

INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LUNG CANCER

肺癌における 標的療法のための 分子検査のIASLCアトラス

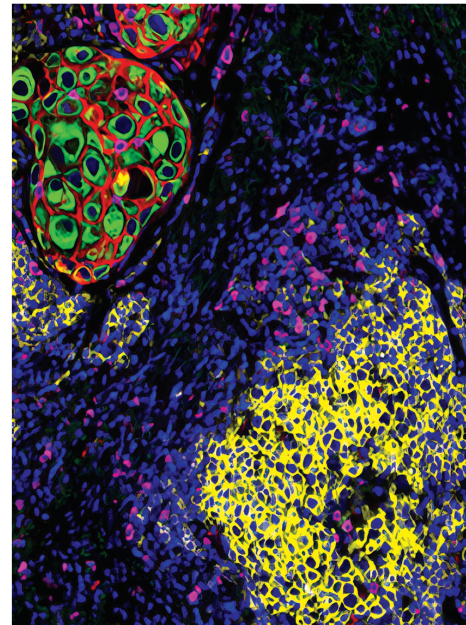
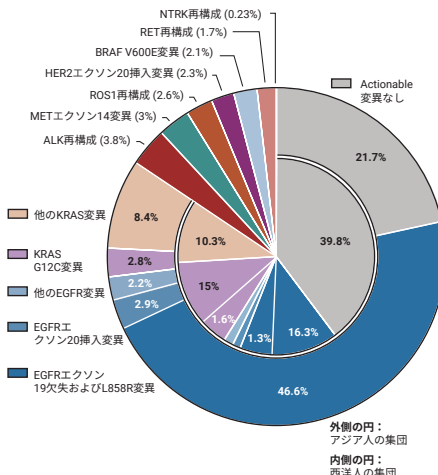
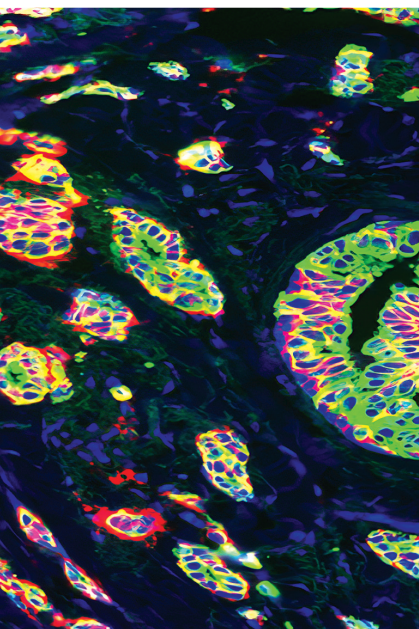
編集者

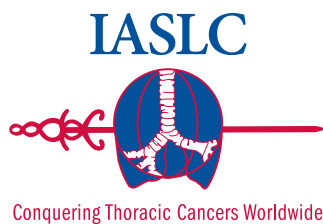
Lynette M. Sholl, MD
 Wendy A. Cooper, BSc(Med), MBBS, PhD, FRCPA
 Keith M. Kerr, BSc(Hons), MBChB, FRCPath
 Daniel SW Tan, B.Sc(Hons), MBBS, MRCP, PhD
 Ming-Sound Tsao, MD, FRCPC
 James Chih-Hsin Yang, MD, PhD

IASLC



Conquering Thoracic Cancers Worldwide





肺癌における標的療法のための分子検査 の IASLC アトラス



国際肺癌研究協会（IASLC：International Association for the Study of Lung Cancer）と当アトラスの編集者は、皆様からのご意見を大切にしています。QRコードをスキャンして、この「肺癌における標的療法のための分子検査の IASLC アトラス」を教育ツールとして使用した経験についての簡単なアンケートにご協力ください。

International Association for the Study of Lung Cancer, Denver, CO, USA

編集者：

Lynette M. Sholl, MD

Wendy A. Cooper, BSc(Med), MBBS, PhD, FRCPA

Keith M. Kerr, BSc(Hons), MBChB, FRCPath

Daniel SW Tan, BSc(Hons), MBBS, MRCP, PhD

Ming-Sound Tsao, MD, FRCPC

James Chih-Hsin Yang, MD, PhD

IASLC オフィス：

IASLC, 999 17th Street, Suite 200, Denver, Colorado 80202, USA

www.iaslc.org

2023 年 2 月

10 9 8 7 6 5 4 3 2 1

ISBN : 979-8-9878292-0-2

著作権 © 2023 International Association for the Study of Lung Cancer

無断転載禁止

著作権法上の例外を除き、書面による事前の承諾無しで本出版物の部分的利用、検索システムへの保存あるいは導入、あるいはすべての転載を禁止します。

出版時点における本書の情報は真実かつ正確であると確信していますが、いかなる間違いや不作為についても IASLC、編集者、および出版者は法的責任を負いません。出版者は内容に関して明示的にも黙示的にも保証を負いません。

肺癌における標的療法のための分子検査の IASLC アトラス

編集者

Lynette M. Sholl, MD

Wendy A. Cooper, BSc(Med), MBBS, PhD, FRCPA

Keith M. Kerr, BSc(Hons), MBChB, FRCPath

Daniel SW Tan, BSc(Hons), MBBS, MRCP, PhD

Ming-Sound Tsao, MD, FRCPC

James Chih-Hsin Yang, MD, PhD

謝辞

International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) は、下記企業様からの寛大な支援に謝意を表します。

アストラゼネカ

ファイザー

アムジェン

ノバルティス

ヤンセンファーマ

イーライリリー・アンド・カンパニー

ジェネンテック

協賛：

第一三共

武田薬品

メルク

共編者およびすべての担当者は、Casey Connolly (MPH、IASLC の Scientific Affairs Specialist) によるプロジェクトのコーディネーションに関する援助に深く感謝するとともに、Murry Wynes (PhD、IASLC の Senior Scientific Advisor) による初期概念化に関する援助、Terese Platten による編集援助、Stephen Adams による画像と合成に関する援助、Jane Olivier (Glacier Publishing Services の社長) による本書の出版に関する援助に深く感謝いたします。

コンテンツ

	序文	vii
	貢献者	ix
	略語	xv
1	はじめに	1
2	肺癌におけるバイオマーカー検査の臨床的意義	7
3	標本採取と解析前の考慮事項	21
4	液体生検：標本採取、検査戦略、臨床的役割	37
5	バイオマーカーの検出技術	51
6	分子検査ガイドラインと実践のグローバルな展望	69
7	EGFR	81
8	ALK	95
9	ROS1	107
10	BRAF	115
11	NTRK	123
12	RET	129
13	MET	135
14	KRAS	149
15	HER2	159
16	NRG1	167
17	New Targets and Technologies	171
18	Molecular Testing Results and the Role of Multidisciplinary Molecular Tumor Boards	181
19	Molecular Biomarker Testing Algorithms	187
20	Summary and Future Perspectives	195

序文

IASLC が 50 年前に設立されたとき、そのビジョンは、肺癌の理解と治療に尽力する人々を結び付ける組織を作ることでした。IASLC は、今や世界規模の強力な学際的組織に成長し、メンバー間のコラボレーションを促進して、当分野を発展させるためのさまざまな機会を提供しています。IASLC の委員会の中でも特に強力で活動的なのは、病理学委員会です。この委員会は、肺癌などの胸部悪性腫瘍の病期分類基準の策定と、主要な病理学的トピックに関する標準の発行に関する卓越した功績で知られています。これらの病理学的トピックとしては、肺癌状況での ALK 陽性に関する包括的な検査ガイドラインや、PD-L1 検査を標準化するための様式の比較などが挙げられます。さらに最近では、免疫組織化学 (IHC : immunohistochemistry) の最新動向をまとめた「2020 免疫組織化学診断 IASLC アトラス」が出版されました。この新しいアトラスは、真に国際的な編集委員会の下で、対象範囲が分子診断の領域にまで拡大されています。この編集委員会は、優れた執筆陣の作業を指導した世界的に有名な専門家で構成されています。

IASLC が長年にわたり、患者支援コミュニティからの著名な声を取り入れるまでに成長したように、このアトラスが、患者支援者からの視点を取り入れたバイオマーカー検査の臨床的妥当性に関する章を含むことは適切なことであり、このアトラスの知識が、肺癌患者にどのように直接的な恩恵をもたらすかを思い起こすのに役立ちます。

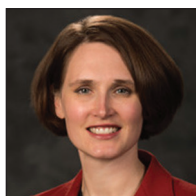
本書は基本的に、肺癌の分野に携わっている医師向けの実践ガイドです。病理標本の評価は、最良の標本採取技法の検証なしには語れません。したがって、第 2 章は、呼吸器科医、外科医、介入放射線医、病理医の視点を交えて、幅広く役立つ内容になっています。このアトラスには、リキッドバイオプシーに関する重要な章もあります。リキッドバイオプシーは、非小細胞肺癌の患者を最適に管理する上でますます重要になっており、組織が乏しいため採取困難な場合に特に重要となります。執筆陣は、他の発行済みガイドラインを振り返りながら、分子検査に関するグローバルな視点を検証します。当アトラスの大部分は、EGFR、ALK、ROS1、KRAS などの特定の関心対象遺伝子ごと、および NRG1 などの新たな標的ごとに分割されています。執筆陣は締めくくりとして、分子検査のアルゴリズムと将来の展望に注目しています。

この「肺癌における標的療法のための分子検査のIASLCアトラス」は、分子検査の最新動向を読者の手元に置く、素晴らしいリファレンスです。肺癌の最適な治療には、肺癌の分子基盤における最新の進歩に関する最新知識が必要であるとともに、それらの変化と臨床的意義を理解する方法に関する最新知識が必要です。これらの情報を活かして、患者に最善の治療を提供できます。このアトラスは簡潔な実践ガイドであり、対象読者は、すべての病理医、呼吸器科医、外科医、介入放射線医、腫瘍内科医、コメディカルスタッフ、支援者を含む、肺癌患者に最適な治療を提供するために尽力されている人たちです。

—Heather Wakelee, MD, FASCO, President IASLC
Division of Oncology
Department of Medicine
Stanford Cancer Institute
Stanford University School of Medicine
Stanford, California, United States

貢献者

編集者



Lynette M. Sholl, MD

Associate Professor, Pathology, Harvard Medical School
Associate Pathologist, Department of Pathology,
Brigham and Women's Hospital
Boston, Massachusetts, United States



Wendy A. Cooper, BSc(Med), MBBS, PhD, FRCPA

Associate Professor
Tissue Pathology and Diagnostic Oncology
NSW Health Pathology
Royal Prince Alfred Hospital
Camperdown, New South Wales, Australia



Keith M. Kerr, BSc(Hons), MBChB, FRCPath

Consultant Pathologist, Department of Pathology, Aberdeen Royal
Infirmary
Professor of Pulmonary Pathology, Aberdeen University Medical School
Aberdeen, Scotland, United Kingdom



Daniel SW Tan, BSc(Hons), MBBS, MRCP, PhD

Senior Consultant, Medical Oncology
Department of Medical Oncology
National Cancer Centre Singapore
シンガポール



Ming-Sound Tsao, MD, FRCPC
Pathologist, Senior Scientist, and Professor
Department of Pathology
Princess Margaret Cancer Centre, University Health Network
University of Toronto
Toronto, Ontario, Canada



James Chih-Hsin Yang, MD, PhD
Director, Graduate Institute of Oncology, National Taiwan University
Director, Department of Oncology, National Taiwan University Hospital
台湾、台北

執筆者

Myung-Ju Ahn, MD, PhD

Division of Hematology-Oncology
Department of Medicine
Samsung Medical Center
Sungkyunkwan University School of
Medicine
大韓民国、ソウル

Maria E. Arcila, MD

Department of Pathology
Memorial Sloan-Kettering Cancer Center
New York, New York, United States

Lyudmila Bazhenova, MD

Division of Hematology Oncology
Department of Medicine
Moore's Cancer Center
University of California
La Jolla, California, United States

Mary Beth Beasley, MD

Icahn School of Medicine
Mount Sinai Health System
New York, New York, United States

Sabina Berezowska, MD

Institute of Pathology
Lausanne University Hospital and
University of Lausanne
Lausanne, Switzerland

Lukas Bubendorf, MD

Institute of Pathology
University Hospital Basel
Basel, Switzerland

Federico Cappuzzo, MD, PhD

Azienda Unità Sanitaria Locale della
Romagna
Ravenna, Italy

Jason C. Chang, MD

Department of Pathology
Memorial Sloan Kettering Cancer Center
New York, New York, United States

Teh-Ying Chou, MD, PhD, MBA

Division of Molecular Pathology
Department of Pathology and Laboratory
Medicine
Taipei Veterans General Hospital
台湾、台北

Jin-Haeng Chung, MD, PhD

Department of Pathology and
Respiratory Center
Seoul National University Bundang Hospital
Seongnam City, Republic of Korea

Sanja Dacic, MD, PhD

Department of Pathology
Yale University Medical School
New Haven, Connecticut, United States

Ibiayi Dagogo-Jack, MD

Department of Hematology/Oncology
Massachusetts General Hospital
Cancer Center
Boston, Massachusetts, United States

Jessica S. Donington, MD, MSCR

Department of Cardiothoracic Surgery
 NYU School of Medicine
 New York, New York, United States

Alexander Drilon, MD

Thoracic Oncology Service and
 Developmental Therapeutics
 Memorial Sloan Kettering Cancer Center
 New York, New York, United States

Ivy Elkins

患者アドボケート
 EGFR Resisters
 米国、イリノイ州バッドファローグローブ

Kwun M. Fong, MBBS, PhD, FRACP

Department of Thoracic Medicine
 Prince Charles Hospital
 Chermside, Queensland, Australia

Justin F. Gainor, MD

Department of Hematology/Oncology
 Massachusetts General Hospital
 Boston, Massachusetts, United States

David R. Gandara, MD

Department of Internal Medicine
 Hematology/Oncology Cancer Center
 UC Davis Medical Center
 Sacramento, California, United States

Ritu R. Gill, MD, MPH

Department of Radiology
 Brigham and Women's Hospital
 Boston, Massachusetts, United States

Apoorva Gogna, MD

Department of Vascular and Interventional
 Radiology
 Singapore General Hospital
 シンガポール

Yasushi Goto, MD

Division of Internal Medicine and
 Thoracic Oncology
 National Cancer Center Hospital
 Chuo-ku, Tokyo, Japan

Jhanelle E. Gray, MD

Program and Division of Thoracic Oncology
 H. Lee Moffitt Cancer Center and
 Research Institute
 Tampa, Florida, United States

Yuchen Han, PhD

Pathology Department
 Shanghai Chest Hospital
 Shanghai Jiaotong University
 Shanghai, People's Republic of China

Lizza E. Hendriks, MD, PhD

Department of Pulmonary Diseases
 Maastricht University Medical Center
 Maastricht, The Netherlands

Paul J. Hesketh, MD

Department of Hematology and Oncology
 Lahey Clinic Medical Center
 Tufts University School of Medicine
 Burlington, Massachusetts, United States

Fred R. Hirsch, MD, PhD

Center for Thoracic Oncology
 Tisch Cancer Institute
 Icahn School of Medicine
 Mount Sinai Health System
 New York, New York, United States

Paul Hofman, MD, PhD

Department of Pathology
 Laboratoire de Pathologie Clinique et
 Experimentale et Biobanque CRB
 CHU de Nice
 Nice, France

David M. Hwang, MD

Department of Pathology
 University of Toronto and University Health
 Network
 Toronto, Ontario, Canada

Malinda Itchins, MD

Department of Medical Oncology
 Royal North Shore Hospital
 Sydney, New South Wales, Australia

Deepali Jain, MD

Department of Pathology
 All India Institute of Medical Sciences
 New Delhi, India

Philippe Joubert, MD, PhD

病理学
 Institut Universitaire de Cardiologie et de
 Pneumologie de Quebec
 Québec City, Québec, Canada

Mehdi Karkouri, MD

Department of Pathology
 University Hassan de Casablanca

Casablanca, Morocco

Dong-Wan Kim, MD

Department of Internal Medicine
Medical Oncology Center
Seoul National University Hospital
Seoul, Republic of South Korea

Sylvie Lantuejoul, PhD

Department of Pathology
Université Grenoble Alpes
Grenoble, France
Department of Pathology
Centre Léon Bérard Unicancer and CRCL
Lyon, France

Natasha B. Leigh, MD, MMSc, FRCPC, FASCO

Division of Medical Oncology/Hematology
Princess Margaret Cancer Centre
Toronto, Ontario, Canada

Chien-Feng Li, MD

Department of Pathology
Chi-Mei Medical Center
National Institute of Cancer Research
National Health Research Institutes
Institute of Precision Medicine
National Sun Yat-sen University
Kaohsiung, Taiwan

Dongmei Lin, MD

病理学
Key Laboratory of Carcinogenesis and
Translational Research
Ministry of Education
Peking University Cancer Hospital
and Institute
Beijing, People's Republic of China

Jessica J. Lin, MD

Department of Hematology/Oncology
Massachusetts General Hospital
Cancer Center
Boston, Massachusetts, United States

Stephen V. Liu, MD

腫瘍内科学
Lombardi Comprehensive Cancer Center
Georgetown University Medical Center
Washington, DC, United States

Fernando Lopez-Rios, MD, PhD

Department of Pathology
Hospital Universitario 12 de Octubre
Madrid, Spain

Laura Mezquita, MD, PhD

Medical Oncology Department
Hospital Clinic of Barcelona
Laboratory of Translational Genomics and
Targeted Therapies in Solid Tumors
Institut d' Investigacions Biomèdiques
August Pi i Sunyer (IDIBAPS)
Barcelona, Spain

Mari Mino-Kenudson, MD

Department of Pathology
Massachusetts General Hospital and Harvard
Medical School
Boston, Massachusetts, United States

Andrew G. Nicholson, DM

Department of Histopathology
Royal Brompton Hospital
London, United Kingdom

Sai-Hong Ignatius Ou, MD, PhD

Division of Hematology/Oncology,
Department of Medicine
Chao Family Comprehensive Cancer Center
University of California Irvine Medical
Center
Orange County, California, United States

Mauro Papotti, MD

Department of Pathology
University of Turin
Turin, Italy

David Planchard, MD, PhD

Medical Oncology Department
Gustave Roussy
Villejuif, France

Luis E. Raez, MD

Department of Hematology and Oncology
Memorial Cancer Institute
Memorial Health Care System
Pembroke Pines, Florida, United States

Natasha Rekhman, MD

Department of Pathology
Memorial Sloan Kettering Cancer Center
New York, New York, United States

Jordi Remon, MD

Department of Medical Oncology
Centro Integral Oncológico Clara Campal
(HM-CIOCC)
Hospital HM Delfos, HM Hospitales
Barcelona, Spain

Anja C. Roden, MD

Department of Laboratory Medicine and
Pathology
Mayo Clinic
Rochester, Minnesota, United States

Christian Rolfo, MD, PhD

Department of Medicine, Hematology, and
Medical Oncology
Icahn School of Medicine
Mount Sinai Health System
New York, New York, United States

Julia K. Rotow, MD

Lowie Center for Thoracic Oncology
Dana-Farber Cancer Institute
Boston, Massachusetts, United States

Kurt A. Schalper, MD, PhD

Department of Pathology
Yale University Medical School
New Haven, Connecticut, United States

Lecia V. Sequist, MD, MPH

Department of Medicine
Massachusetts General Hospital Cancer
Center
Boston, Massachusetts, United States

Shani Shilo

患者アドボケート
Israel Lung Cancer Foundation
Rehovot, Israel

Anders Skanderup, MD

Department of Medical Oncology
Genome Institute of Singapore
シンガポール

Benjamin J. Solomon, MBBS, PhD, FRACP

Department of Medical Oncology
Peter MacCallum Cancer Centre
Melbourne, Victoria, Australia

Emily Stone, MBBS, MMed, FRACP

Department of Thoracic Medicine
St. Vincent's Hospital
Sydney, New South Wales, Australia

Erik Thunnissen, MD, PhD

Department of Pathology
Amsterdam University Medical Center
アムステルダム、オランダ

Paul E. Van Schil, MD, PhD

Department of Thoracic and Vascular
Surgery
Antwerp University Hospital
Antwerp, Belgium

Ignacio Wistuba, MD

Department of Translational Pathology
University of Texas MD Anderson Cancer
Center
Houston, Texas, United States

Yi-Long Wu, MD

Guangdong Lung Cancer Institute
Guangdong General Hospital
Guangdong Academy of Medical Sciences
Guangdong, People's Republic of China

Soo-Ryum Yang, MD

Department of Pathology
Memorial Sloan Kettering Cancer Center
New York, New York, United States

Yasushi Yatabe, PhD

Department of Diagnostic Pathology
National Cancer Center Hospital
東京

Helena Yu, MD

Department of Thoracic Oncology
Memorial Sloan Kettering Cancer Center
New York, New York, United States

略語

本書では以下の略語が使用されています。

- ACMG : American College of Medical Genetics and Genomics (米国臨床遺伝・ゲノム学会)
ADC : antibody-drug conjugate (抗体薬物複合体)
AHRQ : US Agency for Healthcare Research and Quality (米国医療研究・品質調査機構)
ALK : anaplastic lymphoma kinase (未分化リンパ腫キナーゼ)
ALKi : ALK tyrosine kinase inhibitor (ALK チロシンキナーゼ阻害薬)
AMP : anchored multiplex polymerase chain reaction (アンカードマルチプレックスポリメラーゼ連鎖反応)
AMP : Association for Molecular Pathology (分子病理学会)
APC : adenomatous polyposis coli (腺腫性大腸ポリポシス)
AR : acquired resistance (獲得耐性)
AREG : amphiregulin (アンフィレギュリン)
ARMS : allele-refractory mutation system (アレル抵抗性突然変異系)
ASCO : American Society of Clinical Oncology (米国臨床腫瘍学会)
ATP : adenosine triphosphate (アデノシン三リン酸)
BRAF : V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B (V-raf マウス肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ B)
B-TMB : blood-based tumor mutational burden (血液ベースの腫瘍突然変異負荷)
CAP : College of American Pathologists (米国臨床病理医協会)
CAR T-cell : chimeric antigen receptor T cell (キメラ抗原受容体 T 細胞)
CDx : companion diagnostic (コンパニオン診断)
CEP : chromosome enumeration probe (染色体列挙プローブ)
cfDNA : cell-free DNA (無細胞 DNA)
CHIP : clonal hematopoiesis of indeterminate potential (未確定の潜在能をもつクローン性造血)
CI : confidence interval (信頼区間)
CML : chronic myeloid leukemia (慢性骨髄性白血病)
CNB : core needle biopsy (コア針生検)
CNS : central nervous system (中枢神経系)
CPI : checkpoint inhibitor (チェックポイント阻害剤)
CPK : creatinine phosphokinase (クレアチニンホスホキナーゼ)
CT : computed tomography (コンピューター断層撮影)
ctDNA : circulating tumor DNA (循環腫瘍 DNA)
DAPI : 4 α ,6-diamidino-2-phenylindole (4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール)
DCR : disease control rate (病勢コントロール率)

