

★シリーズ 最新のがん

## 近畿大学病院ゲノム医療センターの活動と がんゲノム医療の展望

高濱 隆幸 米阪 仁雄 白石 直樹 小田 いつき 池川 敦子  
西郷 和真 福岡 和也 中川 和彦

近畿大学病院 ゲノム医療センター

Current Status and Future Perspective of Precision Medicine in Oncology

Takayuki Takahama, Kimio Yonesaka, Naoki Shiraiishi, Itsuki Oda, Atsuko Ikegawa,  
Kazumasa Saigoh, Kazuya Fukuoka, and Kazuhiko Nakagawa

Genome Medical Center, Kindai University Hospital

### 抄 録

近年、次世代シーケンサー (NGS) の臨床応用が進み、がんが生じた遺伝子変化を網羅的に解析することが可能となった。包括的がんゲノムプロファイリング (CGP) 検査を実施することで、がん化に関わる原因遺伝子が明らかになると同時に、治療の選択肢が増え、恩恵を受ける症例が出てきている。

近畿大学病院ゲノム医療センターでは、2019年に日本においてCGP検査が保険適応を受けて以降、がん関連遺伝子検査がスムーズに進むよう業務を行っている。エキスパートパネルの運営を通して、患者や主治医への適切な遺伝子解析結果を届けることを目標とし、また二次的所見への対応などを行ってきた。本稿では、CGP検査の現状について概説し、特に課題の多い出口戦略について、治療への到達率を高めるために必要なことは何か考察をしたい。

**Key words** : 網羅的遺伝子解析, precision medicine, 分子標的治療, 免疫チェックポイント阻害剤

### はじめに

がんは日本人の2人に1人が罹患する病気であり、最新の統計では年間およそ98万人があらたにがんと診断され (2018年)、2020年にがんで死亡した人は約38万人であった。日本人全体の死因の第一位は「悪性新生物」であり、がんの診断・治療は依然としても最重要課題である<sup>1</sup>。

がんの発生には複合的な要因が関与しているとされており、加齢、生活習慣 (喫煙、飲酒、食物など)、感染などが原因として知られているが、後天的に生

じる遺伝子の異常・変化ががん発生の原因の一つである<sup>2,3</sup> (図1)。これまでのがん診療は、原発臓器の種類に応じて治療方針が決定されることがほとんどであった。しかし、精密医療 (Precision medicine) の考えでは、個々の患者に生じたがん化に関わる遺伝子変化を解析し、治療につなげるのが狭義の「がんゲノム医療」である。

近畿大学病院は、2019年9月19日に「がんゲノム医療拠点病院」の指定を受けた。包括的がんゲノムプロファイリング検査 (Comprehensive Genome Profiling, 以下CGP) のスムーズな運用を目的とし

て「ゲノム医療センター」が立ち上がり、エキスパートパネルの運用等している。日常診療へCGP検査が導入されて3年程度が経過したいま、現在のがんゲノム医療の状況と今後の展望について概説したい。

### がんゲノム医療とは

癌これまで、がんの原因遺伝子を確認し、検査結果に応じて治療方針を考える試みが検討されてきた。しかし、単一遺伝子検査を繰り返し、がんの病因・治療標的となる遺伝子を検出することはコストと時間がかかる。そこで、腫瘍に生じる遺伝子の変化を網羅的に解析することで診断・治療方針の決定を目指したのが、狭義の「がんゲノム医療」である。近年、次世代シーケンサー（Next generation sequencer, 以下NGS）の登場により、高速かつ安価に多数の遺伝子変化を解析することができるようになった。主に患者から採取された腫瘍組織を検体として使用し、NGSを用いて解析することで、癌化に関わる遺伝子の変化（遺伝子変異、増幅、欠損、転座など）を明らかにすることができる。個々の患者における遺伝子の変化に応じて、オーダーメイドで最適な薬剤の選択をすることを目指している。

日本においては、2017年に「がんゲノム医療推進コンソーシアム懇談会」が開催され、がんゲノム医療の提供体制の検討が開始された<sup>4</sup>。議論の結果、2018年2月にがんゲノム医療中核拠点病院が選定され、それに紐づくがんゲノム医療連携病院が選ばれた。当初は先進医療としてCGP検査が全国で開始さ

