

【論文博士】

がんゲノム医療における遺伝カウンセリングの役割
ー臨床ゲノム研究で検出された遺伝性腫瘍症候群、
特に Lynch 症候群への対応経験からー

お茶の水女子大学大学院
人間文化創成科学研究科

浄住 佳美

令和2年3月

目次

略語一覧	5
序章	
がんとは	8
分子標的薬とコンパニオン診断	10
がんゲノム医療	11
がんゲノム医療の利点と問題点	16
がんの遺伝カウンセリング	18
静岡がんセンターの臨床ゲノム研究「プロジェクト HOPE」	19
本論文の目的と構成	21
第 1 部	
第 1 章 遺伝性腫瘍症候群の頻度とバリエーションの病原性評価	
1. 1 背景	
① 遺伝性腫瘍とは	24
② 日本人がん患者における遺伝性腫瘍の頻度	27
③ 遺伝性腫瘍を対象とした遺伝学的検査	28
④ Lynch 症候群とは	29
⑤ 遺伝子バリエーションの病原性分類	33
1. 2 本研究の目的	37
1. 3 対象と方法	
① 研究デザイン	38
② 本章での病原性分類に関する表記	39
③ 生殖細胞系列遺伝子解析	40

④マイクロサテライト不安定性検査と MMR タンパク質免疫組織化学染色を行う患者の選択.....	40
⑤マイクロサテライト不安定性検査	41
⑥MMR タンパク質の免疫組織化学染色	42
⑦統計解析.....	42
1. 4 結果	
①生殖細胞系列ミスマッチ修復遺伝子バリエントの検出頻度	43
②ClinVar データベースにおける 2015 年と 2018 年の病原性評価の比較.....	47
1. 5 考察.....	48
1. 6 本研究の限界と今後の展望.....	52
1.7 本研究のバリエントデータの登録	53
第2章 新規バリエントの病原性評価解析の実際	
2. 1 はじめに.....	54
2. 2 症例	
①現病歴	54
②家族歴	56
③生殖細胞系列遺伝子解析	57
2. 3 バリエントの病原性の検討	
①MSI 検査と MMR IHC.....	58
②逆転写ポリメラーゼ連鎖反応解析.....	59
2. 4 考察.....	62
2. 5 まとめ.....	63
2. 6 バリエントデータの登録.....	64
第1部 小括	65

第2部

網羅的ゲノム解析における二次的所見への対応と、遺伝カウンセリングシステムの検討

3. 1 背景	
①二次的所見とは	68
②二次的所見の対応に関する欧米の状況	69
③網羅的遺伝子解析による二次的所見の検出頻度	73
④二次的所見の対応に関する国内の状況	73
3. 2 本研究の目的	77
3. 3 本研究における「二次的所見」の定義	77
3. 4 対象と方法	
①対象者	79
②倫理的配慮	80
③生殖細胞系全エクソン解析	82
3. 5 結果	
①二次的所見の開示手順と遺伝カウンセリングシステム	83
②二次的所見開示希望の割合	86
③二次的所見の頻度と開示	87
3. 6 考察	
①二次的所見結果開示を受けた患者の反応	93
②二次的所見の対応に求められる院内体制	94
3. 7 今後の課題と展望	96
第2部 小括	98

終章 総合考察

本研究の成果.....	100
プロジェクト HOPE の経験から考える、がんゲノム医療における遺伝カウンセリングの役割	
①遺伝子解析の目的と対象者の比較から	102
②解析対象遺伝子と解析方法、二次的所見返却基準の比較から	104
③がんゲノム医療の将来展望と、求められる認定遺伝カウンセラー®像	106
謝辞	113
引用文献／参考資料.....	114

略語一覧	初出
ACMG ; American College of Medical Genetics: 米国臨床遺伝学会	33
AI ; Artificial Intelligence: 人工知能	109
AMED ; Japan Agency for Medical Research and Development: 国立研究開発法人日本医療研究開発機構	12
C-CAT ; Center for Cancer Genomics and Advanced Therapeutics: がんゲノム情報管理センター	14
CGC ; Certified Genetic Counselor: 認定遺伝カウンセラー®	15
CI ; Conflicting interpretation of pathogenicity: 病原性解釈の不一致	40
DC ; Dynamic Consent: ダイナミックコンセント(動的同意)	109
ESMO ; European Society for Medical Oncology: 欧州臨床腫瘍学会	32
FFPE ; Formalin Fixed Paraffin Embedded: ホルマリン固定パラフィン包埋	41
HBOC ; Hereditary Breast and Ovarian Cancer: 遺伝性乳がん卵巣がん症候群	26
HGMD® ; Human Gene Mutation Database	39
IC ; Informed Consent: インフォームド・コンセント	21
IF ; Incidental Findings: 偶発的所見	68
LS ; Lynch Syndrome: Lynch 症候群	17
MMR ; Mismatch Repair: ミスマッチ修復	13
g.MMR ; germline Mismatch Repair gene: 生殖細胞系列ミスマッチ修復遺伝子	21
MMR IHC ; Mismatch Repair Protein Immunohistochemistry: MMR タンパク質免疫組織化学染色	30
MSI ; Microsatellite Instability: マイクロサテライト不安定性	13
MSI-H ; High-level of MSI: 高頻度マイクロサテライト不安定性	41
MSS ; Microsatellite Stable: マイクロサテライト安定	41
NCCN ; National Comprehensive Cancer Network	33
NGS ; Next Generation Sequencer: 次世代シーケンサー	10
OMIM® ; Online Mendelian Inheritance in Man®	27

PCSBI; Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues:

米国生命倫理問題研究に関する大統領諮問委員会	68
RRSO ; Risk Reducing Bilateral Salpingo-Oophorectomy: リスク低減卵巣卵管切除	87
RT-PCR ; Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction: 逆転写ポリメラーゼ連鎖反応	59
SCC ; Shizuoka Cancer Center: 静岡県立静岡がんセンター	19
SF ; Secondary Findings: 二次的所見	16
SFMPP ; the French Society of Predictive and Personalized Medicine: フランス予防・個別化医療協会...	70
TMB ; Tumor Mutation Burden: 合計変異出現率	13
ToMMo ; Tohoku University Tohoku Medical Megabank Organization: 東北メディカル・メガバンク機構	17
UTS ; Universal Tumor Screening: ユニバーサルスクリーニング	33
VUS ; Variant of Unknown Significance: 臨床的意義不明なバリエーション	17
WES ; Whole Exome Sequence: 全エクソンシーケンス	20
WGS ; Whole Genome Sequence: 全ゲノムシーケンス	29

序章

がんとは

がんは、遺伝子の異常によって起こる病気である。正常な細胞の遺伝子に、複数の遺伝子の異常が蓄積することによってがん化し、浸潤、転移といった能力を獲得して悪性度を増していく (Yokota et al., 1986; Vogelstein and Kinzler, 2004)。がんの発生から悪性化進展の各段階は、細胞を増殖させるアクセラの役割をする「がん遺伝子」の活性化を起こす変異¹や、細胞増殖の抑制、DNA 修復、アポトーシス(細胞死)の誘導によりブレーキの役割をする「がん抑制遺伝子」の不活化を起こす変異などの蓄積により引き起こされる (Kinzler and Vogelstein, 1996)。がん遺伝子は、*RET* 遺伝子、*MET* 遺伝子、*RAS* 遺伝子などが知られており、片アレルの変異のみで活性化する。がん抑制遺伝子は、*APC* 遺伝子、*RBI* 遺伝子、*MLHI* 遺伝子、*TP53* 遺伝子などが知られており、両アレルに変異が起こった場合に不活化する。がん遺伝子・がん抑制遺伝子などの、がんの発生・進展において重要な役割を果たす遺伝子の変異は、ドライバー変異と呼ばれる (Bozic et al., 2010)。これらの遺伝子の変異は一度に起こるわけではなく、長い時間をかけて段階的に起こることから、「多段階発がん」と呼ばれ、1980 年代後半に Vogelstein らによって、ヒト大腸がんの発がん過程を遺伝子異常の蓄積で説明したモデルが提唱された (Fearon and Vogelstein, 1990)。大腸がんを例に、多段階発がんの概要を図 a-1 に示す。腫瘍の進展は、大きく 3 つの段階を経る。Breakthrough (突破) 期では、正常な細胞がドライバー変異である *APC* 遺伝子の変異を獲得し、異常な増殖を開始する。次に、異常増殖した細胞の一部が 2 つ目のドライバー変異である *KRAS* 遺伝子の変異を獲得し、Expansion (増殖) 期に入り、さらに無秩序な増殖を続け

¹ 本学位論文では、腫瘍細胞で起こった細胞のがん化に関わる遺伝子の DNA 塩基配列の変化を「変異」、生殖細胞系列遺伝子の DNA 塩基配列の個人または集団と参照配列との差異を「バリエーション」と表記する。

る。この段階では、局所環境でしか増殖することができず、そのような腫瘍は良性と定義される

(Vogelstein and Kinzler, 2015)。さらに一部の細胞が3つ目のドライバー遺伝子である *SMAD4* 遺伝子

や *TP53* 遺伝子などの変異を獲得し、Invasive (浸潤) 期に入ると、周囲の正常な細胞に浸潤し、他の

環境でも増殖できる能力を獲得し、他の臓器に転移する。このような腫瘍は悪性腫瘍、すなわち「がん」

となる。

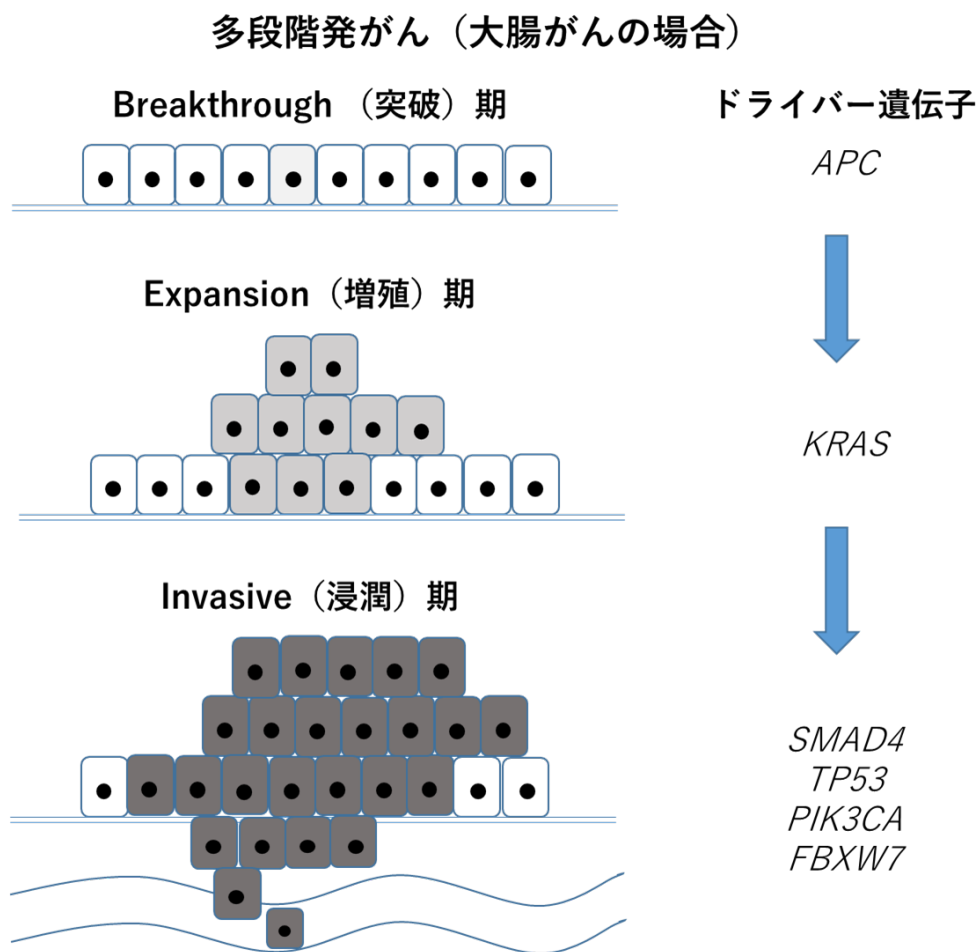


図 a-1 多段階発がんメカニズム(大腸がんの場合) (Vogelstein and Kinzler, 2015 より一部改変)

腫瘍は、正常な細胞が、長い時間をかけて複数のドライバー遺伝子変異を獲得し、Breakthrough (突破) 期、Expansion (増殖) 期、Invasive (浸潤) 期の、大きく3つの段階を経て進展し、「がん」となる。

次世代シーケンサー(Next Generation Sequencer:NGS)などのゲノム解析技術の進歩により、がん細胞におけるゲノム変異の包括的なプロファイルが可能となり、様々ながん種におけるゲノム変異のリストが作成されている (Hudson et al., 2010)。また、同一がん種であっても、ゲノムに著しい不均一性が存在することも明らかにされ、個別化医療の必要性が唱えられている (Janku et al., 2010)。さらに近年、1つの腫瘍内でもゲノムの異なる複数のクローンが存在する腫瘍内不均一性 (Intra-Tumor Heterogeneity: ITH) が、様々ながん種で観察されており、がんの治療抵抗性の一因と考えられている (Gerlinger et al., 2012)。

分子標的薬とコンパニオン診断

がんの標準的な薬物療法では、EBM (Evidence-Based Medicine、科学的根拠に基づく医療) に基づき、各学会で作成されたガイドラインに沿って、がん種ごとに治療薬が選択される。しかしこの方法では、一部の患者には効果があっても、別の患者にはあまり効果がない場合もある (Bardelli and Siena, 2010)。近年、がん化のメカニズムについて遺伝子やタンパク質など分子レベルで解明が進むにつれ、同じがん種と診断された患者の中でも、実際には異なるドライバー遺伝子が発がんに関与していることが明らかになってきた。例えば、肺がんのドライバー遺伝子は、*EGFR* 変異遺伝子、*BRAF* 変異遺伝子、*ROS1* 融合遺伝子、*ALK* 融合遺伝子などが知られており、それぞれをターゲットにした分子標的薬が開発されている (Pao et al., 2004; Kwak et al., 2010)。あらかじめ、患者の腫瘍組織を用いてこれらの遺伝子変異やタンパク質発現を調べ、投薬前に特定の分子標的薬の適応を調べる検査は、「コンパニ

オン診断」と呼ばれ、いくつかの検査が保険収載されており、すでに標準治療で行われている。保険収載されている主ながん組織のコンパニオン診断と抗腫瘍薬を表 a-1 に示す。

表 a-1. 保険収載されている主ながん組織のコンパニオン診断と抗腫瘍薬
(2018 年度診療報酬点数より作成)

がん種	コンパニオン診断		適用となる抗腫瘍薬
	検査	保険点数	
非小細胞肺がん	<i>EGFR</i> 変異	2,500	ゲフィチニブ、エルロチニブ、アファチニブ
	PD-L1発現	IHC: 2,700	オシメルチニブ
乳がん	HER2発現	IHC: 690 FISH: 2,700	トラスツマブ、トラスツマブエムタンシン、 ペルツツマブ、ラパチニブ
	HER2発現	IHC: 690 FISH: 2,700	5FU+CDDP+トラスツマブ、Cape+L-OHP+トラスツマブ、 S-1+L-OHP+トラスツマブ
胃がん	HER2発現	IHC: 690 FISH: 2,700	5FU+CDDP、5FU/LV、5FU/LV+PTX、 S-1、S-1+DTX
大腸がん	<i>RAS</i> 変異 (K-,N-)	2,100	(セツキシマブ、パニツマブは効果乏しい)
GIST	<i>c-Kit</i> 変異	2,500	イマチニブ、スニチニブ
固形がん	MSI検査	2,100	ペムプロリズマブ

GIST: gastrointestinal stromal tumor (消化管間質腫瘍)、IHC: immunohistochemistry (免疫染色)、
FISH: fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)、
MSI: microsatellite instability (マイクロサテライト不安定性)、
CDDP: シスプラチン、Cape: カペシタビン、L-OHP: オキサリプラチン、LV: ロイコポリン、PTX: パクリタキセル、
DTX: ドセタキセル

がんゲノム医療

近年のゲノム解析技術の飛躍的な進歩と解析価格の低下により、患者のゲノム情報を治療などの臨床応用につなげる臨床シーケンスの実用化の動きが急速に広まり、国内では、バイオバンク、コホート研究、がん、希少疾患研究など、様々な研究領域での網羅的ゲノム解析が行われてきた。中でも

がんの分野は、ゲノム情報の医療への応用が最も進められている領域である。これまでのがん診療でも、コンパニオン診断により、ゲノムの一部であるドライバー遺伝子変異などを検査し、その結果に応じた治療薬の使い分けを行ってきた。しかし、ドライバー遺伝子変異やタンパク質発現の有無を個別に検索することは時間もかかり、限られた情報しか得られない。NGSを用いたがんの網羅的ゲノム解析を医療現場で用い、患者ごと、細胞ごとのゲノム変異を明らかにし、その結果に即して治療を行うことができれば、患者に最も適したより良い治療方法の選択を行うことができる。第3期がん対策推進基本計画では、ゲノム医療は、「個人の『ゲノム情報』をはじめとした各種オミックス検査情報をもとにして、その人の体質や病状に適した『医療』を行うこと」と定義されている。なお、これまでの、薬剤と診断が1対1の関係になっているコンパニオン診断は、ゲノム医療に含まれないとされる。

保険診療下でのがんゲノム医療を見据え、2018年2月に、第3期がん対策推進基本計画（2018年3月9日閣議決定）に基づき設立されたがんゲノム医療推進コンソーシアム体制の一つとして、ゲノム医療の提供に必要な機能を備えた、がんゲノム医療中核拠点病院11施設が指定され、続いて、中核拠点病院と連携してがんゲノム医療を行う、がんゲノム医療連携病院156施設（2019年4月現在）が選定された（厚生労働省「がんゲノム医療の現状について」2019年4月）。同時に、がんゲノム医療を担う人材を育成するため、厚生労働省や国立研究開発法人日本医療研究開発機構（Japan Agency for Medical Research and Development:AMED）を中心に、教育・研修プログラムなども実施され、体制の整備が急ピッチで進められた。2019年9月には、中核拠点病院と連携病院の中間に位置するがんゲノム医療拠点病院が新たに34施設指定された（厚生労働省「第2回がんゲノム医療中核拠点病院

等の指定に関する検討会 選定結果」)。

保険診療下でのがんゲノム医療における遺伝子解析には、がん遺伝子パネル検査が用いられる。がん遺伝子パネル検査とは、主に腫瘍細胞を用いて、がんに関連する数多くの遺伝子を、一度の検査で網羅的に解析する検査であり、国内のがんゲノム医療において、標準治療が終了した患者を対象に臨床応用が開始されている。「OncoGuide™ NCC オンコパネルシステム」(国立がん研究センター、シスメックス社) と「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」(中外製薬株式会社) が、2018年12月に製造販売承認を取得し、2019年5月の中央社会保険医療協議会での承認を経て、2019年6月から保険収載された(中央社会保険医療協議会総会 第415回議事次第)。「OncoGuide™ NCC オンコパネルシステム」は、日本人のがんで多く変異が見られる114のがん関連遺伝子について、腫瘍組織由来の塩基配列と非腫瘍細胞(末梢血)由来の塩基配列とのペア解析を行うことにより、遺伝子異常や合計変異出現率(Tumor Mutation Burden:TMB)を解析する。TMBとは、腫瘍内の遺伝子変異量の指標であり、免疫チェックポイント阻害剤の有効性予測マーカーとして注目を集めている(Bobisse et al., 2016)。DNA100万塩基対あたり、いくつの変異があるかで表記され、一般的に10個/100万塩基対以上の値を示すがんは、TMB値が高いとされる(TCGA, 2012)。「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」は、324のがん関連遺伝子について、腫瘍組織の解析により遺伝子異常やマイクロサテライト不安定性(Microsatellite Instability:MSI)、TMB値を算出する。マイクロサテライトとは、DNAの繰り返し配列であり、がん抑制遺伝子でありDNAの複製ミスを修復する役割をもつミスマッチ修復(Mismatch Repair:MMR)遺伝子の異常により、この領域のリピート数に変化が生じやすい。マイクロサ

テライト領域に塩基配列の変化が生じている状態を MSI と呼び、MSI は、免疫チェックポイント阻害剤の有効性予測マーカーである (Le et al., 2017)。

がんゲノム情報と臨床情報の双方を集約・管理し、利活用を支援するためのプラットフォームとして、2018 年 6 月、国立がん研究センターに「がんゲノム情報管理センター(Center for Cancer Genomics and Advanced Therapeutics:C-CAT)」が設置された (Yoshida, 2019)。C-CAT には、がんゲノム医療に必要な知識データベースが構築されており、C-CAT にゲノム情報と臨床情報を登録することで、遺伝子変異に適合した臨床試験や治験などの情報を通知する「C-CAT 調査結果」が提供される。ただし、C-CAT への情報提供および提供したデータの二次利用については、患者の同意が必要とされている。現時点では、がんゲノム医療において治療に直接つながる情報が得られるのは全体の 1 割程度の患者に限られるため (Sunami et al., 2019)、C-CAT への情報の集約により、将来の新たな治療薬やバイオマーカーの開発につながる可能性も期待されている。

保険診療下でのがんゲノム医療は、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において提供される。がんゲノム医療実施体制の概要を図 a-2 に示す。がんゲノム医療中核拠点病院と、がんゲノム医療拠点病院は、検査会社からの報告書と C-CAT 調査結果をもとにエキスパートパネルを開催する。エキスパートパネルとは、「臨床的意義付けの実施者によって作成されたレポート案を精査し、修正・追記のうえで最終的な治療方針の推奨をするためのもの」である (「第 2 回がんゲノム医療推進コンソーシアム運営会議」資料 3-6 エクスパートパネル標準化案、2019 年 2 月)。エキスパートパネルの構成員についても厳格に定められており、担当医、がん薬物療法に関する

専門医、遺伝医学の専門医、病理医、ゲノム研究やバイオインフォマティクスの専門家の他に、遺伝医学に関する専門的な遺伝カウンセリング技術を有する者の参加も必須とされ、認定遺伝カウンセラー® (Certified Genetic Counselor:CGC) 等が想定されている。

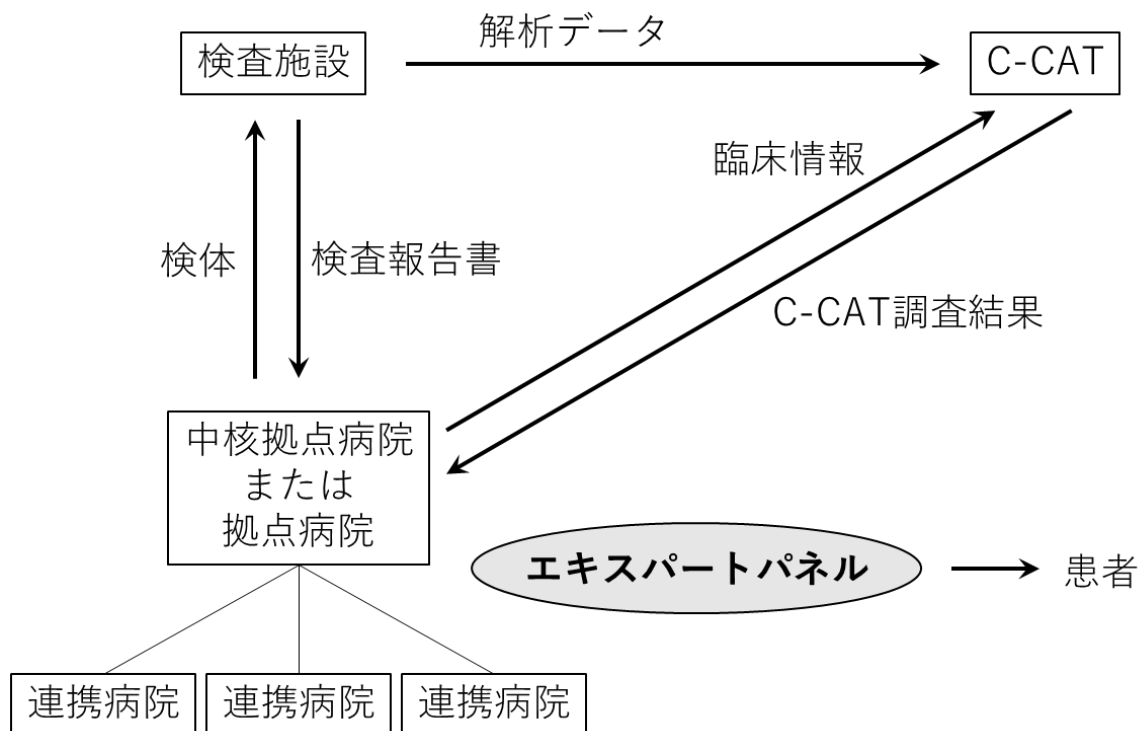


図 a-2 保険診療下のがんゲノム医療実施体制

がんゲノム医療中核拠点病院と、がんゲノム医療拠点病院は、検査会社からの遺伝子解析報告書と、遺伝子変異に適合した臨床試験や治験などの情報を通知する C-CAT 調査結果をもとに、エキスパートパネルを開催し、臨床的意義付けを行った上で、結果を患者に返却する。エキスパートパネルは、担当医、がん薬物療法専門医、遺伝専門医、病理医、バイオインフォマティクス専門家、遺伝カウンセリング技術を有する者 (CGC 等) で構成される。

がんゲノム医療の利点と問題点

がん遺伝子パネルを含む、がんの網羅的遺伝子解析は、最適な治療薬の選択や治療方針の決定だけでなく、創薬、バイオマーカーの開発、希少がんの原因遺伝子特定、薬物代謝酵素遺伝子多型の特定など、様々な恩恵が期待される。一方、考慮すべき問題点もある。網羅的遺伝子解析では、一度に膨大な遺伝情報を得ることができるため、本来目的とする所見を超えた、目的外の所見である二次的所見 (Secondary Findings: SF) が検出される可能性があり、SF を患者に返却するか否か、返却する場合、どこまでの情報を、誰が、どのように返却するか、SF 返却後の患者支援などの対応策を検討する必要がある。例えば、がん遺伝子パネル検査は、主に腫瘍組織の解析により、最適な治療薬を特定することを目的として行うが、「OncoGuide™ NCC オンコパネルシステム」は、比較対照として末梢血の遺伝子解析を同時に行う。末梢血の遺伝子解析を行う目的は、腫瘍組織の遺伝子解析結果から末梢血 (正常組織) の遺伝子解析結果を差し引くことで、腫瘍組織にのみ起きている変異を検出することである。しかし、がん発症に関する病的な遺伝子バリエントが末梢血由来 DNA から検出された場合、それは、生まれつきその患者が生殖細胞由来のバリエントを有することを示すため、遺伝性腫瘍の確定診断となる。現状、生殖細胞系列解析結果としてレポートに記載されるのは、actionability (対処の可能性) が高い遺伝性腫瘍関連 13 遺伝子のバリエント情報に限られている。「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」は、腫瘍組織のみの解析のため、それが生殖細胞由来のバリエントであるのか、腫瘍組織のみで生じたバリエントであるのかの区別はできず、遺伝性腫瘍の可能性が示されるに留まる。生殖細胞由来であることを確認するためには、再度患者の採血を行い、外部検査機関にて当該バリエントの有無

を検索する必要がある (Bombard et al., 2013)。また、がん遺伝子パネル検査により、免疫チェックポイント阻害剤の適応を判断する際の参考となる MSI も解析できるが、MSI は、MMR 遺伝子の生殖細胞系列異常を原因とする Lynch 症候群 (Lynch Syndrome: LS) と呼ばれる遺伝性腫瘍の可能性を示唆するものでもある (Aaltonen et al., 1994)。

これまで国内では、様々な領域で網羅的ゲノム解析が行われてきたが、遺伝子解析結果は原則非公開としてきた。AMED が主導する未診断疾患イニシアチブ (Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases: IRUD) や東北メディカル・メガバンク機構 (Tohoku University Tohoku Medical Megabank Organization: ToMMo) のように、結果返却を予定、または、一部実施している研究もあるが、網羅的ゲノム解析の多くは、結果返却を前提としない研究として実施されているため、実際の SF 結果開示や遺伝カウンセリングに関する報告は限られている。

また、がん遺伝子パネル検査でも実施される、生殖細胞系列遺伝子の網羅的解析では、これまで遺伝性腫瘍診断で解析される機会の少なかった、浸透率の低い遺伝子や、発症率などのデータが不十分な遺伝子も含まれ、単一遺伝子の検査と比較し、臨床的意義不明なバリエント (Variant of Unknown Significance: VUS) や、過去にデータベース登録のない、日本人新規バリエントの検出なども増えることが予想される (Richards et al., 2015)。VUS や、新規バリエントの結果を得た場合、遺伝子バリエントデータベースや文献の検索、タンパク質機能への影響の評価 (*in silico* 解析) など、可能な限り情報を集め、患者への結果説明と遺伝カウンセリングの準備を行う必要があるが、遺伝子によっては、情報が十分に得られない場合も多い。さらに、がん患者における遺伝性腫瘍の頻度は、多くの場合、欧米のデー

タが用いられており、日本人がん患者における遺伝性腫瘍の頻度に関するデータは十分とは言えない。

がんの遺伝カウンセリング

遺伝カウンセリングの定義は複数あるが、2006年に米国遺伝カウンセラー学会が策定した定義では、「遺伝カウンセリングとは、疾患に対する遺伝的要因がもたらす医学的、心理的、家族的影響に対して、人々がそれを理解し適応していくことを助けるプロセスである」とされている (Resta et al., 2006)。がんの分野では、従来、家族歴などの臨床情報から、遺伝性腫瘍の可能性のある患者を対象に、遺伝カウンセリングの中で、家族歴の評価、遺伝性腫瘍や遺伝学的検査に関する情報提供、検診サーベイランスやリスク低減手術に関する情報提供やコーディネート、心理社会的支援などが行われてきた。

日本では、遺伝カウンセリングを主に担当する職種として、臨床遺伝専門医とCGCが養成されており、日本人類遺伝学会と日本遺伝カウンセリング学会が共同で認定している。CGCは2019年12月現在で267名であり、約20～30名/年で増加している。日本認定遺伝カウンセラー協会の調査によると、CGC全体の約4割が腫瘍分野で勤務しており、領域別では最も多い(ゲノム医療実現推進に関するアドバイザリーボード 2017年度報告)。

日本医学会「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」(2011年)には、臨床において生殖細胞系列変異の遺伝学的検査・診断を実施する際に考慮すべき遺伝情報の特性や遺伝学的検査の留意点、遺伝情報の取り扱いや遺伝カウンセリングの必要性が記載されている。同ガイドラインは、原則として生殖細胞系列変異に関する遺伝学的検査を対象としているが、「がん細胞などで後天的に

起こった次世代に受け継がれることのない遺伝子変異・遺伝子発現の差異・染色体異常を明らかにするための検査においても、生殖細胞系列の遺伝情報が関係する可能性がある場合は本ガイドラインを参照する必要がある」と記載されている。がん遺伝子パネル検査における SF や、MSI などの情報は、これに該当すると考えられる。がんゲノム医療の普及に伴い、遺伝カウンセリング対象者は大幅に増加することが予想され、CGC の需要は高まっており、がん分野は、今後 CGC の活躍が期待される領域である。

静岡がんセンターの臨床ゲノム研究「プロジェクト HOPE」

静岡県立静岡がんセンター(Shizuoka Cancer Center: SCC) は、2002 年開院、静岡県東部に位置し、病床数約 600 床 (うち緩和ケア病床 50 床)、手術件数年間約 3500 件の、静岡県がん診療連携拠点病院、がんゲノム医療拠点病院である。SCC では、がんゲノム医療の先行研究として、2014 年 1 月より、株式会社エスアールエルと共同で、「プロジェクト HOPE (High-tech Omics-based Patient Evaluation for cancer therapy)」という臨床ゲノム研究を進めている (Yamaguchi et al., 2014)。プロジェクト HOPE の目的は、マルチオミクス解析によりがんの生物学的特性を明らかにし、創薬、バイオマーカーなど、新たながんの診断・治療技術を研究・開発するとともに、がんゲノム医療を実施する上での問題点の把握と院内体制の整備を目的としている。対象者は、プロジェクト HOPE 研究への参加に同意が得られ、SCC で腫瘍摘出手術を受けた患者のうち、解析に十分な量の検体を採取できた症例である。対象者への IC は、担当医が手術前に共通の説明文書を用いて行い、本人から文書による同意を得て実施している。遺伝子解析は、手術時の摘除組織および末梢血を用いて、腫瘍細胞遺伝子変異と生殖細胞遺伝

子変異の両面から解析を行っている。2019年8月時点の症例登録数は6,000症例を超えている。プロジェクト HOPE では、末梢血由来の生殖細胞遺伝子の全エクソンシーケンス (Whole Exome Sequence : WES) により、予め規定した条件を満たす生殖細胞系列遺伝子バリエーションを認めた場合に、SFとして希望者に結果を開示している。プロジェクト HOPE の概要を、図 a-3 に示す。プロジェクト HOPE は、2013年に改訂された「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則った研究計画として、SCCと株式会社エスアールエル両機関の倫理審査委員会 (承認番号:25-33) の承認を得ている。

