

2.1.7 バイオマーカー・リキッドバイオプシー

（1）研究開発領域の定義

バイオマーカーとは、集団の中から病気の可能性のある人を発見する、疾患を特定する、病気の進行度・ステージを把握する、最適な治療を決定する、治療中や治療後の経過を観察する、予後を予測する、などの目的に応じたさまざまな診断を下すために客観的に測定・評価される生体由来の指標である。がん領域では、診断、治療選択のために腫瘍組織検体を用いた体細胞変異などの遺伝子検査が臨床で用いられている。

より侵襲性の低い検査方法として、尿、血液、胸腹水などの液性検体に含まれる腫瘍由来核酸などを測定対象とするリキッドバイオプシーが注目されている。当初、リキッドバイオプシーは腫瘍のがん細胞（Circulating Tumor Cells：CTC）や腫瘍細胞のDNAの断片（circulating tumor DNA：ctDNA）を探すことを意味していたが、近年は拡大解釈され、RNA、タンパク質、代謝物、エクソソームなどのさまざまな物質がリキッドバイオプシーにおけるバイオマーカーになる可能性が検討されている。また、がん以外の領域、特に神経変性疾患や精神疾患など、脳に病変があると思われる疾患で、診断検査にも利用することが試みられている。

これらの研究開発を進展させることは、疾患メカニズムの解析および、診断計測機器・治療技術を高度化し、精密医療（個別化医療）の進展に資する。

（2）キーワード

精密医療、個別化医療、患者層別化、疾患オミクス、汎用性、CTC（Circulating Tumor Cells）、cell free DNA（cfDNA）、ctDNA（circulating tumor DNA）、microRNA（miRNA）、エクソソーム、次世代シーケンサー

（3）研究開発領域の概要

〔本領域の意義〕

個々人に最適で効率的な医療を実践する上で、バイオマーカーの開発は不可欠である。近年の技術進歩によって、疾患由来の微量な物質（群）の変動を詳細に、あるいは網羅的に捉えることが可能となり、一部のがんゲノム医療ではリキッドバイオプシー診断薬（LBx）の臨床応用が始まっている。

バイオマーカーは、薬力学的バイオマーカー、効果予測（有効性-奏功）バイオマーカー、予後予測バイオマーカーに大別されるが、サロゲートバイオマーカー、モニタリングバイオマーカー、層別化バイオマーカー、安全性・毒性バイオマーカーなども存在する。

効果予測（有効性-奏功）バイオマーカーは、医薬品の臨床試験における代替エンドポイントになり得るものである。代替エンドポイントは、さらに後の時点での患者の特定の臨床アウトカムを予測するものであり、製造販売承認の意思決定の基本となるデータとして利用可能である。代替エンドポイントは、最も重要（primary）な臨床的ベネフィットを測定するのではなく、代わりに疫学的、治療学的、病理学的またはその他の科学的根拠に基づいた臨床ベネフィットを予測する。疾患などに関連する効果予測バイオマーカーを利用して医薬品の投与患者を特定する場合、当該医薬品使用の前提として、体外診断用医薬品を使用することになる。このような治療の選択などに用いられることにより個別化医療に資する体外診断薬が「コンパニオン診断薬」として臨床応用されている。

がん領域では、組織生検が1世紀以上にわたり診断のゴールドスタンダードとして不動の位置を確立している。しかし、侵襲性が高い組織生検を繰り返し実施することは困難であり、病変部位が明確でない超早期段階で検出したり、疾患の状態や経過を経時的にモニターしたりするためには、繰り返し採取が可能な低侵襲性検体が必要である。

多くの腫瘍は後天的に獲得される体細胞変異が集積して起こる多段階発がんにより生じるが、一つの強い

がん遺伝子であるドライバー遺伝子により発症する場合もある。後者はキナーゼ阻害薬などの分子標的薬の良い標的となり、ドライバー遺伝子に対する分子標的薬の開発が進められ、固形がんでは非小細胞肺癌を中心に複数のコンパニオン診断薬と分子標的薬が同時に承認されている。さらに、日本においても2019年6月に複数の遺伝子変化を同時に検査できる遺伝子パネル検査（網羅的ゲノムプロファイリング検査）が保険収載され、遺伝子パネル検査を用いた精密化医療の実装が進められている。がん治療薬の開発には、バイオマーカーの開発を同時並行に進めることが必要であるとされ、同時開発、同時承認がコンセプトとなってきた。

しかし、遺伝子パネル検査で標的遺伝子の変化が見つかり治療薬が提示されたものの、実際の投与に到らない割合は高く、国内外の報告では80-90%にのぼる。その原因としては、当該治療薬の承認適用外のがん種である場合や、未承認であってもそれを使用することができる治験、臨床試験が実施されていない場合、さらには対応する分子標的薬が承認されていない場合などが挙げられる。現在のゲノム医療に関する診療ガイドランス¹⁾において、日本では「標準治療のない若しくはその見込みの患者」で、「薬物療法の対象となる患者」にのみ遺伝子パネル検査を用いることができ、標準治療が存在する多くのがん患者では、真の個別化医療を実現するために必要な、治療開始前に治療法を見出すための遺伝子パネル検査の受検は叶わない。標準的治療が無くなった時点で、更なる治療を検討する目的で遺伝子パネル検査の受検を希望しても、厳しい基準をクリアした腫瘍組織検体を準備するために、侵襲性の高い再生検の必要が生じ、断念する例が多いことが報告されている²⁾。したがって、低侵襲であり、繰り返しの採血が可能な血漿検体を用いたりキッドバイオプシーを用いた検査に期待が寄せられている。

米国NCIはリキッドバイオプシーを「血液試料に対して行われる検査で、血中のがん細胞またはがん細胞由来DNA断片を調べるもの」と定義しているが、世界で初めてリキッドバイオプシーを診断用途で実用化したのは母体血を用いた出生前遺伝学的検査（Non-invasive prenatal testing：NIPT）である。がん以外の領域においても、高精度で低侵襲な検査へのニーズは高い。

がん診断やNIPTには、疾患に関わるゲノム情報が利用されている。ゲノミクスをはじめとする近年のオミクス技術の発展は、分子情報の網羅的取得と統計的解析によって、患者を特定の疾患に罹患しやすい、もしくはリスクの高い集団に層別化することにより、精密医療や予防・先制的医療の可能性を開いた。遺伝だけでなく、生活環境やライフスタイルにおける個人の違いを考慮した医療を提供するためには、ゲノム情報の他に、プロテオーム、メタボロームなどのフェノーム情報も網羅的に解析し統合することが重要であり、今後の更なる研究開発が望まれる。また、疾患オミクスの発展によって、新たな疾患メカニズムの解明も期待されている。

【研究開発の動向】

バイオマーカーとは、FDAの定義では、「正常の生物学的過程、発病過程、治療介入による薬理学的反応における客観的に測定・評価可能な指標として測定される特性」、NIHの定義では、「客観的に測定され、評価される特性値であり、正常な生物学的プロセス、病理学的プロセス、または治療処置に対する薬理学的反応の指標として用いられるものである」とされる。