れたが、その後2019年6月よりCGP検査は健康保険の適応となった。当院も、2019年6月よりがんゲノム医療拠点病院の指定を受け、CGP検査を実施している。保険診療開始された時点から、2022年1月末までの間に、国内では28,134人のがん患者がCGP検査を受けたと報告されている。

### がん患者にCGP検査を行うことは有用か？

#### 「CGP検査の目的」

近畿大学においては、近畿大学医学部ゲノム生物学教室と腫瘍内科をはじめとする臨床講座との共同研究により、保険診療が開始される前から国内でいち早くNGSを用いた癌の原因遺伝子の解析と臨床応用を研究として進めてきた<sup>5-7</sup>。それらのいくつかは既に成果として報告されている。例えば、主に分子標的治療薬への到達率を高めることが出来た場合、患者の予後が改善されることが示されており、一方でがん原因遺伝子が見つかったとしても、治療薬に到達出来ない場合は、むしろ予後不良である可能性も示唆されている<sup>5</sup>（図2）。したがって、出来るだけ治療の早期に薬剤の標的となりうる遺伝子の変化を網羅的に検討することが望ましいと考えられる。

現在は、癌種によらず、CGP検査の結果によって使用できる保険承認薬が存在する。例として、NTRK融合遺伝子陽性の進行・再発固形がんを対象として、現在エヌトレクチニブとラロトレクチニブが承認取得している<sup>8,9</sup>。また、2022年2月、「がん化学療法後に増悪した高い腫瘍遺伝子変異量（TMB-

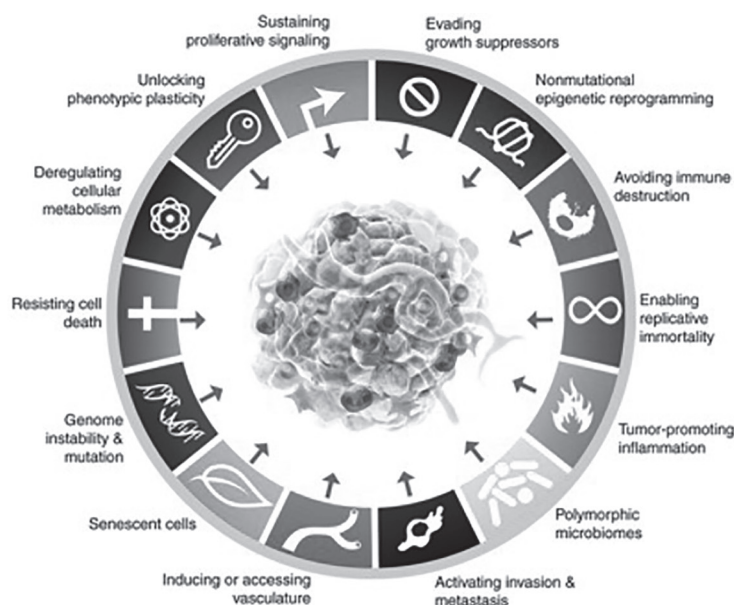


図1. Hallmarks of Cancer D. Hanahan, Cancer Discov., vol. 12, no. 1, pp. 31-46, 2022.

High) を有する進行 / 再発の固形がん (標準的な治療が困難な場合に限る)」に対してペムプロリズマブが承認を取得した<sup>10</sup>。いずれも、CGP 検査 (FoundationOne) がコンパニオン診断薬としての機能を有しており、検査を行うことによって、保険診療内で治療の選択肢が増えることも期待出来る。

以上のことから、特定の癌種だけに絞って CGP 検査を実施するのではなく、がん患者の生涯に一度は CGP 検査を受ける機会を提供出来るように心がける必要がある。

CGP 検査のもう一つの目的は、日本人がん患者における CGP 検査データの収集と蓄積にある。患者から同意が得られた症例について、CGP 検査の結果や臨床情報は 2018年 6 月に設立されたがんゲノム情報管理センター (Center for Cancer Genomics and Advanced Therapeutics: C-CAT) で収集されている。C-CAT では、患者さんのゲノム解析の結果得られる配列情報および臨床情報を集約し保管する「がんゲノム情報レポジトリ」の構築と、ゲノム解析結果の解釈・臨床的意義付を行うためのデータベース (がんゲノム知識データベース [Cancer Knowledge Database: CKDB]) 構築を行っている。これらの情報は、大学・企業等の研究機関における新しい治療標的やバイオマーカー、治療薬の開発に役立てられる予定であり、実際に二次利用に関する研究公募が進められている。