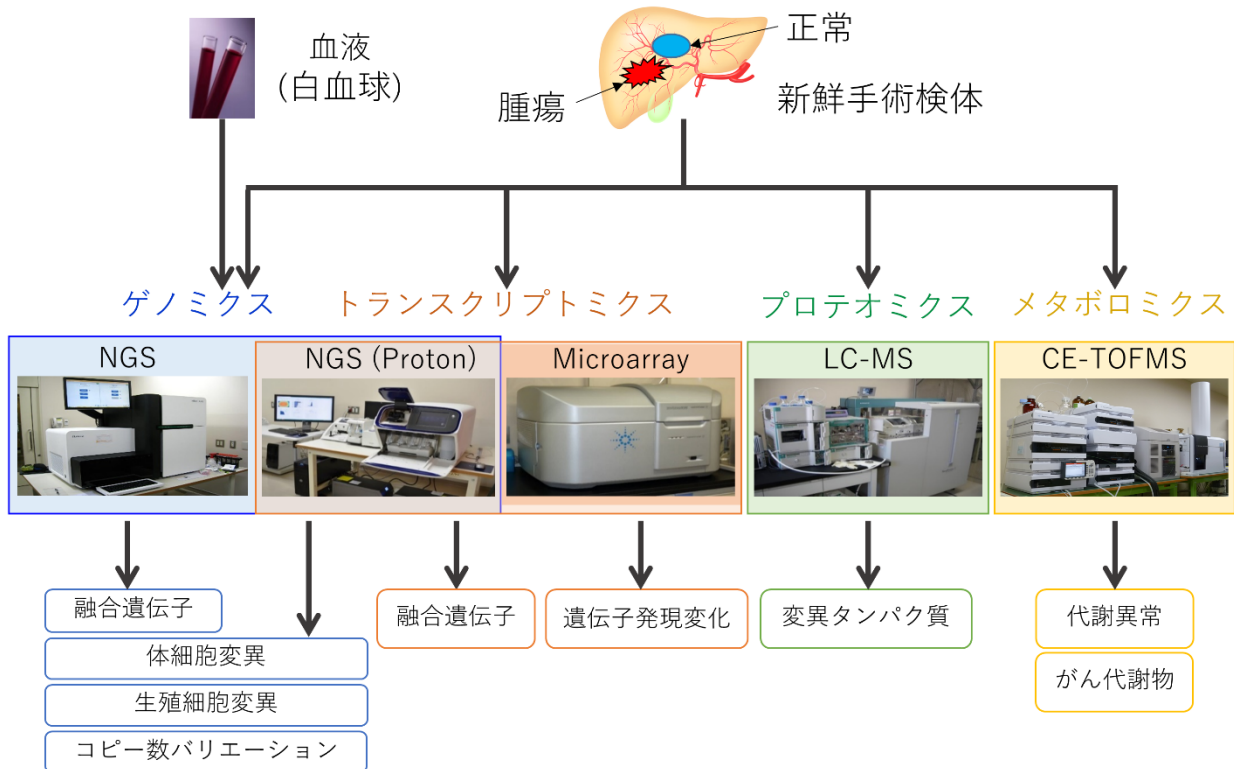


図 a-3 プロジェクト HOPE の研究デザイン

プロジェクト HOPE は、がん患者の手術時の摘除組織および血液について、体細胞変異と生殖細胞変異の両面から解析すると同時に、トランスクリプトミクス、プロテオミクス、メタボロミクスなどマルチオミクス解析を進め、その結果を個々の患者に還元するという、理想のがん医療を追求するための研究である。

本論文の目的と構成

本論文では、SCC で行われた、がんゲノム医療の先行研究「プロジェクト HOPE」の症例を対象とし、がんゲノム医療における網羅的遺伝子解析で生じる、生殖細胞系列遺伝子の VUS や新規バリエント、SF への対応と、遺伝カウンセリングの役割について検討することを目的とした。序章では、本研究の背景を論じるとともに、がんゲノム医療の実用化に伴い生じる問題点と本研究で検討すべき課題を導き出した。第1部、第1章では、プロジェクト HOPE における生殖細胞系列 WES で、LS の原因遺伝子である MMR 遺伝子群にバリエントが検出された症例を対象に、その検出頻度やバリエントの病原性評価について検討した。第1部、第2章では、実際に第1章で検出された生殖細胞系列 MMR (germline Mismatch Repair: *g.MMR*) 遺伝子バリエントのうち、過去にデータベース登録のない新規遺伝子バリエントについて、その病原性の解析を試みた。第2部では、プロジェクト HOPE で検出された SF の頻度を報告し、実際に患者への SF 結果開示を行う中で、その開示手順、多職種連携体制について検討し、適切な遺伝カウンセリングシステムの構築を試みた。終章では、総合考察として、本研究の成果とがんゲノム医療における遺伝カウンセリングの役割、今後の研究の展望をまとめた。

なお、筆者は、SCC ゲノム医療推進部 遺伝カウンセリング室に、CGC および研究員として所属し、がんゲノム医療にける院内体制の整備と遺伝カウンセリングシステムの構築に携わっており、その中で一連の研究を行った。第1部、第1章では、プロジェクト HOPE における生殖細胞系列 WES で検出された MMR 遺伝子バリエントの病原性評価と対象者の選定、対象者への MSI 検査等に関するインフォームド・コンセント (Informed Consent: IC) の補助と遺伝カウンセリング、家族歴等の臨床情報の収集、

論文執筆、およびデータ登録を担当した。第1部、第2章では、病原性評価方法の検討、対象者への MSI 検査等に関する IC の補助と遺伝カウンセリング、臨床情報の収集、論文執筆、およびデータ登録を担当した。第2部では、プロジェクト HOPE で検出された SF の開示手順の検討、患者への SF の開示と遺伝カウンセリング、臨床情報の収集、および論文執筆を担当した。

第 1 部

第1章 遺伝性腫瘍症候群の頻度とバリエーションの病原性評価

1.1 背景

①遺伝性腫瘍とは

がんは、細胞に遺伝子の異常が蓄積することによって起こる。遺伝子に異常が生じる要因には、先天的な要因（遺伝要因）と、後天的な要因（環境要因）があり、多くのがんは、生まれつき有している遺伝要因に、タバコなどの化学物質や放射線、生活習慣、加齢などの環境要因が複雑に関与して生じると考えられている（Hemminki et al., 2004）。遺伝性腫瘍という用語は、「原因となる遺伝的な要因が、がんの発症の主な要因となっているという十分な情報がある場合」（新井正美、癌の遺伝医療、2015年）に用いられる。遺伝性腫瘍のほとんどは、がん抑制遺伝子の片アレルの先天的な異常が原因で起こる（Tamura et al., 2004）。がん抑制遺伝子の先天的な異常を原因とする遺伝性腫瘍のがん発生機序とその特徴は、Knudson が網膜芽細胞腫の症例を用いて提唱した「2 ヒット仮説」で説明される。網膜芽細胞腫（retinoblastoma）は、網膜芽細胞より発生する小児の悪性腫瘍で、遺伝性と散発性の二つに分けられる。散発性の症例では発症年齢が比較的高く、片眼に発生するのに対し、遺伝性の症例では腫瘍の発生年齢が低く、しばしば両眼に発生する。この相違に注目した統計学的解析から、1971年、Knudson は、網膜芽細胞腫の発生に二つの独立した遺伝子変異が必要であるという2ヒット仮説を提唱した（Knudson, 1971）（図 1-1）。Knudson の仮説では、散発性の網膜芽細胞腫症例の場合、受精後の網膜細胞に、がん抑制遺伝子の両アレルの変異が生じることが必要であるため、発症年齢が高く、片眼性となる。一方、遺伝性の場合、受精卵の段階ですでに片側のアレルの変異が生じており、受精後

に網膜細胞でもう一方のアレルの変異が加わるだけで腫瘍が生じるため、若年で発症し、多くの場合両眼性になるとされた。1986年には、家族性網膜芽細胞腫家系の連鎖解析と第13番染色体の網羅的構造解析により、がん抑制遺伝子である *RBI* 遺伝子が単離され、遺伝性、散発性、いずれの腫瘍においても、*RBI* 遺伝子の両アレルが構造異常によって不活化していることが示された (Friend et al., 1986)。このように、がんに関する遺伝子の先天的な片アレルの生殖細胞変異により起こる遺伝性腫瘍は、散発性腫瘍にくらべて、多発性、両側性、早発性などの特徴がある (Tamura et al., 2004)。

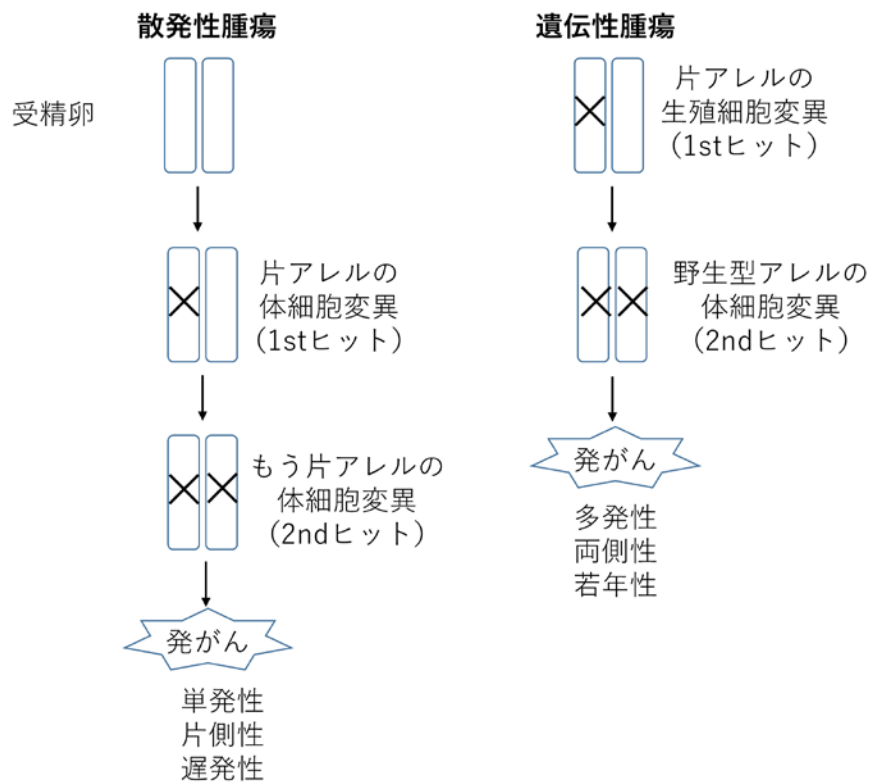


図 1-1. 散発性腫瘍と遺伝性腫瘍 (Knudson の 2 ヒット仮説)

発がんには、がん抑制遺伝子の対立遺伝子の両方が、変異あるいは欠失などにより機能を失う必要があるとする説。1971年に Knudson により提唱され、網膜芽細胞腫の原因遺伝子である *RBI* 遺伝子の発見により証明された。

主な遺伝性腫瘍症候群を、表 1-1 に示す。遺伝性腫瘍症候群の多くが常染色体優性遺伝形式を示し、次世代に 50%の確率で遺伝子の病的バリエントを引き継ぐ。遺伝性乳がん卵巣がん症候群 (Hereditary Breast and Ovarian Cancer: HBOC) と LS は、比較的頻度が高く、がん分野の遺伝カウンセリングでよく扱われる遺伝性腫瘍症候群である。

HBOC は、近年メディアにもよく取り上げられ、最も知られた遺伝性腫瘍症候群である。原因遺伝子は、DNA の二本鎖切断修復を担うがん抑制遺伝子である *BRCA1* 遺伝子と *BRCA2* 遺伝子であり、生殖細胞系列病的バリエントを有する場合、乳がんや卵巣がんなどの生涯リスクが一般と比較し上昇する (Yoshida and Miki, 2004; Chen and Parmigiani, 2007)。

Lynch 症候群 (Lynch syndrome: LS) は、DNA のミスマッチ修復を担うがん抑制遺伝子である MMR 遺伝子群 (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) や *EPCAM* 遺伝子の生殖細胞系列病的バリエントを原因とし、大腸がんや子宮体がんなどの生涯リスクが一般と比較し上昇する遺伝性腫瘍症候群である (Vasen et al., 2007)。

表 1-1. 主な遺伝性腫瘍症候群とその原因遺伝子

遺伝性腫瘍症候群	発症リスクの高い腫瘍	遺伝形式	原因遺伝子	OMIM® 遺伝子番号*
遺伝性乳がん卵巣がん症候群 (HBOC)	乳がん、卵巣がん、 前立腺がん、膵がん	AD	<i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i>	113705 600185
Lynch症候群	大腸がん、子宮体がん、 小腸がん、腎盂尿管がん	AD	<i>MLH1</i> <i>MSH2</i> <i>MSH6</i> <i>PMS2</i> <i>EPCAM</i>	120436 609309 600678 600259 185535
家族性大腸腺腫症 (FAP)	大腸がん、十二指腸がん、 デスマイド腫瘍	AD	<i>APC</i>	611731
多発性内分泌腫瘍症1型 (MEN1)	副甲状腺腺腫、 膵腫瘍、下垂体腫瘍	AD	<i>MEN1</i>	613733
多発性内分泌腫瘍症2型 (MEN2)	甲状腺髄様がん、 褐色細胞腫	AD	<i>RET</i>	164761
遺伝性網膜芽細胞腫	網膜芽細胞腫、 骨肉腫	AD	<i>RB1</i>	614041
Von Hippel Lindau病 (VHL)	小脳血管芽腫、 腎細胞がん	AD	<i>VHL</i>	608537

AD：常染色体優性遺伝

* OMIM®: Online Mendelian Inheritance in Man (ヒトの遺伝子バリエーションと遺伝病のデータベース) での整理番号

②日本人がん患者における遺伝性腫瘍の頻度

これまで、がん患者における遺伝性腫瘍症候群の頻度に関する情報は、多くの場合、欧米人のデータに頼ってきた。しかし現在、日本人ゲノムデータの蓄積などにより、日本人がん患者における頻度のデータも、徐々に報告され始めている (Chika et al., 2017; Hirasawa et al., 2017; Takahashi et al., 2017; Momozawa et al., 2018; Enomoto et al., 2019; Momozawa et al., 2019) (表 1-2)。最も研究が進んでいる

のは HBOC であり、乳がん患者や卵巣がん患者における HBOC の頻度が明らかになりつつある。LS

においても、日本人大腸がん患者や子宮体がん患者における頻度が報告されているが、報告数は限られており、一般頻度の情報については十分とは言えない。

表 1-2. 日本人における、がん種ごとの HBOC または Lynch 症候群の頻度

文献	対象	症例数	解析方法	病的 バリエーション 検出人数	頻度	内訳	
HBOC	Hirasawa A (2017)	卵巣がん	230	ターゲット シーケンス	27	11.7%	<i>BRCA1</i> : 8.3% <i>BRCA2</i> : 3.5%
	Enomoto T (2019)	卵巣がん	634	サンガー シーケンス	93	14.7%	<i>BRCA1</i> : 9.9% <i>BRCA2</i> : 4.7%
	Momozawa Y (2018)	乳がん	7051	ターゲット シーケンス	293	4.2%	<i>BRCA1</i> : 2.7% <i>BRCA2</i> : 1.5%
	Momozawa Y (2019)	前立腺がん	7636	ターゲット シーケンス	97	1.3%	<i>BRCA1</i> : 0.2% <i>BRCA2</i> : 1.1%
Lynch 症候群	Noriyasu C (2017)	大腸がん	1234	ユニバーサル スクリーニング	9	0.7%	<i>MLH1</i> : 0.1% <i>MSH2</i> : 0.3% <i>MSH6</i> : 0.2% <i>EPCAM</i> : 0.1%
	Takahashi K (2017)	子宮体がん	348	ユニバーサル スクリーニング	10	2.9%	<i>MLH1</i> : 0.9% <i>MSH2</i> : 1.1% <i>MSH6</i> : 0.6% <i>EPCAM</i> : 0.3%
	Hirasawa A (2017)	卵巣がん	230	ターゲット シーケンス	6	2.6%	<i>MLH1</i> : 0.4% <i>MSH2</i> : 0.4% <i>MSH6</i> : 0.9% <i>PMS2</i> : 0.9%

③ 遺伝性腫瘍を対象とした遺伝学的検査

従来、遺伝性腫瘍症候群の診断を目的とした遺伝学的検査は、家族歴など臨床情報から、病的なバリエーションが存在する可能性が最も高い遺伝子にターゲットを絞り込んで実施していた。しかし、家族歴か

ら特定の遺伝性がんが疑われても、検査した遺伝子に病的バリエーションが見つからない場合も多く、次の候補遺伝子を順番に検査して行くには時間と費用がかかる。また、昨今の核家族化、少子化で、患者が自身の血縁者の状況を把握していないことも多く、問診によって得られる家族歴情報には限界があり (Love et al., 1985)、実際にはがん家族歴がなくても、遺伝性腫瘍に関する病的バリエーションが見つかる場合もある (Zhang et al., 2015)。近年、遺伝子解析技術の進歩と価格の低下により、NGS を用いて遺伝性腫瘍に関する複数の遺伝子を一度に検査する、マルチ遺伝子検査が各社から販売され、保険診療外の遺伝学的検査の選択肢の一つとなっている。将来的に、遺伝性腫瘍の遺伝学的検査は WES に移行し、さらに、染色体レベルの構造異常やコピー数異常、遺伝子制御領域の異常も検出可能な全ゲノムシーケンス (Whole Genome Sequence: WGS) へと移行することが予想される。

④Lynch 症候群とは

ここからは、本論文の第 1 部で扱う LS について詳しく解説する。Lynch 症候群 (Lynch syndrome: LS) は、MMR 遺伝子群 (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*) や *EPCAM* 遺伝子の生殖細胞系列病的バリエーションによって引き起こされる、常染色体優性遺伝形式を示す遺伝性腫瘍症候群である。*EPCAM* 遺伝子は MMR 遺伝子群には含まれないが、3'領域の生殖細胞系列の欠失は、染色体上で *EPCAM* 遺伝子の 3'側に隣接する *MSH2* 遺伝子を高度にメチル化することで *MSH2* 遺伝子の転写を抑制することが知られている (Kuiper et al., 2011)。LS は、大腸がんの 1~4% (Pinol et al., 2005; Vasen et al., 2007; Perez-Carbonell et al., 2012; Ricker et al., 2017)、子宮体がんの 2~6%を占める (Ferguson et al.,

2014; Najdawi et al., 2017; Adar et al., 2018)。生殖細胞系列 MMR (germline Mismatch Repair:

g.MMR) 遺伝子の病的バリエント保有者では、比較的若年での大腸がん (Perez-Carbonell et al., 2012;

Ricker et al., 2017)、子宮体がん (Ferguson et al., 2014; Najdawi et al., 2017) をはじめ、上部尿路上皮

がん (Ju et al., 2018; Metcalfe et al., 2018)、胃がん (特に日本や韓国などの東アジア諸国) (Park et al.,

2000; Ikenoue et al., 2019)、およびその他の腫瘍 (Dunlop et al., 1997; Kastrinos et al., 2009) のリスク

が一般と比較し上昇する。多くの遺伝性腫瘍症候群が、がんに関する既往歴や家族歴の情報のみから

病的バリエントを有する可能性のある患者を絞り込むのに対し、LS は、特有の診断手順を踏む。Lynch

症候群の診断手順は、国内のガイドラインとして図 1-2 の手順が示されている (遺伝性大腸癌診療ガイ

ドライン 大腸癌研究会 2016 年版)。まず、アムステルダム II 基準 (Vasen et al., 2007) (表 1-3)、また

は、改訂ベセスダ基準 (Umar et al., 2004) (表 1-4) に基づき、がんに関する既往歴および家族歴によ

って高リスク者を拾い上げる (第 1 次スクリーニング)。高リスク者は、腫瘍組織の MSI 検査と MMR タン

パク質免疫組織化学染色 (Mismatch Repair Protein Immunohistochemistry: MMR IHC) によってさら

に評価される (第 2 次スクリーニング)。MSI 検査では、繰り返し配列のためエラーが生じやすいゲノム

DNA のマイクロサテライト領域のリピート数を、腫瘍組織と正常組織で比較し、腫瘍組織でのリピート数

のばらつきを調べることにより、*g.MMR* 遺伝子が正常に機能しているかを予測する。LS の確定診断は、

g.MMR 遺伝子解析による病的バリエントの確認によって行われる (Pinol et al., 2005; Vasen et al.,

2007)。

表 1-3. アムステルダム II 基準

【アムステルダム II 基準】

血縁者の3名以上が、Lynch症候群関連がん（大腸がん、子宮体がん、小腸がん、腎盂・尿管がん）に罹患しており、かつ、以下のすべての条件に合致する場合、生殖細胞系列ミスマッチ修復遺伝子の検査を検討する。

- 1) 罹患者の1名は他の2名の第1度近親者であること
- 2) 少なくとも継続する2世代にわたり罹患者がいること
- 3) 罹患者の1名は50歳未満で診断されていること
- 4) 家族性大腸腺腫症が除外されていること
- 5) がんが、病理検査により確認されていること

表 1-4. 改訂ベセスダ基準

【改訂ベセスダ基準】

以下が1つでも当てはまる症例の腫瘍は、MSI検査をするべきである

- ・ 50歳未満で診断された大腸がん
- ・ 年齢に関わらず、大腸がんおよびLynch症候群関連腫瘍*の同時性・異時性重複がんがある症例
- ・ 60歳未満で診断され、MSI-Hの病理所見**を呈する大腸がん
- ・ 第1度近親者が1人以上50歳未満でLynch症候群関連腫瘍と診断されている患者の大腸がん
- ・ 年齢に関わらず、第2度近親以内の血縁者が2人以上Lynch症候群関連腫瘍と診断されている患者の大腸がん

* Lynch症候群関連腫瘍：直腸結腸がん、子宮内膜がん、胃がん、卵巣がん、膵臓がん、尿管・腎盂がん、胆道がん、脳腫瘍（通常はTurcot症候群で見られる膠芽腫）、Muir-Torre症候群における皮脂腺腫や角化棘細胞腫、小腸がん

**浸潤リンパ球、クローン様リンパ球反応、粘液性／印環細胞がん様分化、あるいは髄様増殖

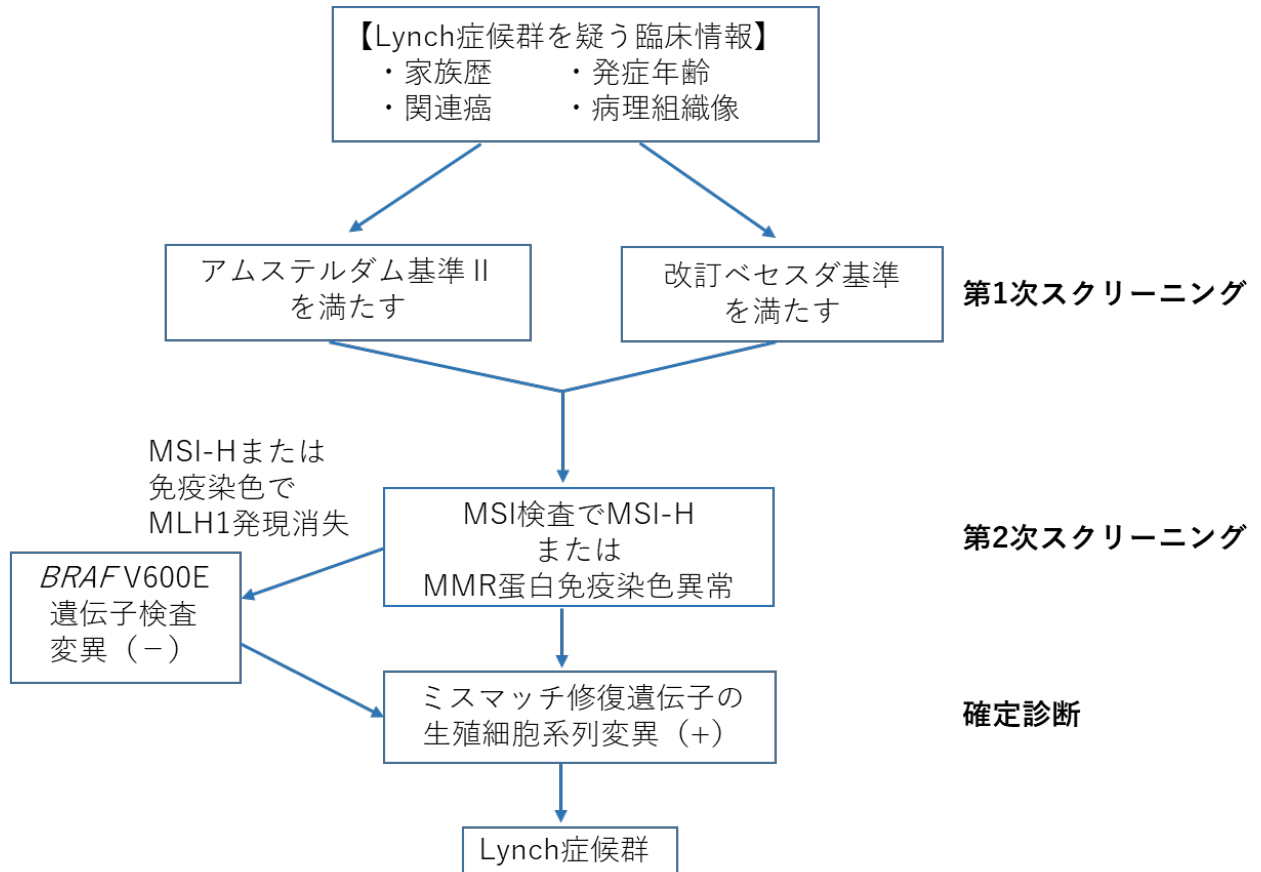


図 1-2. Lynch 症候群の診断手順（遺伝性大腸癌診療ガイドライン 2016 年版より抜粋）

Lynch 症候群が疑われる臨床病理学的情報(家族歴を含む)を有する患者に対し、第 1 次スクリーニングとしてアムステルダム基準IIまたは改訂ベセスダ基準を満たすかを確認し、満たす場合は第 2 次スクリーニングに進む。腫瘍組織の MSI 検査、あるいは MMR タンパク質の免疫染色で MSI-H または MMR タンパク質の発現喪失が確認された場合は確定診断に進む。ただし、MSI-H または MLH1 タンパク質の発現喪失が確認された場合は腫瘍細胞の *BRAF* 遺伝子検査を行い、V600E 変異が認められた場合は、後天的な *MLH1* 遺伝子のメチル化による散発性 MSI-H 腫瘍として Lynch 症候群をほぼ否定できる。*BRAF* 遺伝子 V600E 変異が認められなかった場合は、確定診断に進む。Lynch 症候群の確定診断は、生殖細胞系列 *MMR* 遺伝子の病的バリエーションを確認することで行う。

しかし、家族歴による拾い上げには限界があり、アムステルダム II 基準、または改訂ベセスダ基準

は、感度、特異度が不十分である (Bruegl et al., 2014; Goverde et al., 2016) ことから、2013 年に、欧州

臨床腫瘍学会 (European Society for Medical Oncology: ESMO) が、すべての大腸がん患者を対象

に、MSI 検査または MMR IHC を行う、LS のユニバーサルスクリーニング (Universal Tumor Screening: UTS) を推奨する指針を出した (Balmana et al., 2013)。2015 年には、米国臨床腫瘍学会 (American Society of Clinical Oncology: ASCO) もこの指針の支持を表明し (Stoffel et al., 2015)、米国で標準的ながん診療の指針を提示している National Comprehensive Cancer Network (NCCN) ガイドラインにおいても、腫瘍組織を用いた LS の UTS が推奨されている (Hampel, 2014)。日本では、「D004-2 悪性腫瘍組織検査 家族性非ポリポーシス大腸癌におけるマイクロサテライト不安定性検査」(2018 年度 診療報酬点数) として、Lynch 症候群スクリーニング検査としての MSI 検査が保険収載されているが、改定ベセスダ基準を満たすなど Lynch 症候群を疑う根拠が求められる。また、国内で MMR IHC を日常的に実施可能な施設は限られており、国内では、LS の UTS は未だ普及していない。

⑤ 遺伝子バリエントの病原性分類

DNA の塩基配列の、個人または集団と参照配列との間に存在する遺伝学的な差異は、「variant (多様体/バリエント)」と呼ばれる。バリエントの中には、疾患の易罹患性に関係するものと、関係しないものがあり、その解釈は容易ではない。複数の検査機関が同じバリエントに異なる解釈を付する場合もある。バリエントの病原性分類方法で、現在広く用いられているのは、米国臨床遺伝学会 (American College of Medical Genetics: ACMG) と Association for Molecular Pathology (AMP)、College of American Pathologists (CAP) が 2015 年に共同で発表したガイドライン (ACMG-AMP ガイドライン) によ

る分類法である (Richards et al., 2015)。ACMG-AMP ガイドラインでは、集団における頻度や *in silico* 解析、家族歴や家系員の状況、タンパク質機能解析などバリアントの病原性に関する論文報告などについて総合的に評価を行い、それぞれの評価を総合して、最終的な病原性を、①病的 (Pathogenic)、②おそらく病的 (Likely pathogenic)、③臨床的意義不明 (VUS)、④おそらく影響しない (Likely benign)、⑤影響しない (Benign) の5段階で判定する (表 1-5)。

表 1-5. ACMG-AMP ガイドライン バリアントの病原性分類

① 病的 (Pathogenic)
② おそらく病的 (Likely pathogenic)
③ 臨床的意義不明 (VUS)
④ おそらく影響しない (Likely benign)
⑤ 影響しない (Benign)

表 1-6 に、ACMG-AMP ガイドラインから引用した、バリアントの病原性に関する複数の基準の表を示す。また、バリアントの病原性の判定方法を表 1-7 に示す。

表 1-6. ACMG-AMP ガイドライン 遺伝子バリエーションの病原性の判定基準 (Richards S et al. Genet Med. 2015 より改変)

		Benignバリエーションの可能性				Pathogenicバリエーションの可能性							
		強い		支持		支持		中程度		強い		非常に強い	
頻度データ	BA1 アレル頻度が5%を超える BS1 アレル頻度がその疾患における予想よりも高い BS2 若年での発症率の高い疾患において健常者に存在する							PM2 対照群には存在しないか極めて存在率が低い	PS4 発症者での保有意率が高い				
<i>In silico</i> データ 予測データ		BP4 複数のアルゴリズムに基づくシミュレーションで機能異常を示さない BP1 タンパク質の短縮が原因となる疾患でのミスセンスバリエーション BP7 同義置換であり、スプライシングに影響がなく、保存性も高くない BP3 機能を持たない繰り返し配列内の欠失 or 挿入	PP3 複数のアルゴリズムを用いたシミュレーションで病原性を示す			PM5 アミノ酸置換が病原性を持つ部位での新規のアミノ酸置換 PM4 くり返し配列以外でのタンパク質長に変化をもたらさず	PS1 既に同様のアミノ酸置換が疾患の原因となること特定されている			PVS1 機能喪失が原因となる疾患におけるナセンス変異、フレームシフト変異、複数エクソンの欠失など			
機能データ	BS3 よく計画されたin vitro or in vivoの研究において機能異常を生じない					PM1 ホットスポットや機能ドメインに存在する変異かつ、良性の基準を満たさない	PS3 よく計画されたin vitro or in vivoの研究で機能異常が示されている						
分離データ	BS4 発症家系における発症者と共に分離しない					PP1 複数の発症家系において発症者と共に分離する							
De novo データ								PM6 de novo変異を考えるが両親の配列は調べていない	PS2 発症者の両親には存在しない変異かつ家族歴もない				
アレルデータ		BP2 浸透率が高い優性遺伝性疾患で既知の病原性変異とはtransに存在する or 全ての遺伝形式でcisに存在する						PM3 劣性遺伝性疾患で既知の病原性バリエーションと共に存在する					
その他のデータ ベースのデータ		BP6 複数のソースが良性を示しているが、単独で十分な根拠はない	PP5 複数のソースが病原性を報告しているが、単独で十分な根拠はない										
その他のデータ		BP5 発症分子機序とは異なる	PP4 1遺伝子疾患である可能性が高い疾患に存在する										

表 1-7. ACMG-AMP ガイドライン 病原性の判定方法

・ **病的 (Pathogenic)**

1. PVS1かつ

1つ以上のPS1-4 or 2つ以上のPM1-6 or 1つのPM1-6と1つのPP1-5 or 2つ以上のPP1-5

2. 2つ以上のPS1-4

3. 1つのPS1-4かつ

3つ以上のPM1-6 or 2つのPM1-6かつ2つ以上のPP1-5 or 1つのPM1-6かつ4つ以上のPP1-5

・ **おそらく病的 (Likely Pathogenic)**

1. 1つのPVS1かつ1つのPM1-6

2. 1つのPS1-4かつ 1-2個のPM1-6

3. 1つのPS1-4かつ2つ以上のPP1-5

4. 3つ以上のPM1-6

5. 2つのPM1-6かつ2つ以上のPP1-5

6. 1つのPM1-6かつ4つ以上のPP1-5

・ **おそらく影響しない (Likely Benign)**

1. 1つのBS1-4かつ1つのBP1-7

2. 2つ以上のBP1-7

・ **影響しない (Benign)**

1. 1つのBA1

2. 2つ以上のBS1-4

・ **臨床的意義不明 (Uncertain Significance : VUS)**

上記の基準に当てはまらない場合

多くの検査会社はこの方針に準じてバリエントの病原性を評価し、National Center for Biotechnology Information (NCBI) が提供する ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) などの公開ゲノムデータベースに情報を登録し、情報共有することで、解釈の統一を目指している。ClinVar は、医療において重要なバリエントと表現型との関係性について、他のデータベースや、研究室もしくは検査会社から登録されたデータを蓄積し、それらを非制限的に公開することで、医療等の場面で広く活用できるように

したデータシェアリング基盤である (Rivera-Munoz et al., 2018)。遺伝子検査を行う医療関係者や、ゲノミクス・遺伝学に関わる研究者に広く利用されている。

VUS は、遺伝子検査で当該バリエントが検出された時点では、そのバリエントが対象としている疾患の発症に関わるかどうか判断できるだけの十分な情報が集まっていないことを意味する。すなわち、遺伝子検査で VUS が検出された場合、その情報を患者や血縁者の治療やサーベイランスなどの医学的管理方針決定に用いることはできない。将来的に、データが蓄積され研究が進むにつれ、その評価は変わる可能性がある (Mersch et al., 2018)。NCCN ガイドラインの遺伝性乳がん指針において、VUS の情報を得た場合、スクリーニングについては家族歴や個々の状況に応じて個別に対応するよう記載されている (Daly et al., 2017)。VUS を減少させるためには、集団および患者と家系員の遺伝子データの蓄積と共有が必要であり、長期的な取り組みが必要である。

1.2 本研究の目的

本研究では、比較的頻度の高い遺伝性腫瘍症候群であり、MSI 検査や MMR IHC などにより、検出された遺伝子バリエントの病原性を多方面から評価可能である LS に注目し、SCC で実施されている臨床ゲノム研究「プロジェクト HOPE」で生殖細胞系列 WES を実施した症例を対象に、日本の単一施設のがん患者における LS の頻度と、*g.MMR* 遺伝子バリエントの発生率を明らかにし、*g.MMR* 遺伝子バリエントの病原性評価方法を検討することを目的とした。

1.3 対象と方法

①研究デザイン

本研究は、後方視的な観察研究である。SCC で 2014 年 1 月から 2015 年 3 月に腫瘍摘出手術を受け、プロジェクト HOPE にエントリーした 1,058 人の固形がん患者(男性 614 人、女性 444 人、平均年齢 65.6±12.9 歳、11~90 歳)を対象とした。1,058 症例の内、カルテ情報から特定可能な同一家系の患者はいなかった。対象症例のがん種は、大腸 355 症例、胃 129 症例、膵臓 29 症例、脳 14 症例、卵巣 13 症例、子宮体部 10 症例、小腸 8 症例(十二指腸 5 症例を含む)、胆管 4 症例であった (表 1-8)。