Next Generation Sequence（NGS）が2000年半ばに米国で登場し、ゲノミクスの分野が飛躍的に発展した。質量分析器やバイオインフォマティクスの高度化はオミクスをさらに発展させ、ゲノムのみならずプロテオーム、メタボロームなどさまざまな階層で疾患に関連するオミクスデータが蓄積されてきた。これらの情報を統合して検討することにより、遺伝的影響のみならず環境的影響についても評価することが可能となってきた。環境因子への応答を記憶する遺伝子素因としてエピジェネティクスが注目され、栄養素や代謝産物によるエピゲノムの修飾は生活習慣病の新たな分子基盤として今後の展開が期待されている。近年では、多くの新規バイオマーカー探索にオミクス技術が用いられている。また、個人のオミクス情報を取得することにより、治療介入後の反応や予後予測が可能となり、精密医療・個別化医療が実践可能な段階となった。さらに、網羅的データの統計的解析から得られたいくつかの特徴的バイオマーカーを組み合わせることによって、疾患リ

スクの高い人を効果的に選別し、早期診断よりもさらに早い段階で介入する予防・先制医療が実現に向かっている。

このように莫大なデータを網羅的・体系的に扱い解析するためには、システムバイオロジーやバイオインフォマティクスとともに、得られた情報を整理・蓄積・公開するためのデータベースの開発が重要となる。複数の専門家が協力する体制を構築することも必要で、欧米を中心に体制作りが急速に進んでいる。米国では官民パートナーシップとしてThe Biomarkers Consortiumが2006年に組織され、成果を上げている。また、ゲノム医療計画としてGenomic Medicine Programが2007年から開始され、複数拠点においてゲノムコホート研究を進めているうえに、既存のゲノムコホートを有機的に連携させ、ネットワークを形成している。英国ではPrecision Medicineが国策として推進されており、ゲノム医療を実践・導入するためにNational Health SystemがGenomics Englandを設立し、2013年からがんや希少疾患を対象に10万人規模のゲノム情報の解析が行われた。次の目標を500万人に拡大し、まずは2023～2024年までにNHSで50万ゲノム（疾患ゲノム）とUK Biobankで50万ゲノム（健常人）を対象として継続している。Genomics Englandでは、全ゲノム情報の解析から統合ゲノム情報の集積までをひとつのセンターで実施しており、拠点として整備されている。日本では、2012年より国立循環器病研究センターが循環器の領域に特化したバイオバンクを国内で初めて発足させ、さまざまな医療情報や生体試料を利用して多面的な研究が行われている。代表的な成果としては、日本人の脳梗塞の遺伝子変異の解明（2019年）、肺高血圧症の重症化メカニズムの解明（2021年）などが挙げられる。また、東日本大震災の被災地の地域医療再建と健康支援に取り組みながら、医療情報とゲノム情報を統合させたバイオバンクを構築するために東北メディカル・メガバンク計画が実践され、2012年に東北メディカル・メガバンク機構（ToMMo）が設置された。当初全体計画では10年間で予定していたが、バイオバンクの品質確保のための国際標準化への取り組みや個別化医療への先導的な取り組み、人材育成などが評価され、さらに10年間程度の継続が予定されている。さらに、2013年には、国立がん研究センター東病院をはじめ全国の約200以上の病院と約15社の製薬会社による“SCRUM-Japan”という日本初の産学連携プロジェクトが発足した。進行がんを中心に、希少頻度の遺伝子異常を持つ患者を発見し、がん細胞の遺伝子変異の分析結果をバイオマーカーとして最適な効果が期待できる薬物を投与することを目的とし、患者14,500人を目標に登録が進められた。主な成果に、肺がんや進行消化器がんの患者で希少な遺伝子変異を同定し、適合する新薬の治験につなげて個別化医療を実現したこと、さらに得られた臨床・ゲノム情報再利用で6種類の体外診断薬の薬事承認につなげたことがある。中国においてはゲノム解析の分野が急速に発展している。特に世界最大規模のゲノム研究所を擁する中国企業 BGI 社の成長が著しく、米国のシーケンサー大手 Illumina 社を凌ぐ勢いであり、さらに次々世代シーケンサーの開発を進めることが公表されている。また、国家重点研究計画 Precision Medicine 重点プロジェクトが2018年1月に公表され、10万人の中国人のゲノムとマルチ・オミクス参照データベース・分析システムを構築することが目的とされている。

以上のように、遺伝子、分子、細胞レベルのビッグデータ分析と疾病要因遺伝子情報をはじめとしたリファレンスデータベースに基づいた診断を実施し、特定の集団ごとに特殊化された治療法や予防法を行う医療は、今後さらに普及していくと予想される。

世界規模でがんゲノム情報が蓄積されていることと極微量なサンプルから正確な解析を行う技術が発展してきたことを背景として、新規の診断法として近年注目され、世界中で熾烈な開発競争が行われているのがリキッドバイオプシーである。がん領域ではTumor circulomeのうちリキッドバイオプシーが対象とする主なバイオマーカーは、Circulating tumor cells (CTC)、Circulating tumor DNA (ctDNA)、micro-RNA (miRNA)、エクソソーム（細胞外小胞）、Cell free DNA (cfDNA)、tumor-educated platelets (TEP)、タンパク質である。CTC、ctDNA ベースの検査が既に臨床現場で使用され始めているが、高感度のアッセイ法が必要であり、さらに、検査の成否はサンプルの質・量に大きく依存するため、前処理の標準化、血液等検体の品質保証も重要となる。以下に代表的なバイオマーカーの動向を概観する。

2.1

俯瞰区分と研究開発領域 健康・医療

・ CTC

CTC は、腫瘍組織から遊離し血中へ浸潤したがん細胞であり、がん転移の形成過程に深く関与すると考えられている。Ashworthが1869年にCTCの存在を証明したが³⁾、その価値は1990年代まで見過ごされていた⁴⁾。CTCは血液から採取することができ、その物理化学的特性の違いによって正常な血中細胞と分離することができる⁵⁾ものの、患者血液の 1×10^6 個の血球成分中に1個程度しか存在しないため、同定し単離することは難しい。解析するためには、血液中からCTCを効率的に回収する技術が必要であり、CTCを選択的に捕捉するための新しいアプローチが次々に試みられている。米国Veridex社（現、Menarini-Silicon Biosystems 社）が開発した CellSearch[®]システムは、現在、転移性の乳がん、前立腺がん、大腸がん領域でFDAの承認を受けた唯一の検出系である。また、EUから製造販売承認されているドイツGILUPI社の CellCollector[®]は血管内に医療用ワイヤーを静置することで、CellSearch[®]と同様の原理ながら高感度化に成功している（ただし、侵襲性が高まっている）。しかし、これらは抗epithelial cell adhesion molecule（EpCAM）抗体を使った免疫磁気的方法であり、EpCAMを発現していない CTC は捉えることができない。CTCには上皮間葉転換によって上皮系マーカーの発現が低い幹細胞様の性質も示すものが存在し、それらががんの浸潤、転移と関連すると考えられている。そのため、EpCAMに依らない検出法の検討も行われている。マイクロ流体およびチップ技術に基づく CTC チップ、マイクロホール検出器、およびCTC-iChip（慣性集束強化マイクロ流体CTC捕捉プラットフォーム）を含むマイクロ流体デバイスが開発されている。CTCはまた、ろ過、マイクロフルイディクス、超遠心、デンストメトリー（MagDense）、誘電泳動（DEPArray[™]：誘電泳動技術を使ったセルソーター）を介して、そのサイズ、密度、および誘電特性に基づいて正常な血液細胞から分離できることが報告されているが、物理学的特性だけでCTCを採取することは難しく、生物学的手法と組み合わせた検討が進んでいる^{6,7)}。臨床的に信頼性の高い検出法の開発を目指して、今後も競争が続くものと思われる。