- ddPCR: droplet digital polymerase chain reaction (小滴デジタルポリメラーゼ連鎖反応)
- del: deletion (欠失)
- DFG: aspartic acid, phenylalanine, glycine (アスパラギン酸、フェニルアラニン、グリシン)
- dNTP: deoxynucleotide triphosphate (デオキシヌクレオチド三リン酸)
- DOR: duration of response (奏効期間)
- EBM: evidence-based medicine (エビデンスに基づいた医療)
- EBUS: endobronchial ultrasound (気管支内超音波)
- ECD: extracellular domain (細胞外ドメイン)
- EDTA: ethylenediaminetetraacetic acid (エチレンジアミン四酢酸)
- EGF: epidermal growth factor (上皮成長因子)
- EGFR*: epidermal growth factor receptor (上皮成長因子受容体)
- ELCC: European Lung Cancer Congress (欧州肺がん会議)
- ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay (酵素結合免疫吸着検査法)
- EMA: European Medicines Agency (欧州医薬品庁)
- EML4*: echinoderm microtubule-associated protein-like 4 (棘皮動物微小管関連タンパク質様 4)
- EMN: electromagnetic navigation (電磁ナビゲーション)
- EQA: external quality assessment (外部品質評価)
- ERBB2*: erb-b2 receptor tyrosine kinase 2 (erb-b2 受容体チロシンキナーゼ 2)
- ERK: extracellular signal-regulated kinase (細胞外シグナル制御キナーゼ)
- ESMO: European Society for Medical Oncology (欧州臨床腫瘍学会)
- EU: European Union (欧州連合)
- 18 FDG-PET: fluorine-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (フッ素 18 フルオロデオキシグルコース陽電子放射断層撮影)
- FDA: US Food and Drug Administration (米国食品医薬品局)
- FFPE: formalin-fixed paraffin-embedded (ホルマリン固定パラフィン包埋)
- FGFR-1*: fibroblast growth factor receptor-1 (線維芽細胞成長因子受容体 1)
- FISH: fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)
- FNA: fine-needle aspiration (穿刺吸引)
- GAP: GTPase-activating protein (GTP アーゼ活性化タンパク質)
- GCN: gene copy number (遺伝子コピー数)
- GDNF: glial-derived neurotrophic factor (グリア細胞株由来神経栄養因子)
- GDP: guanosine diphosphate (グアノシン二リン酸)
- GEF: guanine nucleotide exchange factor (グアニンヌクレオチド交換因子)
- GEJ: gastroesophageal junction (食道胃接合部)
- GFRAL: GDNF family receptor α -like (GDNF ファミリー受容体 α 様)
- GI: gastrointestinal (胃腸)
- GLIDES: GuideLines Into Decision Support (意思決定支援のガイドライン)
- GRADE: Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (推奨事項のアセスメント、策定、評価の等級付け)
- GTP: guanosine triphosphate (グアノシン三リン酸)
- GTPase: guanosine-triphosphate hydrolase or guanosine triphosphatase (グアノシン三リン酸ヒドロラーゼまたはグアノシントリホスファターゼ)
- H&E: hematoxylin and eosin (ヘマトキシリン・エオジン)
- HER2*: human epidermal growth factor receptor 2 (ヒト上皮成長因子受容体 2)
- HGF: hepatocyte growth factor (肝細胞成長因子)
- HR: hazard ratio (ハザード比)
- HSP: heat shock protein (熱ショック蛋白質)
- IASLC: International Association for the Study of Lung Cancer (国際肺癌学会)
- ICI: immune checkpoint inhibitor (免疫チェックポイント阻害剤)

IGFR-1 : insulin-like growth factor receptor-1 (インスリン様成長因子受容体 1)
 IHC : immunohistochemistry (免疫組織化学法)
 ILD : interstitial lung disease (間質性肺疾患)
 IMA : invasive mucinous adenocarcinoma (浸潤性粘液性腺癌)
 indel : insertion and/or deletion (挿入欠失)
 ins : insertion (挿入)
 IOM : Institute of Medicine (米国医学研究所)
 IPASS : International Post-Authorization Surveillance Study (国際承認後調査研究)
 ISH : in situ hybridization (in situ ハイブリダイゼーション)
 IVCS : intravenous conscious sedation (静脈内意識下鎮静)
 IVD : in vitro diagnostic (体外診断用医薬品)
 JAK : Janus kinase (ヤヌスキナーゼ)
 JLCS : Japanese Lung Cancer Society (日本肺癌学会)
 JMD : juxtamembrane domain (膜近傍ドメイン)
 KD : kinase domain (キナーゼドメイン)
 kDa : kilodalton (キロダルトン)
 KDD : kinase domain duplication (キナーゼドメイン重複)
 KRAS : Kristen rat sarcoma viral oncogene (Kirsten ラット肉腫ウイルス癌遺伝子)
 LDCT : low-dose computed tomography (低線量コンピュータ断層撮影)
 LSI : locus-specific identification (遺伝子座特異識別)
 LuCE : Lung Cancer Europe
 MAPK : mitogen-activated protein kinase (分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ)
 MDT : multidisciplinary team (集学的治療チーム)
 MEK : mitogen-activated protein kinase (MAPK) kinase (分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ (MAPK) キナーゼ)
 MEKi : MEK1/2 inhibitor (MEK1/2 阻害剤)
 MEN : multiple endocrine neoplasia (多発性内分泌腫瘍症)
 MET : MET protooncogene receptor tyrosine kinase (癌原遺伝子受容体チロシンキナーゼ)
 mIF : multiplex immunofluorescence (マルチプレックス免疫蛍光検査)
 mOS : median overall survival (全生存期間中央値)
 mPFS : median progression-free survival (無増悪生存期間中央値)
 MRD : minimal residual disease (微小残存病変)
 MRFF : Medical Research Future Fund (医学研究未来基金)
 mRNA : messenger RNA (メッセンジャー RNA)
 MTB : molecular tumor board (分子腫瘍会議)
 MTC : medullary thyroid carcinoma (甲状腺髄様癌)
 mTOR : mechanistic target of rapamycin kinase (ラパマイシンキナーゼの機構的標的)
 NCCN : National Comprehensive Cancer Network (全米総合がん情報ネットワーク)
 NGS : next-generation sequencing (次世代シーケンシング)
 NHMRC : National Health and Medical Research Council (米国立保健医学研究会議)
 NIR : near-infrared (近赤外線)
 NK cell : natural killer cell (ナチュラルキラー細胞)
 NLST : National Lung Screening Trial (全米肺スクリーニング試験)
 NOS : not otherwise specified (特定不能)
NRG1 : neuregulin-1 (ニューレグリン 1)
 NSCLC : non-small cell lung carcinoma (非小細胞肺癌)
 NTRK : neurotrophic tropomyosin receptor kinase (神経栄養トロポミオシン受容体キナーゼ)
 ORR : overall response rate (全奏効率)
 OS : overall survival (全生存期間)

- PA : aortopulmonary (大動脈肺動脈)
- PCR : polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)
- PD-L1 : programmed death-ligand 1 (プログラム細胞死リガンド -1)
- PFS : progression-free survival (無増悪生存期間)
- PI3K : phosphoinositide 3-kinase (ホスホイノシチド 3 キナーゼ)
- PKC : protein kinase C (タンパク質キナーゼ)
- PLC γ : phospholipase C-gamma (ホスホリパーゼ C γ)
- PSI : plexin-semaphorin-integrin (プレキシシン - セマフォリン - インテグリン)
- PTEN : phosphatase and tensin homolog (ホスファターゼ - テンシンホモログ)
- RAS : rat sarcoma viral oncogene homolog (ラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ)
- RATS : robotic-assisted thoracoscopic surgery (ロボット支援胸腔鏡手術)
- RET : rearranged during transfection (トランスフェクション時の再構成)
- RNAseq : RNA sequencing (RNA シーケンシング)
- ROS1 : c-ros oncogene 1 (c-ros 癌遺伝子 1)
- ROSE : rapid onsite evaluation (オンサイト迅速細胞診)
- RR : response rate (奏効率)
- RTK : receptor tyrosine kinase (受容体チロシンキナーゼ)
- RT-PCR : reverse transcription polymerase chain reaction (逆転写ポリメラーゼ連鎖反応)
- SCLC : small cell lung carcinoma (小細胞肺癌)
- SNV : single nucleotide variant (一塩基変異)
- SOC : standard of care (標準治療)
- STAT : signal transducer and activator of transcription (シグナル伝達兼転写活性化因子)
- SV : structural variant (構造変異種)
- TAT : turnaround time (所要時間)
- TBNA : transbronchial needle aspiration (経気管支針吸引)
- TGF α : transforming growth factor α (形質転換成長因子 α)
- TIL : tumor infiltrating lymphocyte (腫瘍浸潤リンパ球)
- TKD : tyrosine kinase domain (チロシンキナーゼドメイン)
- TKI : tyrosine kinase inhibitor (チロシンキナーゼ阻害薬)
- TM : transmembrane (膜貫通)
- TMB : tumor mutational burden (腫瘍突然変異負荷)
- TMD : transmembrane domain (膜貫通ドメイン)
- TPS : tumor proportion score (腫瘍比スコア)
- TRK : tropomyosin receptor kinase (トロポミオシン受容体キナーゼ)
- TROP2 : trophoblast cell surface antigen 2 (栄養膜細胞表面抗原)
- TTF1 : thyroid transcription factor 1 (甲状腺転写因子 1)
- TTNB : transthoracic needle biopsy (経胸腔穿刺生検)
- US : United States (アメリカ合衆国)
- VATS : video-assisted thoracoscopic surgery (ビデオ支援胸腔鏡手術)
- VBN : virtual bronchoscopic navigation (仮想気管支鏡ナビゲーション)
- VEGF : vascular endothelial growth zinc-finger E-box binding protein factor (血管内皮細胞増殖因子)
- VEGFR2 : human epidermal growth factor receptor 2 (血管内皮成長因子受容体 2)
- VUS : variant(s) of unknown significance or variant(s) of uncertain clinical significance (意義不明の変異または臨床的意義不明確の変位)
- WBC : white blood cell (白血球)
- WES : whole exome sequencing (全エクソームシーケンシング)
- WGS : whole genome sequencing (全ゲノムシーケンシング)

はじめに

1

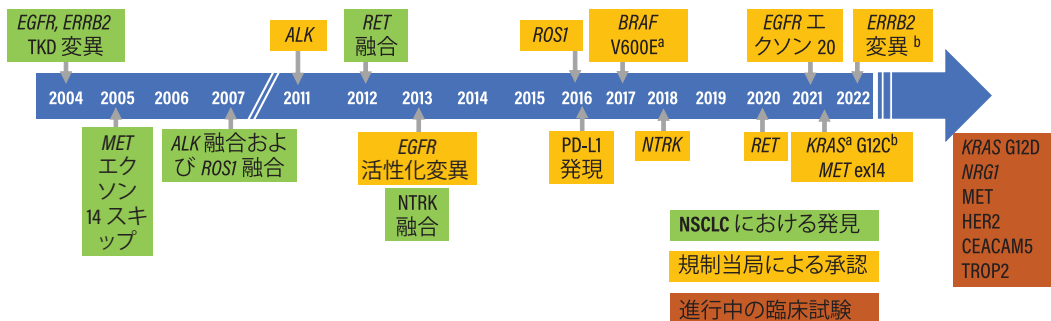
執筆者：Lynette M. Sholl、Wendy A. Cooper、Keith M. Kerr、Daniel SW Tan、Ming-Sound Tsao、James Chih-Hsin Yang

過去 20 年を振り返ると、肺癌患者に対するバイオマーカー検査は、当初存在しておらず、臨床的意義が乏しかったですが、その後広く行き渡って、今や日常的な腫瘍管理に不可欠なものとなりました。バイオマーカー検査が、画一的な化学療法からカスタマイズ性の高い高精度療法へと、このように進化した要因は何でしょうか? 多くの知見と技術発展によってこの進歩が推進されましたが、その端緒となったのは、タンパク質キナーゼを通じた制御されないシグナル伝達をもたらす変異が一部の癌で生じているという認識でした。その後続いたのは、画期的ではあるものの当初は物議を醸した概念です。それは、チロシンキナーゼを小分子 TKI の標的にして、腫瘍細胞の成長と増殖を阻止するというものでした。

臨床で使用された最初の TKI 療法は、CML の患者に対する ABL 阻害剤イマチニブでした。CML は、*BCR::ABL1* 融合事象によって誘発されるゲノム的に均質性が比較的高い腫瘍です。この最初の標的療法は見事に成功して、多くの患者は急速に症状が軽減して、薬物毒性がほとんどない状態で長期寛解（場合によっては治癒）しました。ここから始まった競争の目標は、キナーゼ依存性を有する他の腫瘍例を見つけること、およびこれらの主要なキナーゼシグナル伝達経路を特に阻害する可能性のある療法を見つけることでした。

CML 患者に対するイマチニブが驚くほど成功した要因の 1 つは、ABL の構造と機能に関する堅固な理解と、腫瘍細胞で活動を促進する発癌性融合事象の役割に関する堅固な理解でした。重要なこととして、イマチニブはどの白血病患者に対しても機能したわけではなく、特定の白血病患者にしか機能しませんでした。イマチニブが機能した患者の腫瘍には、*ABL* 融合事象が含まれていたか、この阻害剤に対する感受性がある他のキナーゼ誘発型発癌性事象が含まれていました。その結果として、合理的な癌治療、すなわちバイオマーカーを活用した癌治療の分野が生まれました。この治療

では、正確な組織病理学的診断だけでなく、高精度のゲノム特性解析も要求されたため、分子診断で重視されるものが変化しました。具体的には、当初は診断バイオマーカーが重視されていましたが、治療判断の指針となる予測検査がますます重視されるようになりました。



^a 発見時期は年表には記載せず、KRAS 変異が初めて NSCLC 観察されたのは 1984 年、BRAF 変異は 2002 年。
^b 2 次治療のみでの承認。
 規制当局による 1 次治療（または 2 次治療）の承認を裏付ける臨床試験については、参考文献を参照。¹⁻⁸
 バイオマーカーによる発見報告は参考文献に記載。⁹⁻¹⁷

図 1-1. 進行 NSCLC 患者のファーストライン設定でのバイオマーカーに応じた米国 FDA 薬物承認の年表。略語：NSCLC = non-small cell lung carcinoma (非小細胞肺癌)、TKD = tyrosine kinase domain (チロシンキナーゼドメイン)

表 1-1. 進行 NSCLC 患者の生存期間を有意に改善するバイオマーカー活用型療法

標的	FDA による医薬品承認	療法のライン	OS 中央値 (m)
バイオマーカーなし	化学療法 ¹⁸	1L	8-10
EGFR (1G) ^{19,20}	エルロチニブ、ゲフィチニブ	1L	21.6-35.5 ^a
EGFR (2G) ^{21,22}	アファチニブ、ダコミチニブ	1L	31.4-34.1
EGFR (3G) ²⁰	オシメルチニブ	1L	38.6
ALK 融合 ²³⁻²⁶	クリゾチニブ、セリチニブ、アレクチニブ、プリガチニブ、 ^b ロルラチニブ ^b	1L	>51
ROS1 融合 ^{23,27}	クリゾチニブ、エヌトレクチニブ ^c	≥ 1L	51.4、47.8 ^b
BRAF V600E ²⁸	ダブラフェニブ + トラメチニブ	1L	17.3
TRK 融合 ^{29,30}	ラロトレクチニブ、エヌトレクチニブ	≥ 2L	40.7、NE
RET 融合 ^{31,32}	セルペルカチニブ、プラルセチニブ	1L	^b
PD1/PD-L1 ³³	ニボルマブ、ペムプロリズマブ、アテゾリズマブ	1L	26.3 ^d

略語：1L = first line (ファーストライン)、2L = second line (セカンドライン)、FDA = US Food and Drug Administration (米国食品医薬品局)、NSCLC = non-small cell lung carcinoma (非小細胞肺癌)、OS = overall survival (全生存期間)、TKI = tyrosine kinase inhibitor (チロシンキナーゼ阻害剤)。

^a 進行時に第 3 世代 EGFR TKI の投与を受けた可能性のある患者。

^b 未成熟の OS データ。

^c ROS1 TKI 未治療コホートで実施されたエヌトレクチニブ解析。

^d PD-L1 が 50% 以上のペムプロリズマブ。

これらの原則を念頭に置いて、このアトラスには、肺癌のバイオマーカー探索と創薬における 20 年にわたる多大な進歩が反映されており、その始まりとなっているのは、

EGFR キナーゼドメインの変異は EGFR TKI に対する反応性を予測するものであるという認識です。今日では、チロシンキナーゼと分裂促進経路メンバーを主に標的とする文字どおり数十種類の合理的な療法を、特定の明確に規定された発癌性変異が生じている腫瘍を持つ肺癌患者に対して使用できます (図 1-1、表 1-1)。個別化された標的療法がこのように多様化されるのに伴って、適切な薬物が投与されている患者の転帰が明白に改善しています。これらの標的療法の開発を可能にした主な要因は、超並列シーケンシング技術による腫瘍ゲノム特性解析の飛躍的な進歩でした。半導体の進化の原理を応用したこのような大規模化技術は、1990 年代以降、ゲノムシーケンシングのコストを数桁引き下げました。さらに、これらの技術のおかげで、組織による取り組み、国による取り組み、多国間の取り組み (癌ゲノムアトラスなど) を通じて、代表的な腫瘍型の根底にあるゲノム変異やトランスクリプトーム変異を体系的に定義することが可能になりました。同時に、特化型のシーケンシング技術と包括的なシーケンシング技術の商用化によりほとんどの先進国の癌患者が、腫瘍ゲノムプロファイリングを比較的に利用しやすくなりました。

ただし、臨床的に意義のある正確なバイオマーカー検査を適切なタイミングで肺癌患者に実施する上で、いくつかの課題が残っています。腫瘍が分裂促進経路を乗っ取って成長および増殖するための手段となり得るメカニズムは非常に多様であるため、検査室では、DNA、RNA、タンパク質のうち 1 つ以上を標的とする多くの戦略を開発して検証することで、完全なバイオマーカー検査を実現する必要があります。

この多様性は、遺伝子再構成を経る遺伝子 (*ALK*、*ROS1*、*RET*、*NTRK1-3*、*NRG1* など)、あるいはスプライシング異常により誘発される遺伝子内「融合」を獲得する遺伝子 (*MET*) に代表されます。DNA レベルでは、再構成の一般的な原因はイントロン DNA 内の破損です。これらの「破損点」は予測不能であり、ゲノムの幅広い領域にわたって発生するため、DNA 内の検出を困難にします。対照的に、これらの再構成の発癌性産物は、非常に再現性が高い融合転写物を生じさせて、腫瘍 RNA からの検出を容易にします。一塩基変異や微小挿入欠失を起こしやすい遺伝子 (*EGFR*、*KRAS*、*BRAF*、*ERBB2*) では、変異誘発の多様性はより限定されるかもしれませんが、新規または珍しい発癌性活性化メカニズムが発見され続けており、専門家による分子遺伝学的注釈が必要とされています。患者サンプルの日常的シーケンシングに伴う「リアルタイムの」発見は、今日では学際的会合の形を取ることが多い総合的なレポート戦略を必要とします。この会合では、病理医、腫瘍専門医、処置担当者、患者治療チーム全体が、管理の指針となるバイオマーカーデータを活用できます (図 2-2 を参照)。

ほとんどの標的療法を使用した治療は、ファーストラインで施された場合、最良の臨床転帰をもたらすというエビデンスがあるにもかかわらず、多くの患者は現在でも、標的療法の前に化学療法や免疫療法を受けており、ファーストライン設定で標的療法の使用が承認された場合でも同様です。標的療法が適用されない原因の 1 つとして考えられるのは、バイオマーカー検査の欠如や、タイムリーなバイオマーカー結果の受領が遅れることです。組織のバイオマーカー検査は、組織の質や量が不十分なために複雑化することがよくあります。この課題は、組織採取時に処置担当者と病理医が活発にコ

コミュニケーションをとることで克服できる部分もありますが、そのためには、すべての環境で得られるわけではない専門知識と調整の手段が必要です。

患者の血漿に由来する循環腫瘍 DNA 検査の信頼性と感受性が高まることで、バイオマーカー結果にアクセスしやすくなったとともに、バイオマーカー結果が得られるまでの時間が短縮されました。ただしこの検査は、世界中のどこでも実施できるわけではなく、技術的に実施可能な場合でも、経済的な制約により実施が難しいことがあります。さらに、この検査手法は単独ですべての必要なバイオマーカーを確実にカバーできるわけではなく、この検査の感度は、血行路内に流入する腫瘍 DNA の程度によって制限されます。このことは、信頼性の高い検査と標的療法が世界中で利用しやすくなることを求める支援活動の重要な役割を指し示しています。

最後になりましたが重要なこととして、この「肺癌における標的療法のための分子検査の IASLC アトラス」では、肺癌の標的療法の文脈において、「分子」、「バイオマーカー」、「分子バイオマーカー」、「予測バイオマーカー」という用語をある程度同じ意味で使用しています。これらの用語はそれぞれ、より具体的で微妙に異なる意味を持つ可能性があるにもかかわらず、また、これらの用語を「バイオマーカー検査」に統一するという最近の提案にもかかわらず、³⁴ 同義語として使用されることがよくあります。バイオマーカーや分子には遺伝子やタンパク質が含まれる可能性がある一方で、「変異検査」という用語は、遺伝子レベルの検査に対して使用される傾向があるため、バイオマーカー検査や分子検査より具体的な意味を持っています。理想的には、このアトラスから恩恵を受ける可能性のあるすべての関係者によって普遍的に受け入れられ、理解できる用語について、将来的に合意に達することが望まれます。

肺癌の診断と治療に関する国際的な専門家によって執筆されたこのアトラスが、今日の非小細胞肺癌患者に適用される標的療法の指針として役立つ肺癌における分子異常の基礎事項を、幅広い読者様が理解する一助となることを願っています。

参考文献

1. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004;304(5676):1497-1500. doi:10.1126/science.1099314.
2. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350(21):2129-2139. doi:10.1056/NEJMoa040938.
3. Stephens P, Hunter C, Bignell G, et al. Lung cancer: intragenic ERBB2 kinase mutations in tumours. *Nature*. 2004;431(7008):525-526. doi:10.1038/431525b.
4. Ma PC, Jagadeeswaran R, Jagadeesh S, et al. Functional expression and mutations of c-Met and its therapeutic inhibition with SU11274 and small interfering RNA in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2005;65(4):1479-1488. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-2650.
5. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007;448(7153):561-566. doi:10.1038/nature05945.
6. Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell*. 2007;131(6):1190-1203. doi:10.1016/j.cell.2007.11.025.