### CGP検査は、誰にいつ行うべきか？ 「検査の対象・タイミング」

日本で保険診療下に CGP 検査が開始された際に、日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会合同「次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン」が発出され、その中で検査対象が絞られることとなった<sup>11</sup>。基本的には、①標準治療終了後かつ薬物療法を検討している症例、②標準治療の無い希少癌については、診断直後から検査可能、とされた。したがって、標準治療が終わるまでは CGP 検査の機会が得られず、その間に全身状態が悪化するなどする症例が存在する。しかし、本来標準治療終了後である必要はなく、「終了見込み」で CGP 検査を行って良いことになっている。CGP 検査は、同意取得から結果返却までに 1 ヶ月～2 ヶ月かかる場合が多いため、機会を逸することの無いように、計画的に検査を行う必要がある。

もう一つの問題として、CGP 検査は検査の同意取得時には 8,000 点の保険請求しか出来ず、エキスパートパネルを経たレポートの結果説明を患者に出来た場合にのみ、48,000 点の保険請求が可能となる仕組みがあった。これは、エキスパートパネルを経ずに結果説明することを避けるための誘導であったが、結果的に検査結果を待つ間に容態が悪化されるなどした場合、検査費用が請求できず、病院の持ち出しとなる場合が存在し、検査控えが起る要因ともなっていた。そこで、2022 年度の診療報酬改定で大き

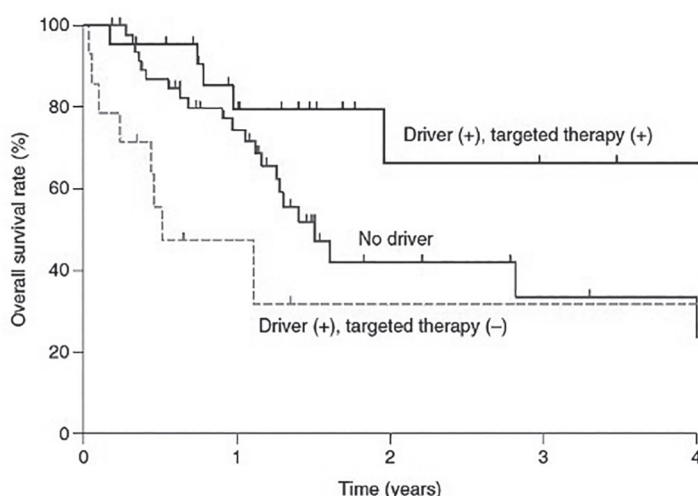


図 2. CGP 検査結果による治療介入有無による予後の違いの例 M. Takeda et al., Ann. Oncol., vol. 26, no. 12, pp. 2477-2482, 2015 より引用

な変更があり、検査の同意取得、出検の際に44,000点が請求出来ることになった（レポート返却時に12,000点を追加で請求）。この措置により、これまで同意取得時に体調が良くない、などで検査を見合わせていた症例の一部では機会が増えることが期待される。

また、2021年3月、血液検体を用いたCGP検査（いわゆるリキッドバイオプシー）が承認され、臨床で用いられるようになった。これまでは、遺伝子解析に用いる腫瘍組織検体がない患者においては、CGP検査を断念するか、もしくは新規に組織を採取しなおす必要があった。しかし、血液中にただよう腫瘍由来のDNA（circulating tumor DNA; ctDNA）を用いて網羅的に遺伝子解析を行うことが技術的に可能となったことにより、解析のための腫瘍検体を用意出来なかった症例にもCGP検査が提供出来るようになった。リキッドバイオプシーによる遺伝子解析の有用性は広く知られている<sup>12-14</sup>。一方で、弱点も存在し、血漿検体での遺伝子異常の検出率が低いとされるがん種や病態、腫瘍由来以外の遺伝子変異の検出による偽陽性が想定される場合、血漿検体において偽陰性となりやすい遺伝子異常が重要となる場合は、依然として組織検体を用いた解析が推奨される（表1）<sup>15</sup>。