2013年、FDAは、進行性転移性乳がん、大腸がん、前立腺がんの患者をモニターするための最初のリキッドバイオプシー検査、Menarini Silicon Biosystems社のCellSearch[®]を承認した。臨床的意義については他にも多くの報告がなされている。例えば、肺がんにおける予後予測因子や進展度のマーカー^{8,9)}、乳がんの再発リスクの層別化マーカー¹⁰⁾としての可能性などが挙げられる。一方、乳がんにおける化学療法後の治療効果判定の意義を検証した試験においての結果は、CT画像より好成績であったという報告¹¹⁾に対して、後にCTCカウントに基づいて治療を変更しても無増悪生存期間および全生存期間の改善は認められなかったとするネガティブな結果も報告されており（SWOG S0500試験）¹²⁾、臨床的価値についても引き続き慎重な検討が必要である。

CTC診断のメリットは、直接がん細胞を見ることでタンパク質や遺伝子発現などの単細胞プロファイリングもできる点である。CTCカウント数をベースとした報告が多いが、今後は他のバイオマーカーと組み合わせた利用が広がることが考えられる。例えば、HER2陰性乳がんにおいて、CTC陽性かつCTCにおけるHER2陽性患者に対する標準療法と標準療法+抗HER2療法の有効性を比較するランダム化試験（DETECT III試験）が行われ、抗HER2療法によって生存期間が延長することが2020年のThe San Antonio Breast Cancer Symposiumにて報告された¹⁴⁾。今後、一細胞解析技術を用いたCTCプロファイリングをベースに、さらに高精度の診断法が開発されることも期待される。

・ cfDNA, ctDNA

血中には細胞死などによって細胞から遊離したDNAが存在する（cell-free DNA：cfDNA）。cfDNAの中で腫瘍細胞由来のものはctDNAと定義される。血漿ctDNAは60年以上前に認識されている¹³⁾。1977年、Leonらは、ラジオイムノアッセイを用いてリンパ腫、肺、卵巣、子宮および子宮頸部の腫瘍を有する患者の血液中でcfDNAの濃度が増加することを報告した¹⁴⁾。がん関連遺伝子の変異が検出できることが示唆され、2010年頃のNGSの登場により一気に研究が進んだ。2018年には米国のThe Cancer Genome Atlas（TCGA）からPan Cancer Atlasが公開されるなど、各国の大型がんゲノムプロジェクトから次々に

成果が公開されており、この分野の追い風となっている。

ctDNA が腫瘍組織から血中に放出されるメカニズムは分泌、壊死、アポトーシスによると考えられており、血中に低濃度にしか存在しない。したがって、高感度な検出方法が必要であるが、近年のデジタルPCR (dPCR) の実用化に伴ってアッセイの最小検出感度は飛躍的に向上し、臨床応用への展開が加速された。dPCR は定量性に優れているが、ターゲットした特定の変異にしか適用できず、遺伝子内に多様な変異が観察される場合に使えないという弱点もある。近年、より広いターゲットの遺伝子パネルを探索対象として、NGSを用いて検出する高感度技術も開発されている。

ctDNAは、がん診断における重要なバイオマーカーと考えられ、がんの各段階でctDNAの定性的および定量的変化を検出することにより、早期発見、治療法選択、病態進行や術後残存病変のモニタリング、薬剤効果判定、再発のための診断ツールとなりうる。いくつかの臨床応用例を紹介する。

治療法選択支援などを目的として、2020年にはがん関連遺伝子の変異などを包括的に一括検出可能なNGSベースのリキッドバイオプシーとして、Guardant360® CDx (Guardant Health社) と FoundationOneLiquid CDx (Foundation Medicine社) がFDAから承認を得た。FoundationOne® Liquid CDxは300以上の遺伝子とがん関連遺伝子の変異などを分析する診断法で、固形がんの患者の治療選択と臨床試験の選択肢を導くために使用することが可能となった¹⁵⁾。外科的治療後の残存病変検出や再発の予測指標としての利用にも大きな期待がある。ctDNA検査は、予後判定値に関して、臨床病理学的危険因子の現在の標準的評価を凌駕している。治癒を目的とした手術後にctDNAが検出されたII期大腸がん患者は、ctDNAが検出されなかった患者に比べ、18倍の確率で再発することが示されている。したがって、大腸がんをはじめとする術後補助化学療法を個別化する方法としてctDNA検査は有用と考えられる⁶⁾。他にも、汎用性を高めるための手法開発として、自宅でも実施できる、ろ紙血を使ったがんの長期的モニタリングなどを検証した試みも報告されている⁴⁾。

・miRNA、エクソソーム

エクソソームは細胞外小胞 (extracellular vesicles : EVs) の亜分類で、ほぼ全ての細胞が分泌する直径50～150 nm程度の脂質二重膜で囲まれた細胞外微粒子である。2007年スウェーデンGöteborg大学のLötvallらによって、エクソソーム内に分泌細胞由来のmRNAやmiRNAが存在し、それらが他の細胞に受け渡されることで細胞間の情報交換が行われている可能性が示された¹⁶⁾。この報告をきっかけに、エクソソームは新たな細胞間情報伝達機構として注目され、新規機能解析やエクソソームを標的とした、または応用した研究開発が世界中で活発に行われている。疾患部位に由来するエクソソームや血中miRNAを検出してがんの診断に応用する研究が進んでいる。Exosome Diagnostics社の尿由来エクソソームRNAを解析するExoDx™ ProstateがFDAから画期的医療機器/デバイス指定を受け開発中である。しかし、疾患特異性についての評価はいまだ不十分である。血中miRNA診断の技術的課題としては、回収方法が標準化されておらず測定方法によって定量性が一定でないという点が挙げられる。現在、エクソソームを簡単・迅速に定量分析できる方法として、ExoScreen、ExoTEST™、micro nuclear magnetic resonance (mNMR)、nano-plasmonic exosome (nPLEX)、FACSなどが開発されている。例えば、ExoScreen法では、ビーズ付抗体試薬を用いており、エクソソームの精製・濃縮が不要で、超遠心機を用いず1.5時間程度で解析が可能である¹⁰⁾。96ウェルプレートを使用するためスループットが良いことも特徴である。さらに、エクソソームの技術プラットフォームとしては、光ディスクとナノビーズの技術を融合させて、体液中の抗原特異的なエクソソームをひとつずつ検出しデジタルカウントできるJVCケンウッド社ExoCounterや、尿中の細胞外小胞捕捉デバイスである酸化亜鉛ナノワイヤ、エクソソーム特異的タンパク質分析システムである米Exosome Diagnostics社のShahky™などが挙げられる。日本では、2014年度から国立がん研究センターがNEDOの支援の下、東レ社、東芝社など9機関と共同で体液中miRNA測定技術基盤開発事業を実施し、血液中エクソソームのmiRNAを解析してすい臓がん、乳がんなど13種類のがん患者と健常者を2時間以内に高精度で網羅的に識別できることを確認している。現在、社会実装に向けた実証試験が各参画企業で進められている。