7. Wang R, Hu H, Pan Y, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(35):4352-4359. doi:10.1200/JCO.2012.44.1477.
8. Vaishnavi A, Capelletti M, Le AT, et al. Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer. *Nat Med*. 2013;19(11):1469-1472. doi:10.1038/nm.3352.
9. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012;13(3):239-246. doi:10.1016/S1470-2045(11)70393-X.
10. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer [published correction appears in *N Engl J Med*. 2011 Feb 10;364(6):588]. *N Engl J Med*. 2010;363(18):1693-1703. doi:10.1056/NEJMoa1006448.
11. Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(21):1963-1971. doi:10.1056/NEJMoa1406766.
12. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAF(V600E)-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(7):984-993. doi:10.1016/S1470-2045(16)30146-2.
13. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. *N Engl J Med*. 2018;378(8):731-739. doi:10.1056/NEJMoa1714448.
14. Wolf J, Seto T, Han JY, et al. Capmatinib in MET exon 14-mutated or MET-amplified non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(10):944-957. doi:10.1056/NEJMoa2002787.
15. Paik PK, Felip E, Veillon R, et al. Tepotinib in non-small-cell lung cancer with MET exon 14 skipping mutations. *N Engl J Med*. 2020;383(10):931-943. doi:10.1056/NEJMoa2004407.
16. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, et al. Sotorasib for lung cancers with KRAS p.G12C mutation. *N Engl J Med*. 2021;384(25):2371-2381. doi:10.1056/NEJMoa2103695.
17. Li BT, Smit EF, Goto Y, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2022;386(3):241-251. doi:10.1056/NEJMoa2112431.
18. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2002;346(2):92-98. doi:10.1056/NEJMoa011954.
19. Lee CK, Davies L, Wu YL, et al. Gefitinib or erlotinib vs chemotherapy for EGFR mutation-positive lung cancer: individual patient data meta-analysis of overall survival. *J Natl Cancer Inst*. 2017;109(6):10.1093/jnci/djw279. doi:10.1093/jnci/djw279.
20. Ramalingam SS, Vansteenkiste J, Planchard D, et al. Overall survival with osimertinib in untreated, EGFR-mutated advanced NSCLC. *N Engl J Med*. 2020;382(1):41-50. doi:10.1056/NEJMoa1913662.
21. Yang JC, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol*. 2015;16(2):141-151. doi:10.1016/S1470-2045(14)71173-8.
22. Mok TS, Cheng Y, Zhou X, et al. Updated overall survival in a randomized study comparing dacomitinib with gefitinib as first-line treatment in patients with advanced non-small-cell lung cancer and EGFR-activating mutations. *Drugs*. 2021;81(2):257-266. doi:10.1007/s40265-020-01441-6.
23. Drilon A, Chiu CH, Fan Y, et al. Long-term efficacy and safety of entrectinib in ROS1 fusion-positive NSCLC. *JTO Clin Res Rep*. 2022;3(6):100332. doi:10.1016/j.jtocrr.2022.100332.
24. Nishio M, Felip E, Orlov S, et al. Final overall survival and other efficacy and safety results from ASCEND-3: phase II study of ceritinib in ALKi-naive patients with ALK-rearranged NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2020;15(4):609-617. doi:10.1016/j.jtho.2019.11.006.
25. Camidge DR, Kim HR, Ahn MJ, et al. Brigatinib versus crizotinib in ALK inhibitor-naive advanced ALK-positive NSCLC: final results of phase 3 ALTA-1L trial [published correction appears in *J Thorac Oncol*. 2022 Oct 14]. *J Thorac Oncol*. 2021;16(12):2091-2108. doi:10.1016/j.jtho.2021.07.035.

26. Solomon BJ, Bauer TM, Mok TSK, et al. Efficacy and safety of first-line lorlatinib versus crizotinib in patients with advanced, ALK-positive non-small-cell lung cancer: updated analysis of data from the phase 3, randomised, open-label CROWN study. *Lancet Respir Med.* 2022;S2213-2600(22)00437-4. doi:10.1016/S2213-2600(22)00437-4.
27. Shaw AT, Riely GJ, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): updated results, including overall survival, from PROFILE 1001. *Ann Oncol.* 2019;30(7):1121-1126. doi:10.1093/annonc/mdz131.
28. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Phase 2 study of dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF V600E-mutant metastatic NSCLC: updated 5-year survival rates and genomic analysis. *J Thorac Oncol.* 2022;17(1):103-115. doi:10.1016/j.jtho.2021.08.011.
29. Drilon A, Tan DSW, Lassen UN, et al. Efficacy and safety of larotrectinib in patients with tropomyosin receptor kinase fusion-positive lung cancers. *JCO Precis Oncol.* 2022;6:e2100418. doi:10.1200/PO.21.00418.
30. Demetri GD, De Braud F, Drilon A, et al. Updated integrated analysis of the efficacy and safety of entrectinib in patients with NTRK fusion-positive solid tumors [published correction appears in *Clin Cancer Res.* 2022;28(10):2196]. *Clin Cancer Res.* 2022;28(7):1302-1312. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-3597.
31. Drilon A, Subbiah V, Gautschi O, et al. Selpercatinib in patients with RET fusion-positive non-small-cell lung cancer: updated safety and efficacy from the registrational LIBRETTO-001 phase I/II trial. *J Clin Oncol.* 2023;41(2):385-394. doi:10.1200/JCO.22.00393.
32. Griesinger F, Curigliano G, Thomas M, et al. Safety and efficacy of pralsetinib in RET fusion-positive non-small-cell lung cancer including as first-line therapy: update from the ARROW trial. *Ann Oncol.* 2022;33(11):1168-1178. doi:10.1016/j.annonc.2022.08.002.
33. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Five-year outcomes with pembrolizumab versus chemotherapy for metastatic non-small-cell lung cancer with PD-L1 tumor proportion score ≥ 50 . *J Clin Oncol.* 2021;39(21):2339-2349. doi:10.1200/JCO.21.00174.
34. Martin NA, Tepper JE, Giri VN, et al. Adopting consensus terms for testing in precision medicine. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:PO.21.00027. doi:10.1200/PO.21.00027.

肺癌におけるバイオ マーカー検査の臨床的意義

2

執筆者： Benjamin J. Solomon、 Paul J. Hesketh、 Lyudmila Bazhenova、
Shani Shilo、 Lecia V. Sequist

肺癌に対する個別化療法の概念

非扁平上皮非小細胞肺癌（NSCLC）患者の最適な治療にとって、なぜ正確でタイムリーかつ完全なバイオマーカー検査が非常に重要なのでしょうか？一言で言えば、NSCLC患者の転帰を改善するために利用可能な多くの治療法の優先順位付けと個別化を行うために、この疾患のほぼすべての病期と状況における治療に対するエビデンスに基づく推奨が、腫瘍バイオマーカーの知識に大きく依存しているからです。過去 15 年間にわたって、初期診断時にドライバー変異の有無について NSCLC を検査するというパラダイムは、当初は実験的であったものから転移性疾患の患者にとっての標準要件に変わり、現在ではすべての病期に対する標準治療になりつつあります。同時に、治療に関する推奨事項を最適化するために検査する必要のある遺伝子の数は、単一遺伝子内の変異から、拡大し続ける広範なリストに増大して、ctDNA の有無について腫瘍の組織と血漿の両方を検査するために、複数のプラットフォームと技術が開発されました。

2000 年代初頭以来、NSCLC で発癌性ゲノム変異が発見されて、発癌性ドライバーを遮断するための標的療法が開発されたことで、個別化治療が可能になり、転帰が大幅に改善されました。アジアと西欧の母集団の間で発生頻度は異なりますが、薬物治療の効果が期待できる（actionable）分子標的は、ほとんどの肺腺癌で発見できます（図 2-1）。現在では、EGFR、MET、BRAF、ERBB2（HER2）、KRAS 内の特異的変異を有する腫瘍、および ALK、ROS1、RET、NTRK1-3 に関する発癌性融合を有する腫瘍を治療するための効果的な療法が存在しています（図 2-2、表 2-1）。包括的な変異検査とバイオマーカーを指針にした療法によって、NSCLC を対象にした個別化医療の提供と臨床転帰の改善が可能になりました。

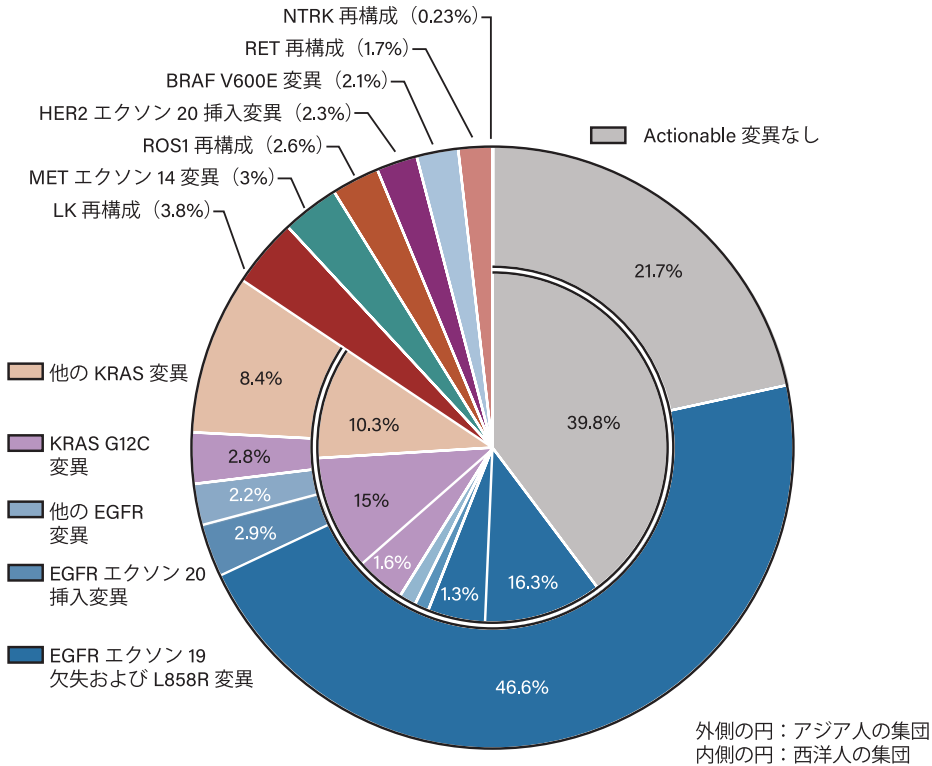


図 2-1. NSCLC における発癌性ドライバーの発生頻度 (出典：Tan and Tan 2022,¹ copyright © 2022 年、米国臨床腫瘍学会。発行元：Wolters Kluwer。無断転載禁止。)

NSCLC に対する標的療法の開発：歴史的観点

最初のブレイクスルーは、2004 年に肺癌で EGFR 変異が発見されたことでした。当時、EGFR を遮断する新しいチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) を試験したところ、ほとんどの肺癌患者はこの治療による恩恵を受けなかったものの、一部の患者では迅速かつ持続的な奏効を示して大きな恩恵を受けたことが明らかになりました。²⁻⁵ 顕著な奏効者の腫瘍を詳しく検査したところ、「癌遺伝子中毒」生態をもたらした変異が EGFR チロシンキナーゼドメイン内で発見されました。この生態では、癌の生存は EGFR 経路からの信号伝達のみ依存していたため、この経路を治療的に阻害することによってのみ癌の生存を損なうことができました。^{6,7} IPASS 研究によって実証されたのは、腫瘍内で EGFR 変異が検出された患者を選定して (臨床特性に基づいて患者を選定するのではなく)、ファーストライン設定で EGFR TKI を使用して治療を開始した場合に、最良の転帰が実現されたことでした (表 2-1)。^{8,9} これらの知見はその後、他の複数の研究でも裏付けられました。¹⁰⁻¹³

これらの研究では、奏効率と無増悪生存期間の改善、および既存対照群と比較した生存期間の改善が示されました。¹⁴ EGFR 変異 NSCLC におけるゲフィチニブまたはエルロチニブと化学療法を比較したフロントライン試験では、クロスオーバーのためか、全体的な生存優位性を証明することは困難でした。¹⁵ アファチニブ¹⁶ やダコミチニブ¹⁷ を含む第 2 世代の化合物が開発され、これらの化合物では、毒性は強まるものの、

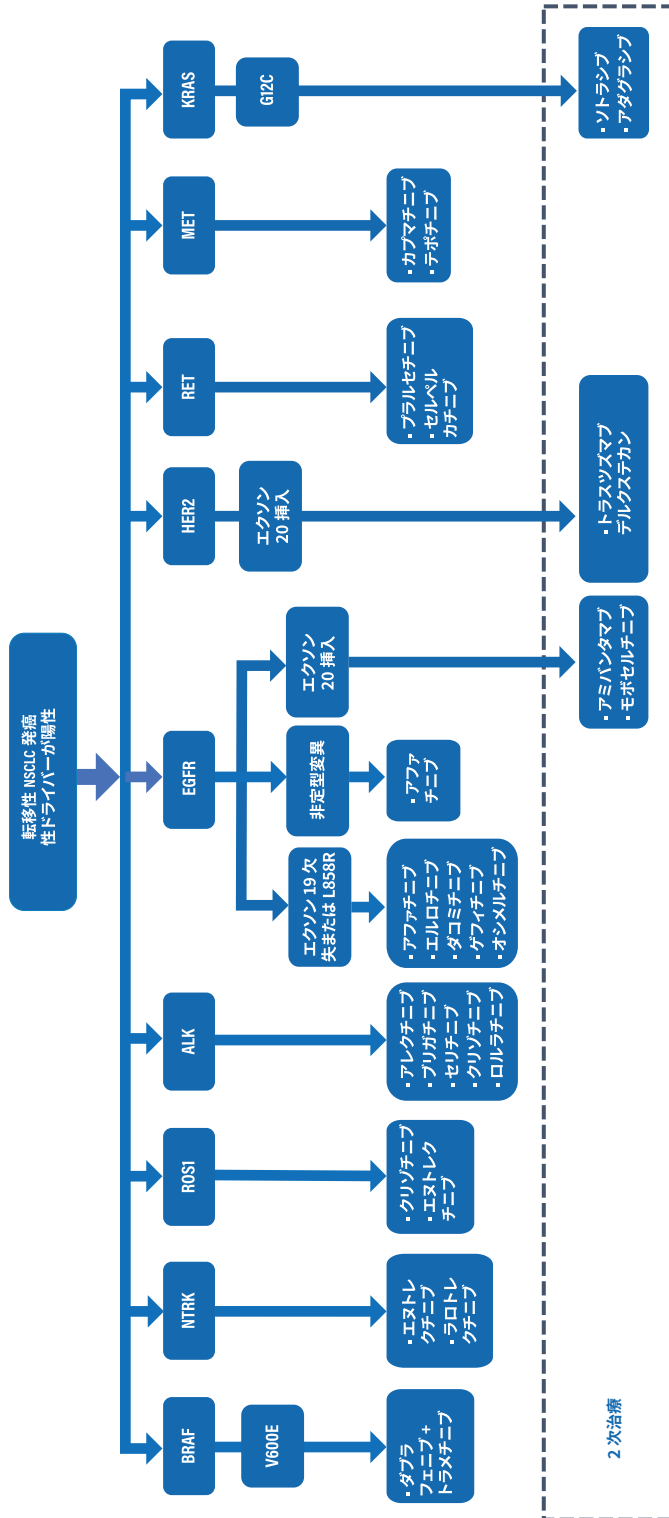


図 2-2. NSCLC で標的療法を使用するためのバイオマーカー活用型アルゴリズム (NCCN¹⁸ および ESMO¹⁹ が公開している最新ガイドラインも参照してください)

表 2-1. FDA によって承認された標的型薬剤の有効性と毒性のプロファイル

阻害剤	研究	薬剤	研究デザイン	N	客観的奏効率 (%)	奏効期間の中央値 (月数)	無増悪生存期間の中央値 (月数)	全生存期 (月の中央値)	治療関連の主な有害事象
EGFR	IPASS ^{8,9}	ゲフィチニブ	ゲフィチニブ vs 化学療法	1217 (全母集団)	43.0 vs 32.2	NS	5.7 vs 5.8, HR: 0.74	18.8 vs 17.4, HR: 0.90	発疹、下痢
				261 (EGFR 変異あり)	71.2 (ゲフィチニブ投与) vs 47.3	NS	HR: 0.48	21.6 vs 21.9, HR: 1.00	
				176 (変異なし)	1.1 vs 23.5	NS	HR: 2.85	11.2 vs 12.7, HR: 1.18	
	EURTAC ¹¹	エルロチニブ	エルロチニブ vs 化学療法	174	64 vs 1	NS	9.7 v 5.2, HR: 0.37	19.3 vs 19.5	発疹、下痢
	LUX-Lung III ¹⁰	アファチニブ	アファチニブ vs 化学療法	345	56 vs 23	11.1 vs 5.5	11.1 vs 6.9, HR: 0.58	28 vs 28 (エクソ 19 欠失を有する患者の延命効果, 33 vs 21.1)	下痢、発疹、口内炎、爪囲炎
ALK	Archer 1050 ¹⁷	ダコミチニブ	ダコミチニブ vs ゲフィチニブ	452	76 vs 70	14.8 vs 8.3	14.7 vs 9.2, HR: 0.59	34 vs 27, HR: 0.78	皮膚炎、下痢、トランスアミンアゼ上昇
	FLAURA ^{20, 21}	オンメルチニブ	オンメルチニブ vs ゲフィチニブまたはエルロチニブ	556	80 vs 76	17.2 vs 8.5	18.9 vs 10.2, HR: 0.46	38.6 vs 31.8, HR: 0.80 (0.64-0.997)	発疹/挫瘡、下痢、乾燥皮膚、爪囲炎、口内炎
	PROFILE 1014 ²²	クリゾチニブ	第 3 相 - クリゾチニブ vs 化学療法	343	74 vs 45	11.3 vs 5.3	10.9 vs 7.0, HR: 0.45	NR vs 47.5 (4 年ランドマークにおいて、56.6% クリゾチニブ vs 49.1% 化学療法)	視覚障害、下痢、悪心、浮腫
ASCEND-4 ²³	セリチニブ	第 3 相 - セリチニブ vs 化学療法	376	73 vs 50	23.9 vs 11.1	16.6 vs 8.1, HR: 0.55	NR vs 26.2 (2 年ランドマークにおいて、70.6% セリチニブ vs 58.2% 化学療法)	下痢、悪心、嘔吐、アラニンアミノトランスフェラーゼ上昇	
ALEX ^{24, 25}	アレクチニブ	第 3 相 - アレクチニブ vs 化学療法	303	83 vs 76	NR vs 11.1	34.8 vs 10.9, HR: 0.43	NR vs 57.4 (5 年において、全生存率: 62.5% vs 45.5%)	貧血、筋肉痛、ビリルビン上昇、体重増加、筋骨格痛、光線過敏性反応	

(続く)

表 2-1. FDA によって承認された標的型薬剤の有効性と毒性のプロファイル (続き)

阻害剤	研究	薬剤	研究デザイン	N	客観的奏効率 (%)	奏効期間の中央値 (月数)	無増悪生存期間の中央値 (月数)	全生存期間の中央値 (月数)	治療関連の主な有害事象
ALK	ALTA-1L ²⁶	ブリガチニブ	第 3 相 - ブリガチニブ vs クリゾチニブ	275	74 vs 62	NR vs 13.9	24.0 vs 11.1, HR: 0.48	NR	GI 事象 (下痢、悪心、嘔吐)、血中 CPK 上昇、咳、アミノトランスフェラーゼ上昇
	CROWN ²⁷	ロルラチニブ	第 3 相 - ロルラチニブ vs クリゾチニブ	296	76 vs 58	NR vs 11.1	NR vs 9.3, HR: 0.28	NR	高脂血症、浮腫、体重増加、末梢神経障害、認識作用
ROS1	Dziedziszko 氏他 ²⁸	エヌトレクチニブ	ほとんどがブラチナ製剤による事前治療歴あり	107	67.1	15.7	15.7	NE	味覚異常、めまい、便秘、疲労、下痢、体重増加、感覚異常
	Shaw 氏他 ²⁹	クリゾチニブ	13% は治療未経験	53	72	24.7	19.3	51.4	視覚障害、悪心、浮腫、下痢、嘔吐、トランスアミナーゼ上昇、便秘
RET	Drilon 氏他 ³⁰	セルベルカチニブ	ブラチナ製剤による事前治療歴あり	105	61	28.6	24.6	NE	口内乾燥、下痢、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ上昇、アラニンアミノトランスフェラーゼ上昇、高血圧
	Griesinger 氏他 ³¹	プラルセチニブ	治療未経験	39	84	20.2	22	NE	好中球減少、白血球減少、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ上昇、貧血、アラニンアミノトランスフェラーゼ上昇、便秘、疲労、血中クレアチンホスホキナーゼ上昇
NTRK	Demetri 氏他 ³²	エヌトレクチニブ	主に事前治療歴あり	22	63.6	19.9	14.9	NE (20.8-NE)	味覚異常、下痢、疲労、体重増加
	Drilon 氏他 ³³	ラロトレクチニブ	主に事前治療歴あり	15	73	33.3	35.4	40.7	筋肉痛、めまい、悪心、アラニンアミノトランスフェラーゼ上昇 (続く)