しかし、リキッドバイオプシーを用いたCGP検査が実用化されたことにより、これまでのように「検体が無いから検査が出来ない」ということは無くなり多くの症例で機会が増えることになる。リキッドバイオプシーの利点と欠点を十分考慮し、一人でも多くの患者にCGP検査を提案頂きたい。

## 「二次的所見」への対応について

CGP検査は、腫瘍の中で起こった後天的な遺伝子の変化を解析することを目的としている。しかし、いわゆる T-Only panel（検査の際に腫瘍組織検体のみを用いるCGP検査のこと。例：FoundationOneなど）では、解析の際に見つかった遺伝子の変化の中で、腫瘍由来の遺伝子の変化なのか、患者が生まれ持った遺伝子の変化なのか区別がつかない場合がある。遺伝性腫瘍の可能性がある場合や、生まれ持った遺伝子変化を持つ可能性がある解析結果が得られた場合、これらを「二次的所見」と呼んでいる<sup>16</sup>。

近畿大学病院では、多職種からなるエキスパートパネルを2週間に1回開催している。現在、月に30～40例程度の症例についてがんプロ大学院生と、ゲノム医療センターのスタッフが協働して解析レポートを作成している。その際に、「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（いわゆるAMED小杉班）」において策定された二次的所見患者開示推奨度別リストなどを参考にしながら、検査で得られるValliant Allele Frequencyや、日本人SNPデータベース、家族歴などから、二次的所見として患者本人や家族に開示すべきかどうか議論している。その上で、強く二次的所見が疑われる場合、当院では遺伝カウンセリングを受けて頂けるよう体制を整備している。現在、臨床遺伝専門医1名、常勤2名の遺伝カウンセラーが在籍されており、必要があればCGP検査前から、また、CGP検査後遺伝カウンセリングが必要とされる症例については遺伝学的検査を受けることで確定診断をするべきか、今

表1. リキッドバイオプシーが得意ながん種・病態（血中循環腫瘍DNAを用いたがんゲノムプロファイリング検査の適正使用に関する政策提言 日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会 3学会合同ゲノム医療推進タスクフォース 令和3年1月20日より引用改変）

### 血漿検体での遺伝子異常の検出率が低いとされるがん種や病態

- 脳腫瘍、膀胱がん、および、睪がん。ただし、睪がんにおける検討では、EUS-FNAで採取された組織検体を用いたNGS検査の成功率が57.4%の報告もあり、組織採取時に注意が必要と考えられる。
- 大腸がんでは肺転移のみ、腹膜転移のみを有する場合
- 緩徐な臨床経過を示し、増殖速度の遅い腫瘍

### 腫瘍由来以外の遺伝子変異の検出による偽陽性が想定される場合

- CHIP（正常細胞内のクローン造血由来の遺伝子変異）の可能性が考えられる場合

### 血漿検体において偽陰性となりやすい遺伝子異常が重要となる場合

- 非小細胞肺癌における融合遺伝子やMETex14 skipping

後のフォローアップについて相談をすることが出来る。

当院では、2021年7月～2022年2月までの間にエキスパートパネルで140例の検討をしたが、そのうち36例(26%)で二次的所見またはその疑い症例があり、うち21例(15%)で遺伝カウンセリングを実施している。

今後、CGP 検査数の増加に伴い、二次的所見の拾い上げが増えることが予想されており、遺伝カウンセリング実施体制の維持・拡充が課題である。

CGP 検査の課題：①検査数

現在の CGP 検査において課題と考えられる点を2点指摘したい。

1点目は、実際のがん患者数に比して、CGP 検査の実施件数はまだまだ少ないと言わざるを得ないことである。年間38万人ものがん患者さんが亡くなっている一方で、C-CAT のデータによると2年半の間に2万8千件ほどのCGP 検査しか提出されていない<sup>17</sup>。この数字から考えると、数多くの患者さんがCGP 検査に到達出来ていないことが予想される。