2.1

俯瞰区分と研究開発領域 健康・医療

【特許・論文動向】

論文動向を見ると、論文数では中国が欧米を追い抜き1位となり、高被引用論文数でも欧米に追いつきつつある。米国は量では中国と欧州に劣るが、現状では高被引用論文数でトップを走る。

特許動向に関しては、特許ファミリー件数のシェアは2022年に中国が米国を上回りトップになったが、Patent Asset Indexでは米国が圧倒的に強いままである。また、上位出願者を見ると製薬企業、アカデミア、研究機関、バイオテクノロジー企業と多岐に渡るのも特徴である。

日本は2021年の国別論文執筆者数では米国、中国、英国、ドイツに次ぐ5位と比較的上位に位置する。

(4) 注目動向**[新展開・技術トピックス]****・がん領域**

日本国内でも既に臨床応用が始まっている。国立がんセンター東病院の吉野らはGuardant Health社のGuardant360を用いたctDNA解析によりHER2増幅が確認された転移性大腸がん(mCRC)に対するpertuzumab+trastuzumabの効果を評価するPhase II試験を実施した(UMIN000027887)。ctDNA検査は組織遺伝子検査と同様の精度で患者を層別化できることを証明した¹⁷⁾。また、シスメックス社は血液を対象とする大腸がんRAS遺伝子変異検査について2020年8月に保険適用を受けた¹⁸⁾。大腸がん患者血液を検体として、血液中ctDNAを対象に、BEAMing技術を用いてRAS遺伝子変異を高感度に検出する検査である。抗EGFR抗体薬であるCetuximab又はPanitumumabの大腸がん患者への適応を判定するための補助情報を提供することにより、抗EGFR抗体薬投与の最適化が期待できる。

・リキッドバイオプシーのがん以外への展開

近年、リキッドバイオプシーという言葉が拡大解釈されるようになり、疾患領域ががん以外、あるいは測定対象がctDNAやCTC以外、例えばタンパク質であっても、リキッドバイオプシーと呼ばれるようになりつつある。ここではアルツハイマー病(Alzheimer's disease: AD)とCOVID-19への展開について紹介する。

ADは問診に加えて、MRIやPETを併用することで信頼性の高い診断を行える。そのため、診断可能な医療機関は限られ、また、低所得国・中所得国での普及は困難という問題がある。近年、ADで上昇する脳由来のタウタンパク質の生化学的な理解と超高感度技術の進歩により、ADに特異的なリン酸化タウ(p-tau)の血中バイオマーカーの測定が可能となった。血中p-tau濃度は、数年後の明確な神経病理診断を予測し、臨床診断より優れていると思われる。日本でも血液中のリン酸化タウを測定するスタートアップ企業TTB社が立ち上がった¹⁹⁾。

COVID-19では予後予測として、血清中のCRP、IL-6、Dダイマー、von Willebrand因子が高値であり、COVID-19の重症度とよく一致している。このエビデンスは後ろ向きコホート研究が主な根拠となっているため、多くのバイオマーカーでは、リスク上昇を定義する最適なカットオフレベルがまだ設定できていない²⁰⁾。前向きコホート検証を行うなどの検証により、今後の進展が期待される。国内でも、血清や血漿成分を測定することによってCOVID-19重症化予測を行う試みが行われている。千葉大学では重症化とMyl9(ミルナイン)の濃度相関を²¹⁾、横浜市立大学では血清ヘムオキシゲナーゼ-1(Heme oxygenase-1: HO-1)の濃度相関を発見した²²⁾。検査キットとして保険適用を受けたのは2製品あり、COVID-19重症化の症状が認められる数日前に急激に上昇する血中インターフェロン-ラムダ3(IFN-λ3)測定キット(シスメックス社)²³⁾と、重症化する場合に発症初期から低値を示す血清中のケモカインの一種(CCL17) TARC測定キット(シスメックス社と塩野義製薬社)^{24, 25)}である。

・プロテオーム解析

個人が健康管理をする上でゲノム配列は静的で変化に乏しいため、定期的なモニタリングには動的に変動するタンパク質などの動きを指標にしたほうがよい。質量分析技術は飛躍に進歩しているが、定量性や感度、多検体分析の限界から、血液プロテオミクスは実用向きでなかった。しかし、技術革新によって抗体を使った

2.1

俯瞰区分と研究開発領域
健康・医療

測定法も感度が大幅に向上し、一度に多数のタンパク質を測定できるようになってきた。今まで積み上げてきたゲノムデータにプロテオミクスデータを組み合わせたプロテオゲノミクス戦略への関心が高まっている。Quanterix社は超高感度デジタルELISAと称するSimoa[®]を開発し、従来法の1,000倍の高感度化を実現した。血液中に極わずかにしか存在しないADの血液バイオマーカーであるリン酸化タウなどの測定も可能になった。Luminex[®] assayは、感度はSimoaに劣るものの、同時に最大500種類程度のタンパク質と1日1,000検体の測定を可能にしている。Olink Proteomics社は、標的タンパク質にオリゴヌクレオチド修飾した2種類の抗体で認識させ、2種類の抗体が同一タンパク質に結合した場合に2本のオリゴヌクレオチドがハイブリダイズする系で、ハイブリダイズした部分をPCRで増幅、検出することで高感度化を実現した(Proximity Extension Assay: PEA)。原理的には1 mLの血漿や血清があれば100種類以上のアッセイができ、使用する抗体量は極微量であるため、1回抗体を入手すれば同じロットの抗体を長期間使用することでロット間バラツキも抑えられる。NGSと組み合わせることで検体処理能力の向上とコスト削減を実現し、現在、血中の1,536タンパク質の解析能力から、4,500タンパク質の解析能力への拡張が計画されている。血中タンパク質を1,000種類以上定量するという点では、SomaLogic社のSomaScanがある。アプタマー技術とアレイ技術を組み合わせて、現在、約5,000種類のタンパク質に対して1日680検体の測定能力があるとされている。アプタマーは化学合成品であるため抗体より品質管理が容易であると思われる。