表 1-8. HOPE 研究にエントリーした 1,058 症例の患者のがん種の内訳

がん種	症例数
大腸	355
肺	179
胃	129
頭頸部	91
乳腺	80
肝	62
膵	29
腎	15
脳	14
卵巣	13
軟部腫瘍	12
食道	12
子宮体部	10
子宮頸部	9
皮膚	9
小腸*	8
胆道	4
その他	27

*十二指腸5人を含む

生殖細胞系列遺伝子解析は、手術直前に採取された血液サンプルを用いた WES により行った。検出されたバリエントの病原性は、データベースを用い、2015 年と 2018 年の 2 つの時点で評価した。データベース登録のないバリエントの場合、ACMG-AMP ガイドラインに従って病原性を判定した。2015 年のデータベース評価には、ClinVar と、トミーデジタルバイオロジー株式会社が提供するヒトの遺伝子バリエント情報と関連する疾患を網羅的に登録している有料データベースである Human Gene Mutation Database (HGMD®) (Stenson et al., 2017) を用いた。2018 年のデータベース評価には、ClinVar のみを用いた。データベースに登録されている既知の病的バリエントに加え、データベース登録はないが、ACMG-AMP ガイドラインで、病的、または、おそらく病的と判定される新規のバリエント (がん抑制遺伝子の短縮型バリエントなど) も、病的バリエントとして扱った。

さらに、1,058 例の家族歴を解析し、改訂ベセスダ基準を満たす症例数を抽出し、2015 年に評価した 3 つの病原性レベル (①病的、および、おそらく病的、②VUS、③おそらく影響しない、および、影響しない) の 3 群で比較した。

②本章での病原性分類に関する表記

本章では、各種データベースや ACMG-AMP ガイドラインによって総合的に評価した病原性分類を、「病的」、「おそらく病的」、「臨床的意義不明」、「おそらく影響しない」、「影響しない」と表記する。また、ClinVar データベースのみによる病原性分類は、ClinVar データベースによる記載をそのまま使い、「Pathogenic」、「Likely pathogenic」、「VUS」、「Likely benign」、「Benign」と表記する。ClinVar データベ

ースでは、専門家による解釈が一致しない場合、「Conflicting interpretation of pathogenicity」と表記され、本章では「CI」と表記する。

③生殖細胞系列遺伝子解析

生殖細胞系列遺伝子解析に用いる DNA は、QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN、Venlo、Netherlands) を使用し、手術直前に採取した血液サンプルから抽出した。WES は、Nagashima らの文献 (Nagashima et al., 2016) で報告されているように、Ion Torrent AmpliSeq Exome RDY Panel キット (Thermo Fisher Scientific、Waltham、MA、USA) を使用し、推奨プロトコルに従って実施した。シーケンシング時にエラーが生じる確率から計算されるクオリティスコアが 30 未満 (読み取られた塩基の信頼度が 99.9%未満)、または、カバレッジ 20 未満の SNV (Single Nucleotide Variant) は破棄した。WES によって検出された *g.MMR* 遺伝子の「病的」バリエント、「おそらく病的」バリエント、「臨床的意義不明」バリエントは、Sanger シーケンシング法によって確認した。なお、LS の原因遺伝子の一つである *EPCAM* 遺伝子の欠失は、本研究で用いた NGS による WES では検出できないため、解析対象から除外した。

④マイクロサテライト不安定性検査と MMR タンパク質免疫組織化学染色を行う患者の選択

生殖細胞系列 WES で、*g.MMR* 遺伝子に「病的」バリエント、および「おそらく病的」バリエントが検出された症例について、文書による同意を得て、MSI 検査および MMR IHC を行った。また、「臨床的意

義不明」バリエントが検出された症例について、複数例で同一バリエントが検出された場合で、改訂ベセスダ基準を満たす症例が1例以上含まれている時に、同一バリエントを有する症例すべてに対して MSI 検査および MMR IHC を行った。

⑤マイクロサテライト不安定性検査

MSI 検査は、ファルコバイオシステムズ株式会社（京都、日本）に委託した。MSI Analysis System v1.2 キット（カタログ番号 MD1641、Promega Corporation、Madison、WI、USA）を使用し、5つのモノヌクレオチドマイクロサテライトマーカー（BAT25、BAT26、NR21、NR24、MONO27）を用いて、メーカーの推奨プロトコルに従って実施した。QIAamp DNA FFPE Tissue Kit（QIAGEN）により、ホルマリン固定パラフィン包埋（Formalin Fixed Paraffin Embedded: FFPE）標本から DNA を抽出した。20 ng の DNA を合計 10 μ L の PCR 反応ミックスに使用し、PCR を行った。PCR アンプリコンを蒸留水で希釈し、3130xl Genetic Analyzer（Thermo Fisher Scientific）に注入した。フラグメント分析は GeneMapper ソフトウェア（Thermo Fisher Scientific）によって実施された。増幅断片数とサイズを腫瘍組織と正常組織で比較し、腫瘍組織において増幅断片が多数検出された場合に、そのマーカー部位のマイクロサテライトは不安定であると評価した。腫瘍 DNA が2つ以上のマーカーで不安定性を示した場合に、高頻度マイクロサテライト不安定性（High-level of MSI: MSI-H）、1つのマーカーのみが不安定性を示した場合に低頻度マイクロサテライト不安定性（Low-level of MSI: MSI-L）、5つのマーカーすべて不安定性を示さなかった場合はマイクロサテライト安定（Microsatellite Stable: MSS）と評価した。

⑥MMR タンパク質の免疫組織化学染色

手術標本の FFPE ブロックを厚さ 3 μ m にスライスし、スライドガラスに貼り付けた。キシレンで 15 分間脱パラフィンし、エタノールで段階的に脱キシレン処理した後、抗原性を活性化するために、95°C で 20 分間、Epitope Retrieval Solution 2 (pH 9.0, Leica Biosystems, Wetzlar, Germany) を使用して熱処理を行った。各 MMR タンパク質に対する一次抗体として、抗 hMLH1 抗体 (Clone ES05、50 倍希釈、Dako、Santa Clara, CA, USA)、抗 hMSH2 抗体 (Clone FE11、50 倍希釈、Dako)、抗 hMSH6 抗体 (Clone FP49、50 倍希釈、Dako)、抗 hPMS2 抗体 (Clone EP51、25 倍希釈、Dako) を、メーカー推奨プロトコルに従って使用した。Bond Polymer Refine Detection (カタログ番号 DS9800、Leica) を使用して、二次抗体を室温で 8 分間反応させた。室温で 10 分間、ジアミノベンジジン (SIGMA、St. Louis、MO、USA) で発色した。正常組織での MMR タンパク質発現と比較し、各 MMR タンパク質が発現していないか、腫瘍組織で発現が著しく低下している場合、MMR タンパク質発現喪失と評価した。この評価は、病理専門医によって行われた。病理画像は、病理スライドスキャナー (NanoZoomer S360 Digital slide scanner、C 9600-02、浜松ホトニクス株式会社、静岡、日本) を使用して撮影した。

⑦統計解析

統計解析には、JMP ver.12.2.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 統計ソフトウェアを使用した。改訂ベセスダ基準を満たす大腸がん患者の発生率は、*Spearman* の順位相関係数を用いて 3 つの病原性レベル間で比較した。統計的有意水準は $p < 0.05$ とした。

1.4 結果

①生殖細胞系列ミスマッチ修復遺伝子バリエーションの検出頻度

1,058 人のうち、*g.MMR* 遺伝子の WES により、3 人 (0.3%) の患者に 3 種類の「病的」バリエーション (*MLH1* c.545 + 2T> C、*MLH1* c.2041G> A [p.Ala681Thr]、*MSH6* c.1126G> T [p.Glu376 *])、2 人 (0.2%) の患者に 2 種類の「おそらく病的」バリエーション (*MLH1* c.453G> A [p.Thr151=]、*MLH1* c.1153C> T [p.Arg385Cys]) が検出された (表 1-9)。また、68 人の患者に 24 種類の「臨床的意義不明」バリエーション、119 人の患者に 17 種類の「おそらく影響しない」バリエーションが検出された。3 種類の「病的」バリエーションのうち、2 種類のバリエーション (*MLH1* c.545 + 2T>C、*MSH6* c.1126G>T) は、ClinVar と HGMD データベースに登録のないバリエーションであったが、*MLH1* c.545+2T>C はスプライドナーサイトのバリエーション、*MSH6* c.1126G> T はナンセンスバリエーションであり、病的である可能性の高いバリエーションであった (Richards et al., 2015) (ACMG-AMP ガイドラインの PVS1 に該当)。

大腸がん患者 355 人のうち、71 人 (20%) が改訂ベセスダ基準を満たした。改訂ベセスダ基準を満たす大腸がん症例は、*g.MMR* 遺伝子の「病的」バリエーション、および「おそらく病的」バリエーションを有する 3 症例のうち 2 症例 (66.7%)、「臨床的意義不明」なバリエーションを有する 27 症例のうち 2 症例 (7.4%)、「おそらく影響しない」バリエーションおよび *g.MMR* 遺伝子バリエーションをもたない 325 症例のうち 67 症例 (20.6%) であり、有意差は認められなかった ($p = 0.375$)。

図 1-3 に示す手順で MSI 検査、MMR IHC を実施する患者を選定し、条件を満たした患者 18 人に対し、MSI 検査と MMR IHC の説明を行った。18 人中 15 人 (12 バリエーション) から同意を得たが、1 人は高齢

であることを理由にこれ以上の検査を希望せず、検査に不同意 (症例 13)、2 人は病院を離れており連絡が取れなかった (症例 8、10)。MSI 検査と MMR IHC の結果を表 1-9 に示す。

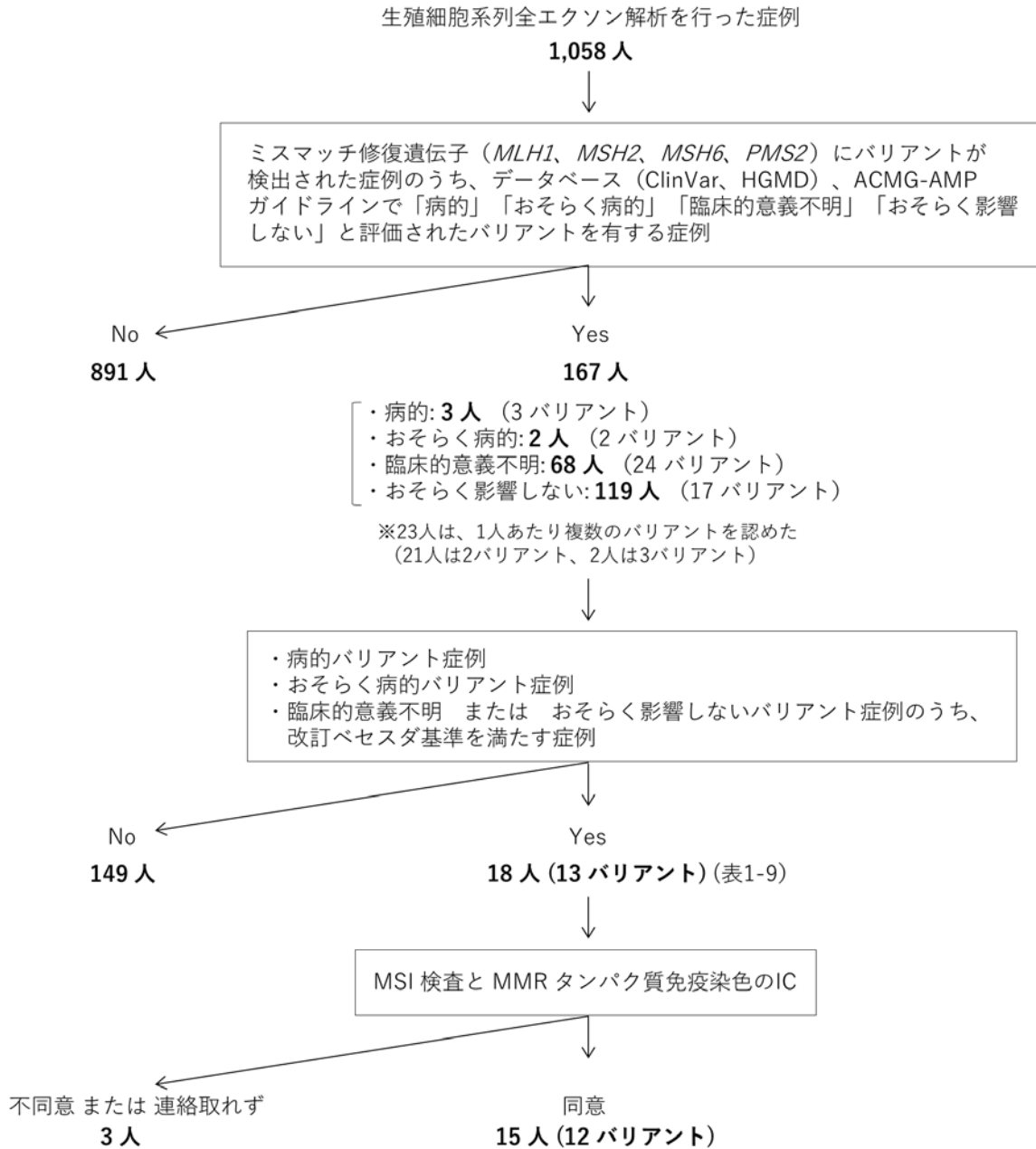


図 1-3. MSI 検査、MMR IHC を実施する患者の選定

1,058 人の生殖細胞系列 WES の結果、*g.MMR* 遺伝子の「病的」バリエントを 3 人に、「おそらく病的」バリエントが 2 人に、24 種類の「臨床的意義不明」バリエントを 68 人に認めた。「病的」「おそらく病的」バリエントが認められた患者と、「臨床的意義不明」バリエントが認められた患者のうち改訂ベセスダ基準を満たす症例が 1 人以上含まれている場合の同一バリエントを有する患者すべてに対して、MSI 検査および MMR IHC の説明を行った。条件を満たす患者 18 人中、15 人(12 バリエント) から MSI 検査および MMR IHC の同意を得た。

表 1-9. g.MMR 遺伝子バリエーションが検出された患者の概要と、MSI 検査、MMR IHC 結果、ClinVar2015 年と 2018 年の評価

病原性評価 (2015年) [§] No.	g.MMR バリエーション	性別	年齢 (歳)	腫瘍 占拠部位	改訂 ベセスダ基準 を満たす	MSI	MMR IHC			病原性評価 (2018年) [§]	
							MLH1	MSH2	MSH6		PMS2
1	MLH1(c.545+2T>C)	男性	29	直腸	Yes	MSI-H	(-)	(+)	(-)	-	NR
2	MLH1(c.2041G>A)	女性	52	盲腸	Yes	MSI-H	(±)	(+)	(±)	-	Pathogenic
3	MSH6(c.1126G>T)	女性	55	子宮体部	No	MSS	(+)	(+)	(-)	(+)	NR
4	MLH1(c.453G>A)	男性	44	肺	No	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	VUS
5	MLH1(c.1153C>T)	女性	73	S状結腸	No	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	VUS
6	MLH1(c.46G>C)	男性	67	S状結腸	Yes	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	VUS
7	MSH6(c.3772C>G)	男性	59	横行結腸	Yes	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	VUS
8		男性	46	直腸	Yes	Uncontacted [¶]	Uncontacted			-	
9	MLH1(c.1990-6G>A)	男性	51	直腸	Yes	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	CI(VUS1,LB3)
10		男性	51	虫垂	Yes	Uncontacted	Uncontacted			-	
11		女性	38	S状結腸	Yes	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	
12	MSH2(c.471C>A)	女性	51	S状結腸	Yes	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	VUS
13	MSH2(c.972G>A)	女性	78	横行結腸	Yes	Disagree [#]	Disagree			-	LB
14	MSH2(c.1255C>A)	女性	40	直腸	Yes	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	LB
15		男性	53	直腸	Yes	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	
16	MSH6(c.532C>T)	女性	51	上行結腸	Yes	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	CI(VUS3,LB1)
17		女性	61	上行結腸	Yes	MSI-H	(-)	(+)	(+)	(-)	+
18	MSH6(c.3246G>A)	男性	79	直腸	Yes	MSS	(+)	(+)	(+)	(+)	CI(VUS2,LB3,B1)

[§] 病原性レベルは、ClinVarデータベースとACMGガイドラインを用いて決定した。2018年の評価は、ClinVarデータベースのみの評価
VUS: uncertain for significance, LB: likely benign, B: benign, CI: conflicting interpretation of pathogenicity, NR: 報告なし
MSI-H: 高頻度マイクロサテライト不安定性, MSS: マイクロサテライト安定, [¶] 連絡取れず, [#] MSI検査とMMR IHC不同意

g.MLH1 の「病的」バリエント (c.2041G>A) が検出された盲腸がん症例 (症例 2) は、部分的に粘液性の組織学的徴候を示し、MSI 検査で MSI-H (5/5)、MMR IHC で MLH1 タンパク質および PMS2 タンパク質発現の喪失を示した (図 1-4)。

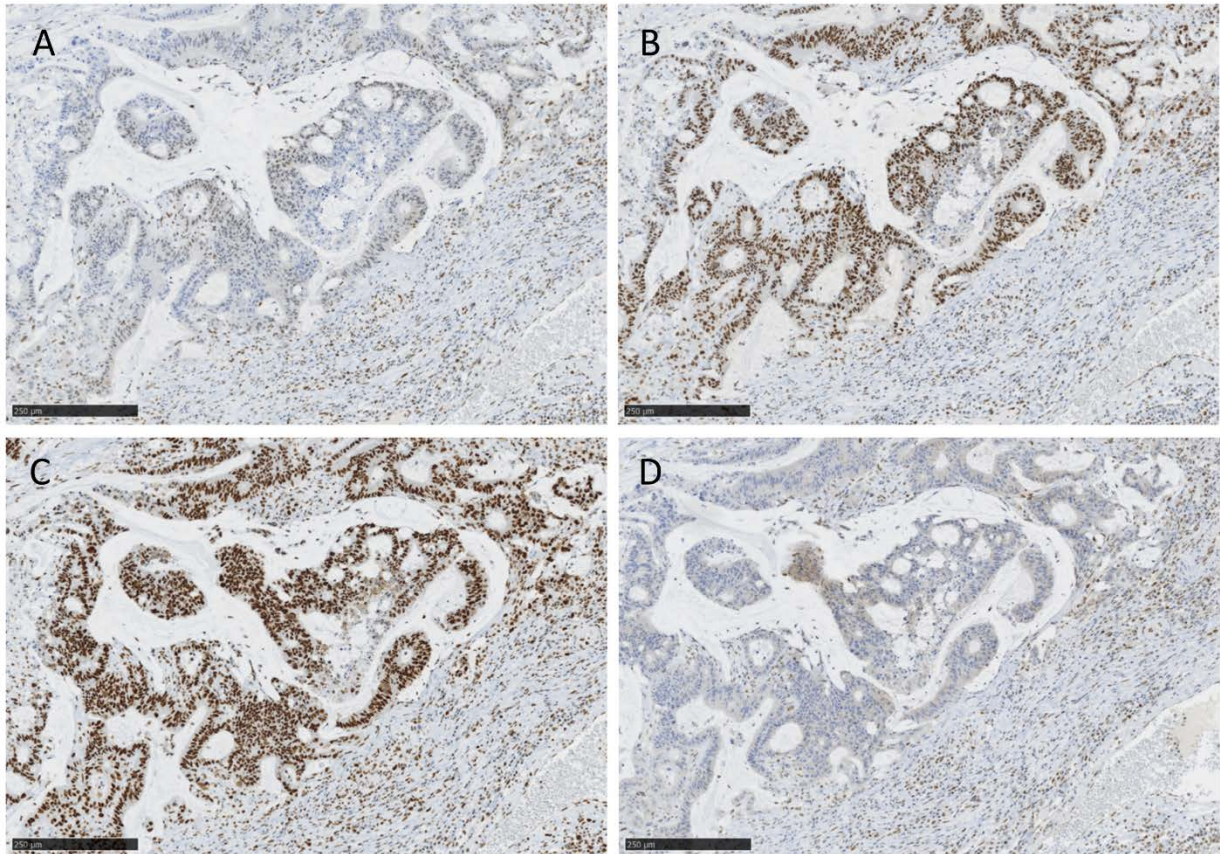


図 1-4. 症例 2 の盲腸浸潤性粘液がんの MMR IHC 結果
MLH1 タンパク質と PMS2 タンパク質の発現喪失が認められた。
(×50, A: MLH1, B: MSH2, C: MSH6, D: PMS2, スケールバーは 250µm を示す)

g.MSH6 の「病的」バリエント (c.1126G>T) が検出された子宮体がん症例 (症例 3) は、MMR IHC で MSH6 タンパク質発現の喪失を示したが、MSI 検査では MSS であった。*g.MSH6* の「臨床的意義不明」なバリエント (c.532C>T) が検出された 2 症例 (症例 16、17) は、ともに MMR IHC で MSH6 タン

パク質と MSH2 タンパク質の発現を認めたが、症例 17 では MSI-H であり、MMR IHC で MLH1 タンパク質と PMS2 タンパク質の発現喪失を示した。症例 17 の腫瘍細胞では、*BRAF* 遺伝子の V600E バリエントが認められた。全体として、*g.MMR* 遺伝子バリエントが検出された患者で実施した MSI 検査結果および MMR IHC 結果は、2018 年の ClinVar データベースでの病原性評価とすべて一致していた (表 1-9)。

②ClinVar データベースにおける 2015 年と 2018 年の病原性評価の比較

2015 年に参照した ClinVar データベースで Likely pathogenic と評価されていた 2 種類のバリエント (症例 4:*MLH1* c.453G>A、および、症例 5:*MLH1* c.1153C>T) は、2018 年の ClinVar データベースでは VUS として再評価された。このバリエントを有する 2 症例は、MSI 検査で MSS を示し、MMR タンパク質発現も正常であった (表 1-9)。同様に、2015 年の ClinVar データベースで VUS と評価された 5 種類のバリエントが、2018 年には Conflicting interpretation of pathogenicity となり、2015 年の ClinVar データベースで Likely benign と評価された 9 種類のバリエントが、3 種類の VUS、5 種類の Conflicting interpretation of pathogenicity、1 種類の Benign/Likely benign にそれぞれ再評価された (表 1-10)。

表 1-10. 本研究で検出された *g.MMR* 遺伝子の 46 種類のバリエントのうち、ClinVar データベースにおける病原性評価が 2015 年から 2018 年にかけて変化したバリエント数

ClinVarデータベースに基づく病原性の評価		症例数
2015年	2018年	
Likely pathogenic	VUS	2
VUS	CI	5
Likely benign	VUS	3
Likely benign	CI	5
Likely benign	Benign / Likely benign	1

VUS: variant uncertain for significance,
CI: conflicting interpretations of pathogenicity

1.5 考察

本研究では、1,058 人の固形がん患者の生殖細胞系列 WES により、*g.MMR* 遺伝子の病的バリエントを、全体の約 0.3% (3/1,058)、大腸がん症例の約 0.6% (2/355)、子宮体がん症例の約 10% (1/10) で認めた (表 1-9)。本章の背景で述べたように、LS の頻度は、既報では、大腸がん症例の約 1%~4% (Pinol et al., 2005; Vasen et al., 2007; Perez-Carbonell et al., 2012; Ricker et al., 2017)、子宮体がん症例の約 2%~6% (Ferguson et al., 2014; Najdawi et al., 2017; Adar et al., 2018) と報告されている。国により多少の違いが見られ、子宮体がん症例における LS の頻度は、日本:2.9% (Takahashi et al., 2017)、米国:1.7%~4.5% (Moline et al., 2013)、カナダ:5.9% (Ferguson et al., 2014)、スペイン:4.6% (Egoavil et al., 2013)、オーストラリア:2.4% (Najdawi et al., 2017) と報告されており、日本人子宮体がん症例における LS の頻度は諸外国の報告とさほど変わらない。しかし、大腸がん症例における LS の頻度は、日本が 0.7% (Chika et al., 2017) と報告されているのに対し、米国:1.0%~1.9%

(Heald et al., 2013)、スペイン:0.7%~3.1% (Moreira et al., 2012)、フランス:2.4%~3.7% (Julie et al., 2008)、オーストラリア:0.6% (Brennan et al., 2017) と、日本人大腸がん症例における LS の頻度は諸外国と比較しやや低いことが指摘されている。先行研究と同じく、本研究結果でも、日本人の大腸がん患者における LS の頻度は、他の国と比較して低い傾向があった。*g.MMR* 遺伝子について、様々な創始者変異が世界中から報告されているが、日本大腸癌研究会が実施した全国的な調査では、日本人の創始者変異として、*g.MLH1* 遺伝子を原因とする LS では、エクソン単位の欠失または重複の頻度が高いことが報告された (26.6%) (Ikenoue et al., 2019)。エクソン単位の欠失や重複のバリエントは、ショートリードの NGS 解析では検出できないため、今回の検討では、これらのバリエントが検出できていない。先述の創始者変異を有する LS 症例は、国内の偏った地域に集積している可能性もあり、日本人における真の LS の頻度に関して、全国的な調査が望まれる。さらに、LS の浸透率は 100%ではなく、大腸がんや子宮体がんの発症には、環境要因やライフスタイルも影響する可能性があるため、*g.MMR* 遺伝子の病的バリエントを保有していても、全員が LS 関連がんを発症するとは限らない (van Duijnhoven et al., 2013)。ToMMo による、健康な日本人コホートにおける解析では、*g.MMR* 遺伝子に 0.6%の病的バリエントが検出されている (13/2049、*MLH1*:0.49%、*MSH2*:0.08%、*MSH6*:0.05%、*PMS2*:0%) (Yamaguchi-Kabata et al., 2018)。

本研究は、日本人において、1,000 人以上の固形がん患者の *g.MMR* 遺伝子バリエントを WES により分析した初めての研究である。本研究では、全体の 0.3%で *g.MMR* 遺伝子の病的バリエントが認められたが、この頻度は、米国の Memorial Sloan Kettering Cancer Center (11/1,566、0.7%) (Schrader et

al., 2016)、MD Anderson Cancer Center (5/1,000、0.5%) (Meric-Bernstam et al., 2016) の報告と同程度の結果であった。

本研究では、*g.MSH6* の病的バリエントを有する症例 (症例 3) の MMR IHC で MSH6 タンパク質の欠損が認められたものの、MSI 検査では MSS であった。既報でも、同様の事例が報告されており (Plaschke et al., 2004)、MSI 検査を用いた UTS は、このような症例を見逃す可能性がある。MMR IHC は、実施者の熟練度や腫瘍細胞の保存状態が影響するものの、比較的安価に実施可能であり、染色結果から原因遺伝子を予測可能であることから、LS の最適なスクリーニングツールと考えられている (Shia, 2008)。腫瘍細胞の MLH1 タンパク質および PMS2 タンパク質の欠損が認められた場合、*g.MLH1* 病的バリエントを有する可能性の他に、体細胞 *MLH1* 遺伝子の後天的なメチル化による散発性がんの可能性もあり、LS スクリーニングにおいては、後者を除外するために、体細胞 *BRAF* 遺伝子の V600E バリエントの確認、または、*MLH1* 遺伝子プロモーター領域のメチル化解析が必要である (Deng et al., 2004; Domingo et al., 2005)。

今日、NGS など遺伝子解析技術の進歩により、遺伝子を網羅的に解析することが可能となり、遺伝性腫瘍の診断においても、NGS を用いて、原因遺伝子を一度に複数個解析する、マルチ遺伝子検査が普及しつつある。LS の診断においても、将来、MSI 検査や MMR IHC を用いた UTS のステップを省き、直接 *g.MMR* 遺伝子を解析する「LS ユニバーサルシーケンス」が主流になる可能性がある。LS 検出方法の費用対効果を比較した Gould-Suarez らの研究では、現在、MSI 検査と MMR IHC を併用した方法が最も費用対効果が良く感度も高く、LS ユニバーサルシーケンスが最も高価であることが示

された (Gould-Suarez et al., 2014)。しかし、同じ研究の中で、LS ユニバーサルシーケンスのコストが \$633~\$1,518 まで低下した場合、LS ユニバーサルシーケンスが最も費用対効果の高い方法であると結論付けられ、そしてこのコストの低下は、遅からず実現する可能性がある。

ただし、LS 遺伝子ユニバーサルシーケンスには問題点もある。LS 遺伝子ユニバーサルシーケンスでは、VUS の検出の割合が高く、その病原性評価は時間とともに変化する。2006 年から 2016 年に、米国の民間臨床検査施設で遺伝性腫瘍の遺伝学的検査を受けた 145 万人のデータをもとに、バリエントの再分類頻度を検討した後ろ向きコホート研究では、初期分類が「Pathogenic」「Likely pathogenic」か「Benign」「Likely benign」の再分類の頻度は、それぞれ 0.7%、0.2%と低いものの、初期分類が「VUS」の場合は 7.7%が再分類され、そのうち 91.2%は「Benign」「Likely benign」への引き下げ、8.7%は「Pathogenic」「Likely pathogenic」への引き上げであったと報告している (Mersch et al., 2018)。ClinVar データベースを使用した本研究でも、68 人 (6.4%) の患者で 24 種類の VUS が検出され、16 種類のバリエントの病原性評価が 2015 年から 2018 年の間に変更された (表 1-10)。特に、2015 年に ClinVar で「Likely pathogenic」と評価された 2 種類のバリエント (症例 4、症例 5) は、2018 年に「VUS」に変更された。さらに、すべての病的バリエントがデータベースに登録されているわけではなく、過去に登録のない新規の病的バリエントも検出されている (症例 1、症例 3)。短縮型バリエント (ナンセンス、フレームシフト、スプライシングドナーサイトのバリエントなど) の場合は、病原性を比較的容易に判断できるが、ミスセンスバリエントの場合は、タンパク質機能解析や家系解析による検証が必要である (Richards et al., 2015)。本研究の結果から、MMR IHC および MSI 検査の結果は、ClinVar データベースの病原

性評価と一致しており、MMR IHC および MSI 検査は、臨床的意義不明な *g.MMR* 遺伝子バリエントの病原性評価に役立つと考えられた。

1.6 本研究の限界と今後の展望

本研究では、NGS 解析には、Ion Torrent システムを使用している。Ion Torrent システムは、高いスループット (80-100 Mb/時間) を提供するが、MiSeq システム (Illumina, San Diego, USA) と比較した場合、ホモポリマー部位の読み取りエラーが起きる傾向があり (Loman et al., 2012)、このような部位の挿入や欠失を見逃している可能性がある。また、ショートリードの NGS 解析では、エクソン単位の欠失や重複は検出できない。さらに、本研究では、エクソン全体と、隣接する 10 塩基程度のイントロン部位のみを解析しているため、イントロン部位のすべてのバリエントを確認することができていない。また、*PMS2* 遺伝子には偽遺伝子が存在するが (De Vos et al., 2004)、それらを考慮した解析を行っていない。LS ユニバーサルシーケンスにより、感度高く LS 症例を見つけるためには、NGS 機種種の再検討、大型の欠失や重複、構造異常を検出可能なロングリードシーケンサーの導入 (Sakamoto et al., 2019) や、転写調節領域、イントロン領域の解析が必要である。また、本研究は、日本の単一施設で実施され、1,000 人を超える症例による解析であるが、がん種による偏りもあり、今後さらに症例数を増やして検討する必要がある。

1.7 本研究のバリエーションデータの登録

本研究の *g.MMR* 遺伝子バリエーションデータは、国立研究開発法人科学技術振興機構バイオサイエンスデータベースセンター(NBDC) (アクセッション番号:hum018)、および、Japanese Genotype-phenotype Archive (JGA) データベース (アクセッション番号:JGAS00000000183) に登録済みである。

第2章 新規バリエントの病原性評価解析の実際

2.1 はじめに

網羅的遺伝子解析の普及により、過去にデータベース登録のない新規バリエントが見つかる機会が増えることが予想される。本章では、SCC で行われたがんゲノム医療の先行研究「プロジェクト HOPE」の生殖細胞系列 WES により検出された、過去にデータベース登録のない *g.MLH1* 遺伝子 (LS の原因遺伝子) バリエントの病原性を、実際の症例 (第1章の症例1) を用いて評価した。

なお、本章では、筆者は、病原性評価方法と解析結果の検討、対象者への MSI 検査等に関する IC の補助と遺伝カウンセリング、臨床情報の収集、論文執筆、およびデータ登録を担当した。病原性評価のための遺伝子解析は院内研究所で、MMR IHC は院内病理診断科で行った。MSI 検査は外部検査機関に委託した。また、*g.MMR* 遺伝子解析は院内研究所及び外部検査機関で行った。

2.2 症例

①現病歴

症例は29歳の男性。29歳時に前医で直腸がんと診断され、肛門温存を希望し SCC に紹介された。術前にプロジェクト HOPE 研究への参加に書面にて同意した。ロボット支援下腹腔鏡下低位前方切除術を受け、腫瘍部と正常部の新鮮凍結組織と末梢血が研究用に提出された。

切除された直腸がんは、大きさ50mm、組織像は、筋肉固有層を越えて脂肪組織に浸潤する腺がんを示した。翌年の術後サーベイランスで、上行結腸に非顆粒性の横方向に広がる腫瘍 (laterally

spreading tumor - nongranular type ;LST-NG) が認められ、内視鏡的粘膜下層剥離術 (Endoscopic Submucosal Dissection ;ESD) を受けた。部分的に粘膜下層に浸潤しており (深さ:520 μ m)、リンパ管侵襲陽性であったため、根治を目的に腹腔鏡下右半結腸切除術が追加された。1つ目の直腸がんは部分的に粘液がん成分を示し (図 2-1、a、b)、2つ目の上行結腸がんは中～低分化の組織像を示した (図 2-1、c、d)。

