lung adenocarcinoma. J Thorac Oncol. 2014;9:622-630.
9. Subbiah V, Yang D, Velcheti V, et al. State-of-the-Art Strategies for Targeting RET-Dependent Cancers. J Clin Oncol. 2020;38:1209-1221.
10. Santoro M, Carlomagno F. Central role of RET in thyroid cancer. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2013;5:a009233.
11. Grieco M, Santoro M, Berlingieri MT, et al. PTC is a novel rearranged form of the ret proto-oncogene and is frequently detected in vivo in human thyroid papillary carcinomas. Cell. 1990;60:557-563.
12. 国立がん研究センター がんゲノム情報管理センター（C-CAT）．C-CAT 登録件数検索．https://simplesearch-use.c-cat.ncc.go.jp/（Ver.20260226）
13. Subbiah V, Wolf J, Konda B, et al. Tumour-agnostic efficacy and safety of selpercatinib in patients with RET fusion-positive solid tumours other than lung or thyroid tumours (LIBRETTO-001): a phase 1/2, open-label, basket trial. Lancet Oncol. 2022;23:1261-1273.
14. Ohe Y, Subbiah V, Sukrithan V, et al. O14-2 Updated tumor agnostic efficacy of selpercatinib in patients with RET fusion-positive solid tumors: LIBRETTO-001. Ann Oncol. 2024;35:S1322.

5. 編集履歴

2026 年 8 月　　Ver. 1.0
2026 年 11 月　　Ver. 1.1
誤字や齟齬の修正などの記載整備を行った。