表 2-1. FDA によって承認された標的型薬剤の有効性と毒性のプロファイル (続き)

阻害剤	研究	薬剤	研究デザイン	N	客観的奏効率 (%)	奏効期間の中央値 (月数)	無増悪生存期間の中央値 (月数)	全生存期間の中央値 (月数)	治療関連の主たる有害事象
HER2	Li 氏他 ³⁴	トラスツズマブ デルクスステカン 6.4 mg/kg	プラチナ製剤による 事前治療歴あり	91	55	9.2	8.2	17.8	悪心、疲労、脱毛症、嘔吐、好中球減少、貧血、下痢
			プラチナ製剤による 事前治療歴あり	28	42.9	5.9	NR	NR	薬剤関連 ILD 14%
			プラチナ製剤による 事前治療歴あり	52	53.8	NE	NR	NR	薬剤関連 ILD 5.9%
MET	Wolf 氏他 ³⁶	カブマチニブ	治療未経験	28	68	12.6	12.4	20.8	末梢性浮腫、悪心、嘔吐、血中クレアチニン上昇、疲労、下痢
			プラチナ製剤による 事前治療歴あり	69	41	9.7	5.4	13.3	
	Paik 氏他 ³⁷	テポチニブ	43% は治療 未経験	99	46	11.1	8.5	17.1	末梢性浮腫、悪心、下痢、血中クレアチニン上昇、低アルブミン血症
BRAF	Planchard 氏他 ³⁸	ダブラフェニブ + トラメチニブ	治療未経験	36	64	10.2	10.8	17.3	発熱、悪心、嘔吐、乾燥皮膚、末梢性浮腫、下痢、食欲減退、咳
			プラチナ製剤による 事前治療歴あり	57	68.4	9.8	10.2	18.2	
KRAS	Skoulidis 氏他 ³⁹	ソトラシブ	プラチナ製剤による 事前治療歴あり	124	37.1	11.1	6.8	12.5	下痢、悪心、アラニンアミノトランスフェラーゼ上昇、AST 上昇、疲労
			プラチナ製剤による 事前治療歴あり	116	42.9	8.5	6.5	12.6	下痢、悪心、嘔吐、疲労、アラニンアミノトランスフェラーゼまたは AST の上昇、クレアチニン上昇
EGFR エグソン 20	Park 氏他 ⁴¹	アミバンタマブ	プラチナ製剤による 事前治療歴あり	81	40	11.1	8.3	22.8	輸注反応、発疹、爪囲炎
			プラチナ製剤による 事前治療歴あり	114	28	17.5	7.3	24	下痢、発疹

略語：AST = aspartate aminotransferase (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)、CPK = creatinine phosphokinase (クレアチニンホスホキナーゼ)、GI = gastrointestinal (胃腸)、HR = hazard ratio (ハザード比)、ILD = interstitial lung disease (間質性肺疾患)、NE = not estimable (推定不能)、NR = not reported (未報告)、NS = not significant (有意でない)、OS = overall survival (全生存期間)。

一部の母集団では第1世代のTKIと比べて有効性と生存期間の優位性が高まっています。第3世代のTKI オシメルチニブは、第1世代のTKIと比べて毒性が軽減され、生存期間の延長を含む有効性の向上を示し、^{20, 21}EGFR 変異を有するとして新たに診断された患者のファーストライン治療における新たな標準治療を確立しました。つい最近、オシメルチニブは、無病生存期間を改善することが実証されたことを受けて、アジュバント設定でFDAによって承認された最初の標的療法となりました。⁴³

この腫瘍情報型の療法という概念は、2007年に肺癌で2つ目の発癌性ドライバー(ALK 遺伝子融合)が報告された後、NSCLCの薬剤開発と診療においてさらに有効性が確認されました。⁴⁴ 幸いなことに偶然にも、クリゾチニブの第1相ファーストインヒューマン治験が始まったばかりでした。クリゾチニブは、METを阻害するために開発された新しいマルチキナーゼTKIですが、ALKとROS1も阻害することが分かっています。⁴⁵ この治験設計によって、重点対象がMETから、FISHによるALK再構成を有していた腫瘍を持つ患者を特定して登録することに急速に転換されました。この治験と後続の第3相治験では、標準の化学療法と比べて転帰の改善と著しい有効性が示されました。^{22, 45, 46} 4年以内に、クリゾチニブは、遺伝子型特異的に研究されて承認された最初の薬剤として、FDAの承認を受けました。クリゾチニブの迅速な開発が成功したことで、現在も続く標的薬剤開発の標準となりました。

これまでより有効性が向上してCNS浸透度が高まった新世代のALKTKIが開発されました(セリチニブ、アレクチニブ、ブリガチニブ、エンサルチニブ、ロルラチニブなど)。^{23, 24, 26, 27, 47} これらの新世代化合物のうち4つ(アレクチニブ、ブリガチニブ、エンサルチニブ、ロルラチニブ)は、第3相臨床試験でクリゾチニブを上回る有効性が示され、ALK再構成が生じているNSCLCに対するファーストライン療法の水準を引き上げました。これらの標的療法は、既存対照群と比べて転帰を改善して、⁴⁸ 生存期間中央値が5年超という前例のない生存率を実現しました。²⁵

その後、さまざまな標的に対するキナーゼ阻害剤が急速に開発されました。これらの標的は、*BRAF* V600E変異、³⁸*MET* エクソン14スキッピング変異、^{36, 37}*ROS1*、^{28, 29}*RET*、^{30, 31}*NTRK1-3*^{32, 33} 遺伝子再構成です。これらの療法の承認は、単群の第1相または第2相臨床試験の結果に主に基づいており、これらの治験では、特定の発癌性標的を有する腫瘍で高い奏効率が示されました。付随する第3相臨床試験を行わなかった主な理由は、これらの一般的でない標的を有するまれな母集団で大規模な無作為臨床試験を実施する上でさまざまな制限事項があったからです。二重特異性抗体や抗体薬物複合体などの新しい標的戦略の活用によって、薬物治療の効果が期待できる癌遺伝子の範囲が拡大されて、*EGFR* エクソン20変異^{41, 42}と*HER2*変異³⁴が対象に含まれました。*KRAS* GTPase内の変異は、これまで標的にするのが困難でしたが、⁴⁹*KRAS* G12C阻害剤であるソトラシブが、2021年5月にFDAによって承認され、³⁹ その後、以前に治療を受けたNSCLC患者の奏効率に基づいて、アダグラシブがこの適応症で2022年12月に承認されました。⁴⁰

標的療法に対する耐性

獲得耐性が最終的に生じて、標的療法の有効性を制限します。標的療法耐性に関する一般的なテーマは、阻害される経路内の標的上異常と、バイパストラックの獲得を通じたまたは小細胞癌または扁平上皮癌への組織学的変化を通じた標的外耐性です。悪化後の生検は、耐性のメカニズムを理解するのに役立つ可能性があるとともに、一部のケースで悪化後治療の指針となります。さまざまな発癌性ドライバーとの関連における耐性のメカニズムについては、当アトラスの遺伝子固有の章で詳しく説明しています。

肺癌患者に対するバイオマーカーを指針とした療法の転帰

標的療法が登場して活用されたことで、進行 NSCLC 患者の転帰が改善されました。2013 年から 2016 年までの、米国の母集団レベル死亡率の低下と NSCLC 診断後の生存期間の改善は、EGFR TKI と ALK TKI の承認とタイミング的に一致しています。⁵⁰ 米国⁵¹ と欧州^{52, 53} における大規模な地域的・全国的分子検査プログラムは、大規模集団における複数の分子ドライバーの検査の実現可能性と、分子変化を有すると同定された患者を適切な標的治療に導くことの価値を実証しました。米国肺癌遺伝子変異コンソーシアム (Lung Cancer Mutation Consortium) は、733 人の患者の腫瘍を解析して 10 種類の遺伝子を調べた結果、64% のケースで標的となり得るドライバー変異を発見できました。発癌性ドライバーを有する患者のうち、標的型薬剤が投与された患者 (n = 260、生存期間中央値 3.5 年) は、標的療法を受けなかったドライバー保有患者 (n = 318、生存期間中央値 2.4 年) と比べて、転帰が改善しました。⁵¹ フランスで実施された全国的プログラムでは、6 遺伝子パネルを使用して 1 年間にわたって検査を受けた 17,664 人の NSCLC 患者の約半数で分子変異が発見され、⁵² 転帰の改善が確認されました。これには、薬物治療の効果が期待できるゲノム変異を有すると診断された患者の奏効率、無増悪生存期間、全生存期間が含まれます。同様に、ドイツで 5,145 人の患者を対象にして実施された調査では、腫瘍の遺伝子型決定が可能であることが実証されたとともに、EGFR 変異または ALK 再構成を有する患者のうち、適切な標的療法を受けた患者の生存転帰の改善と腫瘍の遺伝子型決定が関連していることが実証されました。⁵³ 標準治療ゲノムプロファイリングとリンクされた Flatiron 社の電子データベースを使用して、米国の 4,064 人の NSCLC 患者を対象にして実施されたリアルワールド解析では、ドライバー変異を有していた腫瘍を持つ患者のうち、適切な標的療法を受けた患者 (n = 575) は、ドライバー変異なしの患者 (n = 560) と比べて、全生存期間が改善されたことが明らかになりました (全生存期間中央値は 18.6 カ月 vs 11.4 カ月、 $P < 0.001$)。⁵⁴

バイオマーカー検査の障壁

臨床的に適切なバイオマーカー検査に対するいくつかの障壁が特定されています。⁵⁵⁻⁵⁹ 各障壁の相対的な影響度合は、地理的場所 (先進国 vs 途上国、農村部 vs 都市部) や医療環境 (地域社会 vs 学術的) によって異なるものの、主要な要因については、環境間で顕著な一貫性が見られます。グローバル環境での検査に対する障壁を検証する

ための最も包括的な調査の1つが、IASLCによって実施されました。⁵⁹ その結果として、すべての地域に共通する5つの要因が特定されました。どの地域でも最も多かったのは、コストでした。腫瘍の質（不十分なサンプル、不適切な扱い）も、大きな制約要因でした。他の要因としては、検査の実施しやすさ（単一の遺伝子 vs 単一の広範なパネル）、長い所要時間、認識（ガイドラインの理解度、結果解読の困難さ）などが挙げられます。さらに、途上国や中所得国では、さまざまな標的型薬剤を利用できないことが、バイオマーカー検査を推進する意欲を抑制する重要な要因となっています。⁶⁰

これらの問題に対処するための解決策としては、反射検査プロトコルの使用、腫瘍サンプルを取得する医療提供者、病理医、腫瘍内科医の間の連携の最適化、集学的腫瘍カンファレンスによるケース検証、血漿ベース ctDNA 検査の利用促進による所要時間の短縮などがあります。治療可能な複数の新しい分子標的が急速に進化している状況を考えて、医療提供者の教育を強化することで（特に、地域社会の医療提供者と胸部専門でない医療提供者を対象にして）、分子検査への取り組みを最適化できる可能性があります。⁵⁶ 米国臨床腫瘍学会によって実施された調査では、一般医は、胸部専門医と比べて、扁平上皮 NSCLC 患者に対するバイオマーカー検査を指示した頻度が大幅に高かったことが明らかになりました（この腫瘍型では標的になり得る癌遺伝子が相対的に不足しているにもかかわらず）。さらに、一般医は、腫瘍専門医と比べて、バイオマーカー結果を待っている間に非標的療法を使用した治療を延期する傾向が低かったです（ファーストライン設定で標的療法を使用することの利点を実証されているにもかかわらず）。⁵⁶

検査しない場合の影響

進行 NSCLC における治療判断の指針となるタイムリーかつ正確なバイオマーカー検査を実施する価値は、十分に認識されています。標的療法または免疫療法を受けている患者の5年生存率は、バイオマーカーに応じて15%～50%の範囲内です。これに対して、細胞傷害性化学療法を使用した場合の従来の5年生存率は約6%です。⁶² 最近行われた2つの調査では、バイオマーカー検査のガイドライン準拠が NSCLC の転帰に及ぼす影響が裏付けられました。^{62, 63} John 氏らは、米国の280か所の癌クリニックから選出された28,784人の進行 NSCLC 患者のコホートを過去にさかのぼって調査しました。⁶² これら患者の3分の2は、NCCNで推奨されたバイオマーカー検査を受けていました（準拠グループ）。準拠グループでは、バイオマーカー検査を受けていなかった患者群（非準拠グループ）と比べて、臨床転帰の改善が確認されました（死亡リスクの低下や生存期間中央値の上昇など）。適切なバイオマーカー検査の確保と適用に対する多くの障壁を克服することを支援する上で MTB が及ぼす影響は、ケンタッキー大学で実施された調査で実証されました。⁶³ この調査では、MTBによって検証されたケースの生存転帰は、MTBによって検証されなかった同様傾向の対照群より良好でした（HR：8.61、 $P < 0.0001$ ）。

疾患の早期ステージにおけるバイオマーカー検査の役割はあまり明確に規定されていませんが、切除された EGFR 変異陽性 NSCLC におけるアジュバントオシメルチニブ

が承認されたこと⁴³、および、EGFRとALKに対して陰性の腫瘍を持つ患者でネオアジュバントとアジュバントの免疫腫瘍薬剤が有効であることによって、この状況でのバイオマーカー検査の必要不可欠な役割も確立されました。

患者支援者の観点

個別化医療の新時代は、肺癌患者と患者家族の介護者に対して新たな希望と楽観をもたらしました。バイオマーカー検査は、転帰を最大限に高める個別化された治療を決定するために不可欠です。患者や介護者の観点からは、いくつかの重要な考慮事項があります。

利用可能性、コスト、公平性

多くの国では、バイオマーカー検査は日常的に実施されており、診断時に保険適用されますが、例外地域も存在します。たとえば、「LuCE」ポジションペーパーに記載されているように、西欧/北欧と東欧の間では大きな違いがあり、⁶⁴ 国内でも人種によって大きな格差があります。⁶⁵ さらに、標的療法に対する獲得耐性のメカニズムを調べるための反復的なバイオマーカー検査は保険適用外になることがあり、その場合は、患者はその後の標的治療を受けるために自己負担を強いられます。

教育と希望

薬物治療の効果が期待できるドライバー変異を発見できるかどうかは、多大な影響をもたらす可能性があり、場合によっては、文字どおり生と死を分けます。しかし、多くの肺癌は発癌性ドライバーを有しておらず、一部の肺癌では、検査時に見つかった遺伝子変異に適用可能な標的療法がまだありません。分子検査を受ける際に、患者とその家族が、起こりうる結果の範囲、潜在的所見の重要性、検査の限界についてカウンセリングを受けることは非常に重要です。患者と家族の期待事項を管理することが非常に重要です。さらに、分子病理学レポートは分かりにくい場合があるため、支援をすぐに提供できる体制が必要です。患者支援者、専門家、教育機関から提供されているオンライン形式または紙媒体の分かりやすい教材は、特に、必要な検査について支援するために、医療提供者から分子検査を提案されていない可能性のある患者を支援する上で重要な役割を果たします。さらに、さまざまな患者と家族が経験を共有してお互いから学び合うための複数のデジタルソーシャルコミュニティが存在しており、支援と希望が提供されています。医療提供者は、新たに診断された肺癌患者をこれらのリソースに誘導することで支援できます。

結論

NSCLCの現在の診断と治療は、高度に統合されたタイムリーかつ徹底的な腫瘍バイオマーカー検査を実施すること、および適用可能な療法を適切に活用することに大きく依存しています。このアトラスは、読者が肺癌患者に対して最適な個別化治療手段を提供できるようにするための包括的なリファレンスです。

参考文献

1. Tan AC, Tan DSW. Targeted therapies for lung cancer patients with oncogenic driver molecular alterations. *J Clin Oncol*. 2022;40(6):611-625.
2. Gatzemeier U, Pluzanska A, Szczesna A, et al. Phase III study of erlotinib in combination with cisplatin and gemcitabine in advanced non-small-cell lung cancer: the Tarceva Lung Cancer Investigation Trial. *J Clin Oncol*. 2007;25:1545-1552.
3. Herbst RS, Prager D, Hermann R, et al. TRIBUTE: a phase III trial of erlotinib hydrochloride (OSI-774) combined with carboplatin and paclitaxel chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23:5892-5899.
4. Herbst RS, Giaccone G, Schiller JH, et al. Gefitinib in combination with paclitaxel and carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial—INTACT 2. *J Clin Oncol*. 2004;22:785-794.
5. Giaccone G, Herbst RS, Manegold C, et al. Gefitinib in combination with gemcitabine and cisplatin in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial—INTACT 1. *J Clin Oncol*. 2004;22:777-784.
6. Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004;304:1497-1500.
7. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350:2129-2139.
8. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009;361:947-957.
9. Fukuoka M, Wu YL, Thongprasert S, et al. Biomarker analyses and final overall survival results from a phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib versus carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer in Asia (IPASS). *J Clin Oncol*. 2011;29:2866-2874.
10. Sequist LV, Yang JC, Yamamoto N, et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol*. 2013;31:3327-3334.
11. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012;13:239-246.
12. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med*. 2010;362:2380-2388.
13. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2010;11:121-128.
14. Takano T, Fukui T, Ohe Y, et al. EGFR mutations predict survival benefit from gefitinib in patients with advanced lung adenocarcinoma: a historical comparison of patients treated before and after gefitinib approval in Japan. *J Clin Oncol*. 2008;26:5589-5595.
15. Lee CK, Davies L, Wu YL, et al. Gefitinib or erlotinib vs chemotherapy for EGFR mutation-positive lung cancer: individual patient data meta-analysis of overall survival. *J Natl Cancer Inst*. 2017;109.
16. Yang JC, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol*. 2015;16:141-151.
17. Mok TS, Cheng Y, Zhou X, et al. Improvement in overall survival in a randomized study that compared dacomitinib with gefitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer and EGFR-activating mutations. *J Clin Oncol*. 2018;36:2244-2250.
18. NCCN Guidelines Committee. *Clinical Practice Guidelines in Oncology: Non-Small Cell Lung Cancer*, version 5.2022. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf.
19. ESMO Guidelines Committee. *Clinical Practice Guidelines—Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up*. Updated September 15, 2020. <https://www.esmo.org/guidelines/guidelines-by-topic/lung-and-chest-tumours/clinical-practice-living-guidelines-metastatic-non-small-cell-lung-cancer>.

20. Ramalingam SS, Vansteenkiste J, Planchard D, et al. Overall survival with osimertinib in untreated, EGFR-mutated advanced NSCLC. *N Engl J Med.* 2020;382:41-50.
21. Soria JC, Ramalingam SS. Osimertinib in EGFR mutation-positive advanced NSCLC. *N Engl J Med.* 2018;378:1262-1263.
22. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2014;371:2167-2177.
23. Soria JC, Tan DSW, Chiari R, et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet.* 2017;389:917-929.
24. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus crizotinib in untreated ALK-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2017;377:829-838.
25. Mok T, Camidge DR, Gadgeel SM, et al. Updated overall survival and final progression-free survival data for patients with treatment-naive advanced ALK-positive non-small-cell lung cancer in the ALEX study. *Ann Oncol.* 2020;31:1056-1064.
26. Camidge DR, Kim HR, Ahn MJ, et al. Brigatinib versus crizotinib in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2018;379:2027-2039.
27. Shaw AT, Bauer TM, de Marinis F, et al. First-line lorlatinib or crizotinib in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2020;383:2018-2029.
28. Dziadziuszko R, Krebs MG, De Braud F, et al. Updated integrated analysis of the efficacy and safety of entrectinib in locally advanced or metastatic ROS1 fusion-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2021;39:1253-1263.
29. Shaw AT, Riely GJ, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): updated results, including overall survival, from PROFILE 1001. *Ann Oncol.* 2019;30:1121-1126.
30. Drilon A, Subbiah V, Gautschi O, et al. Selpercatinib in patients with RET fusion-positive non-small-cell lung cancer: updated safety and efficacy from the Registrational LIBRETTO-001 phase I/II trial. *J Clin Oncol.* 2022;JCO2200393.
31. Griesinger F, Curigliano G, Thomas M, et al. Safety and efficacy of pralsetinib in RET fusion-positive non-small-cell lung cancer including as first-line therapy: update from the ARROW trial. *Ann Oncol.* 2022;33(11):1168-1178.
32. Demetri GD, De Braud F, Drilon A, et al. Updated integrated analysis of the efficacy and safety of entrectinib in patients with NTRK fusion-positive solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2022;28:1302-1312.
33. Drilon A, Tan DSW, Lassen UN, et al. Efficacy and safety of larotrectinib in patients with tropomyosin receptor kinase fusion-positive lung cancers. *JCO Precis Oncol.* 2022;6:e2100418.
34. Li BT, Smit EF, Goto Y, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2022;386:241-251.
35. Goto K, Sang-We K, Kubo T, et al. Trastuzumab deruxtecan (T-DXd) in patients (Pts) with HER2-mutant metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC): interim results from the phase 2 DESTINY-Lung02 trial. *Ann Oncol.* 2022;33:S808-S869.
36. Wolf J, Garon EB, Groen HJM, et al. Capmatinib in MET exon 14-mutated, advanced NSCLC: updated results from the GEOMETRY mono-1 study. *J Clin Oncol.* 2021;39:9020.
37. Paik PK, Felip E, Veillon R, et al. Tepotinib in non-small-cell lung cancer with MET exon 14 skipping mutations. *N Engl J Med.* 2020;383:931-943.
38. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Phase 2 study of dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF V600E-mutant metastatic NSCLC: updated 5-year survival rates and genomic analysis. *J Thorac Oncol.* 2022;17:103-115.
39. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, et al. Sotorasib for lung cancers with KRAS p.G12C mutation. *N Engl J Med.* 2021;384:2371-2381.
40. Jänne PA, Riely GJ, Gadgeel SM, et al. Adagrasib in non-small-cell lung cancer harboring a KRASG12C mutation. *N Engl J Med.* 2022;387(2):120-131. doi:10.1056/NEJMoa2204619.
41. Park K, Haura EB, Leighl NB, et al. Amivantamab in EGFR exon 20 insertion-mutated non-small-cell lung cancer progressing on platinum chemotherapy: initial results from the CHRYSALIS phase I study. *J Clin Oncol.* 2021;39:3391-3402.
42. Zhou C, Ramalingam SS, Kim TM, et al. Treatment outcomes and safety of mobocertinib in platinum-pretreated patients with EGFR exon 20 insertion-positive metastatic non-small cell lung cancer: a phase 1/2 open-label nonrandomized clinical trial. *JAMA Oncol.* 2021;7:e214761.
43. Wu YL, Tsuboi M, He J, et al. Osimertinib in resected EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2020;383:1711-1723.

44. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007;448:561-566.
45. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2010;363:1693-1703.
46. Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*. 2013;368:2385-2394.
47. Horn L, Wang Z, Wu G, et al. Ensartinib vs crizotinib for patients with anaplastic lymphoma kinase-positive non-small cell lung cancer: a randomized clinical trial. *JAMA Oncol*. 2021;7:1617-1625.
48. Shaw AT, Yeap BY, Solomon BJ, et al. Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2011;12:1004-1012.
49. Uprety D, Adjei AA. KRAS: From undruggable to a druggable cancer target. *Cancer Treat Rev*. 2020;89:102070.
50. Howlader N, Forjaz G, Mooradian MJ, et al. The effect of advances in lung-cancer treatment on population mortality. *N Engl J Med*. 2020;383:640-649.
51. Kris MG, Johnson BE, Berry LD, et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA*. 2014;311:1998-2006.
52. Barlesi F, Mazieres J, Merlio JP, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet*. 2016;387:1415-1426.
53. Clinical Lung Cancer Genome Project (CLCGP); Network Genomic Medicine (NGM). A genomics-based classification of human lung tumors. *Sci Transl Med*. 2013;5:209ra153.
54. Singal G, Miller PG, Agarwala V, et al. Association of patient characteristics and tumor genomics with clinical outcomes among patients with non-small cell lung cancer using a clinicogenomic database. *JAMA*. 2019;321:1391-1399.
55. Smeltzer MP, Wynes MW, Lantuejoul S, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Global Survey on Molecular Testing in Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2020;15:1434-1448.
56. Mileham KF, Schenkel C, Bruinooge SS, et al. Defining comprehensive biomarker-related testing and treatment practices for advanced non-small-cell lung cancer: results of a survey of U.S. oncologists. *Cancer Med*. 2022;11:530-538.
57. Pennell NA, Arcila ME, Gandara DR, et al. Biomarker testing for patients with advanced non-small cell lung cancer: real-world issues and tough choices. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2019;39:531-542.
58. Rivera MP, Charlot M, Durham DD, et al. Molecular biomarker and programmed death-ligand 1 expression testing in patients with advanced stage non-small cell lung cancer across North Carolina community hospitals. *Chest*. 2021;160:1121-1130.
59. Dalurzo ML, Aviles-Salas A, Soares FA, et al. Testing for EGFR mutations and ALK rearrangements in advanced non-small-cell lung cancer: considerations for countries in emerging markets. *Onco Targets Ther*. 2021;14:4671-4692.
60. Hirsch FR, Zaric B, Rabea A, et al. Biomarker testing for personalized therapy in lung cancer in low- and middle-income countries. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2017;37:403-408.
61. Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, et al. NCCN Guidelines Insights: Non-Small Cell Lung Cancer, version 2.2021. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021;19:254-266.
62. John A, Yang B, Shah R. Clinical impact of adherence to NCCN guidelines for biomarker testing and first-line treatment in advanced non-small cell lung cancer (aNSCLC) using real-world electronic health record data. *Adv Ther*. 2021;38:1552-1566.
63. Huang B, Chen Q, Allison D, et al. Molecular tumor board review and improved overall survival in non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol*. 2021;5:PO.21.00210.
64. *Position Paper: Disparities and Challenges in Access to Lung Cancer Diagnostics and Treatment across Europe*. Lung Cancer Europe (LuCE); 2020.
65. Harrison S, Judd J, Chin S, et al. Disparities in lung cancer treatment. *Curr Oncol Rep*. 2022;24:241-248.

標本採取と解析前の考慮事項

3

肺癌患者は、さまざまな形で症状を呈する可能性があり、さまざまな部位の早期疾患または進行疾患を抱えていることがあります。患者の症状にかかわらず、最適な治療を行うためには、診断用の組織採取が必要であり、多くの場合は、最適な治療の指針となる分子特性解析も必要です。本章では、組織採取における呼吸器専門医、放射線科医、外科医の相補的役割を検証するとともに、患者の腫瘍の最適な病理学的評価と分子特性解析に影響を与える解析前可変要因を検証します。

呼吸器科医の観点

執筆者：Emily Stone、Kwun M. Fong

呼吸器科医にとって必要なことが、診断用標本を取得して、悪性度を確認して、SCLCとNSCLCを見分けることだけだった時代は、はるか昔のことです。分子特性解析のための十分な診断用組織を可能な限り安全な方法で確保することが今や優先事項となっています（特にNSCLCの場合は）。¹すべてのサンプリング手順では収量を最大化する必要があります。一部の状況ではリキッドバイオプシーが利用されるにもかかわらず、組織病理学的診断と補助的分子特性解析の両方について、組織は実際に依然として問題のままであるからです。²⁻⁸

最適な組織採取は、バイオマーカー解析の重要な解析前要因であり、単一遺伝子検査、小パネル、包括的なNGSゲノムプロファイリングのいずれが使用される場合でも同様です。⁹⁻¹¹ベストプラクティスの目的は、バイオマーカー検査に対するグローバルな障壁に留意しながら、最も安全で効果的かつ低コストの方法で、関連する組織病理学的検査と分子検査用の十分な組織を採取することです。¹²⁻¹⁴

このことは肺癌では難しい可能性があり、特にそのことが当てはまるのは、小さな病変やアクセス不能な病変の場合、患者が併存疾患（重篤な肺疾患など）を抱えている場合、外科的切除標本を禁忌とする進行症状の場合です。外科的切除標本からは、低侵襲の気管支鏡生検、針穿刺吸引、コア生検よりも多くの組織を採取できます。¹⁵

表 3-1. 肺癌の組織採取に一般に使用される気管支鏡手法とサンプリングツール

腫瘍の特性	様式	サンプリングツール
中枢または気管支内の腫瘍	気管支鏡検査	気管支内生検 クライオ生検 ブラッシング 洗浄 / 気管支肺胞洗浄
末梢性腫瘍	超薄型気管支鏡検査 ラジアル型 EBUS	経気管支生検 経気管支クライオ生検 TBNA 経気管支ブラッシング 洗浄（標的型） / 気管支肺胞洗浄
縦隔腫瘍または外因性腫瘍 / 気道に隣接したリンパ節	リニア EBUS	TBNA

略語：EBUS = endobronchial ultrasound（気管支内超音波）、TBNA = transbronchial needle aspiration（経気管支針吸引）。

軟性気管支鏡検査

従来の軟性気管支鏡検査は、中枢性病変の場合は診断率が高く、小さめの末梢性病変の場合は診断率が低いです。いくつかの新しい技術と、最新のサンプリングツール、およびこのパラダイムを変革しているトンネリングツールの組み合わせによって、気管支鏡が到達できる範囲が拡大されています。これらの新しい技術としては、ナビゲーション気管支鏡検査、EBUS、超薄型気管支鏡検査、ロボット気管支鏡検査などがあり、最新のサンプリングツールとしては、フレキシブル針やコア針などがあります。¹⁶⁻²² これらの高度な気管支鏡検査技法では、中枢性病変と末梢性病変の診断率が向上するとともに、気胸のリスクを減らしながら同じ処置で結節をサンプリングすることも可能なため、中枢性病変には気管支鏡検査を使用して、末梢性病変には経胸腔手法を使用するという従来のやり方は疑問視されています（表 3-1）。²³

気管支内手法と経気管支手法の場合は、5回の気管支内 / 経気管支鉗子生検が推奨されており、追加の5回の鉗子生検または2回のクライオ生検を実施することで、最も多くの組織を採取できると考えられています。後者の方が診断率が高い一方で、合併症のリスクが高まることが報告されています（特に出血）。^{11, 24}

気管支鏡または画像法（EBUS、蛍光透視法、コーンビーム CT）で視認できる病変は、その病変の円錐形毛ブラシを使用してサンプリングすることもできます。具体的には、細胞診のためにスライド上にスメアして、生理食塩水内で勢いよく振り混ぜて、遠心分離によってペレット化されてセルブロックになった細胞を除去します。²⁵ ある調査では、免疫組織化学法（PD-L1、ALK、ROS1）とNGS（EGFR、KRAS、BRAF）の生検と同様の妥当性が、ブラッシングによって示されたことが分かっています。²⁶

気管支洗浄によって細胞診の標本とセルブロックが得られますが、除去された腫瘍細胞は他の細胞型と細胞片によって希釈されます。洗浄によって、体細胞突然変異、異常メチル化、PD-L1染色を検出できますが、洗浄は、標的性が比較的低く、多くの場合は腫瘍細胞の比率が低いことによって制約されています。標的性の高い気管支肺胞洗浄を行うには、気管支鏡を通じて病変に誘導されるガイドシースが必要です。²⁷⁻²⁹

TBNA は、EBUS なしで実施できます。最新の EBUS 誘導式 TBNA は、中枢性病変、縦隔リンパ節、肺門リンパ節のサンプリングの診断率を大幅に改善し、ラジアル型 EBUS は、末梢性病変をサンプリングするために導入されることが多くなっています。^{14, 25, 30, 31} TBNA サンプルをスライド上にスメアして、組織病理学的解析と分子解析に適したセルブロックにすることができます。³² 大きめの 19 ゲージの TBNA 針を使用して「コア」を採取できる場合がありますが、これらのコアは組織片が封入された血餅で構成されていることが多いです。³³ 最適な診断と分子プロファイリングのためには、すべての貴重なサンプルを協調的かつ集学的に慎重に管理することが不可欠です。³⁴

TBNA と他の EBUS サンプルが分子検査に十分であることを保証するために、ROSE が推奨されます。ただし ROSE を行うためには、腫瘍細胞の存在とサンプリングの妥当性 / 収量を確認する細胞病理学者と技師からなる追加スタッフが処置室に控えている必要があります。^{33, 35-37} ROSE なしで EBUS TBNA を実施する場合は、3 ~ 5 回針を挿入することが推奨されます。¹¹

ナビゲーション気管支鏡検査

技術進歩のおかげで、気管支鏡を標的に誘導する新しい方法が実現されました。ナビゲーションシステム（VBN や EMN など）では、標的まで至る解剖学的な気管支経路の 3 次元フライスルー画像が使用され、主に末梢性肺病変が対象となっています。^{18, 19, 25, 38-40}

超薄型気管支鏡検査

超薄型気管支鏡は、従来の気管支鏡より多くの末梢気道（第 4 世代気道 vs 第 5 世代気道）に到達できます。ワーキングチャンネルが 1.7 mm と不釣り合いなほど大きいため、末梢病変の診断収率が高く、小型の焼骨 EBUS プロブとマルチツールサンプリングが可能です。^{25, 41, 42}

ロボット気管支鏡検査

もう一つの革新は、組織採取と潜在的治療の両方を目的としたロボット気管支鏡です。現在は 2 つの商用システムを利用できます。利点としては、ナビゲーション、位置保持能力、関節の改良、操作性などが挙げられますが、コストが高いことが普及の障壁となっている可能性があります。^{21, 43, 44}

サンプルの保存と移送

気管支鏡検査の標本は一般に、通常生理食塩溶液またはホルマリン内に収集された状態で部門間で移送されます（これは世界レベルで一貫した手法です）。ただし、ホルマリン固定が核酸品質に及ぼす悪影響を克服するためのいくつかの代替手法が登場しています（非架橋結合固定剤など）。⁴⁵ RNA ベースの検査がますます多く使用されている中で、RNA 保存試薬は、RNA の劣化という課題への対処に役立つ可能性があります。⁴⁶

結論

個別化医療の成否は、分子検査に十分な量と質の腫瘍組織を採取できるかどうかによって大きく左右されますが、肺癌の場合はほとんどの診断用サンプルが小さいため、この条件を満たすことは特に困難です。補助的な検査の場合は、可能な場合は生検材料またはセルブロックを確保することで、十分な腫瘍細胞を得られる可能性が高まります。気管支専門医は、病理組織学的診断や分子検査に必要な質と量の腫瘍細胞を確実に採取できるよう、現在の技術を最適化し、新しい気管支鏡検査の技術を習得する必要があります。^{30, 47} 急速に進化するニーズに対応するためには、有益な複数の学会とエビデンスに基づくガイダンスを定期的に更新する必要があります。しかし、気管支鏡検査の進歩は並行して進んでおり、^{48, 49} 「より少ない量でより多くの検査」というジレンマは、「より多くの量でより多くの検査」へと発展しています。⁵⁰

介入放射線医の観点

執筆者：Ritu R. Gill、Apoorva Gogna

画像誘導式の経皮 TTNB は、肺小結節と肺腫瘍の診断評価における標準治療となっており、良性と悪性の両病因について高い診断精度を実現し、併合感度と併合特異度はそれぞれ 0.95 および 0.99 です。^{51, 52} CT は、画像誘導生検の場合に推奨される画像誘導手法であり、表層病変と深部病変の安全なサンプリングを可能にする一方で、含気肺の針通過を制限して、脈管、裂溝、水疱を回避しやすくすることで、罹患を最少限に抑えます。⁵³ 肺境界面のない病変や、胸壁ベースや胸膜ベースの病変に対して超音波を使用できます。^{54, 55} 蛍光透視法と術中 C アームは、画像誘導生検で使用することもできますが、^{56, 57} 診断と分子プロファイリングのための組織採取ではあまり大きな役割を果たしません。FNA と CNB のどちらも、診断と分子特性解析用の標本を採取するために使用されます。^{53, 58} 画像誘導生検による肺癌の診断と分子プロファイリングの精度は、75% ~ 92% の範囲内です。^{52, 59-64} 多くの肺癌患者は手術候補者ではないため、診断目的と分子プロファイリングの両方のための十分な材料を取得することが重要です。

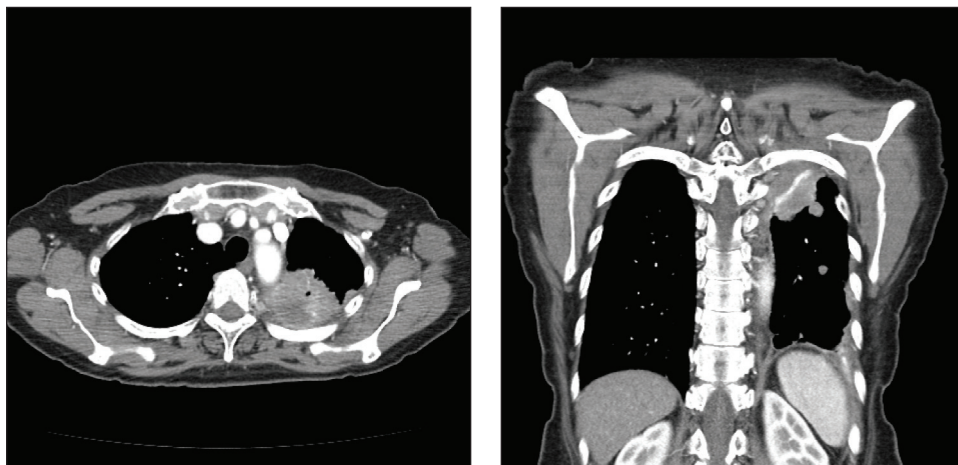


図 3-1. 病変内の大きな脈管は、生検に対するある程度の禁忌です。

処置前の評価

患者は、さまざまな科から画像誘導生検に回されてきます。たとえば、胸部外科、呼吸器科、腫瘍科、一般診療科などです。これには、病変が不確定の患者や肺癌と診断された患者が含まれます。肺生検の依頼があった場合は、得られる画像（通常はコントラストのあるCT）の検証、手法の計画、処置に向けた患者のスケジューリングを、放射線科医に要請する必要があります。18 FDG-PET CT は、特に事前の生検で診断を下せなかった場合は病変選択に役立つことがありますが、処置前には不要です。生検の適格基準としては、病変ができれば1 cm より大きいことや、画像誘導によって刺入経路にアクセスできることなどが挙げられます。血管過多の病変や、刺入経路内に不可避の血管構造が存在することは、画像誘導生検には禁忌となります（図 3-1）。中心に配置された病変、不治の凝固障害、重篤な肺高血圧症も除外基準となります。

生検処置

TTNB は通常は外来処置であり、ほとんどの患者は生検から数時間以内に退院できます。この処置は、局所麻酔のみを施した状態または静脈内意識下鎮静を施した状態で実施でき、適切な対処を必要とします（絶食や処置後のケアなど）。

TTNB の標準実施手順は、まず患者が処置前評価に基づいて仰臥位、腹臥位、横臥位になり、表面マーキンググリッドを配置して、最短の生検経路を計画するために関心対象部位を限定的にCT スキャンするというものです。フェンタニルとミダゾラムの滴定された増分量を使用したIVCSが、医師と患者の意向に従って投与されます。選択された侵入部位が準備されて無菌布で覆われた後に、局所麻酔が投与されます。その後、オペレーター制御式の間欠的なCT 蛍光透視法を使用して、生検針が標的的病変に挿入されて、針の位置が確認された後に、組織サンプルが採取されます。

FNA と CNB のどちらかを実施するのか両方を実施するのかの判断、使用する CNB 針のサイズ、同軸誘導針システムを使用するのかどうかの判断は、個別の患者と

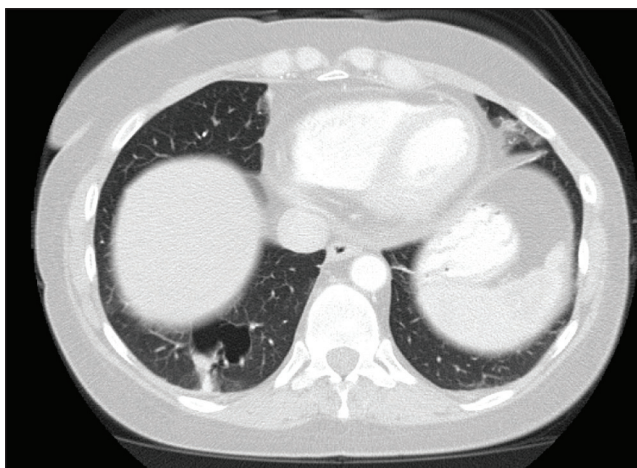


図 3-2. これらの CT 画像のように、病変が小さくて、大きな脈管や嚢胞に近接している場合は、コア針生検より穿刺吸引細胞診生検が適切です。

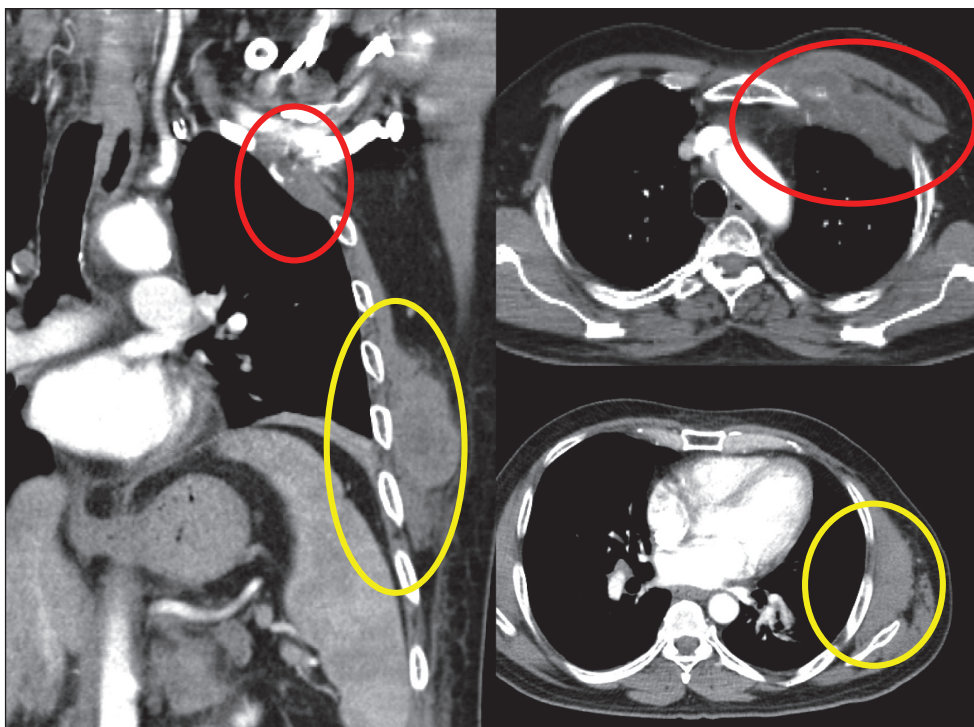


図 3-3. 左側胸壁病変（黄色の円）は、左前肋骨転移（赤色の円）よりもゲノムプロファイリングに適しています。骨転移巣の脱灰が必要な場合、その組織は遺伝子評価に最適ではありません。