・メタボローム解析

生物は代謝により多様な化合物、代謝物を生産しているが、生体内に存在する糖、アミノ酸、有機酸、脂肪酸、ビタミンなどの全代謝物を網羅的に解析するメタボローム解析の分野が、質量分析器などの機器の発達により急速に発展している。トランスクリプトームやプロテオームの情報と合わせることで、目的とする代謝物を産生するために必要な遺伝子の発現制御や酵素活性制御などの重要な情報を得ることができ、それを元に介入治療に繋げることが可能となる。特に腸内マイクロバイオームが生み出す代謝産物が全身に影響を及ぼすことから、世界的にトピックとなっている。NGSによるメタゲノム解析と質量分析器によるメタボローム解析を組み合わせたオミクス解析による代謝物の網羅的解析が用いられ、腸内マイクロバイオームが生み出す生理活性を持つ代謝産物が数多く報告されている。また、疾患と関連するメタボローム解析から、疾患と連動して増減する代謝物は疾患バイオマーカーとなるため、その同定と応用に関する研究が今後精力的に進められ、さらに患者個々のフェノーム情報とアウトカムデータを組み込む事が必須となるため、研究が大規模化していくことが予測される。

・医用画像を使ったバイオマーカー探索

質の高い医用画像が大量に取得可能となったことや、ビッグデータ、AI技術の進展により、医用画像から人間の眼には認識できない特徴に基づくバイオマーカーの探索が試みられている。コンピュータ断層撮影(Computed Tomography: CT)や磁気共鳴画像診断装置(Magnetic Resonance Imaging: MRI)、病理組織画像などの画像所見をAIで解析し、病変の検出や良悪性鑑別を行うAI診断支援機器が開発されている。さらに、画像には遺伝情報にもとづくフェノタイプが描出されていると考えられることから、多数の画像特徴量を抽出、解析して、遺伝子変異やタンパク質発現などとの相関を調べるRadiomics(Radiogenomics、Radioproteomicsなど)研究が行われている。低侵襲に得られる医用画像を活用して、疾患の早期発見や遺伝的性質にもとづく最適な治療法を提案するものである。大阪大の福間らは、神経膠腫のMRI画像から悪性度に関連するisocitrate dehydrogenase (IDH) 遺伝子変異およびテロメラーゼ逆転写酵素プロモーター(telomerase reverse transcriptase promoter: TERT) 遺伝子変異を予測する畳み込みニューラルネットワークモデルを構築した²⁶⁾。同様に非侵襲的に遺伝子変異を解析可能なリキッドバイオプシーとは異なり、医用画像に含まれる病変の解剖学的な位置や空間的広がりに関する情報をもつことが、予測精度の向上など付加価値を生む可能性が考えられる。

医用画像から遺伝子変異を予測する取り組みは、ホールスライドイメージ(whole slide image: WSI)技術を活用したデジタルパソロジーの分野でも行われている。人間の目では認識できない形態学的特徴をAI

で認識させ、分子病理学的特徴と関連付ける試みである。2017年にCoudrayらは、肺がん組織のHE染色画像から組織型と10種類の遺伝子変異の同定を試み、そのうち6種類の遺伝子（STK11、EGFR、FAT1、SETBP1、KRAS、TP53）の変異が予測可能であることを示した²⁷⁾。大腸がん組織のHE染色ホールスライドイメージからMSI（microsatellite instability）を解析する深層学習モデルも報告されている²⁸⁾。2021年にはEU Innovative Medicines Initiative（IMI）が、新しいコンソーシアムによりAI開発を目的とした大規模病理画像リポジトリの構築を目指したプロジェクト「BIGPICTURE」を開始、6年間で7,000万ユーロが投資される。

遺伝子解析は、実施可能な施設に限られ、時間とコストを要することが課題とされる。医用画像の特徴量抽出により遺伝的性質に関するバイオマーカー探索により、簡便で安価に診断、治療選択などが可能なシステム開発が望まれる。

[注目すべき国内外のプロジェクト]

・ゲノム医療実現バイオバンク利活用プログラム（次世代医療基盤を支えるゲノム・オミクス解析）

バイオバンクでは近年オミクス情報を加えようとする動きがある。ゲノムは塩基配列情報であり定性情報が主であるが、メタボロームやプロテオームは動的に変動するため定量情報が主になる。そのため再現性確保が大きな壁である。フィンランドのNightingale Health社は安定性・定量性に非常に優れたNMRを駆使したメタボローム解析を大規模に実用化しUKバイオバンク²⁹⁾やフィンランドのバイオバンク³⁰⁾の検体解析を行っており、バイオバンクジャパンの検体測定も開始している³¹⁾。プロテオーム解析については質量分析を使っている限り再現性の向上に限界があるが、2種類の抗体を使って特異性を高め、抗体に結合させたオリゴヌクレオチドをPCRによって増幅することで感度を向上させ、標的タンパク質ひとつずつ分析バリデーションを実施して信頼性確保に努めたOlink社³²⁾のProximity Extension Assay（PEA）によってUKバイオバンク³³⁾やフィンランドバイオバンク³⁴⁾の検体測定を開始している。

・All of Us 計画（米国）

米国では、より効果的ながん治療法開発のため、NIHが100万人規模のボランティアからなるAll of Us programが進められている。研究コホートを創設し、参加者の遺伝子や生活習慣など各種情報をデータベース化するなど、Precision Medicineを基準とした取り組みが行われ、国策として推進している。この研究コホートの構築やがん遺伝学研究に必要なインフラ整備のために、既存の研究コホート、患者団体、および民間部門との強力なパートナーシップを築いている。運営には医療研究機関、研究者、財団、プライバシーの専門家、医療倫理学者、および企業人材を招集しており、ビッグデータを扱う上で人工知能やディープラーニングのスケールアップの必要性を提言している。この動きは、製薬会社や医療機関以外の周辺産業（IT関連企業・医療機器メーカー・民間保険会社など）も含め、新たな経済効果をもたらすものと予想される。

・Cancer Moonshot

バイデン・ハリス政権は、今後25年間でがんによる死亡率を少なくとも50%削減し、がんとの共存・克服の体験を改善するという目標を設定した。バイデン大統領は2016年、当時副大統領として、がん治療の進歩を加速させることを目的とする「がん・ムーンショット（Cancer Moonshot）」イニシアティブを立ち上げたが、2022年にこの取り組みに対する大統領府のリーダーシップを新たに発揮し、同イニシアティブを再活性化させた。このイニシアティブのプログラムの一つに「複数のがん検出検査を評価する大規模試験」がある。この中にNCI Multi-Cancer Detection（MCD）Test Vanguard Studyがある。この試験では4年間のパイロット研究で45歳から70歳までの24,000人を登録し、約225,000人を含む大規模なランダム化比較試験のデザインに反映させ、MCDによるがん検診の有益性が有害性を上回るのか、また、がんを早期に発見して死亡を減少させることができるかを評価する。

2.1

俯瞰区分と研究開発領域 健康・医療

・ Coronary ARtery Disease Genome wide Replication and Meta-analysis plus The Coronary Artery Disease Genetics (CARDIoGRAMplusC4D) consortium