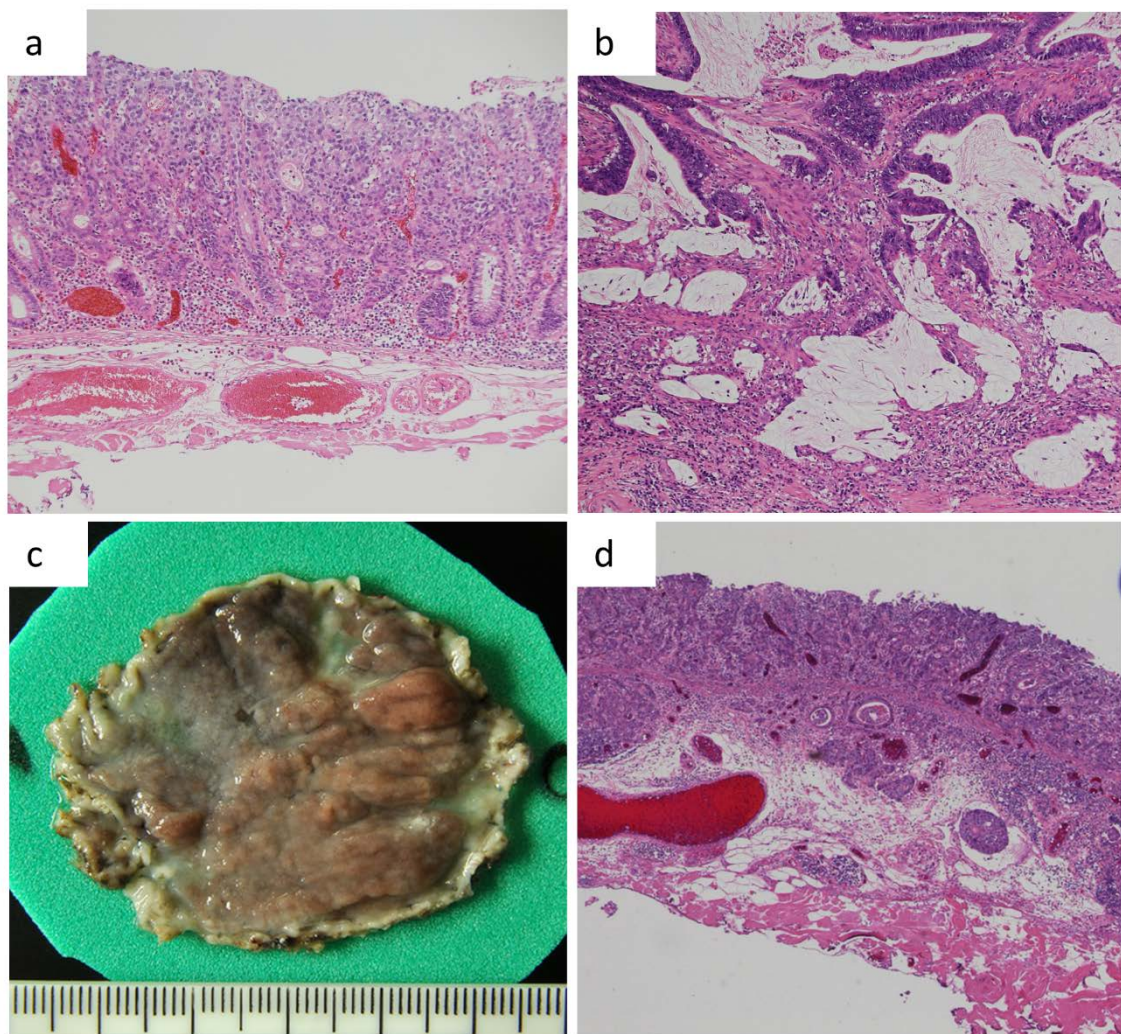


図 2-1. 直腸がん と 上行結腸がん の病理写真

- a, b: 直腸がん (固有筋層を越え脂肪組織に浸潤する、部分的に粘液がん成分を示す高分化管状腺がん)
- c, d: 上行結腸がん (非顆粒性の横方向に広がる腫瘍、部分的に粘膜下層に浸潤する中～低分化管状腺がん)

②家族歴

実母を含め、母方血縁者にがん罹患者はいなかった。父方伯母が乳がん、父方祖父が40歳で胃がんに罹患している (図 2-2)。患者の幼少時に両親が離婚し、以後、実父を含め父方血縁者とは交流が無く、これ以上の家族歴情報は得られなかった。患者本人が29歳で直腸がんに罹患しており、MSI 検査実施の推奨基準である、改定ベセスダ基準を満たした。

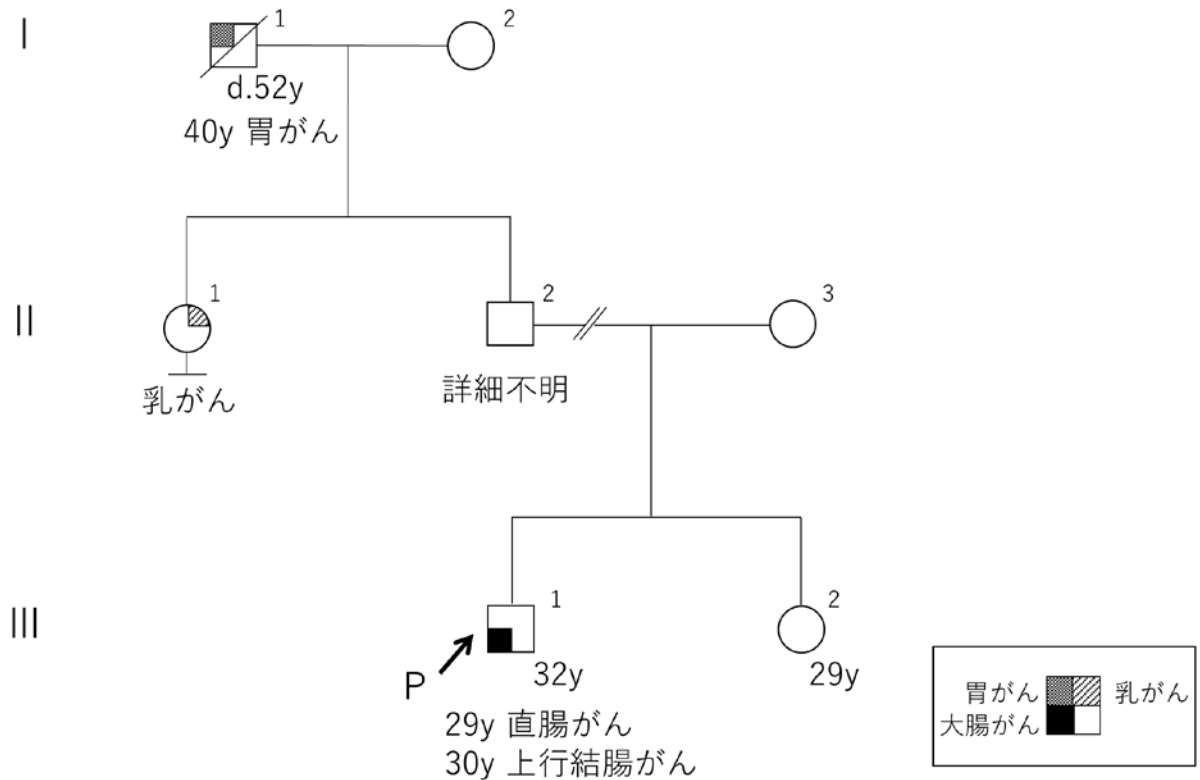


図 2-2. 本章で *g.MLH1* 遺伝子バリエーションの病原性解析を行った患者の家系図

患者本人 (III-1) は、父方の家族歴を把握していなかった。患者の実母 (II-3) より、患者の父方伯母 (II-1) が乳がん、父方祖父 (I-1) が40歳で胃がんに罹患しているとの情報を得たが、父方親族とは交流が途絶えており、患者の実父の安否を含め、詳細な情報を得ることはできなかった。母方親族にはがん罹患者はいなかった。

P : 発端者 (proband)、d : 死亡 (death)

③生殖細胞系列遺伝子解析

生殖細胞系列遺伝子解析には、末梢血由来 DNA を用いた。QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN、Venlo、Netherlands) を使用して血液から DNA を抽出した。遺伝子バリエントは、WES および Sanger シークエンシング法により確認された。WES は、Nagashima らの文献 (Nagashima et al., 2016) で報告されているように、Ion Torrent AmpliSeq Exome RDY Panel キット (Thermo Fisher Scientific、Waltham、MA、USA) を使用し、推奨プロトコルに従って実施した。WES と Sanger シークエンシングの結果、*g.MLH1* 遺伝子のイントロン 6 のスプライシングドナーサイトに、ヘテロ接合変異 [NM_000249.3:c.545+2T>C (IVS6+2T>C), Chr3:37050398 (GRCh37)] が検出された (図 2-3)。

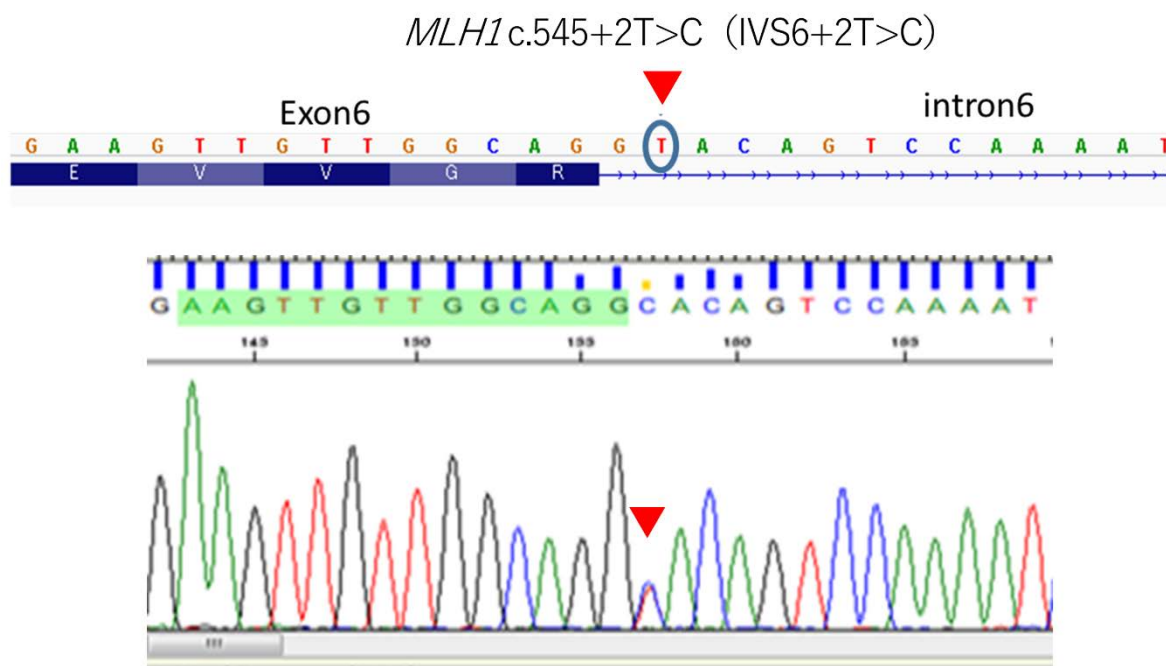


図 2-3. 生殖細胞系列 *MLH1* 遺伝子解析結果

WES と Sanger シークエンシングの結果、*g.MLH1* 遺伝子イントロン 6 のスプライスドナーサイトに、c.545+2T>C (IVS6+2T>C) が検出された

この *g.MLH1* 遺伝子バリエントは、解析時の ClinVar、HGMD などの遺伝子バリエントデータベースに登録のない、新規のバリエントであった。同一遺伝子座の異なる塩基置換バリエント (*g.MLH1* c.545 + 2T>A) は、Pathogenic バリエントとして HGMD に登録されていた (Perea et al., 2011)。この部位の塩基配列は高度に保存されており、mRNA プロセッシングに不可欠であることが報告されている (Shapiro and Senapathy, 1987)。

2.3 バリエントの病原性の検討

①MSI 検査と MMR IHC

IC 取得後、患者の腫瘍組織を用いた MSI 検査および MMR IHC を実施した。MSI 検査は、FALCO バイオシステムズ株式会社 (京都、日本) に委託し、5 つのマイクロサテライトマーカー (BAT25、BAT26、NR21、NR24、MONO27) によって評価した。結果は、MSI-H (5/5) であった。

MMR IHC は、直腸がんの FFPE 切片を用いて、院内の病理診断科で実施した。各 MMR タンパク質に対する一次抗体として、抗 hMLH1 抗体 (Clone ES05、50 倍希釈、Dako、Santa Clara、CA、USA)、抗 hMSH2 抗体 (Clone FE11、50 倍希釈、Dako)、抗 hMSH6 抗体 (Clone FP49、50 倍希釈、Dako)、抗 hPMS2 抗体 (Clone EP51、25 倍希釈、Dako) を、メーカー推奨プロトコルに従って使用した。

MMR IHC の結果、MLH1 タンパク質と PMS2 タンパク質の発現喪失が確認された (図 2-4)。

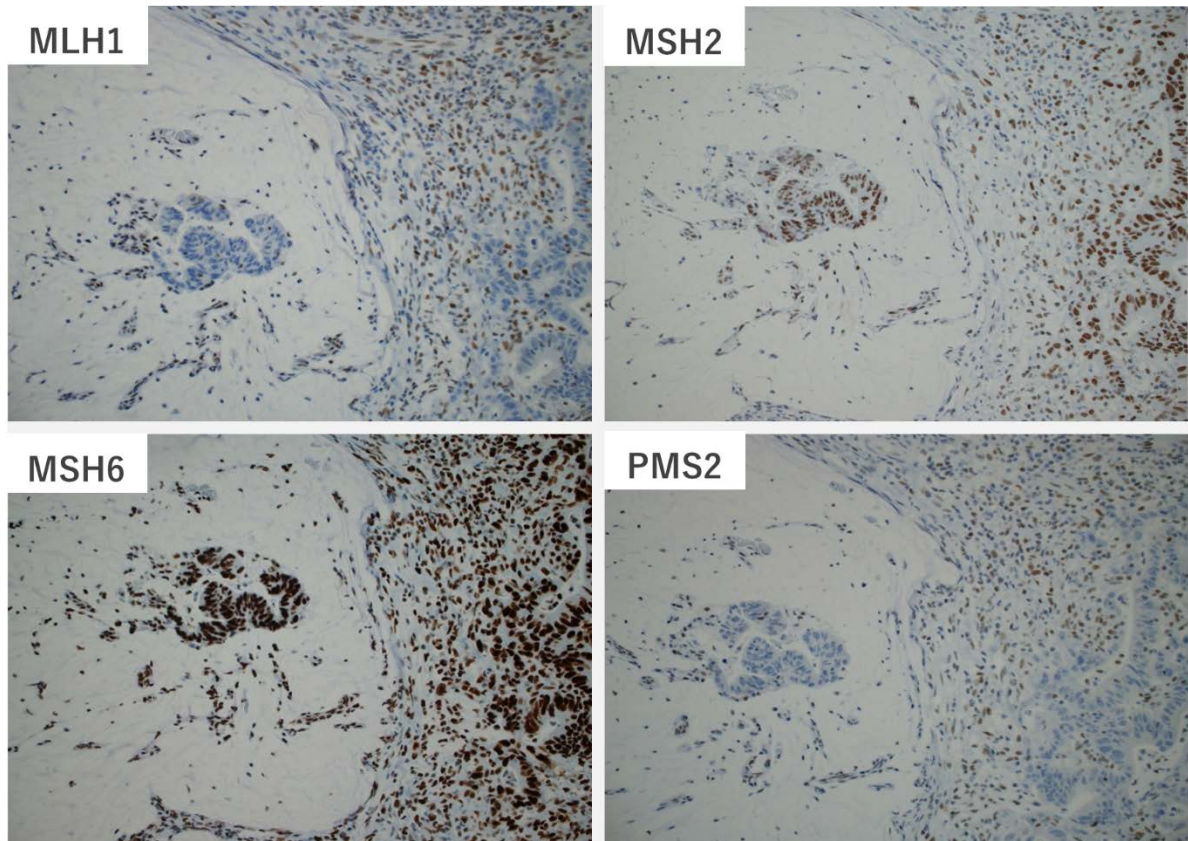


図 2-4. 直腸がん組織を用いた MMR IHC 結果

がん細胞は、粘液内に浮いているように見えている。周囲の間質細胞では、いずれのタンパク質も正常に染色されたが、がん細胞では MLH1 タンパク質と PMS2 タンパク質が染色されず、発現が喪失していることが確認された。(×200)

②逆転写ポリメラーゼ連鎖反応解析

新規 *g.MLH1* 遺伝子バリエーションの、スプライシングへの影響を確認するため、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction: RT-PCR) を行った。液体窒素中に保存した新鮮凍結組織を QIAzol Lysis Reagent (QIAGEN) に浸し、TissueLyser (QIAGEN) を使用して組織を破壊し、miRNeasy mini kit (QIAGEN) を使用してトータル RNA を抽出した。*MLH1* 遺伝子のイントロ

ン6は、約3Kbpと大きいため、イントロン6の残存を確認できるよう、イントロン6上に、**図2-5**のようにプライマーを設計した。RT-PCRはDNase処理したRNAを使用して実施した。

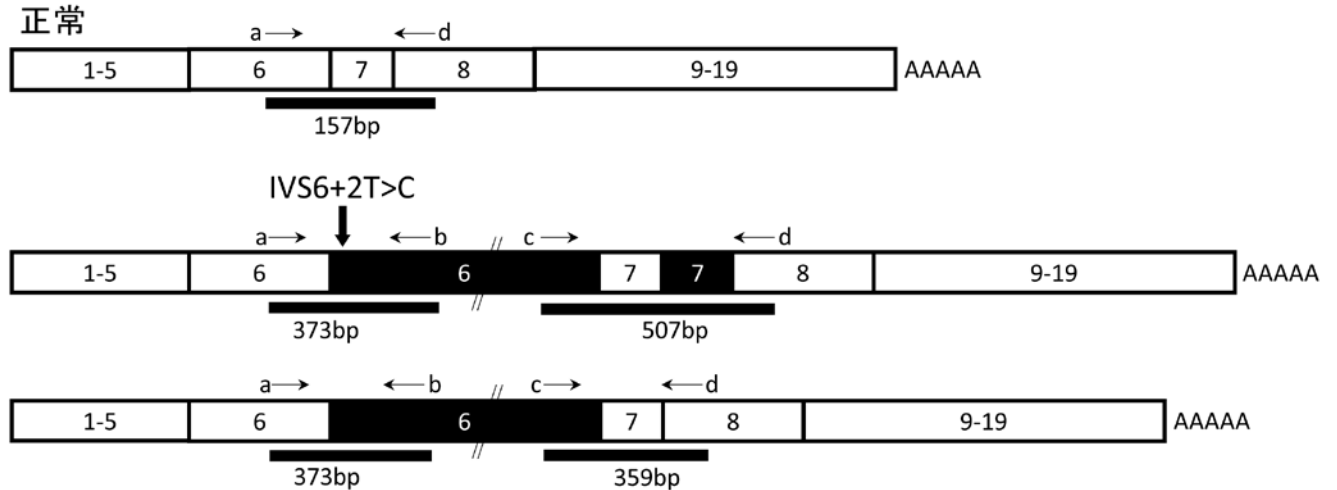


図 2-5. RT-PCR による c.545 + 2T>C (IVS6 + 2T>C) の病原性の検証

白いボックスはエクソンを、黒いボックスはイントロンを表す。スプライスドナーサイトに生じた c.545 + 2T>C のスプライシングへの影響を検証するため、RT-PCRを行った。イントロン6は2915bpと大きいため、イントロン6の残存を確認できるよう、イントロン6内にプライマーbおよびcを設計した。黒いバーは、それぞれのプライマーセットにより生成されることが予測される mRNA のサイズを示す。

RT-PCRの結果、正常サイズの mRNA (157bp)(**図 2-6、A**) の他に、イントロン6が残存した mRNA (373bp、359bp) と、イントロン6とイントロン7の両方が残存した mRNA (507bp) が検出された (**図 2-6、B、C**)。この結果から、*g.MLH1* c.545 + 2T>C (IVS6 + 2T>C)はスプライシングに異常を引き起こすことが確認された。

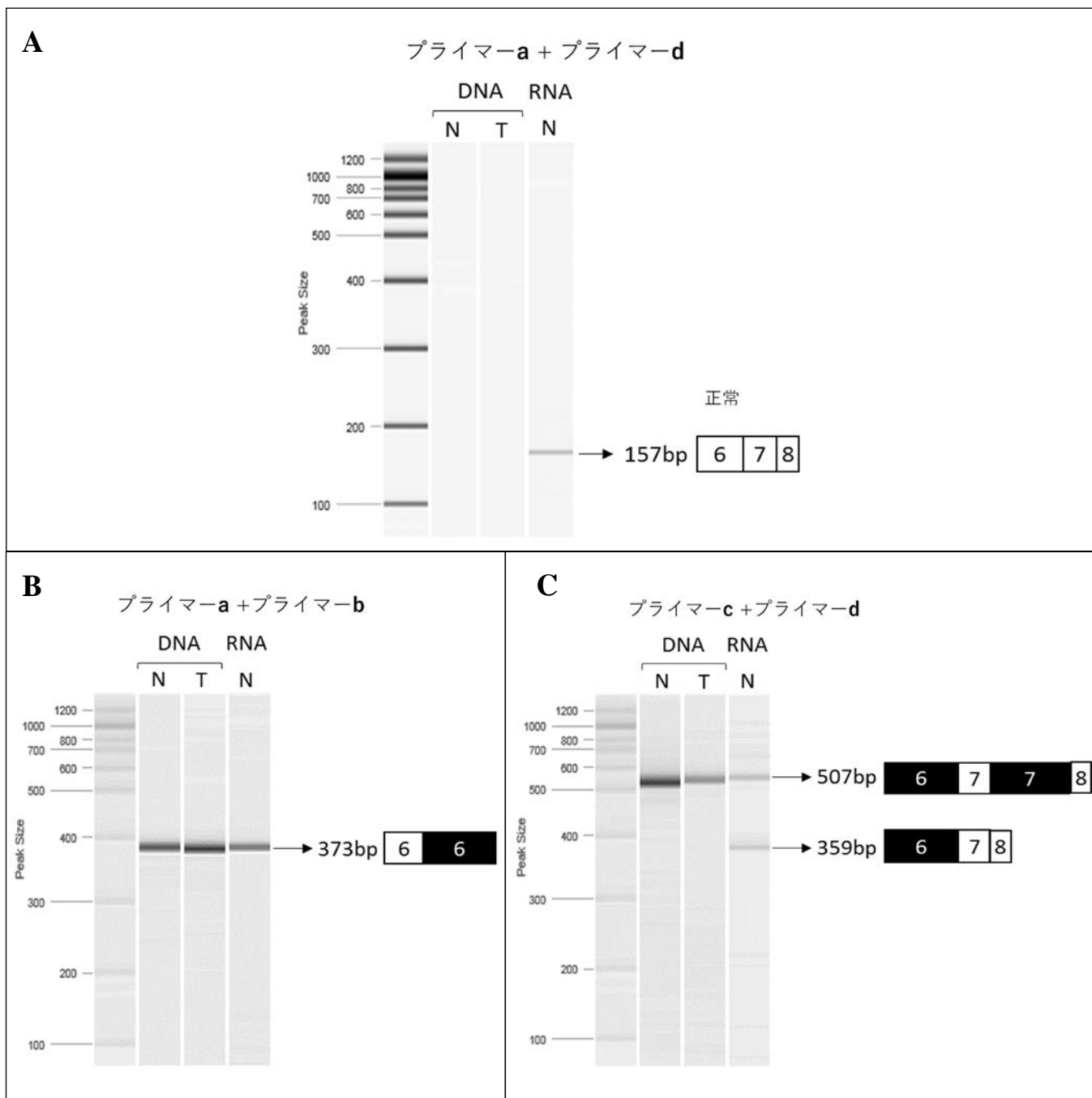


図 2-6. RT-PCR の結果

白いボックスはエクソンを、黒いボックスはイントロンを表す。

A : プライマー-a とプライマー-d により生成された、正常サイズの mRNA (157bp)

B : プライマー-a とプライマー-b により生成された、イントロン 6 が残存した mRNA (373bp)、

C : プライマー-c とプライマー-d により生成された、イントロン 6 が残存した mRNA (359bp) と、イントロン 6 とイントロン 7 の両方が残存した mRNA (507bp)

g.MLH1 c.545 + 2T>C は、スプライシングに異常を引き起こすことが確認された。

T : 腫瘍組織 N : 正常組織

2.4 考察

g.MLH1 c.545 + 2T>C (IVS6 + 2T>C) によって生じたイントロンが残存した mRNA は、異常な mRNA を除去する、ナンセンス変異依存 mRNA 分解機構 (Nonsense-mediated mRNA decay: NMD) (Baker and Parker, 2004) により、翻訳前に分解される可能性が高い。仮に、イントロン 6 が残存した mRNA がアミノ酸配列に翻訳された場合でも、エクソン 6 の最後のアルギニンから 28 アミノ酸先にストップコドンが生じる。MLH1 タンパク質には、アデノシン三リン酸 (ATP) の末端高エネルギーリン酸結合を加水分解しエネルギーを作り出す ATPase ドメイン、ミスマッチ塩基対の認識に関わる MutS ホモログ インタラクションドメイン、PMS2 タンパク質や MLH3 タンパク質などとの複合体形成に関わる PMS2/MLH3/PMS1 インタラクションドメインがあるが、*c.545 + 2T>C (IVS6 + 2T>C)* により、後半の重要な機能ドメインを欠く、異常 MLH1 タンパク質が生じると考えられた (図 2-7)。

しかし、実際に、イントロン 6 が残存した mRNA がアミノ酸配列に翻訳されているかどうかの確認は行っておらず、異常 MLH1 タンパク質の存在や機能を確認するためには、ウェスタンブロッティングなどによるタンパク質の検出や機能解析を追加する必要がある。

正常MLH1タンパク質(756アミノ酸)



IVS6+2T>C により生じる可能性のあるMLH1タンパク質

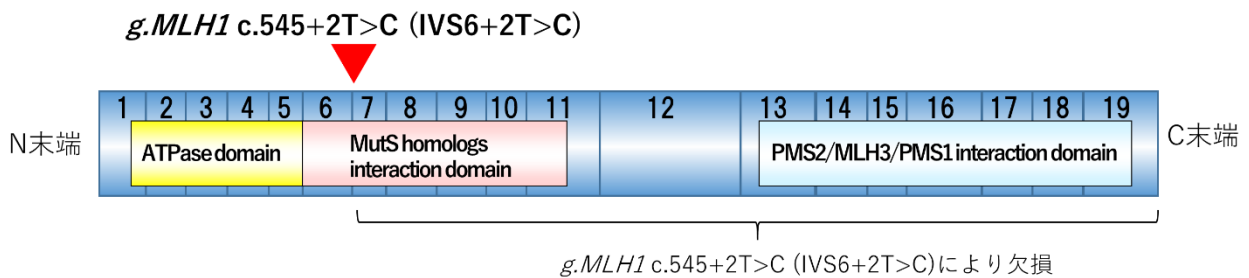


図 2-7. *g.MLH1* c.545 + 2T>C による異常 MLH1 タンパク質の生成 (予測)

g.MLH1 c.545 + 2T>C により生じた、エクソン 6 が残存した mRNA がアミノ酸配列に翻訳されたと仮定すると、エクソン 6 の最後のアルギニンから 28 アミノ酸先にストップコドンが生じる。その結果、後半の重要な機能ドメインが欠損した異常 MLH1 タンパク質が生じると考えられた。

2.5 まとめ

若年大腸がん患者で、*g.MLH1* の新規バリエント (*g.MLH1* c.545 + 2T>C) を認め、病原性の解析の結果、病的バリエントの可能性が高いと判定した。ACMG-AMP ガイドラインの病原性判定基準に照らすと、PVS1 (スプライシング異常による短縮型バリエント)、かつ、PS3 (*in vitro* 解析でスプライシング異常を確認)、PM2 (一般集団で検出されていない)、PP4 (若年大腸がん患者で検出) に該当し、病的 (Pathogenic) と判定される。

NCCN ガイドラインでは、LS 症例の大腸がんは、一般的な大腸がんと比較し急速に進行するため、1～2年ごとの大腸サーベイランスが推奨されている (Inoki et al., 2016)。また、前章で述べたように、子宮体がんや胃がん、膵がん、腎盂尿管がんなどのリスクが一般よりも高まることが報告されており、血縁者も含めた長期に渡る多臓器のサーベイランスが必要である (Jarvinen et al., 2000)。*g.MMR* 遺伝子に、データベース登録がない新規バリエントが検出された際、家族歴などの情報収集と、MSI 検査や MMR IHC の追加、ACMG-AMP ガイドラインとの照らし合わせを行い、その病原性を判断することは、患者本人だけでなく、その血縁者の遺伝カウンセリングと適切なサーベイランスの提案のために重要である。

2.6 バリエントデータの登録

本章で検出された *g.MLHI* 遺伝子バリエントは、日本人の LS 新規バリエントとして、Human Gene Mutation Database (HGMD[®]) に登録された。

第1部 小括

第1章では、日本の単一施設のがん患者における生殖細胞系列 WES 解析によって検出される LS の頻度と、*g.MMR* 遺伝子バリエントの発生率、病原性の評価について検討した。その結果、1,058 人の固形がん患者の生殖細胞系列 WES により、*g.MMR* 遺伝子の病的バリエントを全体の約 0.3%、大腸がん症例の約 0.6%、子宮体がん症例の約 10%で認めた。3 種類の病的バリエントのうち 2 種類は、過去にデータベース登録のないバリエントであった。また、6.4%の患者で *g.MMR* 遺伝子の臨床的意義不明なバリエントが検出され、16 種類のバリエントの ClinVar データベースでの病原性評価が、2015 年から 2018 年の間に変更された。臨床目的で遺伝子解析を行う際には、遺伝カウンセリングで VUS が検出される可能性について、事前に丁寧に説明する必要がある。実際に VUS が検出された際には、将来の病原性評価の変更の可能性について、可能な限り血縁者同席で説明し、カルテに記録すると同時に、患者本人や血縁者の新たながん発症等、何らかの遺伝学的課題が発生した場合には患者側から病院に連絡するよう説明するなど、連絡体制を維持する必要がある。また、ClinVar データベースを使用した病原性評価は、MSI 検査、MMR IHC の結果と一致し、MMR IHC および MSI 検査は、臨床的意義不明な *g.MMR* 遺伝子バリエントの病原性評価に役立つと考えられる。

第2章では、実際に第1章で検出された、過去にデータベース登録のない *g.MLHI* 遺伝子バリエントの病原性について検討した。今後、がんゲノム医療をはじめとする網羅的遺伝子解析の普及により、過去にデータベース登録のない、疾患発症に関わる新規バリエントが見つかる機会が増えることが予想される。遺伝性腫瘍に関する遺伝子バリエントデータの蓄積は、将来における正確で信頼性の高い病原

性評価と、遺伝カウンセリングにおける適切な情報提供のために不可欠である。遺伝子バリエントデータの登録や共有を積極的に行い、日本人バリエントデータベースの構築に寄与することも、CGC が担うことができる役割の一つであると考え。がんの分野に従事するCGCは、がんゲノム医療など今後普及が予想される網羅的遺伝子解析におけるVUSや新規バリエントへの対応に備え、各種遺伝子バリエントデータベースや、*in silico* 解析、ACMG-AMPガイドラインなどの病原性検索・評価ツールの取り扱いを理解し、遺伝カウンセリングにおいて、患者や血縁者に、より適切で具体的な情報提供ができるよう、努める必要がある。

ここまで、第1部では、網羅的遺伝子解析で生じる、遺伝性腫瘍症候群関連遺伝子のVUSや、新規バリエントについて、LSを中心に、その対応と遺伝カウンセリングの役割を述べた。第2部では、網羅的遺伝子解析のもう一つの問題点であるSFについて、プロジェクトHOPEにおいてCGCとしてSFに対応した経験から、その開示手順、多職種連携について検討し、SF対応に求められる院内体制と適切な遺伝カウンセリングシステムの構築を試みる。

第2部

網羅的ゲノム解析における二次的所見への対応と、遺伝カウンセリングシステムの検討

3.1 背景

①二次的所見とは

従来、遺伝性疾患の診断目的で行われる遺伝学的検査には、Sanger シークエンシング法やマイクロアレイ、Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) 法などが使用され、個々の目的とする所見のみを得ていた。しかし、NGS 等のゲノム解析技術の進歩により、安価で実施可能となった網羅的ゲノム解析では、目的以外の配列も同時に読み取られることになるため、当初の目的とは別に生殖細胞系列に疾患発症に関連する遺伝子変異が検出されることが想定され、その対応策が議論されてきた。Wolfらは、ゲノム研究において、①生命を脅かす健康状態に関する情報、②回避や改善が見込める深刻な健康状態に関する情報、③生命を脅かす状態に至るような重要なリスクに関する遺伝情報、④生殖の意思決定に用いる遺伝的な情報、のような所見は、対象者が知りたくない場合を除き、偶発的所見として結果開示することを提案した (Wolf et al., 2008)。「偶発的所見 (Incidental Findings: IF)」とは、当初目的とした所見 (primary findings) とは別の目的外の所見として定義されている (Wolf et al., 2008)。

2013年12月の、米国生命倫理問題研究に関する大統領諮問委員会 (Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues: PCSBI) の報告書では、同じように本来の目的を超える所見であったとしても、それが予期されるものであるか否かで区別し、さらに、意図的に探索して発見する所見は、「SF」としてIFとは区別している (Weiner, 2014)。(表 3-1)

表 3-1. 米国生命倫理問題研究に関する大統領諮問委員会 (PCSB) の分類

結果の種類	説明	例
一次的所見	実施者はAを発見しようとし、結果はAに関連する	水痘の予防接種前に、接種歴の不明な子供に免疫があるかどうかを調べる
偶発的所見 (予期可能)	実施者はAを発見しようとし、その検査や処置が行われた場合に関連が知られている結果Bが分かる	生物学的親子関係があると信じている生体肝移植のドナーとレシピエント候補者が、検査によって親子関係がないことが分かる
偶発的所見 (予期不可能)	実施者はAを発見しようとし、その検査や処置が行われた場合との関連が知られていない結果Cが分かる	DTC遺伝子検査を行う会社が、試料採取時には知られていなかった新しく発見された遺伝的関連に基づく健康リスクを同定する
二次的所見	実施者はAを発見しようとし、同時に専門家の勧告を受けてDについても積極的に探索する	ACMGは、大規模な遺伝学的解析を行う検査者は、その臨床的目的によらず、24の疾患関連表現型に関連する変異を検索すべきとした

②二次的所見の対応に関する欧米の状況

ゲノム研究や臨床シークエンスにおける IF/SF の対応については、米国を中心に議論が進められてきた。2012年に ACMG が、臨床におけるゲノム解読に関する政策声明の中で、IF に適切に対応する必要性を示した (ACMG, 2012)。その後、ACMG ワーキンググループで勧告作成に向けた検討を開始し、2013年に臨床 WGS、WES における IF/SF の取り扱いに関する勧告が発表された (Green et al., 2013)。この勧告では、actionable (治療や予防が可能) な 56 遺伝子 24 疾患のミニマムリ