まず院内においてCGP 検査を増やすために、がんゲノム医療について適切なタイミングで適切な対象に検査実施を提案しているかどうか、再度検討が必要である。

また、検査同意取得後のレポートの作成やエキスパートパネルの参加が負担となっているという声も聞かれる。2021年度に筆者らが着任したことに伴い、

エキスパートパネルレポート作成の標準化作業を行ってきた。キュレーター(=レポート作成者)ごとに口語的な表現で作成されていたレポートの表記を見直すなど、レポートの見やすさ、作りやすさ向上のために院内のコンセンサスを作った。今後も出来るだけエキスパートパネルやレポート作成の手順で簡略化出来る部分を増やし、負担を減らすように工夫を続ける方針である。

他に地域で検査数がまだ増えない原因について考察したい。検査実施可能な病院が限られていることが一つの要因になっている。当院では、「ゲノム外来」を設けており、専用の紹介用フォームを用いることで他院からのCGP 検査を目的とした紹介を積極的に受け入れている(図3)。また、当院と連携する連携病院(和泉市立総合医療センター、市立岸和田市民病院、近畿大学奈良病院)にも、地域におけるハブとなることが期待されており、実際に他院から連携病院宛にGGP 検査の依頼も増えている。

以上の取り組みを受けて、2021年度から2022年度にかけて、エキスパートパネルにおける検討件数は約1.5倍に増加している。しかし、まだまだ検査を受けられない「ゲノム医療難民」と考えられる患者は多く存在し、より広く検査を届ける取り組みを続けなければならない。

CGP 検査の課題：②出口戦略

2点目の問題点は、CGP 検査後の治療選択肢、つまり出口戦略の乏しさである。

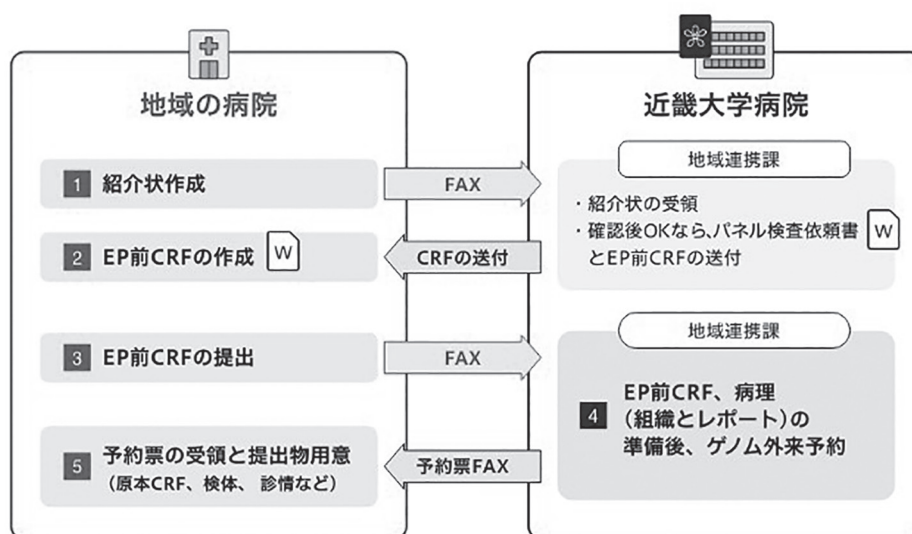


図3. 近畿大学病院ゲノム外来への患者受入の流れ

CGP 検査後、患者に提案出来る選択肢は、

- ① 当該癌種で承認されている既承認薬の使用が可能となる場合
- ② 企業または医師主導治験、臨床研究に参加出来る場合
- ③ 患者申出療養制度の中で実施されているいわゆる「受け皿試験 (JRCTs031190104, NCCH1901『BELIEVE 試験』)」の中で、企業から提供された薬剤の投与を受ける
- ④ 自費で薬剤を購入し、自由診療として投薬を受ける

などがあげられる。しかし、いずれのパターンも実際にはハードルが高い。企業治験を例にとると、そもそも組み入れ基準をクリアすることが難しい上に、多くが関東で実施されており地域間格差が存在する。2021年下半期に大阪府内のゲノム医療に関する病院で調査を行ったところ、CGP 検査後推奨された治療に到達できたのはわずか3.2% (14/434例)であり、過去に関東の施設から報告された数値 (13.3%)<sup>18</sup>とは差があると言わざるを得ない。