病変要因に基づいて（図 3-2）、および生検に対する適応（病理学的診断 vs ゲノミクス vs 治験プロトコル）に基づいて、担当放射線科医によって下されます。FNA サンプルは一般に 22 ~ 24 ゲージの 15/9 cm 針を使用して採取され、コア針標本は、18 ゲージまたは 20 ゲージの自動切断生検針（針の長さは 6 ~ 20 cm、コアの長さは 1 cm または 2 cm）を使用して採取できます。使用される CNB のサイズとモデルは、個別のケースと医師の意向に基づいて担当放射線科医が選択できます。現場に細胞学者がいると、ROSE によって標本の妥当性を判断するのに役立ちます。一般に細針を 3 回以上挿入すると、診断と分子プロファイリングに十分な組織が得られます。同様に、診断と分子プロファイリングを可能にするために、一般に 3 つ以上のコア生検標本が推奨されますが、すべての標本に十分な材料が含まれているわけではありません。「組織と細胞診のサンプル - 病理医の観点」セクションで説明しているように、骨病変には特別な配慮が必要です。病理検査室で必要な作業以外に、軟部組織構成要素をサンプリングして、骨サンプリング器具からの洗浄排出物を収集することが推奨されます（図 3-3）。

処置の直後に、胸部 X 線検査または胸郭 CT が実施されて、気胸や出血などの合併症が生じていないか確認されます。その後、外来患者は観察ユニット内で少なくとも 2 時間にわたってモニタリングされて、退院前に胸部 X 線写真が撮影されて、遅延性の気胸や出血が生じていないか確認されます。入院患者は病棟に戻されてモニタリングされて、処置の 2 時間後に X 線写真が撮影されます。重篤な合併症（胸腔チュー

ブ挿入が必要な気胸など)が生じている患者は入院させられて、介入チームによる臨床的に適切であるという判断に従って、さらに管理および観察されます。

生検による合併症

TTNB において報告頻度が特に高い合併症は気胸と出血であり、報告されている気胸と胸腔チューブ挿入の率はそれぞれ 12% ~ 45% と 2% ~ 15% です^{52, 64, 65} (図 3-4)。重度の肺気腫、長い針経路、大きい針ゲージ、長い滞留時間、裂溝の通過は、気胸が発生する可能性を 3.7 倍に高めます。⁶⁶TTNB 後に肺出血が発生する率は 8% ~ 65% と報告されており、⁶⁷ 大量出血した場合は塞栓や外科的介入が必要になることがあります。空気塞栓症や死亡などのまれな合併症も報告されています。⁶⁸

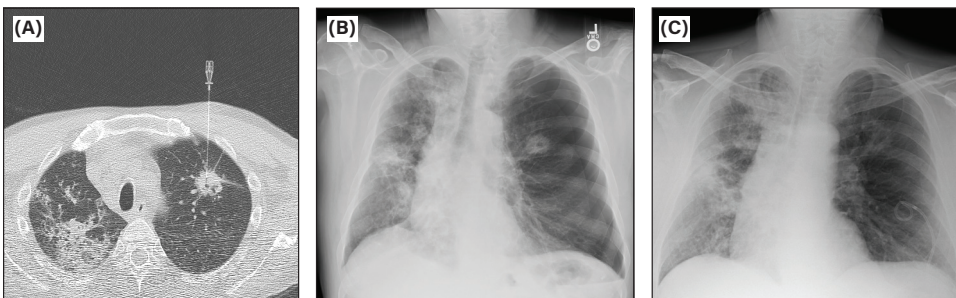


図 3-4. (A) CT ガイド下経胸壁針生検。(B) 生検後に左気胸を合併。(C) 気胸治療のためのピグテールカテーテル留置。

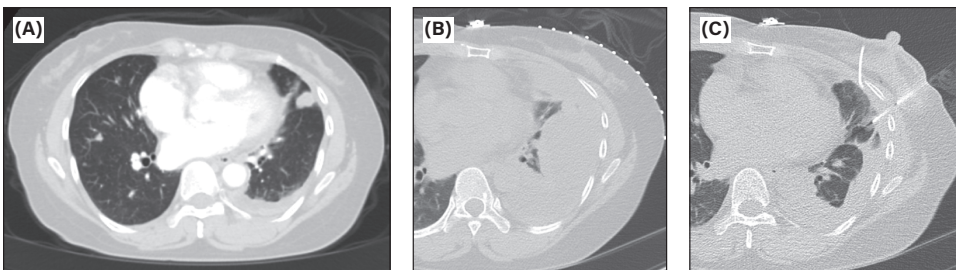


図 3-5. (A) 再生検前の左上葉病変。(B) 処置当日、大きな胸水で病変が不明瞭。(C) 胸水を排出し細胞診を行った後、診断と分子プロファイリングに十分な材料を確保するために病変のコア生検を採取。

表 3-2. 放射線誘導式の標本採取に関する主な考慮事項

- TTNB は、ゲノムプロファイリング用の十分な組織を採取するための安全で効果的な手法です。
- ワークフローを詳述している標準化された機関ベースのプロトコルは、分子プロファイリングの処置収率を改善する上で不可欠です。このワークフローは、画像の検証から始まって、標本の採取、明確なラベル付け、病理科への移送、クローズドループコミュニケーションにまで続きます。
- コア生検は一般に分子プロファイリング向けに推奨されますが、FNA のみが可能な場合は、3 回以上の針挿入を試行する必要があります。
- 悪性の胸水は、生検時に吸引された場合、解析対象として提出される必要もあります。

生検によって診断を下せない可能性があるため、標本が不十分なケースはすべて再検証される必要があるとともに、画像を再 - 再検証した後にのみ再生検が検討される必要があります (図 3-5)。代替戦略、追加の画像診断、または代替手法 (経気管支手法など) の必要性は、ケースバイケースで検討される必要があります。

結論

画像誘導生検は、肺癌の診断と分子プロファイリング用の組織を採取するための安全で効果的な手段であり、合併症率が低いです。CT 誘導は、再生検を受ける患者と画像誘導生検の支柱です。最適な患者管理のためには、集学的な手法がカギとなります。気管支内生検または経気管支生検の方が適している病変は、介入呼吸器科に回される必要があるからです。臨床的に意義のある情報が報告元の病理医に確実に取り次がるようにするために、標本の効果的な情報伝達とラベル付けも必要です。その結果として、診断と分子検査のための適切な組織管理が可能になります (表 3-2)。

胸部外科医の観点

執筆者: Jessica S. Donington、Paul E. Van Schil

はじめに

理想的には、生検は低侵襲であることが望ましく、1 回の処置で、分子解析に十分な組織を採取できて、診断とステージを確定できることが望めます。このため、局所進行性 NSCLC や転移性 NSCLC の場合に、肺が理想的な生検部位であることはめったにありません。経皮針生検と内視鏡針生検は、NSCLC における診断用組織の代表的な採取手段ですが、すべての病変がこれらの手法に適しているわけではありません。胸部外科生検が必要な場合は、低侵襲の処置が望ましく、組織採取のための開胸術はほとんどの状況では適切ではありません。NSCLC に対する胸部外科生検は、リンパ節生検、胸膜生検、実質生検という 3 つの幅広いカテゴリーに分類されます。早期疾患の解剖的切除によって採取された組織を分子検査に使用して、検査結果に基づいて、アジュバント治療や疾患進行時の治療を行うこともできます。

リンパ節生検

縦隔リンパ節または肺門リンパ節からの組織採取は、一般に EBUS で実施されます。EBUS は低侵襲で肺門内のリンパ節に到達できるため、縦隔鏡検査に取って代わって主流となっています。⁶⁹ 縦隔鏡検査には、主にリンパ腫の診断や EBUS で診断不能となった場合の再検査など、まだ適応があります。縦隔鏡検査で採取される生検材料は、EBUS で採取される生検材料よりも大きいため、組織が分子解析用に十分かどうかが問題になることはまれですが、凍結切片が求められた場合に備えて分子解析用の組織を確保しておくために、病理医とのコミュニケーションは不可欠です。慣行的には、縦隔鏡検査では部位 4R、4L、7 にあるリンパ節に到達できますが、肺門リンパ節と大動脈肺動脈 (PA) 窓節には通常は到達しません。

左上葉腫瘍からの隔離部位 5 または 6 のリンパ節併発は、胸部外科医の担当範囲内です。この部位の EBUS 生検では、針が肺動脈を通過する必要があるため、報告例はありますが、この生検は幅広く採用されていません。同様に、縦隔鏡検査では、Ginsberg 氏他によって 1987 年に説明されている拡張処置を通じてのみ、これらの部位に到達できますが、この処置が幅広く採用されたことはありません。⁷⁰ PA 窓に外科的に到達するには、VATS または RATS を使用して、前縦隔切開（チェンバレン）処置または左側の低侵襲手術を行います。チェンバレン処置の利点は、片肺換気を必要としないこと、および一般に胸腔チューブを使用せずに外来処置として実施されることです。ただし、切開部は痛んで見映えが良くなく、胸部内の可視化は限定的です。このため、チェンバレン処置は、PA 窓生検のための左側の VATS 手法または RATS 手法によって大きく取って代わられました。これらの手法は一般に片肺換気を必要としますが、外来処置として実施でき、胸膜内を精細に可視化して、胸膜腔全体を検証して疾患の拡散状況を確認することを可能にします。

胸膜生検

胸膜播種は、NSCLC における拡散パターンであり、一般に胸水をもたらします。細胞診解析では、悪性滲出の最大 60% で診断が得られますが、細胞診のみで扁平上皮細胞癌を診断することは難しい可能性があります。⁷¹ 悪性滲出の約 20% では、診断と生検のために胸膜腔の直接可視化が必要になるため、VATS が非切開胸膜生検に大きく取って代わっています。⁷² 単一ポート処置が推奨され、この処置は局所麻酔下または全身麻酔下で実施できます。肺隔離は必須ではありません。排液後に表面検査が実施され、壁側胸膜の狙い生検が実施されます。診断材料を確保するために凍結切片が適している可能性があり、臓側胸膜生検は推奨されません。VATS 胸膜生検の診断精度は 90% を超え、合併症はまれです。⁷³ 対症介入（胸膜癒着術またはトンネル状の胸膜カテーテル）を同時に実施する必要がありますが、分子解析に対する生検の妥当性と適切な組織管理を常に最優先する必要があります。

実質生検

NSCLC では、治療前に組織の確認が一般に必要ですが、臨床病期 IA の疾患は例外です。一部の外科医と患者は、解剖的切除の前に病理学的確認を希望しますが、事前治療生検は不要な場合があります（特に、悪性腫瘍のリスクが高い場合、縦隔疾患のリスクが低い場合、導入療法の適応がない場合）。外科的楔状生検を計画的な解剖的切除の初期ステップとすることができ、凍結切片を使用して、続行が必要かどうかを判断されます。2つの理由により、病理医とのコミュニケーションが不可欠です。1つ目は、切除された標本が患者の疾患の範囲全体を表している可能性が高いことを病理医に認識させるためであり、2つ目は、凍結切片内の病変全体のサンプリングをできる限り避けるためです。外科的楔状生検は、治療上および診断上の利点があるため、オリゴ転移性疾患やオリゴ進行性疾患の状況でも頻繁に実施されます。

NSCLC に対する外科的肺生検は、より大きな計画的切除の一部としてまたは単独処置として実施される場合は、できるだけ VATS または RATS によって実施されるのが

望ましく、この生検では、病変を二分することなく完全に切除する一方で、実質を保存する必要があります。小さい小結節、非固形の小結節、または深部の小結節の局部限定は、低侵襲手術時には難しいことがあります。小結節の局部限定のための技術は、次の4つのカテゴリーに分類されます：(1) 胸腔鏡下超音波などの手術中画像補助手段、(2) フックワイヤー、微小コイル、フィデューシャルマーカーなどの物理マーカー、(3) NIR 画像ありまたはなしで使用される実質部の染色と「タトゥー」、⁷⁴ (4) 分子標的。⁷⁵ 理想的には、局部限定と切除は1回の麻酔下で実施されることが望ましいです。このことを簡易化するために、胸部ハイブリッド手術室が使用されます。この手術室では、コンビーム CT スキャナー、電磁ナビゲーション、蛍光透視機器、RATS や VATS の機器が同じ手術環境に完備されています。⁷⁶

表 3-3. 肺癌標本の分子検査に影響を与える可能性のある解析前可変要因

すべての標本	
冷阻血時間	- 1 時間未満が最適。
• 固定液のタイプ	- 10% の中性緩衝ホルマリンが推奨されます。 - 酸性固定液または水銀含有固定液と強い脱灰剤は避ける必要があります。 - EDTA ベースの脱灰プロトコルを必要に応じて使用できます。
• 十分な固定のために、6 ~ 48 時間が推奨されます。	
• 組織のブロックと切片の選択	- バックグラウンドの間質細胞や炎症細胞を基準にして最大量の腫瘍を選択します。 - 一般に 20% 以上の腫瘍細胞を選択するのが最適です。 - 相互汚染を回避するために、薄片作成時は予防措置を講じる必要があります。 - マクロ解剖、顕微解剖、または芯部除去によって、腫瘍の比率を高めることができます。
細胞診標本と小生検標本	
• 針のゲージ	- コア針生検の場合は 14 ~ 20 ゲージ - FNA の場合は 20 ~ 25 ゲージ - EBUS 式経気管支 FNA の場合は 19、21、または 22 ゲージ
• 生検 / 針挿入の回数	- できる限り多くの組織を採取します。 - 推奨値 - 少なくとも 3 回のコア針生検 - EBUS TBNA の場合は 3 ~ 5 回の針挿入 - セルブロック調製用の材料に重点を置いた経胸腔 FNA の場合は複数回の針挿入
• ROSE をできる限り実施する	
• 検査室による小標本の管理	- コア生検標本と気管支生検標本をできる限り別々のブロックに分ける - 検査室のカットプロトコルを最適化して組織の無駄を最少限に抑える - 初期診断段階での調査を不可欠なステップのみに限定する (免疫組織化学法の賢明な使用)

結論

分子解析用の組織の採取は、NSCLC の多様式治療においてますます重要性を増しています。外科医は、分子解析用の十分なサイズの生検材料の採取について大きな問題を抱えていることはまれですが、分子腫瘍学の時代に、生検標本の適切な扱いと情報伝達において自身が担っている中心的な役割を認識する必要があります。さらに多くのネオアジュバントおよびアジュバントの標的療法が標準治療になっている中で、このような認識の必要性はますます高まるでしょう。

組織と細胞診のサンプル - 病理医の観点

執筆者： Mary Beth Beasley、Lukas Bubendorf、Deepali Jain

標本の採取方法が外科的なのか、経皮的なのか、内視鏡によるものなのかにかかわらず、解析前可変要因は、分子検査の有効性と病理学的診断に影響を与える可能性があります。このような要因としては、標本の量や扱いと処理の要因が挙げられます（表 3-3）。冷阻血時間が長いと、DNA と RNA の分解が生じる可能性があり、これらの分解は検査結果に影響を与える可能性があります。冷阻血時間は 1 時間未満が最適ですが、できるだけ迅速に組織をホルマリン内に配置する必要があります。標本は、10% の中性緩衝ホルマリン内に迅速に固定する必要があります。水銀含有固定液や酸性固定液は避ける必要があります。理想的には、6 ～ 48 時間の固定時間が推奨され、大きめの外科標本の場合は 8 ～ 18 時間が最適な範囲です。^{49, 77} 重要な留意事項として、組織サンプルは 1 度しか固定および処理できません。これらのステップでは、サンプルが必要とする可能性のあるすべての診断技法（標準形態学、IHC、シーケンシングなど）が許容される必要があります。世界中の検査室では、診断用の組織を保存するための標準手段としてホルマリン固定とパラフィン包埋が使用されていますが、ホルマリンはヌクレオチドを変化させる可能性があります（C から T および G から A への変化）。さらに、固定不足と過剰固定は DNA と RNA の質を損なう可能性があり、過剰固定はその上、DNA の断片化と配列変化をもたらす可能性があります。特に過剰固定は、解析を阻害する核酸とタンパク質の間の架橋結合を生じさせる可能性もあります。⁷⁷ 切除標本は解析前可変要因に影響されますが（後述）、ほとんどの解析前可変要因は、細胞診標本と小さな生検標本に他より大きい影響を及ぼす傾向があります。

多くの NSCLC 患者は、細胞診標本（FNA など）または小組織生検（気管支生検やコア生検など）によって診断され、このようなサンプルは分子検査に使用できる唯一の材料である可能性があることを考えると、できるだけ多くの診断情報、予後情報、予兆情報を得るためには、適切な標本管理が非常に重要です。⁷⁸ DNA と RNA のシーケンシングに対応した最新の NGS 検査システムでは一般に、最適な結果を得るためには 100 ～ 200 ng の DNA または RNA が必要ですが、それより少ない量（最低 10 ～ 20 ng）でも、単一遺伝子解析、包括性が低めの迅速なマルチプレックス RT-PCR ベースの検査プラットフォーム、またはアンプリコンベースの手法を使用した標的 NGS パネルには十分な可能性があります。このため、小さい生検材料と細胞診標本の成功率は一般に高いですが、慎重に扱うことで、成功の可能性を高めることができます。⁹

腫瘍細胞の数は重要ですが（DNA ベースパネルの場合は目安として 200 以上）、さらに重要なこととして、サンプルの残り部分にある有核細胞内に存在している DNA や RNA によって希釈されない十分な量の DNA や RNA を得るために、サンプルには十分な比率の腫瘍細胞が含まれている必要があります。理想的には、ゲノム解析用に選択された組織のブロックまたはスメアは、使用可能な最大比率の腫瘍有核細胞を含んでいる必要があります。最適な比率は標本内の総有核細胞の 20% 超です。核酸抽出前に、サンプルのマクロ解剖または顕微解剖と、腫瘍細胞性の高い部位の芯部除去を行うと、サンプル内のバックグラウンド有核細胞に対する腫瘍細胞の比率をさらに高めることができます（腫瘍濃縮）。^{78, 79} 腫瘍の表面積が 25 mm^2 より大きいと、分子検査の成功率が高まるのが分かっていますが、⁹ この量の腫瘍は小さい生検標本では常に得られるわけではなく、使用される切片の数を増やした場合でも同様です。

不十分な標本に起因する失敗のリスクを克服するために、組織サンプルのサイズをできる限り大きくする必要があります。そのためには、診断処置を実施する臨床医の意見を聞く必要があります。米国臨床病理医協会から発行されている、胸部の小さい生検標本と細胞診標本の収集と扱いに関するガイドラインドキュメントでは（前のセクションも参照してください）、可能な場合は、14 ～ 20 ゲージの針を使用して少なくとも 3 回のコア生検を実施して、気管支鏡生検時に複数回の生検を実施することが推奨されています。⁴⁹ 同様に、経胸腔 FNA の場合は、20 ～ 25 ゲージの針を複数回挿入することが推奨されています。EBUS TBNA の場合は、可能であれば 19、21、または 22 ゲージの針を 3 ～ 5 回挿入することが推奨されています（特にオンサイト細胞診を実施できない場合）。

ROSE の使用は（すべての診療状況で使用できるわけではありませんが）、検体の適切性を確保し、補助検査のためのトリアージに役立ちます。すべての細胞診標本について、セルブロックの調製のための十分な材料を収集することを目指す必要があります。⁴⁹ ホルマリン固定されたセルブロック材料は、分子研究を実施するために使用される最も一般的で幅広く使用されている細胞診調製法ですが、スメアスライドなどの手法（リキッドベースの細胞診など）も、適切に検証されていれば使用可能です。^{80, 81} 前述の推奨事項の対象は針吸引標本ですが、胸水細胞診標本や、あまり一般的ではありませんが他の標本（細気管支肺胞の洗浄、気管支内の洗浄やブラッシングなど）も、ゲノム検査用に正常に使用できます（十分な比率の腫瘍細胞がある場合）。^{82, 83} 細胞診標本は、最終的にホルマリン内に固定されるセルブロック製剤も含めて、多くの場合はさまざまな量のエタノールなどの固定液に最初にさらされるため、補助的研究用に使用する前に、厳密な検証を行う必要があります。ただし、十分な腫瘍材料がある場合は、ほとんどの細胞診製剤では良好な結果が得られます。

コア生検または気管支生検の標本の場合は、タッチインプリント細胞診を使用して、標本が十分かどうかを評価できますが、このプロセスによって組織標本が損なわれる可能性があるため、注意が必要です。⁸⁴ 理想的には、単一のブロック内で全体的に提出する代わりに、別々のコア針生検と気管支生検を別々のブロックに分散することが望ましいです。そうすることで、1 つのブロックを診断染色用に使用して、残りのブロックを

分子検査用に保存できます。ただし、この手法を使用する場合は、すべての断片に腫瘍が含まれている必要があります。

組織の薄片作成処置は、組織の無駄使いが最少限に抑えられるように設計される必要も必要があります。検査室は、利用可能な能力に基づいて独自の最適なプロトコルを策定する必要がありますが、単一スライドの表面カットから、複数の未染色スライドの事前カットを必要とする一連の戦略にいたるまで、さまざまな手法が推奨されています。これらの手法には多くの場合、DNA と RNA の抽出に使用されるレベルの前後のレベルの H&E 評価が伴います。処理とカットのあらゆるポイントで、相互汚染を避けるための予防措置を講じる必要があります。そのためには、専用のマイクロームを使用して、DNA/RNA 抽出のために薄片がカットされるたびに新しい未使用の刃を使用することが必要になる場合があります。