ストが示され、検査者は積極的にリストの遺伝子を検索し、これらの遺伝子に病的なバリエントが判明した場合には、患者の年齢に関わらず、IF/SFとして検査者から担当医に結果を返却すべきであるとした。この勧告は一定の評価を得たものの、患者の「自律性 (autonomy)」や「知らないでいる権利」「子どもの権利」などの面からさまざまな反論が出された (Ross et al., 2013; Anderson et al., 2015)。これらの意見に対する議論を経て、ACMG は 2014 年に、患者の opt-out (拒否権) を認める声明を発表した (ACMG, 2015)。2016 年には ACMG SF v2.0 として改訂版が発表され、ミニマムリストが表 3-2、表 3-3 に示す 59 遺伝子に更新された (Kalia et al., 2017)。また、表記についても IF から SF に統一された。これは、網羅的ゲノム解析によって得られるこれらの所見は、意図的に検索・確認されるためである。現在も、法的、経済的観点を含め、議論が続けられている。米国では現在、網羅的ゲノム解析が臨床に広く用いられており、遺伝情報の結果開示も日常的に行われている。WES あるいは WGS を行っている米国の大手臨床検査会社における調査では、SF は、通常業務として、ACMG ガイドラインを元に施設独自の基準を追加して解析し、結果を返却していると報告されている (O'Daniel et al., 2017)。

ヨーロッパでは、2018 年に、フランス予防・個別化医療協会 (the French Society of Predictive and Personalized Medicine: SFMPP) から、遺伝性腫瘍に関する SF の取り扱いについてのガイドラインが発表された (Pujol et al., 2018)。SFMPP ガイドラインでは、成人発症の遺伝性腫瘍に関する 60 遺伝子について、「Class 1: 病的バリエントが認められた場合、担当医および患者に報告を推奨 (36 遺伝子)」、「Class 2: データやエビデンスが不十分 (5 遺伝子)」、「Class 3: 患者への報告は推奨しない (19 遺伝子)」の 3 つに分類し、患者の自律性や知らないでいる権利の尊重の必要性についても述べられている。

表 3-2. ACMG SF 開示推奨遺伝子リスト(ACMG SF v2.0 の遺伝性腫瘍関連を抜粋)

表現型	OMIM®疾患番号*	発症時期	遺伝子名	遺伝形式
遺伝性乳がん卵巣がん症候群	604370	Adult	<i>BRCA1</i>	AD
	612555		<i>BRCA2</i>	
Li-Fraumeni 症候群	151623	Child/adult	<i>TP53</i>	AD
Peutz-Jeghers 症候群	175200	Child/adult	<i>STK11</i>	AD
Lynch 症候群	120435	Adult	<i>MLH1</i>	AD
			<i>MSH2</i>	
			<i>MSH6</i>	
			<i>PMS2</i>	
家族性大腸腺腫症	175100	Child/adult	<i>APC</i>	AD
MUTYH関連ポリポーシス	608456	Adult	<i>MUTYH</i>	AR
	132600			
若年性ポリポーシス**	174900	Child/adult	<i>BMPRIA</i> <i>SMAD4</i>	AD
Von Hippel-Lindau 症候群	193300	Child/adult	<i>VHL</i>	AD
多発性内分泌腫瘍症1型	131100	Child/adult	<i>MEN1</i>	AD
多発性内分泌腫瘍症2型	171400	Child/adult	<i>RET</i>	AD
	162300			
家族性甲状腺髄様がん	1552401	Child/adult	<i>RET</i>	AD
PTEN過誤腫症候群	153480	Child/adult	<i>PTEN</i>	AD
網膜芽細胞腫	180200	Child	<i>RB1</i>	AD
遺伝性パラングリオーマ・褐色細胞腫症候群	168000	Child/adult	<i>SDHD</i>	AD
	601650		<i>SDHAF2</i>	
	605373		<i>SDHC</i>	
	115310		<i>SDHB</i>	
結節性硬化症	191100	Child	<i>TSC1</i>	AD
	613254		<i>TSC2</i>	
WT1関連Wilms腫瘍	194070	Child	<i>WT1</i>	AD
神経線維腫症2型	101100	Child/adult	<i>NF2</i>	AD

* OMIM®:Online Mendelian Inheritance in Man (ヒトの遺伝子バリエーションと遺伝病のデータベース) での整理番号

** 2016年ACMG v2.0で新たに追加された疾患と遺伝子

AD(autosomal dominant): 常染色体優性、AR(autosomal recessive): 常染色体劣性

表 3-3. ACMG SF 開示推奨遺伝子リスト(ACMG SF v2.0 のがん以外の遺伝性疾患を抜粋)

表現型	OMIM®疾患番号*	発症時期	遺伝子名	遺伝形式
Ehlers-Danlos 症候群 血管型	130050	Child/adult	<i>COL3A1</i>	AD
Marfan症候群、Loeys-Dietz症候群、 家族性胸部大動脈瘤・解離	154700	Child/adult	<i>FBN1</i>	AD
	609192		<i>TGFBR1</i>	
	608967		<i>TGFBR2</i>	
	610168		<i>SMAD3</i>	
	610380		<i>ACTA2</i>	
	613795		<i>MYH11</i>	
肥大型心筋症、拡張型心筋症	611788			
	115197	Child/adult	<i>MYBPC3</i>	AD
	192600		<i>MYH7</i>	
	601494		<i>TNNT2</i>	
	613690		<i>TNNI3</i>	
	115196		<i>TPM1</i>	
	608751		<i>MYL3</i>	
	612098		<i>ACTC1</i>	
	600858		<i>PRKAG2</i>	
	301500		<i>GLA</i>	XL
608758		<i>MYL2</i>	AD	
115200		<i>LMNA</i>		
カテコラミン誘発多形成心室頻拍	604772	Child/adult	<i>RYR2</i>	AD
不整脈原性右室心筋症	609040	Child/adult	<i>PKP2</i>	AD
	604400		<i>DSP</i>	
	610476		<i>DSC2</i>	
	607450		<i>TMEM43</i>	
	610193		<i>DSG2</i>	
Romano-Ward QT延長症候群 1,2,3型、 Brugada症候群	192500	Child/adult	<i>KCNQ1</i>	AD
	613688		<i>KCNH2</i>	
	603830		<i>SCN5A</i>	
	601144			
家族性高コレステロール血症	143890	Child/adult	<i>LDLR</i>	SD
	603776		<i>APOB</i>	SD
			<i>PCSK9</i>	AD
ウィルソン病**	277900	Child	<i>ATP7B</i>	AR
オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症**	311250	Newborn(male), child(female)	<i>OTC</i>	XL
悪性高熱症	145600	Child/adult	<i>RYR1</i>	AD
			<i>CACNA1S</i>	

* OMIM®:Online Mendelian Inheritance in Man (ヒトの遺伝子バリエーションと遺伝病のデータベース)での整理番号

** 2016年ACMG v2.0で新たに追加された疾患と遺伝子

AD(autosomal dominant): 常染色体優性、AR(autosomal recessive): 常染色体劣性

XL(X-linked recessive): X連鎖劣性、SD(autosomal semidominant): 常染色体半優性

③網羅的遺伝子解析による二次的所見の検出頻度

がん患者を対象とした、網羅的遺伝子解析による SF の検出頻度については、海外から複数報告されている (表 3-4)。報告により、対象患者の選択方法や解析検体、評価対象遺伝子数、何をもち「病的」とするかの基準は異なるが、3%~19.7%の頻度で SF が検出されたことが報告されている (Trottier et al., 2019)。

表 3-4. がん組織の遺伝子解析における SF の検出頻度

文献	対象患者	解析検体	評価対象 遺伝子数	患者数	PGVs 検出人数	PGVs 頻度(%)
Jones S (2015)	固形腫瘍 血液腫瘍	腫瘍組織 + 正常組織 ペア解析	85	815	27	3.0
Seifert BA (2016)	固形腫瘍 血液腫瘍	腫瘍組織	36	439	19	4.3
Meric-Bernstam F (2016)	固形腫瘍 リンパ腫	腫瘍組織 + 正常組織 ペア解析	19	1,000	43	4.3
Slavin TP (2018)	固形腫瘍	cfDNA	16	10,888	156	1.4
Mandelker D (2017)	進行 固形腫瘍	腫瘍組織 + 正常組織 ペア解析	76	1,040	205	19.7
Huang K-L (2018)	固形腫瘍 血液腫瘍	腫瘍組織 + 正常組織 ペア解析	152	10,389	853	8.0

PGVs：病的またはおそらく病的な生殖細胞系列バリエント

Trottier AM, et al. Cancer Genet (2019) より改変

④二次的所見の対応に関する国内の状況

二次的所見の取扱いに関する国内の指針に関して、文部科学省、厚生労働省、経済産業省の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」2013年2月改正で「偶発的所見の開示に関する方針に

関する細則」が加えられた。臨床の現場では、NGS による網羅的解析が、基礎研究のみならず、がん、難病、希少疾患等の診断や治療などへの応用が進められる中、IF/SF の対応について議論が進められてきた。2014 年の厚生労働省科学特別研究事業「メディカルゲノムセンター等における個人の解析結果等の報告と、公的バイオバンクの試料・情報の配布に関する論点整理と提言」報告書では、IF に関する用語の定義や、IF の発見から通知に至るまでの手順作成の必要性など多くの検討課題が挙げられた。また、2014 年から開始された AMED ゲノム医療実用化推進研究事業「メディカル・ゲノムセンター等におけるゲノム医療実施体制の構築と人材育成に関する研究」では、臨床医療における IF/SF の患者への返却のあり方について、国内の臨床シークエンサーを行う施設へのアンケート調査や IF/SF についての理論的検討が行われ、2017 年に「偶発的所見・二次的所見への対応についての検討と提言」がまとめられた。2017 年から AMED ゲノム創薬基盤推進研究事業「医療現場でのゲノム情報の適切な開示のための体制整備に関する研究」(小杉班) が開始され、2018 年 3 月に「ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言—がん遺伝子パネル検査と生殖細胞系列全ゲノム/全エクソーム解析について—【初版】」が出された。この提言は、現時点で臨床実装が進む、がん遺伝子パネル検査、難病等の診断及び治療のために実施される生殖細胞系列の WES および WGS を対象とし、検査前説明実施における留意事項やエキスパートパネルなどの検査結果の検討、SF の開示における留意点や遺伝カウンセリング体制について具体的に記載されている。2019 年 3 月には、「ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言—その 1:がん遺伝子パネル検査を中心に (改定版)」及び「ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言—その 2:次世代シークエンサーを用いた生殖細胞系列

網羅的遺伝学的検査における具体的方針（初版）」が出された。「一その1」は、2019年から臨床に導入された、がん遺伝子パネル検査に対応するものであり、「一その2」は、難病などに対するエクソーム解析等を対象としている。同時に、がん遺伝子パネル検査において患者に開示すべきSFのミニマムリストの暫定案（表3-5）も提示された。このミニマムリストでは、未発症者に対するサーベイランスについて日本でのガイドラインが存在すること、血縁者の遺伝学的検査をどの連携・中核病院でも登録衛生検査所に外部委託できること、複数の遺伝子パネル検査に搭載されていること、などを条件に遺伝子が選定され、国内における今日のゲノム医療を取り巻く環境を反映した医療現場における指針案が示された。

表3-5. がん遺伝子パネル検査におけるSF開示遺伝子のミニマムリスト

遺伝子名	疾患名	日本での(未発症者)サーベイランス等の記載
<i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i>	遺伝子乳癌卵巣癌症候群	遺伝性乳癌卵巣癌症候群診療の手引き 2017年版
<i>MLH1</i> <i>MSH2</i> <i>MSH6</i> <i>PMS2</i>	Lynch症候群	遺伝性大腸癌診療ガイドライン 2016年 (大腸癌研究会)
<i>APC</i>	家族性大腸腺腫症	
<i>MEN1</i> <i>RET</i>	多発性内分泌腫瘍症1型 多発性内分泌腫瘍症2型	多発性内分泌腫瘍症診療ガイドブック 2013年
<i>RB1</i>	網膜芽細胞腫	小児がん診療ガイドライン 2016 第5章網膜芽細胞腫
<i>VHL</i>	Von Hippel Lindau 病	VHL病診療ガイドライン

AMED 小杉班 がん遺伝子パネル検査 二次的所見 患者開示 Grade1 ミニマムリスト案より引用

2020年1月には、さらに「一その1」の改訂第2版、「一その2」の改訂版と、がん遺伝子パネル検査二次的所見患者開示 推奨度別リスト(以下 SF開示推奨別リスト) (表3-6) が提示された。「一その1」の改訂第2版では、がん遺伝子パネル検査においてSFが検出された際の確認検査の運用について

て、遺伝子の種類やバリエーションアレル頻度、表現型などを考慮した具体的なフローが示された。また、SF
 開示推奨別リストでは、がん遺伝子パネル検査に搭載されている遺伝性腫瘍・疾患関連遺伝子を中心
 に、開示推奨度と確認検査の必要性がランク分けして示され、エキスパートパネルでの活用が期待され
 る。しかし、実際にSFを扱った実績のある施設は限られており、その取り扱いについて、引き続き検討
 が重ねられている。

表 3-6. がん遺伝子パネル検査における SF 開示推奨度別リスト

遺伝子	主な表現型	開示 推奨度	確認検査の 必要性	遺伝子	主な表現型	開示 推奨度	確認検査の 必要性
<i>APC</i>	家族性大腸腺腫症	AAA	△	<i>POLD1</i>	大腸がん	B	
<i>ATM</i>	乳がん	A	◎	<i>POLE</i>	大腸がん	B	○
<i>BAP1</i>	悪性中脾腫など	B		<i>POT1</i>	黒色腫	B	
<i>BMPRI1A</i>	若年性ポリポーシス	AA		<i>PTEN</i>	PTEN過誤腫	AA	△
<i>BRCA1</i>	遺伝性乳がん卵巣がん	AAA	◎	<i>RAD51C</i>	卵巣がん	A	◎
<i>BRCA2</i>	遺伝性乳がん卵巣がん	AAA	◎	<i>RAD51D</i>	卵巣がん	A	◎
<i>BRIP1</i>	卵巣がん	A	◎	<i>RB1</i>	網膜芽細胞腫	AAA	△
<i>CDH1</i>	びまん性胃がん	AA	○	<i>RET</i>	多発性内分泌腫瘍症2型	AAA	◎
<i>CDK4</i>	黒色腫	B	○	<i>SDHA</i>	遺伝性褐色細胞腫	A	
<i>CDKN2A</i>	黒色腫/膵がん	A	○	<i>SDHAF2</i>	遺伝性褐色細胞腫	AA	◎
<i>CHEK2</i>	乳がん	A	○	<i>SDHB</i>	遺伝性褐色細胞腫	AA	◎
<i>EPCAM</i>	Lynch症候群	AA		<i>SDHC</i>	遺伝性褐色細胞腫	AA	◎
<i>FH</i>	遺伝性平滑筋腫症、腎細胞がん	B	○	<i>SDHD</i>	遺伝性褐色細胞腫	AA	◎
<i>FLCN</i>	Birt-Hogg-Dube症候群	B	○	<i>SMAD3</i>	Loeys-Dietz症候群	A	
<i>MAX</i>	遺伝性褐色細胞腫	B		<i>SMAD4</i>	若年性ポリポーシス	AA	○
<i>MEN1</i>	多発性内分泌腫瘍症1型	AAA	○	<i>STK11</i>	Peutz-Jeghers症候群	AA	△
<i>MET</i>	消化管間質腫瘍 (GIST)	B		<i>TERF2IP</i>		B	
<i>MLH1</i>	Lynch症候群	AAA	◎	<i>TERT</i>	急性骨髄性白血病	B	
<i>MSH2</i>	Lynch症候群	AAA	◎	<i>TGFBR1</i>	Loeys-Dietz症候群	A	
<i>MSH6</i>	Lynch症候群	AAA	◎	<i>TBFB2</i>	Loeys-Dietz症候群	A	
<i>MUTYH</i>	MUTYH関連ポリポーシス	AA	◎	<i>TMEM127</i>	褐色細胞腫	B	
<i>NBN</i>	乳がん	A		<i>TP53</i>	Li-Fraumeni症候群	AA	△
<i>NF1</i>	神経線維腫症1型	A	△	<i>TSC1</i>	結節性硬化症	AA	○
<i>NF2</i>	神経線維腫症2型	AA	○	<i>TSC2</i>	結節性硬化症	AA	◎
<i>PALB2</i>	乳がん	AA	◎	<i>VHL</i>	Von Hippel-Lindau病	AAA	◎
<i>PMS2</i>	Lynch症候群	AAA	◎	<i>WT1</i>	Wilms腫瘍	AA	○

開示推奨度：AAA（国内診療ガイドラインあり、ミニマムリスト版遺伝子）>AA>A>B（一論文のみで開示推奨）

確認検査の必要性：◎…必ず実施、○…できるだけ実施、記載なし…可能なら実施、△…臨床的に疑う場合のみ実施

AMED 小杉班 がん遺伝子パネル検査二次的所見患者開示 推奨度別リスト (Ver2.0_20191210) より一部改変

3.2 本研究の目的

本研究では、がんゲノム医療の先行研究として行われた、静岡がんセンター「プロジェクト HOPE」症例を対象に、SF の検出頻度を明らかにし、全国に先駆けて、患者への SF 結果開示を実施する中で、その開示手順や院内における情報共有の方法を検討し、遺伝カウンセリングのシステムがどうあるべきかを明らかにすることを目的とした。

3.3 本研究における「二次的所見」の定義

プロジェクト HOPE における SF とは、PCSBI の報告書の分類に従い、被験者の生殖細胞系列遺伝子の意図的な探索により、表 3-7 に示す遺伝性腫瘍遺伝子 38 遺伝子 (Tamura et al., 2004) と、ACMG SF v2.0 に基づくがん以外の遺伝性疾患遺伝子 34 遺伝子 (表 3-3) に病的なバリエントを有することが明らかになることと定義した。これらの遺伝子バリエントが確認された場合、希望者に結果を開示した。

表 3-7. プロジェクト HOPE で希望者に結果を開示する遺伝性腫瘍関連遺伝子リスト

疾患	原因遺伝子
優性遺伝する疾患	
1. がん抑制遺伝子	
a. 神経、感覚器、皮膚、腎、泌尿器	
網膜芽細胞腫	<i>RB1</i>
神経線維腫症1型 (NF1)	<i>NF1</i>
神経線維腫症2型 (NF2)	<i>NF2</i>
結節性硬化症	<i>TSC1</i> <i>TSC2</i>
WT1関連Wilms腫瘍	<i>WT1</i>
von Hippel-Lindau病	<i>VHL</i>
家族性黒色腫	<i>CDKN2A / P16</i> <i>TOE1</i>
家族性皮膚基底膜細胞がん	<i>PTCH</i>
b. 内分泌	
多内分泌腺腫瘍症1型 (MEN1)	<i>MEN1</i> <i>SDHD</i>
遺伝性褐色細胞腫・パラガングリオーマ症候群	<i>SDHAF2</i> <i>SDHC</i> <i>SDHB</i>
c. 四肢	
多発性外骨腫	<i>EXT1</i> <i>EXT2</i>
d. 消化器	
家族性胃がん	<i>CDH1</i>
家族性大腸腺腫症 (FAP)	<i>APC</i>
Peutz-Jeghers症候群	<i>STK11/LKB1</i> <i>SMAD4/DPC4</i>
若年性ポリポーシス	<i>BMPR1A</i>
PTEN過誤腫症候群	<i>PTEN</i>
e. 多臓器	
Li-Fraumeni症候群	<i>TP53</i> <i>CHEK2</i>

表 3-7. プロジェクト HOPE で希望者に結果を開示する遺伝性腫瘍関連遺伝子リスト (続き)

疾患	原因遺伝子
優性遺伝する疾患	
2. がん遺伝子	
多内分泌腺腫瘍症2型 (MEN2)	<i>RET</i>
家族性甲状腺髄様がん (FMTC)	<i>RET</i> <i>NTRK1</i>
遺伝性乳頭状腎細胞がん	<i>MET</i>
消化器間質細胞腫 (GIST)	<i>KIT</i>
3. DNA修復関連遺伝子	
	<i>MLH1</i>
Lynch症候群	<i>MSH2</i> <i>MSH6</i> <i>PMS2</i>
遺伝性乳がん卵巣がん症候群 (HBOC)	<i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i>
劣性遺伝する疾患	
1. DNA修復関連遺伝子	
a. 消化器	
MUTYH関連ポリポーシス	<i>MUTYH</i>
X染色体に連鎖する疾患	
X連鎖リンパ増殖症候群	<i>SH2D1A</i>

3.4 対象と方法

①対象者

本研究の対象者は、プロジェクト HOPE に参加同意して当院で腫瘍摘出手術を受け、2015年3月末までに生殖細胞系列の解析を終えた1,058名とした。参加同意を得たのは1,163名であったが、105名(約9%)は、手術で腫瘍組織が採取できなかった、腫瘍組織が小さく研究用に検体を供せなかった、患者の意思が変わった、などの理由で参加を中止した。1,058症例の内訳を表 3-8 に示す。年齢は

65.6±12.9 歳 (11～90 歳)、男性 614 人 (58.0%)、女性 444 人 (42.0%) であった。がん種は、大腸・直腸がん症例が 33.6%と最も多く、次いで肺がん症例 16.9%、胃がん症例 12.2%であった。

表 3-8. 2015 年 3 月末までに生殖細胞系列の解析を終えた 1,058 症例の内訳

	男性	女性	計
対象者 (人)	614	444	1,058
年齢*	66.5 ± 12.0	64.4 ± 14.0	65.6 ± 12.9 (11-90歳)
がん種 (原発)			
大腸	218	137	355 (33.6%)
肺	110	69	179 (16.9%)
胃	92	37	129 (12.2%)
頭頸部	65	26	91 (8.6%)
乳腺	0	80	80 (7.6%)
肝	49	13	62 (5.9%)
膵	15	14	29 (2.7%)
腎	8	7	15 (2.7%)
その他	57	61	118 (11.2%)

* 年齢は平均 ± 標準偏差で示す。

②倫理的配慮

対象者への IC (小児の場合はインフォームドアセント) は、担当医により手術前の外来時や入院時に共通の説明文書を用いて行った。CGC が必要に応じて IC の補助を行い、最終的に本人から文書での同意を得た。小児の場合は、小児用の説明文書を用いて担当医が説明を行い、文書による本人の同意と親権者の代諾を得た。遺伝子解析結果開示希望の有無、結果開示前に本人が死亡するなど、本

人が結果を聞けなかった場合に結果を伝えて欲しい血縁者の氏名、続柄、連絡先も確認した。同意の撤回はいつでも可能であることも説明した。説明は、原則、家族同席のもとで行った。担当医の説明後、不明な点や質問がある場合は、CGC が個別に対応した。

説明文書には、研究の目的、方法、希望者に結果を開示する遺伝子・遺伝性疾患のリスト、研究参加の利益と不利益、個人情報保護、相談窓口などを記載した。遺伝性がんについては、患者本人の今後のがんの予防や早期発見、血縁者のがんの予防や早期発見につながる可能性がある反面、将来の発病に対する不安や、結婚・保険加入などの社会的な不利益を被る可能性などを記載した。ACMG SF v2.0 に基づくがん以外の遺伝性疾患については、さらに、Ehlers-Danlos 症候群（血管型）、Marfan 症候群、肥大型心筋症、拡張型心筋症、不整脈原性右室心筋症、カテコラミン誘発多性形心室頻拍、QT 延長症候群、Brugada 症候群、家族性高コレステロール血症、および悪性高熱症について、疾患ごとに症状や治療方法、予防方法などを記載した文書も添付した。SF の結果開示については、開示を希望する場合、臨床遺伝専門医、CGC による遺伝カウンセリングの中で結果を説明し、今後のサーベイランスや血縁者への対応について相談すること、開示を希望しない場合、原則、開示は行わないが、本人や血縁者がその結果を知ることが有益であると判断された場合、臨床研究倫理審査委員会で検討する旨を記載した。

結果開示の希望の有無は、同意書の記載をもとに判断した。しかし、同意書記入のタイミングが、がんの診断～手術前までの、患者に精神的余裕がない時期であることを考慮し、実際の SF 開示にあたっては、担当医による再確認に加え、CGC が再度、生殖細胞系列遺伝子バリエントの意義などを説明

した上で、慎重に意思確認を行った。

検体は個人情報管理室で匿名化し、研究所にて解析を行った。プロジェクト HOPE に関する不安や悩みなどの相談がある場合には、遺伝外来または院内に設置されている「よろず相談」窓口で対応した。

③生殖細胞系列全エクソン解析

血液検体は手術時に麻酔科医が採取し、個人情報管理室を経て研究所に受け渡した。研究所で末梢血白血球より DNA を抽出し、Nagashima らの文献 (Nagashima et al., 2016) で報告されているように、Ion Proton AmpliSeq Exome Kit (Catalog No. 4487084, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA) を利用して WES を行った。

3.5 結果

①二次的所見の開示手順と遺伝カウンセリングシステム

SFの開示を行う上での、部署ごとの担当業務と、開示手順の検討を行った。以下にその結果を示す

(図 3-1)。

部署	担当業務	スタッフ	区分
各診療科	<ul style="list-style-type: none"> 対象者の選定 インフォームド・コンセント インフォームド・アセント 検体採取 	医師 看護師	臨床
個人情報管理室	<ul style="list-style-type: none"> 検体の連結可能匿名化 	個人情報管理室スタッフ	
診療情報管理室	<ul style="list-style-type: none"> 同意文書の確認・管理 	診療情報管理者	
研究所	<ul style="list-style-type: none"> 末梢血白血球由来DNAを用いた全エクソン解析 データ解析・解釈 報告書作成・送付 	ゲノム研究者 NGS技術者 生物統計家	研究
個人情報管理室	<ul style="list-style-type: none"> 報告書の匿名化解除 	個人情報管理者	臨床
遺伝外来	<ul style="list-style-type: none"> 解析結果のデータベース照合 家族歴・既往歴の確認 臨床遺伝専門医と相談 患者向け報告書作成 担当医に連絡、開示の日程調整 結果開示の遺伝カウンセリング 外部検査機関での確認検査 検診マネジメント 血縁者検査希望への対応 	臨床遺伝専門医 認定遺伝カウンセラー 各診療科医師	
よろず相談	<ul style="list-style-type: none"> 疑問点・不安への対応 	医療ソーシャルワーカー	

図 3-1. プロジェクト HOPE 生殖細胞系遺伝子解析と SF 結果開示の流れ

プロジェクト HOPE は、研究参加のインフォームド・コンセントから検体採取、研究所での解析、そして患者への結果の返却とその後の対応まで、静岡がんセンター病院・研究所のスタッフ約 200 名の多職種連携により実施した。

1) 研究所の担当業務

SF 開示の対象とした遺伝性腫瘍に関与する 38 遺伝子と、ACMG SF v2.0 に基づくがん以外の遺伝性疾患 34 遺伝子について、ClinVar や HGMD 等の複数のデータベースを参照し、バリエントの病原性を検索した (2015 年 7 月参照)。データベース参照時点で「病的 (Pathogenic) 」または「病的と思われる (Likely pathogenic) 」と分類されているバリエントが検出された場合、研究所で Sanger シークエンシング法により再確認を行った上で、報告書を作成し、個人情報管理室にデータ形式で送付した。

2) 個人情報管理室の担当業務

研究所からデータで送られた生殖細胞系遺伝子バリエントの報告書は、個人情報管理室で匿名化解除を行い、紙媒体で CGC に直接受け渡した。

3) 遺伝外来の担当業務

個人情報管理室から受け取った報告書は、CGC が各患者の電子カルテ内の、遺伝外来スタッフのみ閲覧可能な制限が設けられた領域に取り込んだ。報告書の内容について、遺伝外来にて患者のがん種や既往歴、家族歴などの情報とともに病的意義を再度検討後、担当医に連絡した。患者の体調や治療の状況を考慮しながら、外来受診時に担当医が開示の意思を再度確認し、開示希望があれば、遺伝外来で開示を実施した。

結果開示の遺伝カウンセリングの際には、CGC が結果開示の意思の最終確認を行った上で、バリア

ントが検出された遺伝子と関連疾患の概要を説明し、詳細な家族歴の確認を行った。研究と臨床を区別する必要性 (Knoppers et al., 2015) を患者に説明し、患者の同意のもと、再度採血を行って外部検査機関での確認検査を行った。確認検査で病的バリエーションの存在を確認した後は、臨床として、通常の遺伝外来と同様のシステムを用いて患者・血縁者の継続的支援を行った。確認検査後、診療に生かすべきと判断される生殖細胞系列遺伝情報は、電子カルテの閲覧権限をすべての常勤医師まで広げ、複数の診療科で情報を共有した。ACMG SF v2.0 で開示が推奨されているがん以外の遺伝性疾患は、循環器疾患が大半を占めるため、それらの遺伝子に病的バリエーションが検出された場合、患者の希望に応じて当院の循環器内科を紹介した。また、プロジェクト HOPE 研究を開始するに当たり、慶應義塾大学病院循環器内科とも連携しており、当院で対応が難しい遺伝性疾患が確認された場合には、遺伝外来から同院同科を紹介した。本人が結果開示を希望していなくても、その情報を知ることが患者本人や血縁者の利益になる可能性がある場合、担当医、臨床遺伝専門医、および CGC で検討した。開示すべきと判断が一致した場合は、静岡がんセンター臨床研究倫理委員会で審議した。

4) よろず相談の担当業務

SCC では、がん患者やその家族の不安や悩みなどに対応するために、専任の医療ソーシャルワーカーが対応する「よろず相談」窓口を設置しており、プロジェクト HOPE について定期的に会議を行い、患者や血縁者が疑問点などを気軽に相談できる窓口として、連携して対応した。

②二次的所見開示希望の割合

生殖細胞系列の遺伝子解析を終了した 1,058 名の同意取得状況と、同意書に記載された結果開示希望の割合を図 3-2 に示す。研究参加を継続した患者の 64%は、遺伝子解析結果を知りたいとの意向を示し、遺伝情報を自身や血縁者の健康維持に役立てたいと遺伝子解析結果開示を希望した。

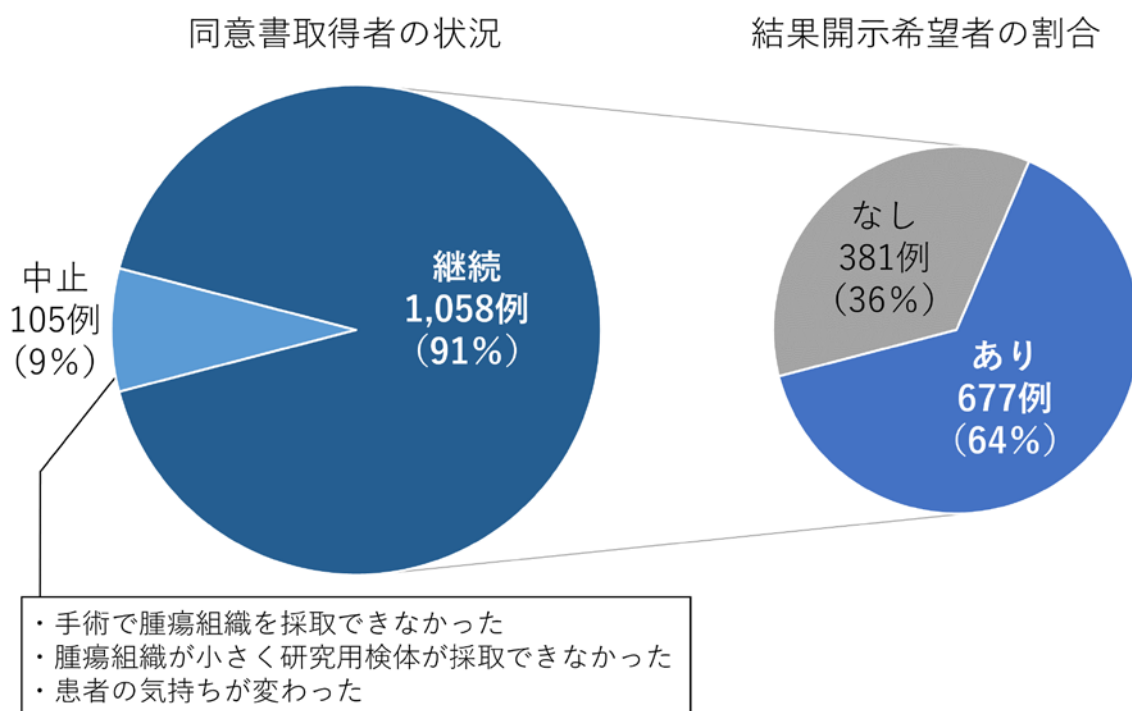


図 3-2. プロジェクト HOPE 参加同意取得状況と開示希望の割合

研究参加に同意した 1,163 名のうち、約 91% (1,058 名) が研究を継続し、同意取得時点で 64%の患者が自身の遺伝情報についての結果開示を希望した。

③二次的所見の頻度と開示

1) 遺伝性腫瘍関連遺伝子

1,058 名中、遺伝性腫瘍関連遺伝子の病的バリエントを7 遺伝子 11 名 (参加者全体の約 1%) に認めた。その詳細を表 3-9 に示す。11 名中、開示希望者は 11 名 (うち 3 名は、担当医による意思確認で、開示希望なし から ありに変更)、2017 年 2 月中旬までに 11 名全員に結果を開示した。11 名中 1 名は結果開示後に現病悪化のため死亡した。11 名中 6 名が確認検査を希望し、すべてにプロジェクト HOPE で検出された遺伝子バリエントと同様のバリエントが検出された。確認検査結果をもとに 3 家系 10 名が血縁者検査を受けた。確認検査で病的な遺伝子バリエントが検出された患者本人および血縁者のうち、希望者については、各遺伝性腫瘍症候群の検診マネジメントのガイドラインに沿って院内でサーベイランスを継続している。遠方在住の血縁者については、居住地域の遺伝部門を備えた施設に紹介し、サーベイランスを依頼した。

確認検査で HBOC に関する病的な遺伝子バリエントを有することが確定した患者のうち 1 名が、リスク低減卵巣卵管切除 (Risk Reducing Bilateral Salpingo-Oophorectomy:RRSO) を希望し、複数回の遺伝カウンセリングと婦人科医による説明の後、2019 年 6 月に RRSO を実施した。病理検査で悪性所見は認められなかった。

本人の確認検査について、11 名中 2 名は、関連する遺伝性腫瘍の既往歴や家族歴がないこと、家族に反対されたことを理由に希望なしの意思表示をした。さらに、11 名中 3 名は、家族との相談を希望したため一旦保留とし、2019 年 12 月現在も定期的に遺伝カウンセリングを行い、希望に対応できるよう