また、患者申出療養制度による治療も、「エビデンスレベルD以上 (がん種に関わらず、当該バイオマーカーを適応とした薬剤の使用に関して、症例報告で有用性が示されている)」という基準をクリアしたとしても、実施施設における診察でPS (Performance Status) などの問題から試験参加不能とされる症例も多く、治療到達に結びつかない例を経験している。

以上のように、この「治療到達率の低さ」も、CGP 検査を積極的に患者に勧めにくく、さらに主治医のモチベーションにつながらない背景になっていると言えよう。

では、出口戦略の幅を広げるにはどのようにすればよいだろうか。

1. 医師主導で遺伝子変化ごとに薬剤を調達し、幅広い癌腫が参加可能な「バスケット試験」を立案する
2. 製薬企業の主導する治験を積極的に誘致する
3. 患者会から、要望の大きい癌種や遺伝子変化のニーズを研究者や行政に働きかけてもらう

など、地道な取り組みを続けて行かざるを得ない。国立がんセンターが中心になって実施しているSCRUMなどの動きと並行し、例えば西日本がん研究機構 (WJOG) ではバスケット試験を企画立案する委員会が立ち上がり試験の検討を進めている。今

後、近畿大学発の試験なども積極的に企画検討していく必要がある。

### CGP 検査の将来像について最近の話題

最後にかんゲノム医療に関わる最新の話題を紹介する。

現在、国の施策として「全ゲノム解析」プロジェクトが開始されている。令和元年12月20日に「がんに関する全ゲノム解析等実行計画」が策定された。全ゲノム解析等により、がん医療への活用、日本人のがん全ゲノムデータベースの構築、がんの本態解明、創薬等の産業利用を進めていくことを目的としている。「全ゲノム解析等実行計画 (第1版)」では、主要なバイオバンクの検体 (最大約6.4万症例) を先行して解析し、5年生存率が相対的に低い難治性のがんや、稀な遺伝子変化が原因となることが多い希少がん、遺伝性腫瘍について、優先的に全ゲノム解析等を行うこととされている (約1.6万症例)。いわゆる Hot Spot のみを対象として解析を行うパネル検査とは異なり、未知の治療標的の発見や治療法の開発が期待されている。

また、これまでCGP 検査の主な対象では無かった血液がんに対しても、パネル検査の臨床応用が期待されている。現在、造血器腫瘍を対象とした遺伝子パネルの構築についても、がんゲノム中核拠点病院を中心に検討が進められている。

さらに、より高感度の検査アッセイが登場している。例えば、血液を用いた網羅的な遺伝子解析がより高い精度で実施出来る様になってきており、画像検査では動的出来ない微小残存病変 (minimal residual disease; MRD) の検出を血液で実施することにより術後の再発リスク予測を行ったり、薬物療法の決定に用いることがなったり、可能と健常人におけるがんの早期発見につなげることが出来たり、といった可能性が示唆されている<sup>19-21</sup>。

### ま と め

がんの制御において、遺伝子検査情報を基にしたゲノム医療を推進することに大きな期待を持っている。しかし、まだまだその恩恵を受ける患者は少なく、現場の負担も大きい。容易に診断時から遺伝子検査へアクセスが可能となり、さらに治療への到達率を高めるために複数の出口を絶え間なく企画検討することで、ようやくがんゲノム医療が実現される。また、全ゲノム解析など新しいプロジェクトを通して新しい治療標的が見つかるなど、真のがんゲノム医療が推進されることに期待している。

近畿大学病院は南大阪地区唯一のがんゲノム拠点

病院であり、今後も適切な遺伝子検査が広く実施されるよう、リーダーシップをとって活動を続けてまいります。

### 謝 辞

日頃ゲノム医療センターの業務を支えて下さっている、事務員の田倉英子さん、渡邊尚美さん、総務広報課辻井藍さん、塩見江里さん、大目周孝さん、また、日頃ご指導頂いているゲノム生物学教室西尾和人先生、坂井和子先生にこの場をお借りして御礼を申し上げます。