さらに、骨病変の生検では、腫瘍の診断とステージ分類を場合によっては同時に行える機会が得られて、骨病変は最もアクセスしやすい疾患部位である可能性があります。84 脱灰を回避できない場合は、EDTA ベースのプロトコルに従う必要があります。9 骨転移部から生検材料を採取する介入放射線医は、生検針を水洗いするか、余分な FNA 標本を収集することを推奨される必要があります。その目的は、脱灰時間による診断プロセスの遅延を回避して、分子検査用の追加材料を得るためです。

外科的に切除された標本は一般に、腫瘍量の考慮事項に関してあまり問題をもたらしません。他の問題が分子検査の結果に影響を及ぼす可能性があります。検査室への移送時間と、バイオバンクや研究目的用の組織の収集や凍結切片解析に要する時間は、冷阻血時間を左右する可能性があります。さらに、大きめの標本は適切に固定されない可能性があります。ホルマリンは臓側胸膜に十分に浸透しないからです。切除標本には膨張やホルマリン注入が必要であり、場合によっては、十分な固定を実現するために、切除標本をホルマリンに漬ける前に薄片にカットする必要があります。ネオアジュバント療法後の切除標本には、残存腫瘍を評価しやすくするための特別な扱いが必要になることがあります。85 腫瘍の不均一性は一般に、ドライバ変異のゲノムプロファイリングに関する問題ではありませんが、小さい生検標本について述べられているとおり、遺伝子検査用に選択されたブロックには、バックグラウンドの間質細胞や炎症細胞を基準にして最も高い比率の腫瘍細胞が含まれている必要があります。79

結論

病理検査室での標本の扱われ方は、必要な分子バイオマーカー検査の成否を決定する上で非常に重要です。組織の固定と処理に関する解析前可変要因は、顕微鏡検査を可能にするために必要ですが、DNA、RNA、抗原 / エピトープの完全性を損なうおそれがあります。標準化された処置を策定して、診断プロセスのすべてのステップを簡易化する必要があります。このことを初回に適切に行うことが不可欠です。サンプルは 1 度しか固定および処理できず、これらのサンプルは、非常に小さい上にごくわずかな腫瘍しか含んでいないことが多いからです。パラフィンブロックのカット回数にはできる限り少なくする必要

があります。ブランク切片の反射カットを行って、診断のための IHC 使用を最少限に抑えることが推奨されます。DNA と RNA の収量は、顕微解剖によって増大させることができます。細胞診型のサンプルは、正しく処理されて十分な腫瘍を含んでいる場合は、分子バイオマーカー検査に完全に適しています。外科的切除標本には一般に十分な腫瘍が含まれていますが、冷阻血と固定不足の問題を予想して回避する必要があります。

参考文献

1. Kerr KM. Personalized medicine for lung cancer: new challenges for pathology. *Histopathology*. 2012;60(4):531-546.
2. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009;361(10):947-957.
3. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2010;11(2):121-128.
4. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med*. 2010;362(25):2380-2388.
5. Skoulidis F, Heymach JV. Co-occurring genomic alterations in non-small-cell lung cancer biology and therapy. *Nat Rev Cancer*. 2019;19(9):495-509.
6. Nicholson AG, Tsao MS, Beasley MB, et al. The 2021 WHO classification of lung tumors: impact of advances since 2015. *J Thorac Oncol*. 2022;17(3):362-387.
7. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358.
8. Hirsch FR, Wynes MW, Gandara DR, Bunn PA Jr. The tissue is the issue: personalized medicine for non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16(20):4909-4911.
9. Mata DA, Harries L, Williams EA, et al. Method of tissue acquisition affects success of comprehensive genomic profiling in lung cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2022. doi:10.5858/arpa.2021-0313-OA.
10. Penault-Llorca F, Kerr KM, Garrido P, et al. Expert opinion on NSCLC small specimen biomarker testing—part 2: analysis, reporting, and quality assessment. *Virchows Arch*. 2022;481(3):351-366.
11. Penault-Llorca F, Kerr KM, Garrido P, et al. Expert opinion on NSCLC small specimen biomarker testing—part 1: tissue collection and management. *Virchows Arch*. 2022;481(3):335-350.
12. Mino-Kenudson M, Le Stang N, Daigneault JB, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer global survey on programmed death-ligand 1 testing for NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2021;16(4):686-696.
13. Smeltzer MP, Wynes MW, Lantuejoul S, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer global survey on molecular testing in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2020;15(9):1434-1448.
14. Dietel M, Bubendorf L, Dingemans AM, et al. Diagnostic procedures for non-small-cell lung cancer (NSCLC): recommendations of the European Expert Group. *Thorax*. 2016;71(2):177-184.
15. Gan Q, Roy-Chowdhuri S. Small but powerful: the promising role of small specimens for biomarker testing. *J Am Soc Cytopathol*. 2020;9(5):450-460.
16. Harzheim D, Sterman D, Shah PL, Eberhardt R, Herth FJ. Bronchoscopic transparenchymal nodule access: feasibility and safety in an endoscopic unit. *Respiration*. 2016;91(4):302-306.
17. Rivera MP, Mehta AC, Wahidi MM. Establishing the diagnosis of lung cancer: diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013;143(5 suppl):e142S-e65S.
18. Leong S, Ju H, Marshall H, et al. Electromagnetic navigation bronchoscopy: a descriptive analysis. *J Thorac Dis*. 2012;4(2):173-185.
19. Wang Memoli JS, Nietert PJ, Silvestri GA. Meta-analysis of guided bronchoscopy for the evaluation of the pulmonary nodule. *Chest*. 2012;142(2):385-393.

20. Steinfort DP, Vincent J, Heinze S, Antippa P, Irving LB. Comparative effectiveness of radial probe endobronchial ultrasound versus CT-guided needle biopsy for evaluation of peripheral pulmonary lesions: a randomized pragmatic trial. *Respir Med*. 2011;105(11):1704-1711.
21. Fielding DIK, Bashirzadeh F, Son JH, et al. First human use of a new robotic-assisted fiber optic sensing navigation system for small peripheral pulmonary nodules. *Respiration*. 2019;98(2):142-150.
22. Oki M, Saka H. Diagnostic value of ultra-thin bronchoscopy in peripheral pulmonary lesions: a narrative review. *J Thorac Dis*. 2020;12(12):7675-7682.
23. Fielding DI, Chia C, Nguyen P, et al. Prospective randomised trial of endobronchial ultrasound-guide sheath versus computed tomography-guided percutaneous core biopsies for peripheral lung lesions. *Intern Med J*. 2012;42(8):894-900.
24. Haentschel M, Boeckeler M, Ehab A, et al. Cryobiopsy increases the EGFR detection rate in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2020;141:56-63.
25. Shinagawa N. A review of existing and new methods of bronchoscopic diagnosis of lung cancer. *Respir Investig*. 2019;57(1):3-8.
26. Botticella MA, De Summa S, Cisternino L, et al. The role of rapid on site evaluation on touch imprint cytology and brushing during conventional bronchoscopy. *Diagn Cytopathol*. 2021;49(7):832-837.
27. Um SW, Kim Y, Lee BB, et al. Genome-wide analysis of DNA methylation in bronchial washings. *Clin Epigenetics*. 2018;10:65.
28. Roncarati R, Lupini L, Miotto E, et al. Molecular testing on bronchial washings for the diagnosis and predictive assessment of lung cancer. *Mol Oncol*. 2020;14(9):2163-2175.
29. Bubendorf L, Conde E, Cappuzzo F, et al. A noninterventional, multinational study to assess PD-L1 expression in cytological and histological lung cancer specimens. *Cancer Cytopathol*. 2020;128(12):928-938.
30. Fielding D, Kurimoto N. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for diagnosis and staging of lung cancer. *Clin Chest Med*. 2018;39(1):111-123.
31. Fox AH, Jett JR, Roy UB, et al. Knowledge and practice patterns among pulmonologists for molecular biomarker testing in advanced non-small cell lung cancer. *Chest*. 2021;160(6):2293-303.
32. Stone E, Leong TL. Contemporary concise review 2021: pulmonary nodules from detection to intervention. *Respirology*. 2022;27(9):776-785.
33. Sung S, Heymann JJ, Crapanzano JP, et al. Lung cancer cytology and small biopsy specimens: diagnosis, predictive biomarker testing, acquisition, triage, and management. *J Am Soc Cytopathol*. 2020;9(5):332-345.
34. Parente P, Carbonelli C, Biancofiore G, et al. Handling and standardization of EBUS needle aspiration in NSCLC patients: the value of the cell block, a monoinstitutional experience. *Thorac Cancer*. 2022;13(17):2480-2488.
35. Jain D, Allen TC, Aisner DL, et al. Rapid on-site evaluation of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspirations for the diagnosis of lung cancer: a perspective from members of the Pulmonary Pathology Society. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(2):253-262.
36. van der Heijden EH, Casal RF, Trisolini R, et al. Guideline for the acquisition and preparation of conventional and endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration specimens for the diagnosis and molecular testing of patients with known or suspected lung cancer. *Respiration*. 2014;88(6):500-517.
37. Fassina A, Corradin M, Zardo D, et al. Role and accuracy of rapid on-site evaluation of CT-guided fine needle aspiration cytology of lung nodules. *Cytopathology*. 2011;22(5):306-312.
38. Asano F, Matsuno Y, Shinagawa N, et al. A virtual bronchoscopic navigation system for pulmonary peripheral lesions. *Chest*. 2006;130(2):559-566.
39. Asano F, Shinagawa N, Ishida T, et al. Virtual bronchoscopic navigation combined with ultra-thin bronchoscopy. A randomized clinical trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(3):327-333.
40. Ishida T, Asano F, Yamazaki K, et al. Virtual bronchoscopic navigation combined with endobronchial ultrasound to diagnose small peripheral pulmonary lesions: a randomised trial. *Thorax*. 2011;66(12):1072-7.
41. Oki M, Saka H, Ando M, et al. Ultrathin bronchoscopy with multimodal devices for peripheral pulmonary lesions. A randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192(4):468-476.
42. Oki M, Saka H, Asano F, et al. Use of an ultra-thin vs thin bronchoscope for peripheral pulmonary lesions: a randomized trial. *Chest*. 2019;156(5):954-964.
43. Rojas-Solano JR, Ugalde-Gamboa L, Machuzak M. Robotic bronchoscopy for diagnosis of suspected lung cancer: a feasibility study. *J Bronchology Interv Pulmonol*. 2018;25(3):168-175.

44. Murgu SD. Robotic assisted-bronchoscopy: technical tips and lessons learned from the initial experience with sampling peripheral lung lesions. *BMC Pulm Med.* 2019;19(1):89.
45. Southwood M, Krenz T, Cant N, et al. Systematic evaluation of PAXgene(R) tissue fixation for the histopathological and molecular study of lung cancer. *J Pathol Clin Res.* 2020;6(1):40-54.
46. Dotson T, Bellinger C, Su J, et al. Feasibility of lung cancer RNA acquisition from a single transbronchial or transthoracic needle pass (FASTT trial). *Lung Cancer.* 2019;127:6-11.
47. Fielding D, Oki M. Technologies for targeting the peripheral pulmonary nodule including robotics. *Respirology.* 2020;25(9):914-923.
48. Gilbert CR, Wahidi MM, Yarmus LB, Roy-Chowdhuri S, Pastis NJ 2nd. Key highlights for the College of American Pathology statement on collection and handling of thoracic small biopsy and cytology specimens for ancillary studies. *Chest.* 2020;158(6):2282-2284.
49. Roy-Chowdhuri S, Dacic S, Ghofrani M, et al. Collection and handling of thoracic small biopsy and cytology specimens for ancillary studies: guideline from the College of American Pathologists in Collaboration with the American College of Chest Physicians, Association for Molecular Pathology, American Society of Cytopathology, American Thoracic Society, Pulmonary Pathology Society, Papanicolaou Society of Cytopathology, Society of Interventional Radiology, and Society of Thoracic Radiology. *Arch Pathol Lab Med.* 2020. doi:10.5858/arpa.2020-0119-CP.
50. Hirsch FR, Kerr KM, Bunn PA Jr, et al. Molecular and immune biomarker testing in squamous-cell lung cancer: effect of current and future therapies and technologies. *Clin Lung Cancer.* 2018;19(4):331-339.
51. Zhang HF, Zeng XT, Xing F, Fan N, Liao MY. The diagnostic accuracy of CT-guided percutaneous core needle biopsy and fine needle aspiration in pulmonary lesions: a meta-analysis. *Clin Radiol.* 2016;71(1):e1-10.
52. Takeshita J, Masago K, Kato R, et al. CT-guided fine-needle aspiration and core needle biopsies of pulmonary lesions: a single-center experience with 750 biopsies in Japan. *AJR Am J Roentgenol.* 2015;204(1):29-34.
53. Lee C, Guichet PL, Abtin F. Percutaneous lung biopsy in the molecular profiling era: a survey of current practices. *J Thorac Imaging.* 2017;32(1):63-67.
54. Diacon AH, Schuurmans MM, Theron J, et al. Safety and yield of ultrasound-assisted transthoracic biopsy performed by pulmonologists. *Respiration.* 2004;71(5):519-522.
55. Koh DM, Burke S, Davies N, Padley SP. Transthoracic US of the chest: clinical uses and applications. *Radiographics.* 2002;22(1):e1.
56. Gill RR, Barlow J, Jaklitsch MT, et al. Image-guided video-assisted thoracoscopic resection (iVATS): translation to clinical practice-real-world experience. *J Surg Oncol.* 2020;121(8):1225-1232.
57. Kang DY, Kim HK, Kim YK, et al. Needlescopy-assisted resection of pulmonary nodule after dual localisation. *Eur Respir J.* 2011;37(1):13-17.
58. Gill RR, Murphy DJ, Kravets S, et al. Success of genomic profiling of non-small cell lung cancer biopsies obtained by trans-thoracic percutaneous needle biopsy. *J Surg Oncol.* 2018;118(7):1170-1177.
59. Cardarella S, Johnson BE. The impact of genomic changes on treatment of lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188(7):770-775.
60. Kim L, Tsao MS. Tumour tissue sampling for lung cancer management in the era of personalised therapy: what is good enough for molecular testing? *Eur Respir J.* 2014;44(4):1011-1122.
61. Lizotte PH, Jones RE, Keogh L, et al. Fine needle aspirate flow cytometric phenotyping characterizes immunosuppressive nature of the mesothelioma microenvironment. *Sci Rep.* 2016;6:31745.
62. Loh SE, Wu DD, Venkatesh SK, et al. CT-guided thoracic biopsy: evaluating diagnostic yield and complications. *Ann Acad Med Singap.* 2013;42(6):285-290.
63. Schneider F, Smith MA, Lane MC, et al. Adequacy of core needle biopsy specimens and fine-needle aspirates for molecular testing of lung adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol.* 2015;143(2):193-200; quiz 306.
64. Tian P, Wang Y, Li L, et al. CT-guided transthoracic core needle biopsy for small pulmonary lesions: diagnostic performance and adequacy for molecular testing. *J Thorac Dis.* 2017;9(2):333-343.
65. Heerink WJ, de Bock GH, de Jonge GJ, et al. Complication rates of CT-guided transthoracic lung biopsy: meta-analysis. *Eur Radiol.* 2017;27(1):138-148.

66. Nour-Eldin NE, Alsubhi M, Emam A, et al. Pneumothorax complicating coaxial and non-coaxial CT-guided lung biopsy: comparative analysis of determining risk factors and management of pneumothorax in a retrospective review of 650 patients. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2016;39(2):261-270.
67. Tai R, Dunne RM, Trotman-Dickenson B, et al. Frequency and severity of pulmonary hemorrhage in patients undergoing percutaneous CT-guided transthoracic lung biopsy: single-institution experience of 1175 cases. *Radiology*. 2016;279(1):287-296.
68. Freund MC, Petersen J, Goder KC, et al. Systemic air embolism during percutaneous core needle biopsy of the lung: frequency and risk factors. *BMC Pulm Med*. 2012;12:2.
69. Silvestri GA, Gonzalez AV, Jantz MA, et al. Methods for staging non-small cell lung cancer: diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013;143(5 suppl):e211S-e250S.
70. Ginsberg RJ, Rice TW, Goldberg M, Waters PF, Schmocker BJ. Extended cervical mediastinoscopy. A single staging procedure for bronchogenic carcinoma of the left upper lobe. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1987;94(5):673-678.
71. Hooper C, Lee YC, Maskell N, Group BTS Pleural Guideline Group. Investigation of a unilateral pleural effusion in adults: British Thoracic Society Pleural Disease Guideline 2010. *Thorax*. 2010;65(suppl 2):ii4-ii17.
72. Ferrer J, Roldan J, Teixidor J, et al. Predictors of pleural malignancy in patients with pleural effusion undergoing thoracoscopy. *Chest*. 2005;127(3):1017-1022.
73. Menzies R, Charbonneau M. Thoracoscopy for the diagnosis of pleural disease. *Ann Intern Med*. 1991;114(4):271-276.
74. Hachey KJ, Digesu CS, Armstrong KW, et al. A novel technique for tumor localization and targeted lymphatic mapping in early-stage lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017;154(3):1110-1118.
75. Predina JD, Okusanya O, Newton AD, Low P, Singhal S. Standardization and optimization of intraoperative molecular imaging for identifying primary pulmonary adenocarcinomas. *Mol Imaging Biol*. 2018;20(1):131-138.
76. Zhao ZR, Lau RWH, Ng CSH. Hybrid theater and uniportal video-assisted thoracic surgery: the perfect match for lung nodule localization. *Thorac Surg Clin*. 2017;27(4):347-355.
77. Compton CC, Robb JA, Anderson MW, et al. Preanalytics and precision pathology: pathology practices to ensure molecular integrity of cancer patient biospecimens for precision medicine. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(11):1346-1363.
78. Bubendorf L, Lantuejoul S, de Langen AJ, Thunnissen E. Nonsmall cell lung carcinoma: diagnostic difficulties in small biopsies and cytological specimens: number 2 in the series "Pathology for the clinician," ed. Peter Dorfmüller and Alberto Cavazza. *Eur Respir Rev*. 2017;26(144):170007.
79. Aggarwal C, Bubendorf L, Cooper WA, et al. Molecular testing in stage I-III non-small cell lung cancer: approaches and challenges. *Lung Cancer*. 2021;162:42-53.
80. Baum JE, Zhang P, Hoda RS, et al. Accuracy of next-generation sequencing for the identification of clinically relevant variants in cytology smears in lung adenocarcinoma. *Cancer Cytopathol*. 2017;125(6):398-406.
81. Mohan AA, Vallonthaiel AG, Nambiar A, et al. EGFR analysis on scrapings from cytology smears in lung carcinoma, an effective alternative to testing on trucut biopsies. *Diagn Cytopathol*. 2021;49(10):1155-1163.
82. Dalvi SD, Chau K, Sajjan S, et al. Adequacy of pleural fluid cytology for comprehensive molecular analysis of lung adenocarcinoma: experience of a large health-care system. *Cytojournal*. 2022;19:7.
83. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):321-346.
84. Vanderlaan PA, Yamaguchi N, Folch E, et al. Success and failure rates of tumor genotyping techniques in routine pathological samples with non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2014;84(1):39-44.
85. Travis WD, Dacic S, Wistuba I, et al. IASLC multidisciplinary recommendations for pathologic assessment of lung cancer resection specimens after neoadjuvant therapy. *J Thorac Oncol*. 2020;15(5):709-740.