支援を継続している。

遺伝性腫瘍関連遺伝子の病的バリエントが認められた 11 名中、関連する遺伝性腫瘍症候群を疑う既往歴や家族歴がある症例は 6 例、ない症例は 5 例であり、約半数が、SF 開示により初めて判明した、隠れた遺伝性腫瘍症候群患者であった。なお、プロジェクト HOPE 研究参加から SF 開示までに要した期間は約 1 年であった。

2) がん以外の遺伝性疾患関連遺伝子

1,058 例中、ACMG SF v2.0 に基づくがん以外の遺伝性疾患遺伝子の病的バリエントを、4 遺伝子 6 名 (参加者全体の約 0.6%) に認めた。表 3-10 に、その詳細を示す。6 名中、開示希望者は 5 名 (1 名は、担当医による意思確認で、開示希望なし→ありに意思変更)、2017 年 6 月中旬までにこの 5 名に結果を開示した。6 名中 1 名は、担当医による意思確認で開示を希望し、遺伝カウンセリングを受診したが、CGC により、生殖細胞系列遺伝情報を知ることの意味について再度説明後、最終的な意思確認を行ったところ、結果を受け止めることができるかどうか不安が生じ、開示希望なしに意思変更した (症例 14)。確認検査については、1 名が希望なし、4 名が保留しており、この 4 名については、現在も遺伝カウンセリングによる継続的支援を行っている。

症例 12 では、Marfan 症候群の原因遺伝子である、*FBNI* 遺伝子の病的バリエントが報告された。Marfan 症候群は、臨床診断基準が確立している疾患であるが、研究所からの SF の報告を受けた時点でのカルテ情報からは、Marfan 症候群を疑うような既往歴、家族歴の記載は確認できなかった。しか

し、文献では、重症の Marfan 症候群症例から症例 12 と同様のバリエントが検出されており (Wang et al., 1997)、臨床遺伝専門医と CGC で検討し、詳細な情報収集を行う必要があると判断した。本人の開示希望を確認した上で結果を開示し、既往歴、家族歴の聞き取りを行ったが、本人に骨格異常や心血管症状は無く、Marfan 症候群関連症状の家族歴もなかった。唯一、本人に白内障の既往があるものの高齢発症であり、検出された *FBNI* 遺伝子バリエントとの関連は不明であった。遺伝カウンセリングで Marfan 症候群の概要を説明し、確認検査と専門施設でのサーベイランスを提案したが、本人が 78 歳と高齢であること、Marfan 症候群を疑うような家族歴がないことを理由に希望しなかった。なお、本症例の腫瘍細胞にも同様の *FBNI* 遺伝子バリエント検出されている。

家族性高脂血症の原因遺伝子である *LDLR* 遺伝子の病的バリエントが報告された 2 症例 (症例 13、症例 14) は、カルテ情報から、2 症例とも過去に高脂血症の診断を受けており、他院で薬物治療を受けていることを確認した。症例 13 は、血縁者同席で結果の開示を受けたものの、家族性高脂血症は臨床診断基準が確立しており、診断に遺伝学的検査は必須ではない (家族性高コレステロール血症診療ガイドライン 2017) ことから、確認検査は希望しなかった。症例 14 は、「結果を聞いたら色々考え込んでしまうかもしれない」「聞くのが怖い」と話し、開示を希望しなかったため、本人の希望を尊重し、現時点でそれ以上の介入は行っていない。

家族性肥大型心筋症の遺伝子バリエントが検出され、結果を開示した 3 症例 (症例 15、症例 16、症例 17) のうち、既に本人が肥大型心筋症と診断されているのは症例 16 のみであった。症例 15 と症例 17 は、過去の検診でも心雑音や心電図異常を指摘されたことはなく、当院での術前の心電図でも異常

は見られなかった。3 症例とも明確な家族歴は無く、症例 17 は両親が 80 代で急死しているとのことであったが、詳細は不明であった。遺伝カウンセリングで、突然死の可能性や、専門医による定期的な経過観察の必要性、血縁者への情報提供について説明し、確認検査を提案した。高齢であること、家族歴がないこと、心配だったのはがんの遺伝であり、がん以外の病気についてはそれほど心配していないこと、などを理由に、3 症例とも確認検査は保留したが、血縁者との情報共有の意思を示した。症例 16 と症例 17 は、当院循環器内科での経過観察の提案を受け入れ、定期的に心機能のチェックを行っており、その都度、循環器内科医からも血縁者の検診の必要性を説明している。

がん以外の遺伝性疾患関連遺伝子の病的バリエーションが認められた 6 名中、関連する遺伝性疾患の既往歴や家族歴がある症例は 3 例、既往歴や家族歴がない、または不明な症例は 3 例であり、半数が、SF 開示により初めて判明した。

表 3-9. 遺伝性腫瘍関連遺伝子の病的バリエーションが報告された症例

No	がん種	年齢	性別	遺伝子名	DNA変異	アミノ酸変異	rs番号	ClinVar HGMD [®] 2015	遺伝性腫瘍名	家族歴	開示希望	確認検査希望	サーベイランス希望	血縁者との情報共有の意思
1	膵内分泌腫瘍	45	M	<i>MEN1</i>	c.1505dupA	p.Leu504Profs*27	rs1064793371	P	DM	あり	あり	あり	なし	なし
2	下行結腸がん	53	F	<i>EXT2</i>	c.778G>A	p.Asp260Asn	rs121918280	P	DM	あり	あり	保留	なし	あり
3	膵がん	85	F	<i>PTEN</i>	c.701G>A	p.Arg234Gln	rs121909235	P	DM	なし	あり	あり	あり	あり
4	胃がん	68	M	<i>NTRK1</i>	c.2020G>T	p.Asp674Tyr	rs80356677	P	DM	なし	あり	なし	なし	あり
5	S状結腸がん	73	F	<i>MLH1</i>	c.1153C>T	p.Arg385Cys	rs63750760	LP	DM	なし	あり	保留	なし	あり
6	盲腸がん	52	F	<i>MLH1</i>	c.2041G>A	p.Ala681Thr	rs63750217	P	DM	あり	なし→あり	あり	あり	あり
7	直腸がん	71	M	<i>BRCA1</i>	c.5096G>A	p.Arg1699Gln	rs41293459	LP	DM	詳細不明	あり	なし	なし	あり
8	乳がん	62	F	<i>BRCA1</i>	c.188T>A	p.Leu63*	rs80357086	P	DM	あり	なし→あり	あり	あり	あり
9	肺がん	69	M	<i>BRCA1</i>	c.5566C>T	p.Arg1856*	rs41293465	P	DM	なし	あり	保留	なし	あり
10	乳がん	76	F	<i>BRCA1</i>	c.188T>A	p.Leu63*	rs80357086	P	DM	あり	あり	あり	あり	あり
11	乳がん	64	F	<i>BRCA2</i>	c.9076C>T	p.Gln3026*	rs80359159	P	DM	あり	なし→あり	あり	あり	あり

rs 番号 : 米国生物工学情報センター (National Center for Biotechnology Information : NCBI) の遺伝子多型データベース dbSNP で用いられている一塩基多型 (single nucleotide polymorphism : SNP) の ID 番号

HGMD[®] : Human Gene Mutation Database, M : 男性, F:女性, P : Pathogenic, LP : Likely Pathogenic, DM : Disease causing mutation

表 3-10. ACMG SF v2.0 に基づくがん以外の遺伝性疾患遺伝子の病的バリエーションが報告された症例

No	がん種	年齢	性別	遺伝子名	DNA変異	アミノ酸変異	rs番号 [#]	ClinVar, HGMD [®] 2015	関連疾患	関連疾患の既往	関連疾患の家族歴	開示希望	確認検査希望	血縁者との情報共有の意思
12	直腸がん	78	M	<i>FBN1</i>	c.3128A>G	p.Lys1043Arg	rs137854472	P	DM	Marfan 症候群	なし	なし→あり	保留	あり
13	子宮体がん	76	F	<i>LDLR</i>	c.1291G>A	p.Ala431Thr	rs28942079	P/LP	DM	家族性 高脂血症	あり	なし→あり	なし	—
14	下行結腸がん	75	M	<i>LDLR</i>	c.1291G>A	p.Ala431Thr	rs28942079	P/LP	DM	家族性 高脂血症	あり	あり→なし	—	—
15	胃がん	86	M	<i>MYH7</i>	c.1322C>T	p.Thr441Met	rs121913653	LP	DM	家族性 肥大型心筋症	なし	あり	保留	あり
16	S状結腸がん	81	F	<i>MYH7</i>	c.2221G>C	p.Gly741Arg	rs121913632	P	DM	家族性 肥大型心筋症	あり	あり	保留	あり
17	肺がん	67	M	<i>TNNI2</i>	c.358T>A	p.Phe120Ile	rs121964858	P	DM	家族性 肥大型心筋症	なし	不明	保留	あり

#rs 番号：米国生物工学情報センター（National Center for Biotechnology Information：NCBI）の遺伝子多型データベース dbSNP で用いられている一塩基多型（single nucleotide polymorphism：SNP）の ID 番号

HGMD[®]：Human Gene Mutation Database、M：男性、F：女性、P：Pathogenic、LP：Likely Pathogenic、DM：Disease causing mutation

3.6 考察

①二次的所見結果開示を受けた患者の反応

SF は、医療者、検査者側から見れば予期可能なものであるが、検査を受ける患者・家族側から見れば、事前の IC の内容や理解の仕方、その時点での家族歴や既往歴などにより、その受け取り方は異なると考えられる。これまでに、SF の結果を受け取った患者や血縁者からは、「自分のことを知っておくことは、大事なことだと思う」「今後、がん検診を受けるモチベーションになった」「自分と同じ思いをさせないように、家族にも検診をしっかり受けるよう伝えたい」といった言葉が多く聞かれた。SF の結果を受け取った患者の 87.5%(14/16 人) は、自身の確認検査または血縁者との情報共有の意思を示し、前向きに自身の遺伝情報と向き合うことができていると考えられた。特に、プロジェクト HOPE で判明した遺伝性腫瘍に関連したがんを発症し、家系内にも関連がんが集積している患者・血縁者からは、「家系内にもがんが多く疑問に思っていたが、結果を聞いて納得できた」「がんになる前に分かっていたら、もっと気を付けることができたのに」といった言葉が聞かれた。プロジェクト HOPE で判明した遺伝性腫瘍、遺伝性疾患の既往や家族歴がない場合は、自身の生殖細胞系遺伝情報を知ったものの、それを臨床に用いるための確認検査については保留する患者が多かったが、「家族とよく相談してから考えたい」「自分はまだ歳だから確認検査は希望しないけど、子どもが希望したら、その時に自分も確認検査を受ける」といったように、ほとんどの患者が SF の結果を血縁者と共有し健康管理に役立てることを検討していた。年齢や家族構成、本人の治療状況や家族歴など、患者が抱える心理社会的背景や、疾患に対する考え方は様々である。本人や血縁者のライフステージの変化により、気持ちも変化する可能性が考えられ

るため、今後も定期的に遺伝カウンセリングを行い、本人の希望や家族歴の変化などの確認を継続する必要がある。また、現時点で結果開示希望がない患者についても、電子カルテ上で情報を共有し、将来の意思変更に対応できるよう準備しておく必要がある。SFの結果を開示した16名中1名は、「今は治療でいっぱい、これ以上悪い話は聞きたくない」と、ネガティブな反応を示した。この患者は、SFの結果開示が、体調の悪化や治療で気持ちに余裕がない時期に重なってしまったことが、ネガティブな反応を示した要因の一つと考えられた。SFの結果開示が患者の精神的負担に繋がらないよう、今後は、より慎重な意思確認を行うとともに、担当医と連携して開示のタイミングについても慎重に推し量る必要がある。

②二次的所見の対応に求められる院内体制

SFの対応については、各所で検討会が開催され、慎重な対応が求められている。プロジェクトHOPEにおけるSFの患者への開示は、国内で前例のない試みであり、疑問点が生じる度に研究計画書に立ち返り、研究所と病院関係者で検討を重ね、時には倫理専門家に意見を仰ぎながら慎重に結果開示を進めてきた。その経験から、SFの対応に求められる事項や院内体制について考察する。

SFの開示において、もっとも重要なのは、SFを知るの意味について十分に説明し、理解を得た上で、その時点の患者本人の意思を最大限尊重することであると考えられる。プロジェクトHOPEにおけるSF開示の意思確認は、①研究参加前（同意書）、②手術後の担当医外来、③開示を希望して受診した遺伝カウンセリング、と、最低3回行っている。担当医外来では、患者をよく知る担当医が、SF開示の

意思確認と同時に患者の判断能力についても評価し、状況により血縁者同席の必要性などを判断している。遺伝外来では、生殖細胞系列遺伝情報を知ることの意味や、血縁者への影響などについて、CGC が丁寧に説明した上で、意思の最終確認を行っている。担当医や CGC による再確認で意思が変わる場合も少なくなく、実際に、本研究対象者で SF が報告された患者 17 名のうち、同意時点では結果開示を希望していなかったが、その後、結果を知りたいと意思が変わった患者が 5 名、反対に、同意書では結果開示を希望していたが、その後、結果を知りたくないと思いが変わった患者が 1 名おり、35%(6/17 名) の患者が当初の意思を変更した。また、自分が同意書に結果開示の意思をどのように記載したか覚えていない患者も多かった。患者が同意書を記入するタイミングは、手術前の他の様々な説明同意も重なる。また、SF は、あくまで「本来の目的外の所見」であり、研究参加前の説明時に、本来の目的に加え、SF についても患者や家族が正確に理解することは困難な場合もある。実際の SF 結果開示前に、患者の理解力・判断能力の確認、意思決定に必要な十分な情報提供がなされているか、正しい理解が得られているかを確認した上で、患者の自己決定を促すことが重要であると考ええる。

また、患者・家族—医療者の信頼関係や、日頃から院内の多職種連携が取れていることも、SF の対応を円滑に行う上で重要な要素であると考ええる。SCC は、初診患者の約 90% が静岡県内在住者という地域密着型の病院であり、初診から手術、その後の経過観察まで継続して通院する患者が多く、同じ担当医が長期に渡って患者・家族と関わる。SCC では、生殖細胞系列遺伝情報という、本人だけに留まらず血縁者にも影響を及ぼす可能性のあるデリケートな情報を、患者の性格や病状、家族の状況などをよく知る担当医や看護師と、遺伝外来スタッフが密に連携することで、開示のタイミングを見極め、

血縁者も含めたその後の支援を継続的に行うことができるよう体制を整えている。

SF に対応するにあたり、一般の遺伝性腫瘍に対する遺伝子診療体制が整っていること、人員が確保されていることも重要である。SCC は、2012 年に遺伝外来が発足し、現在、臨床遺伝専門医 2 名、CGC3 名が勤務している。日常的に遺伝性腫瘍患者の遺伝カウンセリングやサーベイランスを行っているため、SF がきっかけで遺伝性腫瘍症候群が判明した患者についても、確定診断後は、通常の院内の遺伝性腫瘍診療と同様のシステムで本人のサーベイランスや血縁者検査などに対応することが可能である。また、院内には「よろず相談」など患者・家族が気軽に相談しやすい窓口が設けられており、常駐する医療ソーシャルワーカーは、がん専門相談員としてゲノム医療相談支援の研修を受講し、患者・家族の相談を受けた際、必要時に遺伝専門スタッフに繋ぐ役割も担っている。また、SF 返却対象に、院内での対応が難しい遺伝性疾患関連遺伝子が含まれている場合には、予め院外の専門施設、専門医と連携体制を整えておく必要がある。

3.7 今後の課題と展望

プロジェクト HOPE で SF が報告され、結果を開示したものの確認検査を保留している患者への積極的な介入はできていない。このような患者にどの程度介入すべきか、血縁者も含め今後の対応について検討が必要である。

また、症例 12 の *FBN1* 遺伝子病的バリエーションのように、データベース上では病的 (Pathogenic) バリエーションであるものの、本人に対象となる疾患の症状がなく、家族歴もない症例も経験した。Marfan 症候

群のように臨床的診断基準が確立している疾患で、特徴的な症状が見られない場合、データベースの情報のみで病的であると判断して良いか、結果を開示すべきか否か、などについて、今後は、疾患の表現度や浸透率なども評価可能な専門家も含めた、より幅広い職種で構成したエキスパートパネルでの検討が必要である。症例 12 の場合、SF 結果を開示したものの確認検査の希望がなく、本人のサーベイランスや血縁者検査等の臨床に繋げることができなかった。プロジェクト HOPE における再採血による確認検査は、SF 開示後、患者の同意を得て実施しているためである。Marfan 症候群は actionable な疾患であり、診断を付けた上で適切なサーベイランスに繋げることが望ましいが、確認検査ができない場合にアプローチが難しいことを考え、今後、再採血による確認検査実施を前提とした SF 開示とする案も検討している。

プロジェクト HOPE 参加者の多くは、その後も継続して当院に通院するが、手術後に転院する患者もいる。遺伝性疾患は、患者や家族を長期的に医学的・心理社会的に支援する必要があるため、一つの施設内の体制だけでなく、地域の医療施設との連携、日本国内の遺伝医療ネットワークも重要である。また、SF の開示にあたっては、担当医や遺伝外来スタッフだけでなく、院内のすべての医療スタッフが遺伝情報の意味を理解して取り扱い、連携して取り組むことが重要である。医療スタッフに対する遺伝情報の適切な取り扱いについての教育や、医療スタッフ間での遺伝情報の共有システムの構築に、CGC の知識や経験を生かすことができると考える。今後のがんゲノム医療における SF 対応や患者・血縁者支援のため、CGC の増員、および遺伝医療の地域格差が生じないような適切な人員配置とともに、医学部、薬学部、看護師養成課程などにおける遺伝医学教育の充実も求められる。

第2部 小括

第2部では、プロジェクト HOPE において CGC として SF に対応し、実際に患者への開示を行う中で、その開示手順や多職種連携体制を検討し、SF 対応に求められる院内体制と適切な遺伝カウンセリングシステムの構築を試みた。

遺伝という言葉は、日常ネガティブな印象で捉えられがちであるが、治療・予防に役立つ遺伝情報については、患者の半数以上が自身・血縁者の健康のために遺伝情報を役立てたいと考えていることが本研究において明らかになった。本研究では、SF を参加者全体の 1.6%(遺伝性腫瘍:1.0%、がん以外の遺伝性疾患:0.6%) に認めた。SF が検出された症例の 47%(8/17 人) が、検出された遺伝子バリエーションに関連する遺伝性疾患の既往歴や家族歴がない症例であった。SF の結果を受け取った患者の 87.5%(14/16 人) は、自身の確認検査または血縁者との情報共有の意思を示し、前向きに自身の遺伝情報と向き合うことができていると考えられた。SF の結果を開示した 16 名中 1 名は、SF を「悪い話」としてネガティブに捉えた。SF の結果開示が、身体的、精神的余裕のない時期に重なってしまったことが、その要因の一つと考えられた。SF の結果開示が患者の精神的負担に繋がらないよう、今後は、より慎重に開示のタイミングを推し量るとともに、患者および血縁者の適切な健康管理に繋げることができるよう、遺伝カウンセリングでの丁寧な情報提供と継続的な支援を行う必要がある。SF の対応には、①患者や家族をよく知る担当医や担当看護師による開示のタイミングの見極め、②複数回の慎重な意思確認、③開示対象としている遺伝性疾患に対する診療体制、または、紹介体制が整っていること、④多職種による患者・家族の長期支援体制、および⑤相談窓口の明示、が求められる。

終章
総合考察

本研究の成果

第1部では、網羅的ゲノム解析における遺伝カウンセリングにおいて、今後 CGC が直面するであろう VUS や新規バリエーションへの対応についての知見を得るため、SCC で行われたがんゲノム医療の先行研究「プロジェクト HOPE」で、Lynch 症候群の原因遺伝子である *g.MMR* 遺伝子バリエーションが検出された症例を対象とし、その実際の検出頻度の算出や病原性の評価を行った。ゲノム情報の臨床応用が最も進む、がんの分野に従事する CGC は、VUS や新規バリエーションの情報に対応するため、各種遺伝子バリエーションデータベースや *in silico* 解析、ACMG-AMP ガイドラインなどの病原性評価ツールの取扱いを理解し、データベースの構築にも寄与することが求められる。また、遺伝子バリエーションの病原性評価は日々更新されるため、常に最新の情報にアクセスし、患者やその血縁者により適切で具体的な情報提供ができるよう、連絡体制を維持する必要があると考えられた。

第2部では、プロジェクト HOPE 研究で SF が検出された症例を対象に、その検出頻度を明らかにし、SF の患者への結果開示を全国に先駆けて行う中で、SF の開示手順や遺伝カウンセリングシステムの構築、がんゲノム医療に取り組むために必要な院内体制について検討を行った。本研究の結果は、国内のがんゲノム医療における適切な患者支援や多職種連携を検討する上でも、重要な知見となると考える。しかし、表 4-1 に示すように、プロジェクト HOPE と、現在国内で実用化が開始されているがんゲノム医療とは、対象者や IC のタイミング、解析方法や解析対象遺伝子、SF 返却条件 がそれぞれ異なり、遺伝子解析に対する患者の期待や、返却された結果に対する反応、求められる支援などにも違いがある可能性が考えられる。そこで、本研究の成果とプロジェクト HOPE での経験をから、現在の保険

診療下でのがんゲノム医療において求められる遺伝カウンセリング体制や、今後、CGC が担うべき役割について考察する。

表 4-1. 保険診療下のがんゲノム医療とプロジェクト HOPE の比較

	がんゲノム医療（保険診療）		プロジェクトHOPE（研究）	
	NCCオンコパネル	FoundationOne® CDx		
目的	がんの遺伝子変異に基づく最適な治療薬の選択		がんの診断・治療技術の研究・開発、がんゲノム医療実現に向けた院内体制の整備	
対象患者	標準治療が無いか、終了した患者		静岡がんセンターで腫瘍摘出手術を受ける患者	
ICのタイミング	残された標準治療の選択肢が無いと判明した時点		手術前	
解析方法	腫瘍組織	がん遺伝子パネル検査（114遺伝子）	がん遺伝子パネル検査（324遺伝子）	全エクソン解析
	末梢血	がん遺伝子パネル検査（114遺伝子）	—	全エクソン解析
二次的所見返却条件	末梢血解析で検出された遺伝性腫瘍関連遺伝子のうち、actionabilityの高い13遺伝子のバリエーション	腫瘍組織解析で検出されたバリエーションのうち、エキスパートパネルで生殖細胞由来の可能性が高いと判断されたバリエーション	独自に選定した遺伝性腫瘍関連遺伝子と、ACMG SF v2.0に準じたがん以外の遺伝性疾患関連遺伝子の病的バリエーション	
VUSの返却	あり		なし	

IC：インフォームドコンセント、VUS：臨床的意義不明なバリエーション

プロジェクト HOPE の経験から考える、がんゲノム医療における遺伝カウンセリングの役割

①遺伝子解析の目的と対象者の比較から

プロジェクト HOPE の対象者は、院内で腫瘍摘出手術を受ける患者のうち、同意が得られた症例であった。これらの患者は、大多数が手術により完治が見込める患者であり、そうでない場合も、治療の選択肢が残されている患者である。HOPE 研究の結果は、本人の将来の治療や、本人や血縁者の今後の健康管理の参考情報として返却される。それに対し、現在の保険診療下でのがんゲノム医療の対象者は、標準治療がないか、終了した患者であり、予後について厳しい現実と向き合いながら、がんゲノム医療に最後の望みをかけて検査を受ける。検査の目的は、今あるがんの治療の可能性を探ることであり、遺伝性腫瘍の情報が本人の今後のがんの早期発見や予防を目的としたサーベイランスにつながることは少ない。プロジェクト HOPE も、現在のがんゲノム医療も、遺伝カウンセリングが介入するのは、主に検査後、SF が検出された場合であるが、がんゲノム医療の場合は特に、本人の体調悪化や家族の緊張感も高い状況であることを考慮し、担当医と情報共有しながら遺伝カウンセリングを行う必要がある。がんゲノム医療にかける患者の期待は非常に大きいと考えられるが、現状、治療に結び付くのは 1 割程度と言われている (Sunami et al., 2019)。治療に結び付く情報が得られず、遺伝性腫瘍の可能性のみ指摘されるケースも出てくると考えられる。プロジェクト HOPE においては、SF を開示したほとんどの患者が、その結果を前向きに受け止めていたが、その理由の 1 つとして、開示のタイミングが手術の約 1 年後であり、身体的、精神的に落ち着いた時期であった可能性が考えられる。しかし、SF を開示した 16 症例のうち 1 症例は、SF の結果を「悪い話」としてネガティブに受け取り、血縁者との情報共有も

拒否した。その要因として、この患者の SF 開示のタイミングが、体調の悪化や治療で精神的に余裕のない時期に重なったことが考えられた。がんゲノム医療の患者の場合も、治療の可能性が限られ、身体的、精神的余裕がない中、自身の今後の治療以外に、血縁者への影響についても考えなければならぬ状況に置かれることになり、SF 情報がネガティブに受け取られやすい可能性が考えられる。AMED 小杉班の「ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言—その 1:がん遺伝子パネル検査を中心に (改定第 2 版)」では、「二次的所見の開示の時期は必ずしも一次的所見の開示と同時でなくてもよく、患者本人の治療経過や家族歴、家族の状況などにより総合的に判断すること」と記載されている。現在のがんゲノム医療の対象者の予後を考えると、SF は血縁者への意義が大きいと、遺伝カウンセリングはできる限り血縁者同席で行い、その有用性を丁寧に説明し、患者や血縁者が前向きに結果を受け止めることができるよう、心理的な支援を行うことが求められる。

がんゲノム医療において、患者の目的は治療のための情報を得ることであるため、医療者側が SF の可能性について説明したつもりであっても、患者や家族が正確に理解することは困難であることも考えられる。プロジェクト HOPE では、遺伝性腫瘍症候群の原因遺伝子に SF が検出された症例の 47%(8/17 人) が、関連する遺伝性腫瘍症候群の既往歴や家族歴がない症例であり、がんゲノム医療においても同様の症例が見つかることが予測される。特にがん家族歴のない患者にとっては、思いがけない形で SF 情報を受け取ることになるかもしれない。SF 結果についての遺伝カウンセリングでは、まず、遺伝性腫瘍に関する情報を知ることについての患者の意思を再確認し、遺伝性腫瘍に関する予測の程度や考え方を把握する必要がある。SF の説明は、既往歴や家族歴から遺伝性腫瘍を疑い、遺伝カウンセ

リングと遺伝子検査を行う従来の典型的な流れとは異なり、既に遺伝子バリエーション情報を得た状態で、遺伝カウンセリングにおいて家族歴の確認や疾患の概要、血縁者検査や今後のサーベイランス方針までを説明することとなる。事前の心構えがない状態の患者にとっては、思いがけない結果を受け止め、一度に膨大な情報を理解することは困難であると考えられる。遺伝カウンセリングで繰り返し患者・家族に説明し、家系内で情報が共有され健康管理につながるよう、継続的な支援が必要である。

②解析対象遺伝子と解析方法、二次的所見返却基準の比較から

プロジェクト HOPE では、腫瘍細胞由来 DNA と末梢血由来 DNA の WES を行い、生殖細胞系列に、独自に選定した遺伝性腫瘍関連遺伝子と、ACMG SF v2.0 に準じたがん以外の遺伝性疾患関連遺伝子の病的バリエーションが検出された場合に SF として希望者に結果を開示した。現在の保険診療下でのがんゲノム医療は、がん遺伝子パネルを用い、114 (NCC オンコパネル)、または、324 (FoundationOne® CDx) のがん関連遺伝子について解析を行う。がん遺伝子パネル検査で検出された、生殖細胞系列 (を疑う) 情報を、どの遺伝子について、どの程度の情報まで患者に説明するかについては、AMED 小杉班のゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言と SF 開示推奨度別リストを中心に、ACMG SF v2.0 (Kalia et al., 2017) 、ESMO の推奨 (Mandelker et al., 2019) なども参照しながら、最終判断は各医療施設のエキスパートパネルに委ねられている。プロジェクト HOPE では、SCC ががん専門病院であり、比較的幅広い遺伝性腫瘍に対処可能であることを前提に、開示対象遺伝子を選定した。がん以外の遺伝性疾患については、紹介体制を整えた上で ACMG SF v2.0 に準じ

て開示を行ったが、院内に Marfan 症候群や遺伝性循環器疾患などの専門医はおらず、第2部で述べたように、SF 対応に課題が残る症例も経験した。がん遺伝子パネル検査の SF の開示にあたっては、開示対象としている遺伝性腫瘍症候群に対する院内の診療体制や遺伝カウンセリングによる継続的な支援体制がしっかりと整っていることが重要であると考え。現在のがんゲノム医療では、がん遺伝子パネル検査を用いて限られた遺伝子のみを解析対象としているが、将来、WES や WGS が用いられるようになると、遺伝性腫瘍だけでなく、幅広い領域の SF に対応する必要性が生じる。専門外の遺伝性疾患については、他の専門施設に紹介できる体制が必要であるが、患者や血縁者の通院や長期に渡るサーベイランスの必要性を考慮し、可能な限り地域の医療施設、専門家との連携が望ましい。特に、SCC のようながん専門施設では、地域の大学病院や総合病院などとの連携が欠かせない。プロジェクト HOPE の SF 対応における、遺伝外来を窓口とした地域連携の仕組みは、全国のゲノム医療のモデルになると考える。

プロジェクト HOPE では、VUS は開示対象外としたが、がんゲノム医療においては、VUS の情報もレポートに記載され、患者に返却される。VUS の結果を得た場合、そのバリエントについての可能な限り情報収集を行うが、十分な情報を得られない場合も多い。「分からない」ということを、遺伝カウンセリングで患者に説明することは、病的バリエントが検出された場合や、バリエントが検出されなかった場合よりも難しく、患者にとっても、その意味を正確に理解し、血縁者と情報を共有することは困難な場合もある (Frost et al., 2004; Vos et al., 2008)。第2章の結果から、LS においては、VUS の結果を得た場合、MSI 検査や MMR IHC がバリエントの病原性を検討するための情報として利用できる可能性が示唆された。

また、検出された *g.MMR* 遺伝子バリエントの約 35%の ClinVar における解釈が、2015 年から 2018 年にかけて変更された。先行研究でも、特に VUS の場合、解釈が変更となる可能性が高いことが示されている (Mersch et al., 2018)。遺伝カウンセリングで VUS の結果を説明する際は、将来解釈が変わる可能性があることを説明し、実際に変更となった際に連絡を取れる体制を維持する必要がある。一般的に、VUS の解決には年単位の時間を要し、解釈が変更となった際に患者が病院を離れている場合や、既に亡くなっている場合、遺伝カウンセリング担当者が交代している場合などが考えられる。そのような事態に備え、遺伝カウンセリングで、血縁者との情報共有の意思や、血縁者の連絡先などを確認し、検査同意書に記載してもらるか、カルテに記録を残すなどの対策が必要である。生殖細胞系列遺伝情報は、生涯変化しないという不変性や、血縁者間での共有性、将来の発症を示唆する予測性などの特性を有するため、慎重な取り扱いが求められているが、特にがんの分野では、生殖細胞系列遺伝情報が、患者自身の治療や、血縁者のがんの早期発見、早期治療、予防につながる可能性がある。このような有用な情報の伝達が途絶えることのないように、SCC では、電子カルテ内に閲覧制限の異なる階層を設け、遺伝情報取扱いに関する研修受講歴と職種によりアクセス権限を付与し、生殖細胞系列遺伝情報を患者に関係する医療者間で安全に共有できるシステムを導入している。

③がんゲノム医療の将来展望と、求められる認定遺伝カウンセラー®像

現在の保険診療下でのがんゲノム医療では、がん遺伝子パネル検査を用い、限られた数の遺伝子を解析しているが、将来、WES や WGS が用いられるようになった場合、さらに SF 検出頻度が増加するこ

とが予想される。小児固形腫瘍患者 121 人を対象に、生殖細胞系列 WES を行った研究では、対象者の約 98% で、がん関連遺伝子に VUS を含む疾患と関連する可能性のあるバリエントが検出されたと報告されている (Hemminki et al., 2004)。今後、小児希少疾患においてもゲノム医療の実用化が見込まれているが、小児患者を対象としたゲノム解析を実施する場合、親権者の IC と同時に、解析対象となる本人に対するインフォームドアセントが必要である。インフォームドアセントは、子ども自身が発達に応じた理解をもって了承(合意)することであり、子どもの年齢や理解度に応じた説明文書や、説明補助ツールを使用した説明を行うなど、子どもの人権を尊重した、十分な倫理的配慮が必要とされる。

がんや希少疾患などを対象とした WGS の国家主導プロジェクトは、米国や欧州諸国などで進められている。米国では、2015 年より Precision Medicine Initiative (PMI) を開始し、遺伝子等に関する個人毎の違いを考慮した予防や治療法を確立する等の取組が推進されている (Collins and Varmus, 2015)。米国国立衛生研究所 (The National Institutes of Health: NIH) が主導する All of Us と呼ばれるプロジェクト (Denny et al., 2019) では、100 万人の全ゲノム配列決定を目標とし、電子カルテ情報の収集、大規模サンプル収集、大規模ライフログの収集によるデータベース構築を進めている。英国では、2018 年に Genomics England が、がんや希少疾患を対象に、10 万人のゲノム解析を完了し、2023 年までに 100 万人の全ゲノム解析等の実施を目指している (Turnbull, 2018)。国内でも、2019 年 6 月 21 日に閣議決定された「令和元年度革新的事業活動に関する実行計画」と「経済財政運営と改革の基本方針 2019」に、がんに対する WGS の推進が盛り込まれ、2019 年 10 月 16 日に、第 1 回がんに関する全ゲノム解析等の推進に関する部会が開催された。2019 年 12 月には、がんや難病を対象