冠動脈疾患のリスク遺伝標的を探すために設立された多施設大規模の冠動脈疾患国際コンソーシアムである。英国、米国、ドイツ、アイルランド、スウェーデン、フィンランド、フランス、イタリア、ギリシャ、レバノン、パキスタン、カナダ、韓国の13カ国で6万人の冠動脈疾患患者と13万人の正常人を対象にゲノムワイド関連解析メタ分析研究が行われ、欧米人とアジア人で冠動脈疾患に影響を及ぼす15個の遺伝子座が初めて報告され、同時に104のバリエーションが複合的に冠動脈に与える影響力も指摘されている。冠動脈疾患に関する世界最大のゲノム研究である。

・ CIRCULATE-Japan

2019年に厚生労働省から「全ゲノム解析等実行計画」(第1版)が発出され、日本でも、次期ゲノム医療のための研究プロジェクトが始動した。その中で、早期の臨床応用を目指し、リキッドバイオプシーが進められた。外科治療が行われる大腸がん患者に対し、リキッドバイオプシーによるがん個別化医療の実現を目指すプロジェクト「CIRCULATE-Japan」が立ち上がった。国内外約150施設の協力を得て、術後微小残存病変を対象にした医師主導国際共同臨床試験である。参画企業はEPSホールディングス社、エスアールエル社、TeDaMa社、ファルコバイオシステムズ社、Natera社である。Natera社は開発中の血液を用いた微小残存腫瘍検出専用の遺伝子ミニパネル検査 Signatera™ アッセイを提供する。

・ Immunophenotyping Assessment in a COVID-19 Cohort (IMPACC)

米国NIHは、COVID-19の確定症例または推定症例で入院した最大2,000人の成人の免疫プロファイルを作成することを目的とした臨床試験(IMPACC)を開始した。IMPACC研究では、米国内の10の医療センターでCOVID-19患者が登録され、研究者は入院中から感染後の1年間に渡って、臨床、分子、プロテオミクス、その他のさまざまなデータを収集している。入院後28日間に採取された血液と気管内吸引液中の免疫細胞集団とその活性化状態を調べるため、Fluidigm社のCyTOFプラットフォームが使用される。また、12ヶ月間に採取された血液サンプル中の免疫細胞集団とその活性化状態を調べ、Olink Potemomics社のPEAアプローチを用いて、12ヶ月間の追跡調査期間中、免疫機能の循環タンパク質マーカーを測定する。

・ Tumor-educated blood platelets (TEP)

新たなバイオマーカーとしてTEPを用いた遺伝子発現解析が報告されている。血小板のRNAは分化・成熟・循環の過程で周囲の環境と相互作用し、このRNAを解析することでがん患者と健常者を識別できることが報告されている³⁵⁾。検体は血小板リッチ血漿であるが、その分離には手間がかかる。テルモ社が米国において血小板リッチ血漿分離装置を医療機器として販売しているが、日本では承認されていない。

(5) 科学技術的課題

リキッドバイオプシーによる早期診断のアプローチは、国内外の企業が承認・申請を目指して進められている。CTCの存在割合は非常にまれであり、早期がんや転移の初期では検出されないことが多く、早期診断やサーベイランスの有用性はまだ限定的である。cfDNAは腫瘍由来と正常組織由来のものが混在するが、腫瘍含有割合(S/N比)の算出は、リキッドバイオプシーの分析性能評価に必須である。海外ではサイズセクションやメチル化解析を用いたS/N比算出が試みられている。

NGSを用いたリキッドバイオプシーでは、希少なサブクローンの解析は技術的に難しい。遺伝子変異量(tumor mutation burden: TMB)はコーディング領域における100万塩基あたりのSNVおよびIndelの総数を意味し、全ゲノムまたは全エクソンシーケンスのデータより算出される。血中の腫瘍遺伝子変異量(blood tumor mutation burden: bTMB)の検出については、カバー領域が不足すると過小評価、複数の腫瘍領域を有する症例ではより大きな突然変異数を示すことが知られている。その補正を可能にするTMB解析プラットフォームに期待が寄せられる。また、免疫チェックポイント阻害薬治療中のpseudoprogressionの判断などにリキッドバイオプシーが有用である可能性が示唆されており、その実用化にも期待が寄せられる。

高感度化のための Safe-sequencing system (Safe-SeqS)、Duplex Sequencing、Cancer personalized profiling by deep sequencing (CAPP-Seq)、non-overlapping integrated read sequencing system (NOIR-SS)、Digital Sequencing などにおいては、低頻度アレルの判定にエラー抑制アルゴリズムが用いられるが、その方法については、企業による独自のアルゴリズムが用いられており、ブラックボックスである。NGSを用いたリキッドバイオプシーに関する技術開発は、海外に比べて日本では非常に遅れている。一般的に、NGSによるリキッドバイオプシーでは、copy number variantの検出感度が悪く、その改善が必要である。サンプリングノイズによるアレル頻度が低い変異の検出には技術的な限界があり、数千コピーしか含まない血漿数 mL の分析では、分析感度が約 1/1,000 を超えても高感度のメリットは得られない。したがって、大量の cfDNA を得る血漿分離交換法、cfDNA を結合するインプラントデバイスの開発が海外では進められている。

プロテオミクスにおいて、質量分析は未知のものを見つける点では魅力的だが、血漿プロテオミクスにおける感度や定量の再現性、スループットなどの課題は未解決のままである。高感度化やスループットを向上させながら抗体もしくはアプタマーを使った技術が主流になると思われる。

(6) その他の課題

新しいバイオマーカー、特にリキッドバイオプシーを用いたバイオマーカーの臨床応用に関しては、薬剤の適用に関わるコンパニオン診断薬の場合には、異なる診断薬が複数存在する際の標準化が重要な検討課題である。技術的検証をより重視するため、欧州 Cancer-ID、欧州液体生検アカデミー（European Liquid Biopsies Academy：ELBA）、欧州液体生検協会（European Liquid Biopsy Society：ELBS）のネットワークなどのプロジェクトが開始されている。TMBについては、免疫チェックポイント阻害薬のコンパニオン診断薬としての役割が期待されていることから、TMBの標準化は、リキッドバイオプシーのみならず、組織サンプルを用いる際にも必要であり、米国でも Friends of Cancer Research TMB Harmonization Project において、Phase I 試験として、診断プラットフォーム間での TMB 定量化のばらつきの *in silico* 評価を行い TMB をハーモナイズさせるためのガイドラインを提唱した³⁶⁾ が、bTMB は含まれていない。これまで日本では、標準化に向けたアプローチは進められてきていない。

また、アルツハイマー病など病態進行が10年単位と長期にわたる慢性疾患に対しては、長期間にわたる検体収集と解析が必要であり、中長期的にプロジェクトを評価するシステムも必要となる。

(7) 国際比較

国・地域	フェーズ	現状	トレンド	各国の状況、評価の際に参考にした根拠など
日本	基礎研究	○	→	- 全ゲノム解析が進められる中で、早期の臨床応用としてリキッドバイオプシーが取り上げられた。 - 疾患オミクスの基盤となるナショナルバイオバンクプロジェクトが進行中である。大学においても臨床研究推進のため、独自のバイオバンク事業を立ち上げる動きがある。 - COVID-19 パンデミックによりデジタル化が遅れていることが明白になり、緊急時に柔軟に対応できるリソースがないことも判明した。個人の努力奮闘で研究成果が上がっている。