### 参 考 文 献

1. がん情報サービス, “最新がん統計”
2. D. Hanahan (2022) “Hallmarks of Cancer: New Dimensions,” *Cancer Discov.*, vol. 12, no. 1, pp. 31-46, doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.
3. D. Hanahan, R. A. Weinberg (2011) “Hallmarks of cancer: the next generation,” *Cell*, vol. 144, doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
4. “がんゲノム医療推進コンソーシアム懇談会”
5. M. Takeda *et al.* (2015) “Clinical application of amplicon-based next-generation sequencing to therapeutic decision making in lung cancer,” *Ann. Oncol.*, vol. 26, no. 12, pp. 2477-2482, doi: 10.1093/annonc/mdv475.
6. M. Takeda *et al.* (2021) “Clinical Application of the FoundationOne CDx Assay to Therapeutic Decision-Making for Patients with Advanced Solid Tumors,” *Oncologist*, vol. 26, no. 4, pp. e588-e596, doi: 10.1002/onco.13639.
7. M. Takeda *et al.* (2019) “New era for next-generation sequencing in japan,” *Cancers (Basel)*, vol. 11, no. 6, doi: 10.3390/cancers11060742.
8. R. C. Doebele *et al.* (2020) “Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials,” *Lancet Oncol.*, vol. 21, no. 2, pp. 271-282, doi: 10.1016/S1470-2045 (19) 30691-6.
9. D. S. Hong *et al.* (2020) “Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials,” *Lancet Oncol.*, vol. 21, no. 4, pp. 531-540, doi: 10.1016/S1470-2045 (19) 30856-3.
10. A. Marabelle *et al.* (2020) “Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study,” *Lancet Oncol.*, vol. 21, no. 10, pp. 1353-1365, doi: 10.1016/S1470-2045 (20) 30445-9.
11. “次世代シーケンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン”
12. T. Takahama *et al.* (2020) “Plasma screening for the T790M mutation of EGFR and phase 2 study of osimertinib efficacy in plasma T790M-positive non-small cell lung cancer: West Japan Oncology Group 8815L/LPS study,” *Cancer*, vol. 126, no. 9, pp. 1940-1948, doi: 10.1002/cncr.32749.
13. K. Sakai *et al.* (2021) “Predicting osimertinib-treatment outcomes through EGFR mutant-fraction monitoring in the circulating tumor DNA of EGFR T790M-positive patients with non-small cell lung cancer (WJOG8815L),” *Mol. Oncol.*, vol. 15, no. 1, pp. 126-137, doi: 10.1002/1878-0261.12841.
14. Y. Nakamura *et al.* (2020) “Clinical utility of circulating tumor DNA sequencing in advanced gastrointestinal cancer: SCRUM-Japan GI-SCREEN and GOZILA studies,” *Nat. Med.*, vol. 26, no. 12, pp. 1859-1864, doi: 10.1038/s41591-020-1063-5.
15. 日本臨床腫瘍学会・日本癌治療学会・日本癌学会3学会合同ゲノム医療推進タスクフォース, “血中循環腫瘍DNAを用いたがんゲノムプロファイリング検査の適正使用に関する政策提言” 2021
16. “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”
17. “C-CAT登録状況 | がんゲノム医療とがん遺伝子パネル検査 | 国立がん研究センター がんゲノム情報管理センター (C-CAT)”
18. K. Sunami *et al.* (2019) “Feasibility and utility of a panel testing for 114 cancer-associated genes in a clinical setting: A hospital-based study,” *Cancer Sci.*, vol. 110, no. 4, pp. 1480-1490, doi: 10.1111/cas.13969.
19. P. Razavi *et al.* (2019) “High-intensity sequencing reveals the sources of plasma circulating cell-free DNA variants,” *Nat. Med.*, vol. 25, no. 12, pp. 1928-1937, Dec. doi: 10.1038/s41591-019-0652-7.
20. T. Powles *et al.* (2021) “ctDNA guiding adjuvant immunotherapy in urothelial carcinoma,” *Nature*, vol. 595, no. 7867, pp. 432-437, Jul. doi: 10.1038/s41586-021-03642-9.
21. M. J. M. Magbanua *et al.* (2021) “Circulating tumor DNA in neoadjuvant-treated breast cancer reflects response and survival,” *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.*, vol. 32, no. 2, pp. 229-239, Feb. doi: 10.1016/j.annonc.2020.11.007.