とした WGS の具体的な数値目標や人材育成・体制整備を含めた「全ゲノム解析等実行計画（第 1 版）」が策定された。本実行計画では、がん分野においては、まず、先行解析として、国内の主要なバイオバンク検体（約 1.6 万症例）を利用して、現行の人材・設備等で解析が可能な範囲で全ゲノム解析等を行い、本格解析の対象となるがん種やその数値目標に関する方針や、全ゲノム情報及び臨床情報の収集方法、検体処理等のワークフロー、専門家の人材育成、ELSI（倫理的・法的・社会的な課題）に対応する体制の在り方等の体制整備・人材育成の検討を進め、先行解析後の本格解析では、先行解析の結果や国内外の研究動向等を踏まえ、新たな診断・治療等の研究開発が期待される場合等に数値目標を明確にして、新規検体を収集しての実施が計画されている。また、大量に生じる SF への対応の必要性も述べられている。将来的には、生活習慣病などを対象とした WGS も計画されており、今後、幅広い分野で CGC の需要が高まることが予想される。米国の All of Us プロジェクトは、ゲノム解析結果の参加者への還元と正しい理解を促進するため、民間企業と提携し、プロジェクトの参加者全員に対し、遺伝カウンセリングの機会を提供すると発表している（Lambert, 2019）。米国遺伝カウンセラー協会（National Society of Genetic Counselors: NSGC）の報告（PROFESSIONAL STATUS SURVEY 2019: EXECUTIVE SUMMARY）によると、2019 年現在、米国の遺伝カウンセラー数は約 5,000 人であり、約 200 人／年で増加している。今後、日本国内においても、CGC やバイオインフォマティシャン、ゲノム医療コーディネーターなどの育成が急務であり、経験を積んだ CGC が、こうした職種の教育にも携わることで、ゲノム医療に関わる人材の育成に貢献できると考える。

ゲノム医療では、大量のゲノムデータや健康に関するデータを安全かつ有効に扱う必要があり、ダイ

ナミックコンセント (Dynamic Consent:DC) の活用が注目されている。DCとは、「研究参加者個人ごとの、オンライン(個人端末など)による同意取得と、研究者、参加者双方向のコミュニケーションの仕組み(プラットフォーム)」である(第14回ゲノム医療実現推進協議会 資料4)。DCは、研究参加者が自身の状況変化に応じてリアルタイムで同意内容を変更したり、研究者から受け取りたい情報の内容、頻度、手段(電子メール、郵便など)を設定することができる(Kaye et al., 2015)。プロジェクトHOPEにおいて、SFが検出された患者の35%が、結果開示に関し、当初の意思を変更し、また、開示のタイミングの見極めが重要なポイントであったが、DCを活用することで、より患者の意向に沿ったSFのフィードバックが可能になるかもしれない。また、近年のゲノム解析技術の進歩に加え、電子カルテの普及や健康診断のシステム化によって、医療分野で取り扱うデータ量が増大している。これらの大量の情報処理を人の力のみで行うには限界があり、医療ビッグデータの活用に人工知能(Artificial Intelligence:AI)は欠かせない。特にゲノム医療の領域は、保険医療分野においてAI開発を進めるべき重点領域の一つに挙げられており(厚生労働省 保健医療分野におけるAI活用推進懇談会 報告書 2017年6月)、ソフトウェア関連企業がAIを用いたがんゲノム医療におけるエキスパートパネル支援ツールの開発などを進めている(株式会社富士通研究所 2019年11月6日プレスリリース)。

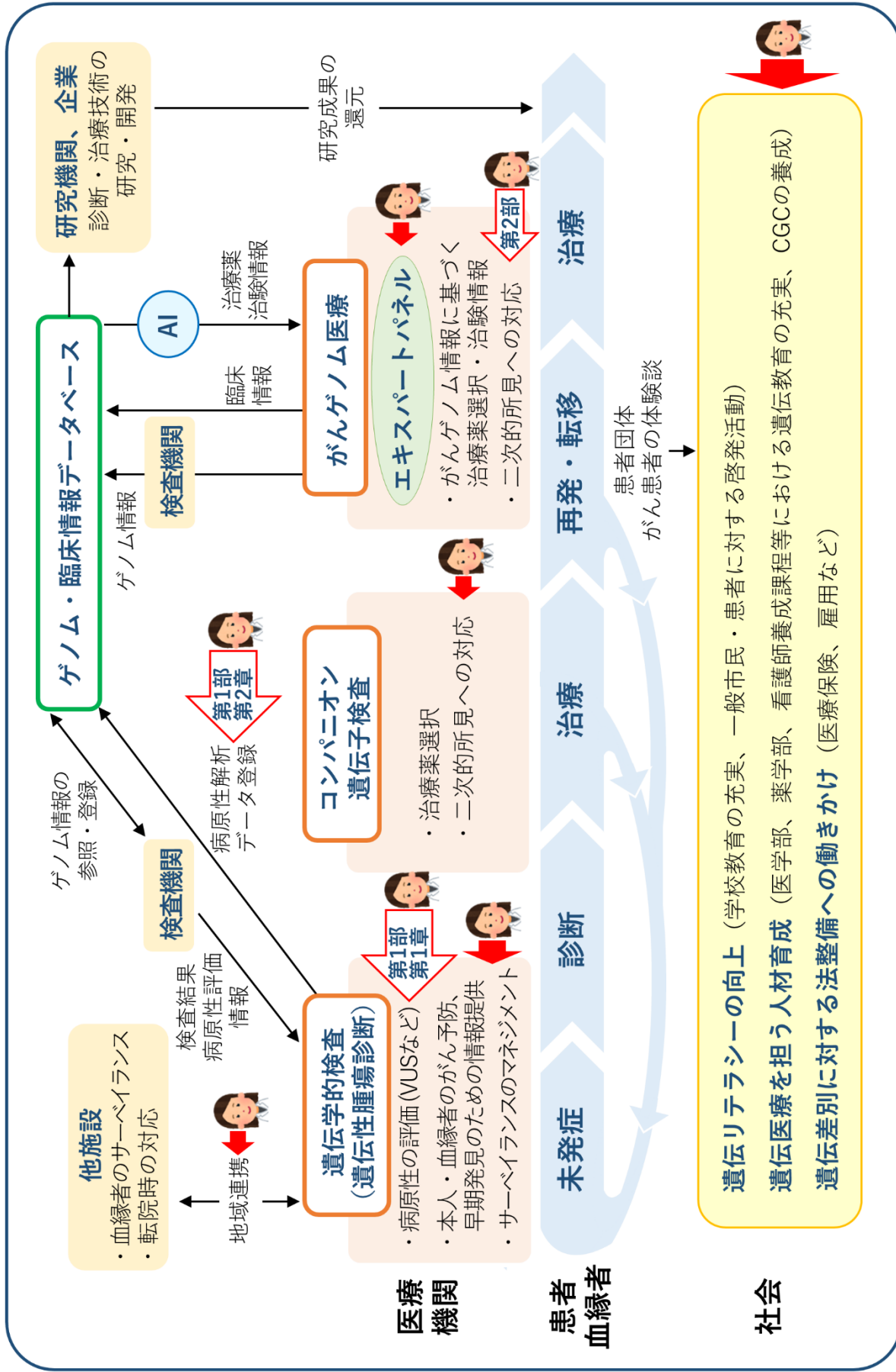
現在、がんゲノム医療の目的は、腫瘍細胞の解析により最適な治療薬の選択をおこなうことであり、生殖細胞系列の解析結果の多くはSFとされるが、近年、HBOCの原因遺伝子であるBRCA1遺伝子、BRCA2遺伝子の欠損細胞がpoly ADP-ribose polymerase (PARP) 阻害剤に高感受性を示すことが明らかになり(Bryant et al., 2005; Farmer et al., 2005)、2018年から2019年にかけて、生殖細胞系列

BRCA1 遺伝子、*BRCA2* 遺伝子の病的バリエントを有する特定の乳がん、卵巣がん患者において、*PARP* 阻害剤が保険承認された。生殖細胞系列の遺伝子バリエントが薬剤の治療効果に関連する例は他にも複数あり (Zhang et al., 2015)、今後も生殖細胞系列の遺伝子バリエントをバイオマーカーとする薬剤が開発される可能性がある。がんゲノム医療においては、生殖細胞系列遺伝情報を一律に SF とすることはできず、体細胞遺伝情報と同様に、がん治療に結び付く可能性のある本来の所見であるとも考えられる。従来、がんの分野では、薬剤のコンパニオン診断として行う体細胞系列の遺伝子検査と、遺伝性腫瘍診断を目的として行う生殖細胞系列の遺伝子検査は区別され、遺伝カウンセリングで扱うのは専ら生殖細胞系列遺伝情報であったが、がんゲノム医療においては、体細胞系列も生殖細胞系列の遺伝情報も、まとめて患者の情報として捉え、その情報を元に、患者や血縁者の治療や予防を総合的に考えて行く必要があるだろう。そのためには、特にがんの分野においては、生殖細胞系列遺伝情報を特別扱いする「遺伝子例外主義 (Genetic Exceptionalism)」(Murray, 2019) を見直し、患者や血縁者の治療や健康管理に有用な情報として、多職種間、施設間で安全に共有するためのシステムが望まれる。多職種で情報を共有する場合、遺伝情報、特に、生殖細胞系列遺伝情報の特性について、すべての医療スタッフが理解し、適切に取り扱う必要があり、CGC が主体となって、医療スタッフに対するこれらの教育に取り組まなければならない。

がん領域の遺伝医療の概略と認定遺伝カウンセラー®の役割を、**図 4-1** に示す。今後、がんの分野では、遺伝性腫瘍診断目的の遺伝学的検査だけでなく、がん診断後のコンパニオン遺伝子検査やがんゲノム医療における二次的所見の対応など、未発症血縁者を含め、あらゆる治療段階の患者が遺伝

カウンセリングの対象となり得、がんゲノム医療に携わる CGC は、誰でも生殖細胞系列遺伝子にがん発症に関するバリエーションを有する可能性がある、という視点をもって、遺伝カウンセリングに臨む必要がある。また、ゲノム情報の医療への利活用を推進するためには、医療者が患者に一方的に働きかけるだけでなく、患者の積極的な参加も欠かせない。これからのがんゲノム医療時代においては、患者自身が自分の遺伝情報に関心を持ち、患者が主体となって、自身の遺伝情報を自身や血縁者のがんの予防や早期発見、治療、研究に活用し、CGC は、正しい知識や最新情報の提供、心理社会的支援を行いながら患者をサポートする立場であると考えられる。患者主体のがんゲノム医療を実現するためには、遺伝に関する国民全体のリテラシー向上が重要であり、学校教育における遺伝教育の充実が求められる。同時に、遺伝情報により不利益を被ることのない社会を作る必要があり、雇用や保険加入などにおいて、遺伝情報に基づく差別を禁止する法律の整備への働きかけや、一般市民への勉強会などを通して、遺伝と疾患に関する正しい知識の普及・啓発においても、CGC は重要な役割を担う職種であると考えられる。

図 4-1. がん領域の遺伝医療の概略と認定遺伝カウンセラー®の役割



◀ がん領域において認定遺伝カウンセラー®が担うことのできる役割 (本論文において研究を行った項目) 認定遺伝カウンセラー®
 ▶ がん領域において認定遺伝カウンセラー®が担うことのできる役割

謝辞

本学位論文をまとめるにあたり、終始あたたかい激励とご指導を賜りました、主指導教員のお茶の水女子大学大学院遺伝カウンセリング領域教授 三宅秀彦先生、副指導教員の生命科学領域教授 由良敬先生に心より感謝申し上げます。先生方には、論文の構成や考察など、様々な視点からの的確なご指導を頂き、論文の内容とともに自身の理解も深めることができました。また、心理学領域教授 菅原ますみ先生、生命科学領域准教授 近藤るみ先生、遺伝カウンセリング領域助教 佐々木元子先生には、審査委員として細部にわたり多くのご助言を頂きました。深く感謝いたします。

東京慈恵会医科大学附属病院遺伝診療部部長 川目裕先生、東京医科大学病院遺伝子診療センター副センター長 沼部博直先生には、お茶の水女子大学大学在任時に、本学位論文の研究の基礎となる遺伝カウンセリングに関する知識やスキルについてご指導を賜りました。心より感謝申し上げます。

本学位論文における研究は、筆者が勤務する静岡県立静岡がんセンターにて実施しました。静岡がんセンターゲノム医療推進部部長 松林宏行先生には、実務経験のない私に、入職時からがん分野の遺伝医療の実際をご教授頂き、研究においても多大なるご指導を頂きました。また、プロジェクト HOPE を主導し、研究のフィールドを与えて下さいました、静岡がんセンター総長 山口建先生、がんゲノム医療について一からご指導頂きました、研究所 楠原正俊先生、認定遺伝カウンセラー®の堀内泰江さんの存在なくしては、研究を遂行することはできませんでした。深甚の謝意を表します。学位取得を応援し、サポートして下さいました、認定遺伝カウンセラー®の東川智美さん、乳腺外科部長 西村誠一郎先生、婦人科 角暢浩先生、共同研究者として研究面で様々なご助言を頂きました、病理診断科 大石琢磨先生、阿部将人先生、研究所 浦上研一先生、大浪澄子先生、長嶋剛史先生、下田勇治先生、成岡茜さん、水口魔己さんはじめ、静岡がんセンタースタッフの皆様と、研究にご協力頂きました患者様に深く感謝いたします。

最後に、どのような状況においても常に応援し、心の支えになってくれた夫と、可愛い子どもたちに心から感謝します。

引用文献／参考資料

新井正美 (2015) 「癌の遺伝医療－遺伝子診断に基づく新しい予防戦略と生涯にわたるケアの実践」
(南江堂)

厚生労働省:「がんゲノム医療の現状について (平成 31 年 4 月)」
< <https://www.mhlw.go.jp/content/12404000/000504302.pdf>> (accessed 4 January 2020)

厚生労働省:「がん対策推進基本計画 (第3期)<平成 30 年 3 月 9 日 閣議決定>」
<<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000196975.pdf>>
(accessed 18 November 2019)

厚生労働省:「第 2 回がんゲノム医療推進コンソーシアム運営会議 資料 3-6 エキスパートパネル標準
化案 (2019 年 2 月)」<<https://www.mhlw.go.jp/content/10901000/000486814.pdf>> (accessed
18 November 2019)

厚生労働省:「第 2 回がんゲノム医療中核拠点病院等の指定に関する検討会 (指定結果)」
< <https://www.mhlw.go.jp/content/10901000/000549204.pdf>> (accessed 4 January 2020)

中央社会保険医療協議会 総会 第 415 回 議事次第
< <https://www.mhlw.go.jp/content/12404000/000513120.pdf> > (accessed 4 January 2020)

首相官邸: 健康・医療戦略推進本部「ゲノム医療実現推進に関するアドバイザリーボード 平成 29 年
度報告」<https://www.kantei.go.jp/jp/singi/kenkouiryou/genome/pdf/180508_houkoku.pdf
>(accessed 18 November 2019)

大腸癌研究会 (2016) 「遺伝性大腸癌診療ガイドライン 2016 年版」(金原出版株式会社)

日本医学会:「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」
<<http://jams.med.or.jp/guideline/genetics-diagnosis.pdf> >(accessed 18 November 2019)

バイオバンク・ジャパン:“バイオバンク・ジャパンへの協力のお願い”パンフレット オーダーメイド医療の
実現プログラム HP.
<https://biobankjp.org/public/pdf/panf_v4.1.pdf> (accessed 18 November 2019)

日本多施設共同コホート (J-MICC) 研究:「日本多施設共同コホート研究」研究計画書”。

J-MICC Study HP. <http://www.jmicc.com/j-micc/wp-content/uploads/2017/10/J-MICC_Study_protocol_rev1_170501.pdf> (accessed 18 November 2019)

日本医療研究開発機構 (AMED) :“IRUD 企画書 (平成 28 年[2016 年]4 月)”. 日本医療研究開発機構 HP.<http://www.amed.go.jp/content/files/jp/program/IRUD_proposal.pdf> (accessed 18 November 2019)

東北大学東北メディカル・メガバンク機構:“コホート調査における遺伝情報回付”. 東北大学東北メディカル・メガバンク HP. <<http://www.megabank.tohoku.ac.jp/tommo/community/rogr>> (accessed 18 November 2019)

文部科学省, 厚生労働省, 経済産業省:「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」
<https://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/n1115_01.pdf> (accessed 18 November 2019)

メディカル・ゲノムセンター等における個人の解析結果等の報告と, 公的バイオバンクの試料・情報の配布に関する論点整理と提言 H25 年度厚労科研特別研究 (高坂新一班) 報告書
<http://www.ncbiobank.org/seminar/report/140322_report_H25_kohsaka.pdf> (accessed 18 November 2019)

ゲノム医療実用化推進研究事業「メディカル・ゲノムセンター等におけるゲノム医療実施体制の構築と人材育成に関する研究」サブテーマ2 別冊報告書「偶発的所見・二次的所見への対応についての検討と提言」<http://www.biobank.amed.go.jp/content/pdf/elsi/IF-SF_Nakagama-Kato%20H29.3.24.pdf> (accessed 18 November 2019)

AMED ゲノム創薬基盤推進研究事業「ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言」—がん遺伝子パネル検査と生殖細胞系列全ゲノム/全エクソーム解析について—【初版】
<<https://www.amed.go.jp/content/000031253.pdf>> (accessed 18 November 2019)

AMED ゲノム創薬基盤推進研究事業「ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言—その 1: がん遺伝子パネル検査を中心に (改定版)」
<<https://www.amed.go.jp/content/000045427.pdf>> (accessed 18 November 2019)

AMED ゲノム創薬基盤推進研究事業「ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言—その2: 次世代シーケンサーを用いた生殖細胞系列網羅的遺伝学的検査における具体的方針 (初版)」< <https://www.amed.go.jp/content/000045429.pdf> > (accessed 18 November 2019)

AMED ゲノム創薬基盤推進研究事業「(補足) がん遺伝子パネル検査二次的所見患者開示ミニマムリスト暫定案」< <https://www.amed.go.jp/content/000045428.pdf> > (accessed 18 November 2019)

内閣府:「令和元年度革新的事業活動に関する実行計画」
<<https://www.kantei.go.jp/jp/singi/keizaisaisei/pdf/ps2019.pdf>> (accessed 18 November 2019)

内閣府:「経済財政運営と改革の基本方針 2019 ～「令和」新時代:「Society 5.0」への挑戦～」
<https://www5.cao.go.jp/keizai-shimon/kaigi/cabinet/2019/2019_basicpolicies_ja.pdf>
(accessed 18 November 2019)

厚生労働省:第1回がんに関する全ゲノム解析等の推進に関する部会 参考資料 2「がんの全ゲノム解析等について (案)」
<<https://www.mhlw.go.jp/content/10901000/000557621.pdf>> (accessed 18 November 2019)

厚生労働省:「全ゲノム解析等実行計画 (第1版)」
<<https://www.mhlw.go.jp/content/10601000/000579016.pdf>> (accessed 6 January 2020)

National Society of Genetic Counselors: PROFESSIONAL STATUS SURVEY 2019:EXECUTIVE SUMMARY
<<file:///C:/Users/imihs/Downloads/PSS%202019%20Executive%20Summary%20FINAL%2005-03-19.pdf>> (accessed 7 January 2020)

首相官邸 健康・医療戦略推進本部第14回 ゲノム医療実現推進協議会 資料4「ダイナミックコメントについて」< <https://www.kantei.go.jp/jp/singi/kenkouiryou/genome/dai14/siryou4.pdf> >
(accessed 18 November 2019)

厚生労働省:「保健医療分野におけるAI活用推進懇談会 報告書」< <https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10601000-Daijinkanboukouseikagakuka-Kouseikagakuka/0000169230.pdf> >
(accessed 19 January 2020)

株式会社富士通研究所:11月6日プレスリリース「新しいAIによるがんゲノム医療の効率化を東大医
科研との共同研究で実現」<<https://pr.fujitsu.com/jp/news/2019/11/6.html>> (accessed 19 January
2020)

- Aaltonen, L. A., P. Peltomaki, J. P. Mecklin, H. Jarvinen, J. R. Jass, J. S. Green, H. T. Lynch, P. Watson, G. Tallqvist, M. Juhola and et al. 1994. Replication errors in benign and malignant tumors from hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients. *Cancer Res* 54: 1645-1648.
- ACMG 2015. ACMG policy statement: updated recommendations regarding analysis and reporting of secondary findings in clinical genome-scale sequencing. *Genet Med* 17: 68-69. doi: 10.1038/gim.2014.151
- ACMG 2012. Points to consider in the clinical application of genomic sequencing. *Genet Med* 14: 759-761. doi: 10.1038/gim.2012.74
- Adar, T., L. H. Rodgers, K. M. Shannon, M. Yoshida, T. Ma, A. Mattia, G. Y. Lauwers, A. J. Iafrate, N. M. Hartford, E. Oliva and D. C. Chung 2018. Universal screening of both endometrial and colon cancers increases the detection of Lynch syndrome. *Cancer* 124: 3145-3153. doi: 10.1002/cncr.31534
- Anderson, J. A., R. Z. Hayeems, C. Shuman, M. J. Szego, N. Monfared, S. Bowdin, R. Zlotnik Shaul and M. S. Meyn 2015. Predictive genetic testing for adult-onset disorders in minors: a critical analysis of the arguments for and against the 2013 ACMG guidelines. *Clin Genet* 87: 301-310. doi: 10.1111/cge.12460
- Baker, K. E. and R. Parker 2004. Nonsense-mediated mRNA decay: terminating erroneous gene expression. *Curr Opin Cell Biol* 16: 293-299. doi: 10.1016/j.ceb.2004.03.003
- Balmana, J., F. Balaguer, A. Cervantes and D. Arnold 2013. Familial risk-colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann Oncol* 24 Suppl 6: vi73-80. doi: 10.1093/annonc/mdt209
- Bardelli, A. and S. Siena 2010. Molecular mechanisms of resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 28: 1254-1261. doi: 10.1200/jco.2009.24.6116
- Bobisse, S., P. G. Foukas, G. Coukos and A. Harari 2016. Neoantigen-based cancer immunotherapy. *Ann Transl Med* 4: 262. doi: 10.21037/atm.2016.06.17
- Bombard, Y., M. Robson and K. Offit 2013. Revealing the incidentalome when targeting the tumor genome. *JAMA* 310: 795-796. doi: 10.1001/jama.2013.276573
- Bozic, I., T. Antal, H. Ohtsuki, H. Carter, D. Kim, S. Chen, R. Karchin, K. W. Kinzler, B. Vogelstein and M. A. Nowak 2010. Accumulation of driver and passenger mutations during tumor progression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 18545-18550. doi: 10.1073/pnas.1010978107
- Brennan, B., C. T. Hemmings, I. Clark, D. Yip, M. Fadia and D. R. Taupin 2017. Universal molecular screening does not effectively detect Lynch syndrome in clinical practice. *Therap Adv Gastroenterol* 10: 361-371. doi: 10.1177/1756283x17690990

- Bruegl, A. S., B. Djordjevic, B. Batte, M. Daniels, B. Fellman, D. Urbauer, R. Luthra, C. Sun, K. H. Lu and R. R. Broaddus 2014. Evaluation of clinical criteria for the identification of Lynch syndrome among unselected patients with endometrial cancer. *Cancer Prev Res (Phila)* 7: 686-697. doi: 10.1158/1940-6207.capr-13-0359
- Bryant, H. E., N. Schultz, H. D. Thomas, K. M. Parker, D. Flower, E. Lopez, S. Kyle, M. Meuth, N. J. Curtin and T. Helleday 2005. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature* 434: 913-917. doi: 10.1038/nature03443
- Chen, S. and G. Parmigiani 2007. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol* 25: 1329-1333. doi: 10.1200/jco.2006.09.1066
- Chika, N., H. Eguchi, K. Kumamoto, O. Suzuki, K. Ishibashi, T. Tachikawa, K. Akagi, J. I. Tamaru, Y. Okazaki and H. Ishida 2017. Prevalence of Lynch syndrome and Lynch-like syndrome among patients with colorectal cancer in a Japanese hospital-based population. *Jpn J Clin Oncol* 47: 108-117. doi: 10.1093/jjco/hyw178
- Collins, F. S. and H. Varmus 2015. A new initiative on precision medicine. *N Engl J Med* 372: 793-795. doi: 10.1056/NEJMp1500523
- Daly, M. B., R. Pilarski, M. Berry, S. S. Buys, M. Farmer, S. Friedman, J. E. Garber, N. D. Kauff, S. Khan, C. Klein, W. Kohlmann, A. Kurian, J. K. Litton, L. Madlensky, S. D. Merajver, K. Offit, T. Pal, G. Reiser, K. M. Shannon, E. Swisher, S. Vinayak, N. C. Voian, J. N. Weitzel, M. J. Wick, G. L. Wiesner, M. Dwyer and S. Darlow 2017. NCCN Guidelines Insights: Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian, Version 2.2017. *J Natl Compr Canc Netw* 15: 9-20. doi: 10.6004/jnccn.2017.0003
- De Vos, M., B. E. Hayward, S. Picton, E. Sheridan and D. T. Bonthron 2004. Novel PMS2 pseudogenes can conceal recessive mutations causing a distinctive childhood cancer syndrome. *Am J Hum Genet* 74: 954-964. doi: 10.1086/420796
- Deng, G., I. Bell, S. Crawley, J. Gum, J. P. Terdiman, B. A. Allen, B. Truta, M. H. Sleisenger and Y. S. Kim 2004. BRAF mutation is frequently present in sporadic colorectal cancer with methylated hMLH1, but not in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 10: 191-195.
- Denny, J. C., J. L. Rutter, D. B. Goldstein, A. Philippakis, J. W. Smoller, G. Jenkins and E. Dishman 2019. The "All of Us" Research Program. *N Engl J Med* 381: 668-676. doi: 10.1056/NEJMs1809937
- Domingo, E., R. C. Niessen, C. Oliveira, P. Alhopuro, C. Moutinho, E. Espin, M. Armengol, R. H. Sijmons, J. H. Kleibeuker, R. Seruca, L. A. Aaltonen, K. Imai, H. Yamamoto, S. Schwartz, Jr. and R. M. Hofstra 2005. BRAF-V600E is not involved in the colorectal tumorigenesis of HNPCC in patients with functional MLH1 and MSH2 genes. *Oncogene* 24: 3995-3998. doi: 10.1038/sj.onc.1208569

- Dunlop, M. G., S. M. Farrington, A. D. Carothers, A. H. Wyllie, L. Sharp, J. Burn, B. Liu, K. W. Kinzler and B. Vogelstein 1997. Cancer risk associated with germline DNA mismatch repair gene mutations. *Hum Mol Genet* 6: 105-110. doi: 10.1093/hmg/6.1.105
- Egoavil, C., C. Alenda, A. Castillejo, A. Paya, G. Peiro, A. B. Sanchez-Heras, M. I. Castillejo, E. Rojas, V. M. Barbera, S. Ciguenza, J. A. Lopez, O. Pinero, M. J. Roman, J. C. Martinez-Escoriza, C. Guarinos, L. Perez-Carbonell, F. I. Aranda and J. L. Soto 2013. Prevalence of Lynch syndrome among patients with newly diagnosed endometrial cancers. *PLoS One* 8: e79737. doi: 10.1371/journal.pone.0079737
- Enomoto, T., D. Aoki, K. Hattori, M. Jinushi, J. Kigawa, N. Takeshima, H. Tsuda, Y. Watanabe, K. Yoshihara and T. Sugiyama 2019. The first Japanese nationwide multicenter study of BRCA mutation testing in ovarian cancer: CHARacterizing the cross-sectionAL approach to Ovarian cancer geneTic TEsting of BRCA (CHARLOTTE). *Int J Gynecol Cancer* 29: 1043-1049. doi: 10.1136/ijgc-2019-000384
- Farmer, H., N. McCabe, C. J. Lord, A. N. Tutt, D. A. Johnson, T. B. Richardson, M. Santarosa, K. J. Dillon, I. Hickson, C. Knights, N. M. Martin, S. P. Jackson, G. C. Smith and A. Ashworth 2005. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature* 434: 917-921. doi: 10.1038/nature03445
- Fearon, E. R. and B. Vogelstein 1990. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61: 759-767. doi: 10.1016/0092-8674(90)90186-i
- Ferguson, S. E., M. Aronson, A. Pollett, L. R. Eiriksson, A. M. Oza, S. Gallinger, J. Lerner-Ellis, Z. Alvandi, M. Q. Bernardini, H. J. MacKay, G. Mojtahedi, A. A. Tone, C. Massey and B. A. Clarke 2014. Performance characteristics of screening strategies for Lynch syndrome in unselected women with newly diagnosed endometrial cancer who have undergone universal germline mutation testing. *Cancer* 120: 3932-3939. doi: 10.1002/cncr.28933
- Friend, S. H., R. Bernards, S. Rogelj, R. A. Weinberg, J. M. Rapaport, D. M. Albert and T. P. Dryja 1986. A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma. *Nature* 323: 643-646. doi: 10.1038/323643a0
- Frost, C. J., V. Venne, D. Cunningham and R. Gerritsen-McKane 2004. Decision making with uncertain information: learning from women in a high risk breast cancer clinic. *J Genet Couns* 13: 221-236. doi: 10.1023/B:JOGC.0000027958.02383.a9
- Gerlinger, M., A. J. Rowan, S. Horswell, M. Math, J. Larkin, D. Endesfelder, E. Gronroos, P. Martinez, N. Matthews, A. Stewart, P. Tarpey, I. Varela, B. Phillimore, S. Begum, N. Q. McDonald, A. Butler, D. Jones, K. Raine, C. Latimer, C. R. Santos, M. Nohadani, A. C. Eklund, B. Spencer-Dene, G. Clark, L. Pickering, G. Stamp, M. Gore, Z. Szallasi, J. Downward, P. A. Futreal and C. Swanton 2012. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med* 366: 883-892. doi: 10.1056/NEJMoa1113205

- Gould-Suarez, M., H. B. El-Serag, B. Musher, L. M. Franco and G. J. Chen 2014. Cost-effectiveness and diagnostic effectiveness analyses of multiple algorithms for the diagnosis of Lynch syndrome. *Dig Dis Sci* 59: 2913-2926. doi: 10.1007/s10620-014-3248-6
- Goverde, A., M. C. Spaander, H. C. van Doorn, H. J. Dubbink, A. M. van den Ouweland, C. M. Tops, S. G. Kooi, J. de Waard, R. F. Hoedemaeker, M. J. Bruno, R. M. Hofstra, E. W. de Bekker-Grob, W. N. Dinjens, E. W. Steyerberg and A. Wagner 2016. Cost-effectiveness of routine screening for Lynch syndrome in endometrial cancer patients up to 70years of age. *Gynecol Oncol* 143: 453-459. doi: 10.1016/j.ygyno.2016.10.008
- Green, R. C., J. S. Berg, W. W. Grody, S. S. Kalia, B. R. Korf, C. L. Martin, A. L. McGuire, R. L. Nussbaum, J. M. O'Daniel, K. E. Ormond, H. L. Rehm, M. S. Watson, M. S. Williams and L. G. Biesecker 2013. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med* 15: 565-574. doi: 10.1038/gim.2013.73
- Hampel, H. 2014. NCCN increases the emphasis on genetic/familial high-risk assessment in colorectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 12: 829-831. doi: 10.6004/jnccn.2014.0200
- Heald, B., T. Plesec, X. Liu, R. Pai, D. Patil, J. Moline, R. R. Sharp, C. A. Burke, M. F. Kalady, J. Church and C. Eng 2013. Implementation of universal microsatellite instability and immunohistochemistry screening for diagnosing lynch syndrome in a large academic medical center. *J Clin Oncol* 31: 1336-1340. doi: 10.1200/jco.2012.45.1674
- Hemminki, K., R. Rawal, B. Chen and J. L. Bermejo 2004. Genetic epidemiology of cancer: from families to heritable genes. *Int J Cancer* 111: 944-950. doi: 10.1002/ijc.20355
- Hirasawa, A., I. Imoto, T. Naruto, T. Akahane, W. Yamagami, H. Nomura, K. Masuda, N. Susumu, H. Tsuda and D. Aoki 2017. Prevalence of pathogenic germline variants detected by multigene sequencing in unselected Japanese patients with ovarian cancer. *Oncotarget* 8: 112258-112267. doi: 10.18632/oncotarget.22733
- Hudson, T. J., W. Anderson, A. Artez, A. D. Barker, C. Bell, R. R. Bernabe, M. K. Bhan, F. Calvo, I. Eerola, D. S. Gerhard, A. Gutmacher, M. Guyer, F. M. Hemsley, J. L. Jennings, D. Kerr, P. Klatt, P. Kolar, J. Kusada, D. P. Lane, F. Laplace, L. Youyong, G. Nettekoven, B. Ozenberger, J. Peterson, T. S. Rao, J. Remacle, A. J. Schafer, T. Shibata, M. R. Stratton, J. G. Vockley, K. Watanabe, H. Yang, M. M. Yuen, B. M. Knoppers, M. Bobrow, A. Cambon-Thomsen, L. G. Dressler, S. O. Dyke, Y. Joly, K. Kato, K. L. Kennedy, P. Nicolas, M. J. Parker, E. Rial-Sebbag, C. M. Romeo-Casabona, K. M. Shaw, S. Wallace, G. L. Wiesner, N. Zeps, P. Lichter, A. V. Biankin, C. Chabannon, L. Chin, B. Clement, E. de Alava, F. Degos, M. L. Ferguson, P. Geary, D. N. Hayes, T. J. Hudson, A. L. Johns, A. Kasprzyk, H. Nakagawa, R. Penny, M. A. Piris, R. Sarin, A. Scarpa, T. Shibata, M. van de Vijver, P. A. Futreal, H. Aburatani, M. Bayes, D. D. Botwell, P. J. Campbell, X. Estivill, D. S. Gerhard, S. M. Grimmond, I. Gut, M. Hirst, C. Lopez-Otin, P. Majumder, M. Marra, J. D. McPherson, H. Nakagawa, Z. Ning, X. S. Puente, Y. Ruan, T. Shibata, M. R. Stratton, H. G. Stunnenberg, H. Swerdlow, V. E. Velculescu, R. K. Wilson, H. H. Xue, L. Yang, P. T. Spellman, G. D. Bader, P. C. Boutros, P. J. Campbell, P. Flicek, G. Getz, R. Guigo, G. Guo, D. Haussler, S. Heath, T. J. Hubbard, T.