2.1
俯瞰区分と研究開発領域
健康・医療

日本	応用研究・開発	○	→	・ 多数の国内企業によるリキッドバイオプシーを用いた診断薬の承認に向けた開発研究が進められている。 ・ がん個別化医療の実現を目指すプロジェクトCIRCULATE-Japanによって特定の疾患に対するリキッドバイオプシーの有用性などが示される結果が出始めた。 ・ バイオバンクにて収集した臨床情報およびゲノム情報を活用して、創薬ターゲットを探索するためにアカデミアと企業の産学連携による共同研究を行う動きが出てきている。 ・ 検査薬として保険収載の成功例が出つつあるが、投資が少なく、欧米より遅れて開発研究が行われている。
米国	基礎研究	◎	↗	・ 医師の指示の元に実地される院内検査（LDT）が認められており、アカデミア発の診断薬開発が活発である。 ・ LBxの全ゲノム解析がすすんでいる。 ・ NIH、NPO法人、健康保険組合が連携し、78,000人分の遺伝情報と医療情報が全世界の研究者に公開された。 ・ 世界をリードしている大学が多い。
	応用研究・開発	◎	↗	・ 臨床応用に向けてのガイドラインの整備、標準化ためのコンソーシアムなどの体制整備が進んだ。 ・ 産官学連携モデルとしてAccelerating Medicines Partnership（AMP）が2014年から開始され、多因子疾患のゲノム研究により、有望な治療標的を同定して創薬へと繋げる活動が進んでいる。 ・ FDAは柔軟な規制対応を続けており、企業側も挑戦を推進している。大手診断薬会社は発展を続けている。
欧州	基礎研究	○	→	・ CANCER-ID プロジェクトなど大きな研究プロジェクトが開始されている。網羅的メチル化解析が進んでいる。 ・ 長期的な視点で基礎研究を行うためバイオバンク活動も盛んで、UK BiobankやFinnish Biobankなどがある。
	応用研究・開発	○	↗	・ リキッドバイオプシーに関するコンソーシアムなどが結成され、臨床応用を見据えたアプローチが戦略的に進んでいる。 ・ 北欧などでは伝統的にタンパク質系の応用開発に強みがある。 ・ Precision Medicineの実現を将来のHealth researchにおいて最も革新的な領域のひとつと位置づけている。 ・ UK政府は3億ポンドを投じて、総計10万人に及ぶがん患者あるいは希少疾患患者の全ゲノム配列情報を取得し、国民保険サービス（National Health Service）において将来的にゲノム情報を使用する予定である。 ・ 北欧のベンチャー企業Olink社やNightingale Health社はいずれも信頼性が高いデータを創出し、確実に成果を上げている。
中国	基礎研究	◎	↗	・ COVID-19に関する研究発表において世界をリードしてきた。 ・ 法律でゲノム試料の国外持ち出しを禁止し、疾患ゲノム解析研究を進めている。
	応用研究・開発	○	→	・ 国内のバイオベンチャーにより、内製化を進めている。TMB測定用のミニパネルの開発がすすめられている。 ・ 医薬品分野では、世界基準の規制対応に遅れ・懸念があるため中国向けの製品開発以外は欧米より遅れている。 ・ 中国を代表するバイオ企業BGI社がゲノム以外のオミクスにも進出。
韓国	基礎研究	△	→	・ バイオバンクプロジェクトを全国的に展開しており、約60万人分の試料を収集している。
	応用研究・開発	△	→	・ Nuribio社のctDNA遺伝子解析キットPROMER™などリキッドバイオプシーの診断薬開発が盛ん。 ・ 2014年から開始された8年間にわたる省庁横断的なプログラムの一分野として、Precision Medicineのための診断法、治療法の開発が挙げられていた。 ・ 感染症のPCR検査会社としてSeegene社などが注目されていたが、COVID-19では欧米企業の後塵を拝している。

（註1）フェーズ

基礎研究：大学・国研などでの基礎研究の範囲

応用研究・開発：技術開発（プロトタイプの開発含む）の範囲

（註2）現状 ※日本の現状を基準にした評価ではなく、CRDS の調査・見解による評価

◎：特に顕著な活動・成果が見えている ○：顕著な活動・成果が見えている

△：顕著な活動・成果が見えていない ×：特筆すべき活動・成果が見えていない

（註3）トレンド ※ここ1～2年の研究開発水準の変化

↗：上昇傾向、→：現状維持、↘：下降傾向

関連する他の研究開発領域

- ・ゲノム医療（ライフ・臨床医学分野 2.1.6）
- ・がん（ライフ・臨床医学分野 2.1.10）
- ・細胞外微粒子・細胞外小胞（ライフ・臨床医学分野 2.3.2）

参考文献

- 1) Sunami, K. et al., “Clinical practice guidance for next-generation sequencing in cancer diagnosis and treatment (Edition 1.0)”, *Cancer Sci* 109 (2018): 2980-2985. DOI: 10.1111/cas.13730.
- 2) Kawamura, T. et al., “Rebiopsy for patients with non-small-cell lung cancer after epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor failure”, *Cancer Sci* 107 (2016): 1001-1005. DOI: 10.1111/cas.12963.
- 3) Ashworth, TR. et al., “A case of cancer in which cells similar to those in the tumors were seen in the blood after death” *Aust Med J.* 14: (1869): 146-7.
- 4) Heitzer E. et al., “Circulating tumor cells and DNA as liquid biopsies”, *Genome Medicine* 5 (2013): 73-83. DOI: 10.1186/gm477.
- 5) Alix-Panabières, Catherine., and Pantel, Klaus., “Challenges in circulating tumour cell research”, *Nat Rev Cancer* 14(2013): 623-31. DOI: 10.1038/nrc3820.
- 6) Wu J. et al., “Tumor circulome in the liquid biopsies for cancer diagnosis and prognosis”, *Theranostics*. 10, no. 10 (2020): 4544-4556. DOI: 10.7150/thno.40532.
- 7) 野村雅俊他「大腸がん」『perspective』4巻3号(2019): 63, https://www.m-review.co.jp/magazine/detail/J0089_0403 (2021年2月4日アクセス).
- 8) Tanaka, Fumihito et al. “Circulating Tumor Cell as a Diagnostic Marker in Primary Lung Cancer”, *Clin Cancer Res.* 15, no. 22 (2009): 6980-6. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1095.
- 9) Naito, Tateaki. et al., “Prognostic Impact of Circulating Tumor Cells in Patients with Small Cell Lung Cancer.” *J. Thorac Oncol.* 7, no. 3: 512-9 (2012). DOI: 10.1097/JTO.0b013e31823f125d.
- 10) Joseph Sparano, et al., "Association of Circulating Tumor Cells With Late Recurrence of Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer", *JAMA Oncol.* 4, no.12 (2018): 1700-1706. DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.2574.
- 11) GT Budd, et al., "Circulating Tumor Cells versus Imaging—Predicting Overall Survival in Metastatic Breast Cancer." *Clinical Cancer Research* 12, no. 21 (2006): 6403-6409. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1769.