Jiang, S. M. Jones, Q. Li, N. Lopez-Bigas, R. Luo, L. Muthuswamy, B. F. Ouellette, J. V. Pearson, X. S. Puente, V. Quesada, B. J. Raphael, C. Sander, T. Shibata, T. P. Speed, L. D. Stein, J. M. Stuart, J. W. Teague, Y. Totoki, T. Tsunoda, A. Valencia, D. A. Wheeler, H. Wu, S. Zhao, G. Zhou, L. D. Stein, R. Guigo, T. J. Hubbard, Y. Joly, S. M. Jones, A. Kasprzyk, M. Lathrop, N. Lopez-Bigas, B. F. Ouellette, P. T. Spellman, J. W. Teague, G. Thomas, A. Valencia, T. Yoshida, K. L. Kennedy, M. Axton, S. O. Dyke, P. A. Futreal, D. S. Gerhard, C. Gunter, M. Guyer, T. J. Hudson, J. D. McPherson, L. J. Miller, B. Ozenberger, K. M. Shaw, A. Kasprzyk, L. D. Stein, J. Zhang, S. A. Haider, J. Wang, C. K. Yung, A. Cros, Y. Liang, S. Gnaneshan, J. Guberman, J. Hsu, M. Bobrow, D. R. Chalmers, K. W. Hasel, Y. Joly, T. S. Kaan, K. L. Kennedy, B. M. Knoppers, W. W. Lowrance, T. Masui, P. Nicolas, E. Rial-Sebbag, L. L. Rodriguez, C. Vergely, T. Yoshida, S. M. Grimmond, A. V. Biankin, D. D. Bowtell, N. Cloonan, A. deFazio, J. R. Eshleman, D. Etemadmoghadam, B. B. Gardiner, J. G. Kench, A. Scarpa, R. L. Sutherland, M. A. Tempero, N. J. Waddell, P. J. Wilson, J. D. McPherson, S. Gallinger, M. S. Tsao, P. A. Shaw, G. M. Petersen, D. Mukhopadhyay, L. Chin, R. A. DePinho, S. Thayer, L. Muthuswamy, K. Shazand, T. Beck, M. Sam, L. Timms, V. Ballin, Y. Lu, J. Ji, X. Zhang, F. Chen, X. Hu, G. Zhou, Q. Yang, G. Tian, L. Zhang, X. Xing, X. Li, Z. Zhu, Y. Yu, J. Yu, H. Yang, M. Lathrop, J. Tost, P. Brennan, I. Holcatova, D. Zaridze, A. Brazma, L. Egevard, E. Prokhortchouk, R. E. Banks, M. Uhlen, A. Cambon-Thomsen, J. Viksna, F. Ponten, K. Skryabin, M. R. Stratton, P. A. Futreal, E. Birney, A. Borg, A. L. Borresen-Dale, C. Caldas, J. A. Foekens, S. Martin, J. S. Reis-Filho, A. L. Richardson, C. Sotiriou, H. G. Stunnenberg, G. Thoms, M. van de Vijver, L. van't Veer, F. Calvo, D. Birnbaum, H. Blanche, P. Boucher, S. Boyault, C. Chabannon, I. Gut, J. D. Masson-Jacquemier, M. Lathrop, I. Pauporte, X. Pivot, A. Vincent-Salomon, E. Tabone, C. Theillet, G. Thomas, J. Tost, I. Treilleux, F. Calvo, P. Bioulac-Sage, B. Clement, T. Decaens, F. Degos, D. Franco, I. Gut, M. Gut, S. Heath, M. Lathrop, D. Samuel, G. Thomas, J. Zucman-Rossi, P. Lichter, R. Eils, B. Brors, J. O. Korbel, A. Korshunov, P. Landgraf, H. Lehrach, S. Pfister, B. Radlwimmer, G. Reifemberger, M. D. Taylor, C. von Kalle, P. P. Majumder, R. Sarin, T. S. Rao, M. K. Bhan, A. Scarpa, P. Pederzoli, R. A. Lawlor, M. Delledonne, A. Bardelli, A. V. Biankin, S. M. Grimmond, T. Gress, D. Klimstra, G. Zamboni, T. Shibata, Y. Nakamura, H. Nakagawa, J. Kusada, T. Tsunoda, S. Miyano, H. Aburatani, K. Kato, A. Fujimoto, T. Yoshida, E. Campo, C. Lopez-Otin, X. Estivill, R. Guigo, S. de Sanjose, M. A. Piris, E. Montserrat, M. Gonzalez-Diaz, X. S. Puente, P. Jares, A. Valencia, H. Himmelbauer, V. Quesada, S. Bea, M. R. Stratton, P. A. Futreal, P. J. Campbell, A. Vincent-Salomon, A. L. Richardson, J. S. Reis-Filho, M. van de Vijver, G. Thomas, J. D. Masson-Jacquemier, S. Aparicio, A. Borg, A. L. Borresen-Dale, C. Caldas, J. A. Foekens, H. G. Stunnenberg, L. van't Veer, D. F. Easton, P. T. Spellman, S. Martin, A. D. Barker, L. Chin, F. S. Collins, C. C. Compton, M. L. Ferguson, D. S. Gerhard, G. Getz, C. Gunter, A. Guttmacher, M. Guyer, D. N. Hayes, E. S. Lander, B. Ozenberger, R. Penny, J. Peterson, C. Sander, K. M. Shaw, T. P. Speed, P. T. Spellman, J. G. Vockley, D. A. Wheeler, R. K. Wilson, T. J. Hudson, L. Chin, B. M. Knoppers, E. S. Lander, P. Lichter, L. D. Stein, M. R. Stratton, W. Anderson, A. D. Barker, C. Bell, M. Bobrow, W. Burke, F. S. Collins, C. C. Compton, R. A. DePinho, D. F. Easton, P. A. Futreal, D. S. Gerhard, A. R. Green, M. Guyer, S. R. Hamilton, T. J. Hubbard, O. P. Kallioniemi, K. L. Kennedy, T. J. Ley, E. T. Liu, Y. Lu, P. Majumder, M. Marra, B. Ozenberger, J. Peterson, A. J. Schafer, P. T. Spellman, H. G. Stunnenberg, B. J. Wainwright, R. K. Wilson and H. Yang 2010. International network of cancer genome projects. *Nature* 464: 993-998. doi: 10.1038/nature08987

- Ikenoue, T., M. Arai, C. Ishioka, T. Iwama, S. Kaneko, N. Matsubara, Y. Moriya, T. Nomizu, K. Sugano, K. Tamura, N. Tomita, T. Yoshida, K. Sugihara, H. Naruse, K. Yamaguchi, M. Nojima, Y. Nakamura and Y. Furukawa 2019. Importance of gastric cancer for the diagnosis and surveillance of Japanese Lynch syndrome patients. *J Hum Genet*. doi: 10.1038/s10038-019-0674-5
- Inoki, K., T. Nakajima, S. Sekine, K. Sugano, S. Tsukamoto, M. Yamada, M. Mutoh, T. Sakamoto, T. Matsuda, M. Sekiguchi, M. Ushiyama, T. Yoshida, H. Sakamoto, Y. Kanemitsu and Y. Saito 2016. Depressed-type submucosal invasive colorectal cancer in a patient with Lynch syndrome diagnosed using short-interval colonoscopy. *Dig Endosc* 28: 749-754. doi: 10.1111/den.12707
- Janku, F., D. J. Stewart and R. Kurzrock 2010. Targeted therapy in non-small-cell lung cancer--is it becoming a reality? *Nat Rev Clin Oncol* 7: 401-414. doi: 10.1038/nrclinonc.2010.64
- Jarvinen, H. J., M. Aarnio, H. Mustonen, K. Aktan-Collan, L. A. Aaltonen, P. Peltomaki, A. De La Chapelle and J. P. Mecklin 2000. Controlled 15-year trial on screening for colorectal cancer in families with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Gastroenterology* 118: 829-834. doi: 10.1016/s0016-5085(00)70168-5
- Ju, J. Y., A. M. Mills, M. S. Mahadevan, J. Fan, S. H. Culp, M. H. Thomas and H. P. Cathro 2018. Universal Lynch Syndrome Screening Should be Performed in All Upper Tract Urothelial Carcinomas. *Am J Surg Pathol* 42: 1549-1555. doi: 10.1097/pas.0000000000001141
- Julie, C., C. Tresallet, A. Brouquet, C. Vallot, U. Zimmermann, E. Mitry, F. Radvanyi, E. Rouleau, R. Lidereau, F. Coulet, S. Olschwang, T. Frebourg, P. Rougier, B. Nordlinger, P. Laurent-Puig, C. Penna, C. Boileau, B. Franc, C. Muti and H. Hofmann-Radvanyi 2008. Identification in daily practice of patients with Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer): revised Bethesda guidelines-based approach versus molecular screening. *Am J Gastroenterol* 103: 2825-2835; quiz 2836. doi: 10.1111/j.1572-0241.2008.02084.x
- Kalia, S. S., K. Adelman, S. J. Bale, W. K. Chung, C. Eng, J. P. Evans, G. E. Herman, S. B. Hufnagel, T. E. Klein, B. R. Korf, K. D. McKelvey, K. E. Ormond, C. S. Richards, C. N. Vlangos, M. Watson, C. L. Martin and D. T. Miller 2017. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med* 19: 249-255. doi: 10.1038/gim.2016.190
- Kastrinos, F., B. Mukherjee, N. Tayob, F. Wang, J. Sparr, V. M. Raymond, P. Bandipalliam, E. M. Stoffel, S. B. Gruber and S. Syngal 2009. Risk of pancreatic cancer in families with Lynch syndrome. *JAMA* 302: 1790-1795. doi: 10.1001/jama.2009.1529
- Kaye, J., E. A. Whitley, D. Lund, M. Morrison, H. Teare and K. Melham 2015. Dynamic consent: a patient interface for twenty-first century research networks. *Eur J Hum Genet* 23: 141-146. doi: 10.1038/ejhg.2014.71

- Kinzler, K. W. and B. Vogelstein 1996. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 87: 159-170. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81333-1
- Knoppers, B. M., M. H. Zawati and K. Senecal 2015. Return of genetic testing results in the era of whole-genome sequencing. *Nat Rev Genet* 16: 553-559. doi: 10.1038/nrg3960
- Knudson, A. G., Jr. 1971. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 68: 820-823. doi: 10.1073/pnas.68.4.820
- Kuiper, R. P., L. E. Vissers, R. Venkatachalam, D. Bodmer, E. Hoenselaar, M. Goossens, A. Haufe, E. Kamping, R. C. Niessen, F. B. Hogervorst, J. J. Gille, B. Redeker, C. M. Tops, M. E. van Gijn, A. M. van den Ouweland, N. Rahner, V. Steinke, P. Kahl, E. Holinski-Feder, M. Morak, M. Kloor, S. Stemmler, B. Betz, P. Hutter, D. J. Bunyan, S. Syngal, J. O. Culver, T. Graham, T. L. Chan, I. D. Nagtegaal, J. H. van Krieken, H. K. Schackert, N. Hoogerbrugge, A. G. van Kessel and M. J. Ligtenberg 2011. Recurrence and variability of germline EPCAM deletions in Lynch syndrome. *Hum Mutat* 32: 407-414. doi: 10.1002/humu.21446
- Kwak, E. L., Y. J. Bang, D. R. Camidge, A. T. Shaw, B. Solomon, R. G. Maki, S. H. Ou, B. J. Dezube, P. A. Janne, D. B. Costa, M. Varella-Garcia, W. H. Kim, T. J. Lynch, P. Fidias, H. Stubbs, J. A. Engelman, L. V. Sequist, W. Tan, L. Gandhi, M. Mino-Kenudson, G. C. Wei, S. M. Shreeve, M. J. Ratain, J. Settleman, J. G. Christensen, D. A. Haber, K. Wilner, R. Salgia, G. I. Shapiro, J. W. Clark and A. J. Iafrate 2010. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 363: 1693-1703. doi: 10.1056/NEJMoa1006448
- Lambert, J. 2019. Huge US government study to offer genetic counselling. *Nature* 572: 573. doi: 10.1038/d41586-019-02509-4
- Le, D. T., J. N. Durham, K. N. Smith, H. Wang, B. R. Bartlett, L. K. Aulakh, S. Lu, H. Kemberling, C. Wilt, B. S. Luber, F. Wong, N. S. Azad, A. A. Rucki, D. Laheru, R. Donehower, A. Zaheer, G. A. Fisher, T. S. Crocenzi, J. J. Lee, T. F. Greten, A. G. Duffy, K. K. Ciombor, A. D. Eyring, B. H. Lam, A. Joe, S. P. Kang, M. Holdhoff, L. Danilova, L. Cope, C. Meyer, S. Zhou, R. M. Goldberg, D. K. Armstrong, K. M. Bever, A. N. Fader, J. Taube, F. Housseau, D. Spetzler, N. Xiao, D. M. Pardoll, N. Papadopoulos, K. W. Kinzler, J. R. Eshleman, B. Vogelstein, R. A. Anders and L. A. Diaz, Jr. 2017. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science* 357: 409-413. doi: 10.1126/science.aan6733
- Loman, N. J., R. V. Misra, T. J. Dallman, C. Constantinidou, S. E. Gharbia, J. Wain and M. J. Pallen 2012. Performance comparison of benchtop high-throughput sequencing platforms. *Nat Biotechnol* 30: 434-439. doi: 10.1038/nbt.2198
- Love, R. R., A. M. Evans and D. M. Josten 1985. The accuracy of patient reports of a family history of cancer. *J Chronic Dis* 38: 289-293. doi: 10.1016/0021-9681(85)90074-8

- Mandelker, D., M. Donoghue, S. Talukdar, C. Bandlamudi, P. Srinivasan, M. Vivek, S. Jezdic, H. Hanson, K. Snape, A. Kulkarni, L. Hawkes, J. Y. Douillard, S. E. Wallace, E. Rial-Sebbag, F. Meric-Bersntam, A. George, D. Chubb, C. Loveday, M. Ladanyi, M. F. Berger, B. S. Taylor and C. Turnbull 2019. Germline-focussed analysis of tumour-only sequencing: recommendations from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol* 30: 1221-1231. doi: 10.1093/annonc/mdz136
- Meric-Bernstam, F., L. Brusco, M. Daniels, C. Wathoo, A. M. Bailey, L. Strong, K. Shaw, K. Lu, Y. Qi, H. Zhao, H. Lara-Guerra, J. Litton, B. Arun, A. K. Eterovic, U. Aytac, M. Routbort, V. Subbiah, F. Janku, M. A. Davies, S. Kopetz, J. Mendelsohn, G. B. Mills and K. Chen 2016. Incidental germline variants in 1000 advanced cancers on a prospective somatic genomic profiling protocol. *Ann Oncol* 27: 795-800. doi: 10.1093/annonc/mdw018
- Mersch, J., N. Brown, S. Pirzadeh-Miller, E. Mundt, H. C. Cox, K. Brown, M. Aston, L. Esterling, S. Manley and T. Ross 2018. Prevalence of Variant Reclassification Following Hereditary Cancer Genetic Testing. *JAMA* 320: 1266-1274. doi: 10.1001/jama.2018.13152
- Metcalfe, M. J., F. G. Petros, P. Rao, M. E. Mork, L. Xiao, R. R. Broaddus and S. F. Matin 2018. Universal Point of Care Testing for Lynch Syndrome in Patients with Upper Tract Urothelial Carcinoma. *J Urol* 199: 60-65. doi: 10.1016/j.juro.2017.08.002
- Moline, J., H. Mahdi, B. Yang, C. Biscotti, A. A. Roma, B. Heald, P. G. Rose, C. Michener and C. Eng 2013. Implementation of tumor testing for lynch syndrome in endometrial cancers at a large academic medical center. *Gynecol Oncol* 130: 121-126. doi: 10.1016/j.ygyno.2013.04.022
- Momozawa, Y., Y. Iwasaki, M. Hirata, X. Liu, Y. Kamatani, A. Takahashi, K. Sugano, T. Yoshida, Y. Murakami, K. Matsuda, H. Nakagawa, A. B. Spurdle and M. Kubo 2019. Germline pathogenic variants in 7,636 Japanese patients with prostate cancer and 12,366 controls. *J Natl Cancer Inst.* doi: 10.1093/jnci/djz124
- Momozawa, Y., Y. Iwasaki, M. T. Parsons, Y. Kamatani, A. Takahashi, C. Tamura, T. Katagiri, T. Yoshida, S. Nakamura, K. Sugano, Y. Miki, M. Hirata, K. Matsuda, A. B. Spurdle and M. Kubo 2018. Germline pathogenic variants of 11 breast cancer genes in 7,051 Japanese patients and 11,241 controls. *Nat Commun* 9: 4083. doi: 10.1038/s41467-018-06581-8
- Moreira, L., F. Balaguer, N. Lindor, A. de la Chapelle, H. Hampel, L. A. Aaltonen, J. L. Hopper, L. Le Marchand, S. Gallinger, P. A. Newcomb, R. Haile, S. N. Thibodeau, S. Gunawardena, M. A. Jenkins, D. D. Buchanan, J. D. Potter, J. A. Baron, D. J. Ahnen, V. Moreno, M. Andreu, M. Ponz de Leon, A. K. Rustgi and A. Castells 2012. Identification of Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *JAMA* 308: 1555-1565. doi: 10.1001/jama.2012.13088
- Murray, T. H. 2019. Is Genetic Exceptionalism Past Its Sell-By Date? On Genomic Diaries, Context, and Content. *Am J Bioeth* 19: 13-15. doi: 10.1080/15265161.2018.1552038

- Nagashima, T., Y. Shimoda, T. Tanabe, A. Naruoka, J. Saito, M. Serizawa, K. Ohshima, K. Urakami, S. Ohnami, S. Ohnami, T. Mochizuki, M. Kusuhara and K. Yamaguchi 2016. Optimizing an ion semiconductor sequencing data analysis method to identify somatic mutations in the genomes of cancer cells in clinical tissue samples. *Biomed Res* 37: 359-366. doi: 10.2220/biomedres.37.359
- Najdawi, F., A. Crook, J. Maidens, C. McEvoy, A. Fellowes, J. Pickett, M. Ho, D. Nevell, K. McIlroy, A. Sheen, L. Sioson, M. Ahadi, J. Turchini, A. Clarkson, R. Hogg, S. Valmadre, G. Gard, S. J. Dooley, R. J. Scott, S. B. Fox, M. Field and A. J. Gill 2017. Lessons learnt from implementation of a Lynch syndrome screening program for patients with gynaecological malignancy. *Pathology* 49: 457-464. doi: 10.1016/j.pathol.2017.05.004
- O'Daniel, J. M., H. M. McLaughlin, L. M. Amendola, S. J. Bale, J. S. Berg, D. Bick, K. M. Bowling, E. C. Chao, W. K. Chung, L. K. Conlin, G. M. Cooper, S. Das, J. L. Deignan, M. O. Dorschner, J. P. Evans, A. A. Ghazani, K. A. Goddard, M. Gornick, K. D. Farwell Hagman, T. Hambuch, M. Hegde, L. A. Hindorff, I. A. Holm, G. P. Jarvik, A. Knight Johnson, L. Mighion, M. Morra, S. E. Plon, S. Punj, C. S. Richards, A. Santani, B. H. Shirts, N. B. Spinner, S. Tang, K. E. Weck, S. M. Wolf, Y. Yang and H. L. Rehm 2017. A survey of current practices for genomic sequencing test interpretation and reporting processes in US laboratories. *Genet Med* 19: 575-582. doi: 10.1038/gim.2016.152
- Pao, W., V. Miller, M. Zakowski, J. Doherty, K. Politi, I. Sarkaria, B. Singh, R. Heelan, V. Rusch, L. Fulton, E. Mardis, D. Kupfer, R. Wilson, M. Kris and H. Varmus 2004. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 13306-13311. doi: 10.1073/pnas.0405220101
- Park, Y. J., K. H. Shin and J. G. Park 2000. Risk of gastric cancer in hereditary nonpolyposis colorectal cancer in Korea. *Clin Cancer Res* 6: 2994-2998.
- Perea, J., Y. Rodriguez, D. Rueda, J. C. Marin, J. Diaz-Tasende, E. Alvaro, C. Alegre, I. Osorio, F. Colina, M. Lomas, M. Hidalgo, J. Benitez and M. Urioste 2011. Early-onset colorectal cancer is an easy and effective tool to identify retrospectively Lynch syndrome. *Ann Surg Oncol* 18: 3285-3291. doi: 10.1245/s10434-011-1782-4
- Perez-Carbonell, L., C. Ruiz-Ponte, C. Guarinos, C. Alenda, A. Paya, A. Brea, C. M. Egoavil, A. Castillejo, V. M. Barbera, X. Bessa, R. M. Xicola, M. Rodriguez-Soler, C. Sanchez-Fortun, N. Acame, S. Castellvi-Bel, V. Pinol, F. Balaguer, L. Bujanda, M. L. De-Castro, X. Llor, M. Andreu, A. Carracedo, J. L. Soto, A. Castells and R. Jover 2012. Comparison between universal molecular screening for Lynch syndrome and revised Bethesda guidelines in a large population-based cohort of patients with colorectal cancer. *Gut* 61: 865-872. doi: 10.1136/gutjnl-2011-300041

- Pinol, V., A. Castells, M. Andreu, S. Castellvi-Bel, C. Alenda, X. Llor, R. M. Xicola, F. Rodriguez-Moranta, A. Paya, R. Jover and X. Bessa 2005. Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *JAMA* 293: 1986-1994. doi: 10.1001/jama.293.16.1986
- Plaschke, J., S. Kruger, W. Dietmaier, J. Gebert, C. Sutter, E. Mangold, C. Pagenstecher, E. Holinski-Feder, K. Schulmann, G. Moslein, J. Ruschoff, C. Engel, G. Evans and H. K. Schackert 2004. Eight novel MSH6 germline mutations in patients with familial and nonfamilial colorectal cancer selected by loss of protein expression in tumor tissue. *Hum Mutat* 23: 285. doi: 10.1002/humu.9217
- Pujol, P., P. Vande Perre, L. Faivre, D. Sanlaville, C. Corsini, B. Baertschi, M. Anahory, D. Vaur, S. Olschwang, N. Soufir, N. Bastide, S. Amar, M. Vintraud, O. Ingster, S. Richard, P. Le Coz, J. P. Spano, O. Caron, P. Hammel, E. Luporsi, A. Toledano, X. Rebillard, A. Cambon-Thomsen, O. Putois, J. M. Rey, C. Herve, C. Zorn, K. Baudry, V. Galibert, J. Gligorov, D. Azria, B. Bressac-de Paillerets, N. Burnichon, M. Spielmann, D. Zarca, I. Coupier, O. Cussenot, A. P. Gimenez-Roqueplo, S. Giraud, A. S. Lapointe, P. Niccoli, I. Raingeard, M. Le Bidan, T. Frebourg, A. Rafii and D. Genevieve 2018. Guidelines for reporting secondary findings of genome sequencing in cancer genes: the SFMPP recommendations. *Eur J Hum Genet* 26: 1732-1742. doi: 10.1038/s41431-018-0224-1
- Resta, R., B. B. Biesecker, R. L. Bennett, S. Blum, S. E. Hahn, M. N. Strecker and J. L. Williams 2006. A new definition of Genetic Counseling: National Society of Genetic Counselors' Task Force report. *J Genet Couns* 15: 77-83. doi: 10.1007/s10897-005-9014-3
- Richards, S., N. Aziz, S. Bale, D. Bick, S. Das, J. Gastier-Foster, W. W. Grody, M. Hegde, E. Lyon, E. Spector, K. Voelkerding and H. L. Rehm 2015. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 17: 405-424. doi: 10.1038/gim.2015.30
- Ricker, C. N., D. L. Hanna, C. Peng, N. T. Nguyen, M. C. Stern, S. L. Schmit, G. E. Idos, R. Patel, S. Tsai, V. Ramirez, S. Lin, V. Shamasundara, A. Barzi, H. J. Lenz and J. C. Figueiredo 2017. DNA mismatch repair deficiency and hereditary syndromes in Latino patients with colorectal cancer. *Cancer* 123: 3732-3743. doi: 10.1002/cncr.30790
- Rivera-Munoz, E. A., L. V. Milko, S. M. Harrison, D. R. Azzariti, C. L. Kurtz, K. Lee, J. L. Mester, M. A. Weaver, E. Currey, W. Craigen, C. Eng, B. Funke, M. Hegde, R. E. Hershberger, R. Mao, R. D. Steiner, L. M. Vincent, C. L. Martin, S. E. Plon, E. Ramos, H. L. Rehm, M. Watson and J. S. Berg 2018. ClinGen Variant Curation Expert Panel experiences and standardized processes for disease and gene-level specification of the ACMG/AMP guidelines for sequence variant interpretation. *Hum Mutat* 39: 1614-1622. doi: 10.1002/humu.23645

- Ross, L. F., M. A. Rothstein and E. W. Clayton 2013. Mandatory extended searches in all genome sequencing: "incidental findings," patient autonomy, and shared decision making. *JAMA* 310: 367-368. doi: 10.1001/jama.2013.41700
- Sakamoto, Y., S. Sereewattanawoot and A. Suzuki 2019. A new era of long-read sequencing for cancer genomics. *J Hum Genet*. doi: 10.1038/s10038-019-0658-5
- Schrader, K. A., D. T. Cheng, V. Joseph, M. Prasad, M. Walsh, A. Zehir, A. Ni, T. Thomas, R. Benayed, A. Ashraf, A. Lincoln, M. Arcila, Z. Stadler, D. Solit, D. M. Hyman, L. Zhang, D. Klimstra, M. Ladanyi, K. Offit, M. Berger and M. Robson 2016. Germline Variants in Targeted Tumor Sequencing Using Matched Normal DNA. *JAMA Oncol* 2: 104-111. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.5208
- Shapiro, M. B. and P. Senapathy 1987. RNA splice junctions of different classes of eukaryotes: sequence statistics and functional implications in gene expression. *Nucleic Acids Res* 15: 7155-7174. doi: 10.1093/nar/15.17.7155
- Shia, J. 2008. Immunohistochemistry versus microsatellite instability testing for screening colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome. Part I. The utility of immunohistochemistry. *J Mol Diagn* 10: 293-300. doi: 10.2353/jmoldx.2008.080031
- Stenson, P. D., M. Mort, E. V. Ball, K. Evans, M. Hayden, S. Heywood, M. Hussain, A. D. Phillips and D. N. Cooper 2017. The Human Gene Mutation Database: towards a comprehensive repository of inherited mutation data for medical research, genetic diagnosis and next-generation sequencing studies. *Hum Genet* 136: 665-677. doi: 10.1007/s00439-017-1779-6
- Stoffel, E. M., P. B. Mangu, S. B. Gruber, S. R. Hamilton, M. F. Kalady, M. W. Lau, K. H. Lu, N. Roach and P. J. Limburg 2015. Hereditary colorectal cancer syndromes: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline endorsement of the familial risk-colorectal cancer: European Society for Medical Oncology Clinical Practice Guidelines. *J Clin Oncol* 33: 209-217. doi: 10.1200/jco.2014.58.1322
- Sunami, K., H. Ichikawa, T. Kubo, M. Kato, Y. Fujiwara, A. Shimomura, T. Koyama, H. Kakishima, M. Kitami, H. Matsushita, E. Furukawa, D. Narushima, M. Nagai, H. Taniguchi, N. Motoi, S. Sekine, A. Maeshima, T. Mori, R. Watanabe, M. Yoshida, A. Yoshida, H. Yoshida, K. Satomi, A. Sukeda, T. Hashimoto, T. Shimizu, S. Iwasa, K. Yonemori, K. Kato, C. Morizane, C. Ogawa, N. Tanabe, K. Sugano, N. Hiraoka, K. Tamura, T. Yoshida, Y. Fujiwara, A. Ochiai, N. Yamamoto and T. Kohno 2019. Feasibility and utility of a panel testing for 114 cancer-associated genes in a clinical setting: A hospital-based study. *Cancer Sci* 110: 1480-1490. doi: 10.1111/cas.13969
- Takahashi, K., N. Sato, T. Sugawara, A. Kato, T. Sato, D. Shimizu, D. Tamura, M. Kito, K. Makino, H. Shirasawa, H. Miura, W. Sato, Y. Kumazawa, A. Sato and Y. Terada 2017. Clinical characteristics of Lynch-like cases collaterally classified by Lynch syndrome identification strategy using universal screening in endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 147: 388-395. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.08.016

- Tamura, K., J. Utsunomiya, T. Iwama, J. Furuyama, T. Takagawa, N. Takeda, Y. Fukuda, T. Matsumoto, T. Nishigami, K. Kusuhara, K. Sagayama, K. Nakagawa and T. Yamamura 2004. Mechanism of carcinogenesis in familial tumors. *Int J Clin Oncol* 9: 232-245. doi: 10.1007/s10147-004-0430-4
- TCGA 2012. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature* 487: 330-337. doi: 10.1038/nature11252
- Trottier, A. M., M. Cavalcante de Andrade Silva, Z. Li and L. A. Godley 2019. Somatic mutation panels: Time to clear their names. *Cancer Genet* 235-236: 84-92. doi: 10.1016/j.cancergen.2019.04.065
- Turnbull, C. 2018. Introducing whole-genome sequencing into routine cancer care: the Genomics England 100 000 Genomes Project. *Ann Oncol* 29: 784-787. doi: 10.1093/annonc/mdy054
- Umar, A., C. R. Boland, J. P. Terdiman, S. Syngal, A. de la Chapelle, J. Ruschoff, R. Fishel, N. M. Lindor, L. J. Burgart, R. Hamelin, S. R. Hamilton, R. A. Hiatt, J. Jass, A. Lindblom, H. T. Lynch, P. Peltomaki, S. D. Ramsey, M. A. Rodriguez-Bigas, H. F. Vasen, E. T. Hawk, J. C. Barrett, A. N. Freedman and S. Srivastava 2004. Revised Bethesda Guidelines for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (Lynch syndrome) and microsatellite instability. *J Natl Cancer Inst* 96: 261-268. doi: 10.1093/jnci/djh034
- van Duijnhoven, F. J., A. Botma, R. Winkels, F. M. Nagengast, H. F. Vasen and E. Kampman 2013. Do lifestyle factors influence colorectal cancer risk in Lynch syndrome? *Fam Cancer* 12: 285-293. doi: 10.1007/s10689-013-9645-8
- Vasen, H. F., G. Moslein, A. Alonso, I. Bernstein, L. Bertario, I. Blanco, J. Burn, G. Capella, C. Engel, I. Frayling, W. Friedl, F. J. Hes, S. Hodgson, J. P. Mecklin, P. Moller, F. Nagengast, Y. Parc, L. Renkonen-Sinisalo, J. R. Sampson, A. Stormorken and J. Wijnen 2007. Guidelines for the clinical management of Lynch syndrome (hereditary non-polyposis cancer). *J Med Genet* 44: 353-362. doi: 10.1136/jmg.2007.048991
- Vogelstein, B. and K. W. Kinzler 2004. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 10: 789-799. doi: 10.1038/nm1087
- Vogelstein, B. and K. W. Kinzler 2015. The Path to Cancer --Three Strikes and You're Out. *N Engl J Med* 373: 1895-1898. doi: 10.1056/NEJMp1508811
- Vos, J., W. Otten, C. van Asperen, A. Jansen, F. Menko and A. Tibben 2008. The counselees' view of an unclassified variant in BRCA1/2: recall, interpretation, and impact on life. *Psychooncology* 17: 822-830. doi: 10.1002/pon.1311
- Wang, M., J. Y. Wang, J. Cisler, K. Imaizumi, B. K. Burton, M. C. Jones, J. J. Lamberti and M. Godfrey 1997. Three novel fibrillin mutations in exons 25 and 27: classic versus neonatal Marfan syndrome. *Hum Mutat* 9: 359-362. doi: 10.1002/(sici)1098-1004(1997)9:4<359::aid-humu10>3.0.co;2-1

- Weiner, C. 2014. Anticipate and communicate: Ethical management of incidental and secondary findings in the clinical, research, and direct-to-consumer contexts (December 2013 report of the Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues). *Am J Epidemiol* 180: 562-564. doi: 10.1093/aje/kwu217
- Wolf, S. M., F. P. Lawrenz, C. A. Nelson, J. P. Kahn, M. K. Cho, E. W. Clayton, J. G. Fletcher, M. K. Georgieff, D. Hammerschmidt, K. Hudson, J. Illes, V. Kapur, M. A. Keane, B. A. Koenig, B. S. Leroy, E. G. McFarland, J. Paradise, L. S. Parker, S. F. Terry, B. Van Ness and B. S. Wilfond 2008. Managing incidental findings in human subjects research: analysis and recommendations. *J Law Med Ethics* 36: 219-248, 211. doi: 10.1111/j.1748-720X.2008.00266.x
- Yamaguchi-Kabata, Y., J. Yasuda, O. Tanabe, Y. Suzuki, H. Kawame, N. Fuse, M. Nagasaki, Y. Kawai, K. Kojima, F. Katsuoka, S. Saito, I. Danjoh, I. N. Motoike, R. Yamashita, S. Koshiba, D. Saigusa, G. Tamiya, S. Kure, N. Yaegashi, Y. Kawaguchi, F. Nagami, S. Kuriyama, J. Sugawara, N. Minegishi, A. Hozawa, S. Ogishima, H. Kiyomoto, T. Takai-Igarashi, K. Kinoshita and M. Yamamoto 2018. Evaluation of reported pathogenic variants and their frequencies in a Japanese population based on a whole-genome reference panel of 2049 individuals. *J Hum Genet* 63: 213-230. doi: 10.1038/s10038-017-0347-1
- Yamaguchi, K., K. Urakami, K. Ohshima, T. Mochizuki, Y. Akiyama, K. Uesaka, T. Nakajima, M. Takahashi, S. Tamai and M. Kusuhara 2014. Implementation of individualized medicine for cancer patients by multiomics-based analyses-the Project HOPE. *Biomed Res* 35: 407-412. doi: 10.2220/biomedres.35.407
- Yokota, J., Y. Tsunetsugu-Yokota, H. Battifora, C. Le Fevre and M. J. Cline 1986. Alterations of *myc*, *myb*, and *rasHa* proto-oncogenes in cancers are frequent and show clinical correlation. *Science* 231: 261-265. doi: 10.1126/science.3941898
- Yoshida, K. and Y. Miki 2004. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. *Cancer Sci* 95: 866-871. doi: 10.1111/j.1349-7006.2004.tb02195.x
- Yoshida, T. 2019. [The Role of C-CAT, the Repository Database of Cancer Genomic Medicine in Japan]. *Gan To Kagaku Ryoho* 46: 630-634.
- Zhang, J., M. F. Walsh, G. Wu, M. N. Edmonson, T. A. Gruber, J. Easton, D. Hedges, X. Ma, X. Zhou, D. A. Yergeau, M. R. Wilkinson, B. Vadodaria, X. Chen, R. B. McGee, S. Hines-Dowell, R. Nuccio, E. Quinn, S. A. Shurtleff, M. Rusch, A. Patel, J. B. Becksfort, S. Wang, M. S. Weaver, L. Ding, E. R. Mardis, R. K. Wilson, A. Gajjar, D. W. Ellison, A. S. Pappo, C. H. Pui, K. E. Nichols and J. R. Downing 2015. Germline Mutations in Predisposition Genes in Pediatric Cancer. *N Engl J Med* 373: 2336-2346. doi: 10.1056/NEJMoa1508054