2.1

俯瞰区分と研究開発領域
健康・医療

2.1

俯瞰区分と研究開発領域
健康・医療

- 12) Smerage, Jeffrey, B. et al., "Circulating tumor cells and response to chemotherapy in metastatic breast cancer: SWOG S0500", *J. Clin Oncol.* 32, no. 31 (2014): 3483-9. DOI 10.1200/JCO.2014.56.2561.
- 13) Mandel, Paul. and Metais, P. "Les acides nucleiques du plasma sanguine chez l'homme", *CR Acad Sci Paris* 142, no. 3-4 (1948): 241-3, <https://link.springer.com/book/10.1007%2F978-94-017-9168-7> (2021年2月4日アクセス).
- 14) Leon SA et al., "Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy." *Cancer Res.* 37 (1977): 646-50,
- 15) U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION "FoundationOne Liquid CDx - P190032 <https://www.fda.gov/medical-devices/recently-approved-devices/foundationone-liquid-cdx-p190032> (2023年2月5日アクセス)
- 16) Valadi, Hadi. et al., "Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells", *Nat Cell Biol.* 9, no. 6 (2007): 654-9. DOI: 10.1038/ncb1596.
- 17) Circulating tumor DNA-guided treatment with pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer: a phase 2 trial, Yoshiaki Nakamura, et al, *Nature Medicine*, 27:1899-1903 (2021).
- 18) Sysmex「高感度デジタル PCR 法を用いたリキッドバイオプシーによる大腸がん RAS 遺伝子変異検査が保険適用」2020年8月3日 News release: <https://www.sysmex.co.jp/news/2020/pdf/200803.pdf> (2023年2月5日アクセス)
- 19) TTB HP トップページ: <http://www.ttb.co.jp/> (2024年9月24日アクセス)
- 20) Diana A. et al., "Current and novel biomarkers of thrombotic risk in COVID-19: a Consensus Statement from the International COVID-19 Thrombosis Biomarkers Colloquium", *Nature Reviews Cardiology*, 19:475-495 (2022). DOI 10.1038/s41569-021-00665-7.
- 21) C Iwamura, et al., Elevated Myl9 reflects the Myl9-containing microthrombi in SARS-CoV-2-induced lung exudative vasculitis and predicts COVID-19 severity. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 2022; 119 (33) e2203437119. doi: 10.1073/pnas.2203437119.
- 22) Y Hara, et al. "Heme Oxygenase-1 as an Important Predictor of the Severity of COVID-19". *PLOS ONE* 2022. doi.org/10.1371/journal.pone.0273500
- 23) Sysmex「新型コロナウイルス感染症患者の重症化リスク判定を補助する検査キット「HISCLTM IFN-λ3 試薬」が保険適用」2021年2月4日 News release. <https://www.sysmex.co.jp/news/2021/pdf/210204.pdf> (2023年2月5日アクセス)
- 24) Sysmex, SHIONOGI「Th2 ケモカイン・TARC キット「HISCLTM TARC 試薬」の新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) における重症化リスク判定補助としての適応追加承認取得について」2021年6月7日 Press release. <https://www.sysmex.co.jp/news/2021/pdf/210607.pdf> (2023年2月5日アクセス)
- 25) S Sugiyama「新型コロナウイルス感染症の重症化予測に関するバイオマーカーの開発と応用」第9回JMACシンポジウム2022年2月25日発表資料. https://www.jmac.or.jp/jwp/sympo/9th/report/9th_01_sug.pdf (2023年2月5日アクセス)
- 26) Fukuma, R., et al. Prediction of IDH and TERT promoter mutations in low-grade glioma from magnetic resonance images using a convolutional neural network. *Sci Rep* 9, 20311 (2019). DOI: org/10.1038/s41598-019-56767-3.
- 27) Coudray, N., et al. "Classification and mutation prediction from non-small cell lung

- cancer histopathology images using deep learning". *Nat Med* 24, 1559-1567 (2018). DOI: org/10.1038/s41591-018-0177-5.
- 28) Yamashita R. et al., "Deep learning model for the prediction of microsatellite instability in colorectal cancer: a diagnostic study", *Lancet Oncol.* 22, no. 1 (2021): 132-141. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30535-0. PMID: 33387492.
- 29) Rory Collins "Nightingale Health and UK Biobank announces major initiative to analyse half a million blood samples to facilitate global medical research (2018) <https://www.ukbiobank.ac.uk/learn-more-about-uk-biobank/news/nightingale-health-and-uk-biobank-announces-major-initiative-to-analyse-half-a-million-blood-samples-to-facilitate-global-medical-research> (2023年2月5日アクセス)
- 30) Nightingale Health, THL Biobank "Nightingale Health and THL Biobank to accelerate personalized medicine by analyzing 40,000 blood samples News (2018) <https://nightingalehealth.com/news/nightingale-health-and-thl-biobank-to-accelerate-personalized-medicine-by-analyzing-40-000-blood-samples/> (2023年2月5日アクセス)
- 31) Nightingale Health, バイオバンク・ジャパン「バイオバンク・ジャパンとナイチンゲールヘルスジャパン 大規模血清メタボローム解析の共同実施で日本の個別化医療・疾患予防研究推進へ」Press release) https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/about/press/page_00130.html (2023年2月5日アクセス)
- 32) Olink HP トップページ <https://www.olink.com/> (2023年2月5日アクセス)
- 33) Olink UK Biobank's Plasma Protein Study Places Proteomics at the Forefront of Multiomic Disease Research (2021) <https://www.genomeweb.com/sponsored/uk-biobank-s-plasma-protein-study-places-proteomics-forefront-multiomic-disease-research> (2023年2月5日アクセス)
- 34) FinnGen "FinnGen selects Olink to accelerate leading Population Health Study (2022) <https://olink.com/news/finngen-olink-population-health-study/> (2023年2月5日アクセス)
- Best, M.G. et al., "RNA-Seq of Tumor-Educated Platelets Enables Blood-Based Pan-Cancer, Multiclass, and Molecular Pathway Cancer Diagnostics", *Cancer Cell* 28 (2015): 666-676. DOI: 10.1016/j.ccell.2015.09.018.
- 35) Best, M.G. et al., "RNA-Seq of Tumor-Educated Platelets Enables Blood-Based Pan-Cancer, Multiclass, and Molecular Pathway Cancer Diagnostics", *Cancer Cell* 28 (2015): 666-676. DOI: 10.1016/j.ccell.2015.09.018.
- 36) Merino, D.M. et al., "Establishing guidelines to harmonize tumor mutational burden (TMB): in silico assessment of variation in TMB quantification across diagnostic platforms: phase I of the Friends of Cancer Research TMB Harmonization Project", *J. Immunother Cancer* 8, (2020),