液体生検：標本採取、検査戦略、臨床的役割

4

標本の取り扱い、処理、検査戦略

執筆者：Fernando Lopez-Rios、Maria E. Arcila、Christian Rolfo

広義では、液体生検には幅広い成分（循環腫瘍細胞、細胞外小胞、無細胞核酸、さまざまな代謝産物など）が含まれます。ただし、循環腫瘍 DNA (ctDNA) は臨床の場で最も注目されており、本章の主題です。腫瘍 DNA の他の供給源とは異なり、ctDNA の生物学と技術的側面は独特で複雑であり、臨床診断への広範な導入を制限するいくつかの混乱要因が残っています。

無細胞 DNA (cfDNA) とは、腫瘍由来と正常細胞由来の両方を含む、インビボとインビトロの両方の細胞から放出された DNA の短い断片の総和を表します。検体の採取、処理、保管にわたる前処理変数は、cfDNA の総収量、ゲノム DNA の汚染の程度、検体の全体的な整合性、および核酸断片の長さに深刻かつ有害な影響を与える可能性があることを示しています。採血管のタイプ、使用する抗凝固剤、安定化媒体、輸送条件、血液からの血漿分離のタイミング、チューブの攪拌、遠心分離速度とプロトコル、血漿の保存 / 保存条件、凍結融解サイクル数、cfDNA 抽出、および核酸定量方法はすべて、その後の下流分析に直接影響する可能性があります。¹⁻⁷ パフォーマンスに影響を及ぼす主な分析前段階のハイライトを図 4-1 に示します。

血液検体では、ctDNA の安定化と、ctDNA を検出不能にする可能性のある造血細胞由来のゲノム DNA の混入防止が、分析前の重要な検討事項です。インビボでは、ctDNA の半減期は一般に約 2 時間と推定されています。生理的排泄系が活発でない場合、インビトロの半減期は長くなりますが、凝固過程で白血球 (WBC) から放出されるゲノム DNA の混入、保存中の細胞溶解によって、その分離が損なわれる可能性があります。市販の安定化採血管のオプションはいくつかあり (Streck、PAXgene [BD バイオシエンティフィックス]、Norgen Biotek、Roche Diagnostics など)、WBC の保存と安定化の能力はさまざまです。エチレンジアミノテトラ酢酸 (EDTA) 採血管とは異なり、

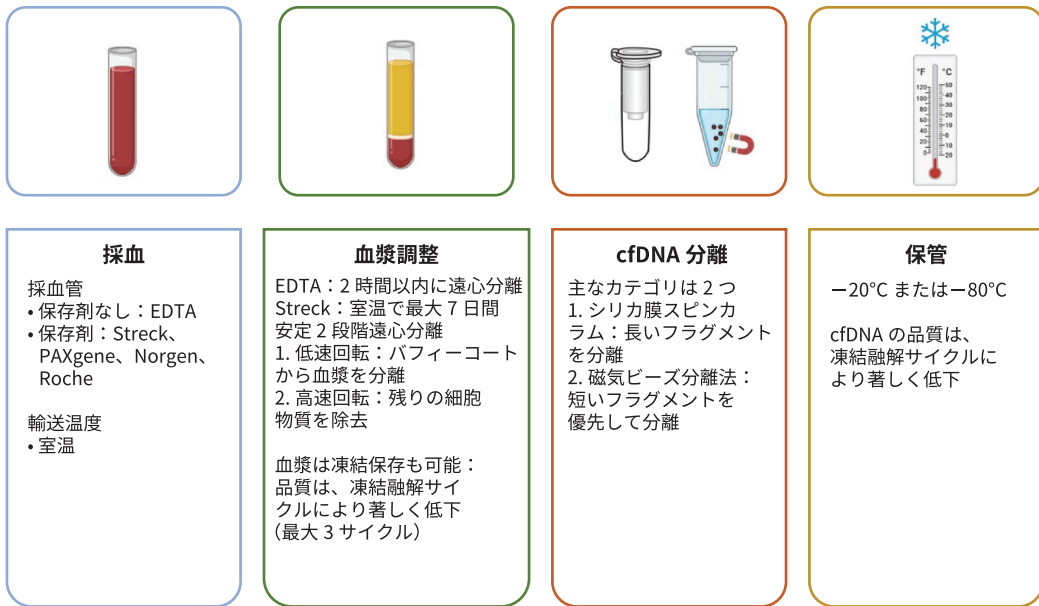


図 4-1. cfDNA を左右する前処理因子。略語：cfDNA = cell-free DNA (無細胞 DNA)、EDTA = ethylenediamine-tetraacetic acid (エチレンジアミン四酢酸)。

これらの採血管は採血から血漿分離までの処理時間の幅を広げ、異なる時間に採取された検体をまとめて処理することができます。¹⁻⁷ 一般的には、2 段階の遠心分離プロトコルが適用されます。最初に低速で遠心分離して血漿を分離し、その後高速で遠心分離して残りの細胞性物質を除去します。⁸

ctDNA の分離に使用する抽出方法と血漿量には、大きなばらつきがあります。⁹ 一般的な分離方法と市販キットは、2 つの主要なカテゴリーに分類されます。シリカ膜ベースのスピニングカラムと磁気ビーズベースの分離方法です。¹⁰ 収量、整合性、断片サイズは方法によって左右されます。磁気ビーズシステムは、膜ベースの方法に比べて短めの cfDNA 断片¹¹ を優先的に分離することが報告されています。いくつかの研究で、沈殿法は DNA の整合性が高いことと関連していることがわかっています。¹²⁻¹⁴ cfDNA は後で使用するため、-20°C または -80°C の超低温で数カ月間保管できます。凍結融解を 3 回繰り返すと、cfDNA の整合性が著しく低下することが報告されています。^{1, 15}

臨床実践や研究目的で、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) ベース検査と次世代シーケンシング (NGS) ベース技術ど、cfDNA 分析には、複数の方法論が実装されています。¹⁶ PCR ベースアプローチは、本質的に、さらに限定された遺伝子分析 (単一標的または少数標的) を可能にするが、標的遺伝子に対してさらに高い感度をもたらす可能性があります。NGS アプローチは、体細胞変異だけでなく、コピー数変化や遺伝子再構成も同定し、さらに包括的な腫瘍遺伝子型決定を行うことができます。¹⁷ 適切な患者管理に導くバイオマーカーに対する需要の高まりと、限られた組織しか利用できない課題は、次の「臨床応用」セクションで概説されているように、進行性非小細胞肺癌 (NSCLC) における液体生検の潜在的な用途を劇的に変化させました。この劇的な変化は、ここ数年の技術的進歩のおかげで実現されたもので、現在は、臨床現場で

利用できる複数の血漿 NGS プラットフォームがあり、その有用性は確かな臨床データによって裏付けられています。¹⁸⁻²⁰ 現在は、2つの市販の cfDNA 検査が進行性 NSCLC の腫瘍遺伝子型決定で米国食品医薬品局（FDA）の承認を得ており、最近承認された複数の標的療法には液体生検ベースのコンパニオン診断があります。

臨床現場で cfDNA 結果を解釈する際、特に 70 歳以上の患者には、未確定の潜在能をもつクローン性造血（CHIP）を考慮する必要があります。CHIP は、造血幹細胞が加齢とともに生じる体細胞変異と定義できます。たとえば、頻繁に関わる遺伝子は、*ASXL1*、*ATM*、*CBL*、*CHEK2*、*DNMT3A*、*JAK2*、*KMT2D (MLL2)*、*KRAS*、*BRAF*、*NRAS*、*MPL*、*MYD88*、*SF3B1*、*TET2*、*TP53*、*U2AF1* などです。このノイズ源は、患者に一致する末梢血単核細胞をシーケンシングしてフィルタリングするか、専用のバイオインフォマティクスアルゴリズムを使用して軽減できます。²¹

治療歴のない進行性 NSCLC 患者における液体生検検査戦略については、次の「臨床応用」セクションで詳細に検討します。多くの癌患者にとって、組織ベースの検査は依然として腫瘍遺伝子型決定のゴールドスタンダードですが、ctDNA 分析には技術的限界、生物学的限界があるため、腫瘍組織が検査に不十分な場合に cfDNA 分析を順次使用するか、組織が乏しい場合、または遺伝子型分類の妥当性が不確かな場合に cfDNA 分析を同時に使用できます。^{16, 22, 23}

加えて、進行性 NSCLC における血漿ファーストアプローチが最近提案されました。これは、前向き²⁴⁻²⁷ および後向き²⁸⁻³⁰ の研究で有望な結果が示され、血漿 NGS が臨床的に関連するドライバー遺伝子で、標準組織遺伝子型決定と同程度の感度と特異性で、さらに詳細な腫瘍遺伝子検査を、さらに短期に処理できることを示しています。このアプローチで予想される主な限界は、腫瘍遺伝子検査のみと比較して費用がかかるという仮説だが、最近のカナダの人口³¹ を対象とした費用対効果分析では、臨床で選択された進行性 NSCLC 患者における組織と血漿 NGS 分析の同時アプローチではシステム費用は増大せず、適切な標的療法を受ける患者の割合が高まることが示されました。

血漿 NGS は、限られた組織結果の患者において臨床に関連するバイオマーカーの検出率を高めるが、組織 NGS 結果を利用できる²⁷ 患者では検出率は高まりません。したがって、小規模な組織生検で NGS 解析の適切性が不確実な場合、血漿と組織の同時検査戦略は、推奨されるすべての腫瘍原性ドライバーの包括的な腫瘍ゲノタイプを取得する可能性が高まるため、理にかなっています。さらに、最近の研究では、進行性 NSCLC が疑われる患者の初期診断に cfDNA 分析を組み込むことで、さらに迅速な分子結果が得られるとともに、治療までの時間短縮につながることを示されました。^{32, 33} このアプローチの臨床的有用性と費用対効果をさらに明確化するには、大規模な患者集団を対象としたさらなる前向き研究が必要です。

臨床応用

執筆者：Natasha B. Leigh、Myung-Ju Ahn、David R. Gandara

NSCLC の診断と治療方針決定における液体生検の臨床応用は、急速に進化し続けています。図 4-2 には、早期病変の術後の微小残存病変（MRD）の判定、進行期病変

のゲノム診断と免疫診断まで、NSCLC の診療連続体が示されています。^{16, 34} 注目すべきは、腫瘍組織プロファイリングがステージ IV の NSCLC 患者に適用可能である一方で、液体生検は、リスクのある個人のスクリーニング、MRD の判定、治療反応モニタリングに対応する可能性を持つという点で適していることです。²²

肺癌のスクリーニングと早期発見

肺癌の早期発見は、特に高リスク者の罹患率と死亡率の低減に不可欠です。国立肺癌検診試験 (NLST) で、高リスク者において低線量コンピュータ断層撮影 (LDCT) により肺癌特異死亡率を 20% 低下させることが明らかになりました。³⁵ ヨーロッパの NELSON 試験では、10 年で肺癌死亡率が 25% 低下することが明らかになりました。³⁶ ただし、偽陽性率、過剰診断、不要な侵襲的処置の割合は依然として課題として残っています。³⁷

液体生検は、循環腫瘍細胞、循環 cfDNA (ゲノミクスまたはエピゲノミクス)、循環マイクロ RNA、腫瘍由来エクソソーム、腫瘍化血小板を用いた肺癌のスクリーニングと早期発見に新たな役割を果たしています (図 4-3)。³⁸ 表 4-1 に、これらのアナライザの利点と限界をまとめました。³⁸ これらのバイオマーカーは肺癌の早期発見で有望ですが、偽陰性の割合が高く、標準化されていないため、臨床意義はまだ限定的です。最近、複数の血漿 cfDNA 遺伝子型決定検査が FDA 画期的デバイス指定を受けました (表 4-2)。³⁹ 液体生検と画像を組み合わせ、さらに高感度で特異度の高い検査の開発と、肺癌のスクリーニング、早期診断向け臨床応用に先立って、大規模かつ確実な研究が必要となります。

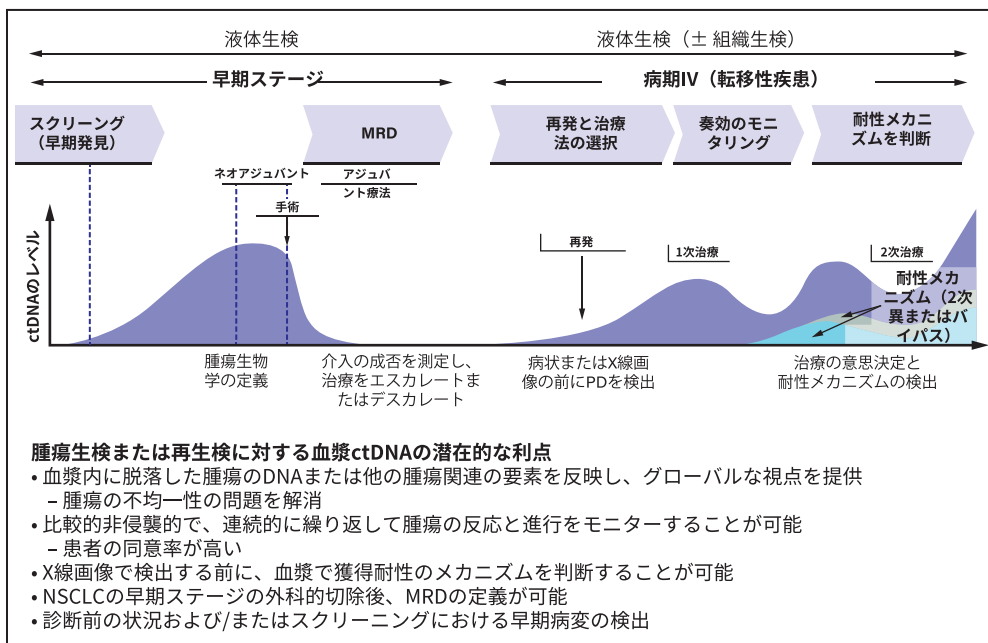


図 4-2. 個々の患者の癌ケア継続体における液体生検。略語: ctDNA = circulating tumor DN (循環腫瘍 DNA)、MRD = minimal residual disease (微小残存病変)、NSCLC = non-small cell lung carcinoma (非小細胞肺癌)、PD = progressive disease (進行疾患)。(出典: Wan 氏他³⁴年)

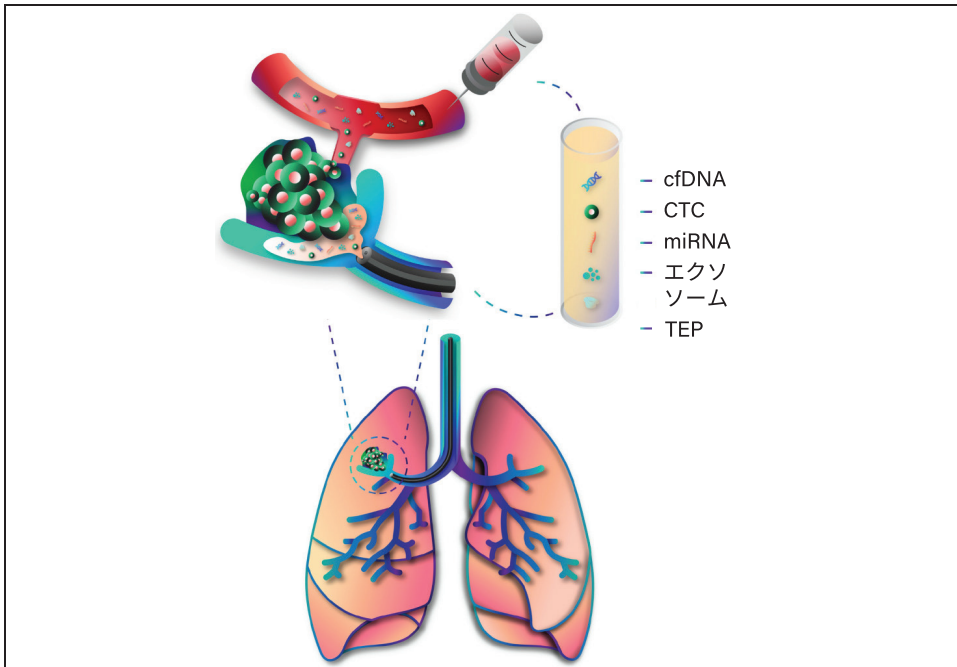


図 4-3. 液体生検の成分。略語：cfDNA = cell-free DNA（無細胞 DNA）、CTC = circulating tumor cells（循環腫瘍細胞）、miRNA = micro-RNA（マイクロ RNA）、TEP = tumor-educated platelets（腫瘍化血小板）。（出典：Freitas 氏他³⁸）

NSCLC における微小残存病変

一般に腫瘍学、特に NSCLC において最も重要な課題の一つは、手術切除などの確定的な局所治療後の再発リスクが高い患者特定の改善です。⁴⁰ 現在、アジュバント療法は主にステージに基づいて施されていますが、これは臨床変数であり、手術で治癒した患者と追加治療を必要とする患者を常に特定できるわけではありません。血漿液体生検による MRD 測定は、十分な感度と特異度があれば、治療の強化を要する患者、または逆に、アジュバント療法を省略できる患者をさらに適切に選択する可能性を秘めています。

現在、NSCLC において複数の MRD 検査が評価中です。ctDNA のみに基づくものもあれば、後成的構成要素と組み合わせたものもあります。また、「組織情報に基づく」ものもあれば、「組織非依存型」のものもあります。^{41, 42} これらのアプローチにはそれぞれ、潜在的な長所と短所があります（表 4-3）。最近完成した研究では、どのような方法論にせよ、MRD 測定法を広く臨床応用するにはさらなる改良を要することを示唆しています。たとえば、IMpower-010 試験のアジュバント療法の MRD の予備的回顧的解析では、術後約 8 週目の単一血漿標本による組織情報に基づく検査では、アジュバント療法のすべてを対象とするアプローチを変更するには不十分でした。MRD 陽性集団と MRD 陰性集団で結果は明らかに異なりますが、両集団とも連続的な再発パターンを示しました。^{43, 44} 現在進行中の前向き試験の結果が大いに待たれるところです。

表 4-1. 液体生検に基づくバイオマーカーによる肺癌診断の利点と欠点のまとめ

バイオマーカー	利点	欠点
cfDNA	<ul style="list-style-type: none"> 癌患者で増加 遺伝子変異と後成的構成要素には、原発腫瘍の変異が反映される 腫瘍の不均一性とダイナミクスの代表例 高効果アッセイが利用可能 (PCR, NGS) 	<ul style="list-style-type: none"> 生殖循環 DNA と比べて著しく希釈される 腫瘍の大きさとステージングと正相関である 一部の良性疾患または前悪性疾患で増加 コストが高い
CTC	<ul style="list-style-type: none"> 形態学的解析と腫瘍分子特性評価を可能にする 予後と相関がある 新興の富集技術と特性評価技術 	<ul style="list-style-type: none"> 検査済みのアッセイなし 非小細胞肺癌の血流中では稀 上皮から間葉への移行と上皮特異的マーカーの喪失 癌の転移における役割はまだ解明されていない
miRNA	<ul style="list-style-type: none"> 早期癌患者の異なるプロフィール 大半の種類の体液に安定して存在 複数の構造 (エクソソーム、TEP など) から放出される 市販キットあり 	<ul style="list-style-type: none"> 患者や技術によってばらつきが大きい、標準化方法が必要 定量化方法と検出方法は検証する必要あり 癌種に特異的ではない
エクソソーム	<ul style="list-style-type: none"> タンパク質、核酸など数種類のバイオマーカーを含む 肺癌患者の増加 大半の種類の体液で安定して利用できる 市販キットあり 	<ul style="list-style-type: none"> 抽出方法、検出方法、特性評価方法は難しく、標準化が必要 コストが高い
TEP	<ul style="list-style-type: none"> 癌患者の血小板 mRNA プロファイルは明確に区別される 豊富 分離が容易 腫瘍細胞の遺伝的変化を反映する特定の RNA を取得する 短い寿命によるダイナミックな mRNA レパートリー 	<ul style="list-style-type: none"> 検査済みアッセイも標準化アプローチもなし 再現性 検出技術は普及していない 時間がかかり、膨大な計算資源が必要

略語：cfDNA = cell-free DNA (無細胞 DNA)、CTC = circulating tumor cell (循環腫瘍細胞)、mRNA = messenger RNA (メッセンジャー RNA)、miRNA = micro-RNA (マイクロ RNA)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、PCR = polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)、TEP = tumor-educated platelet (腫瘍化血小板)。

出典：Freitas 氏他³⁸

進行性非小細胞肺癌 (NSCLC) の第一選治療の選択

進行期、さらに早期の NSCLC 患者に対する最適な治療法の選択には、病理組織学的評価とゲノム評価の両方が必要です。非扁平上皮 NSCLC 検体に対する実用的ゲノム変化と PD-L1 を定期検査するようガイドラインで推奨されています。⁴⁵ 検査は、特定の状況下で (たとえば、若い患者、非喫煙者、または軽度喫煙者)、他の病理学サブタイプを有する患者にも有効です。標的腫瘍突然変異 (*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *MET*, *RET*, *NTRK1-3* など) を有する患者は、進行疾患に対して第一選択の標的療法を受けると、さらに良い結果を得られます。他の患者は、第二選択の標的薬剤または新規治療法 (*KRAS* G12C, *EGFR* エクソン 20, *ERBB2*, *NRG1* の変異など) の候補になる可能性があります。ただし、進行性肺癌患者にはゲノム評価に十分な組織を確保することは困難です。

表 4-2. 多重癌早期検査用画期的デバイス指定を受けた NSCLC 血漿 cfDNA 遺伝子型決定検査

キットまたは検査	会社名	技術およびアプリケーション	FDA ステータス
多重癌早期検査	GRAIL	複数の癌種を検出するための ctDNA メチル化パターンを解析する NGS 血液検査	FDA の画期的デバイス指定 (2019 年 5 月)
CancerSEEK	早期発見の推進	1933 の遺伝子座で ctDNA の突然変異を検出する多重 PCR と、乳癌、卵巣癌、肝臓癌など、一般的な 8 種類の癌を診断するための検証済みタンパク質バイオマーカーの測定を組み合わせた多項目検査。	FDA の画期的デバイス指定 (2018 年 8 月)
アイビー遺伝子コア検査; アイビー遺伝子ドックス肝臓検査	先端医療研究所	複数の遺伝子標的から高メチル化 ctDNA の存在を分析し、乳癌、大腸癌、肝臓癌、肺癌の存在を第 1 期から確認する	FDA の画期的デバイス指定 (2019 年 9 月)
CASCADE 肺癌スクリーニング検査	デルファイ診断	機械学習を駆使する方法で、ctDNA の断片化パターンを解析して癌の存在を検出する	FDA の画期的デバイス指定 (2021 年 3 月)

略語：cfDNA = cell-free DNA (無細胞 DNA)、ctDNA = circulating tumor DNA (循環腫瘍 DNA)、FDA = US Food and Drug Administration (米国食品医薬品局)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、PCR = polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)。

(出典：Gray 氏他³⁹⁾)

表 4-3. 微小残存病変に対する液体生検アプローチ

指標	組織無知	組織情報あり
腫瘍組織検体の妥当性	不要	実用上の制限
感度	MRD 専用検査の改善	LOD の低下
特異性	CHIP はフィルタリングアルゴリズムが必要で、ベースライン ctDNA で改善される	腫瘍に特有
新突然変異	検出	評価不可
耐性変異	検出	評価不可
所要時間	大幅に短縮	長め

略語：CHIP = clonal hematopoiesis of indeterminate potential (未確定の潜在能をもつクローン性造血)、ctDNA = circulating tumor DNA (循環腫瘍 DNA)、LOD = limit of detection (検出下限)、MRD = minimal residual disease (微小残存病変)。

患者は、バイオマーカー分析には不十分で小さな生検検体または細胞検査検体で診断されることがよくあります。患者のなかには、再検査や遅延したゲノム結果を受けることがきない場合もあります。⁴⁶ 不十分な組織検体、遺伝子型決定に利用できない組織を有する患者に対しても完全な遺伝子型決定を保証するため、血漿 cfDNA 検査の活用が推奨されて組織検査が利用できても、補完検査戦略として、ますます重要な役割を果たしています (図 4-4)。¹⁶ そのため、さら多くの患者が標的療法にアクセスできるようになります。液体生検の結果は組織と高度に一致しているため、同様の治療結果をもたらすと同時に、結果が出るまでの時間が短縮され、さらにはコスト削減につながる可能性があります。^{24, 25, 28, 30, 31} 診断プロセスの早い段階で液体生検を実施でき、進行疾患の患者は早期に適切な治療を受けられるようになるため、患者の転帰がさらに改善される可能性があります。^{29, 47, 48}

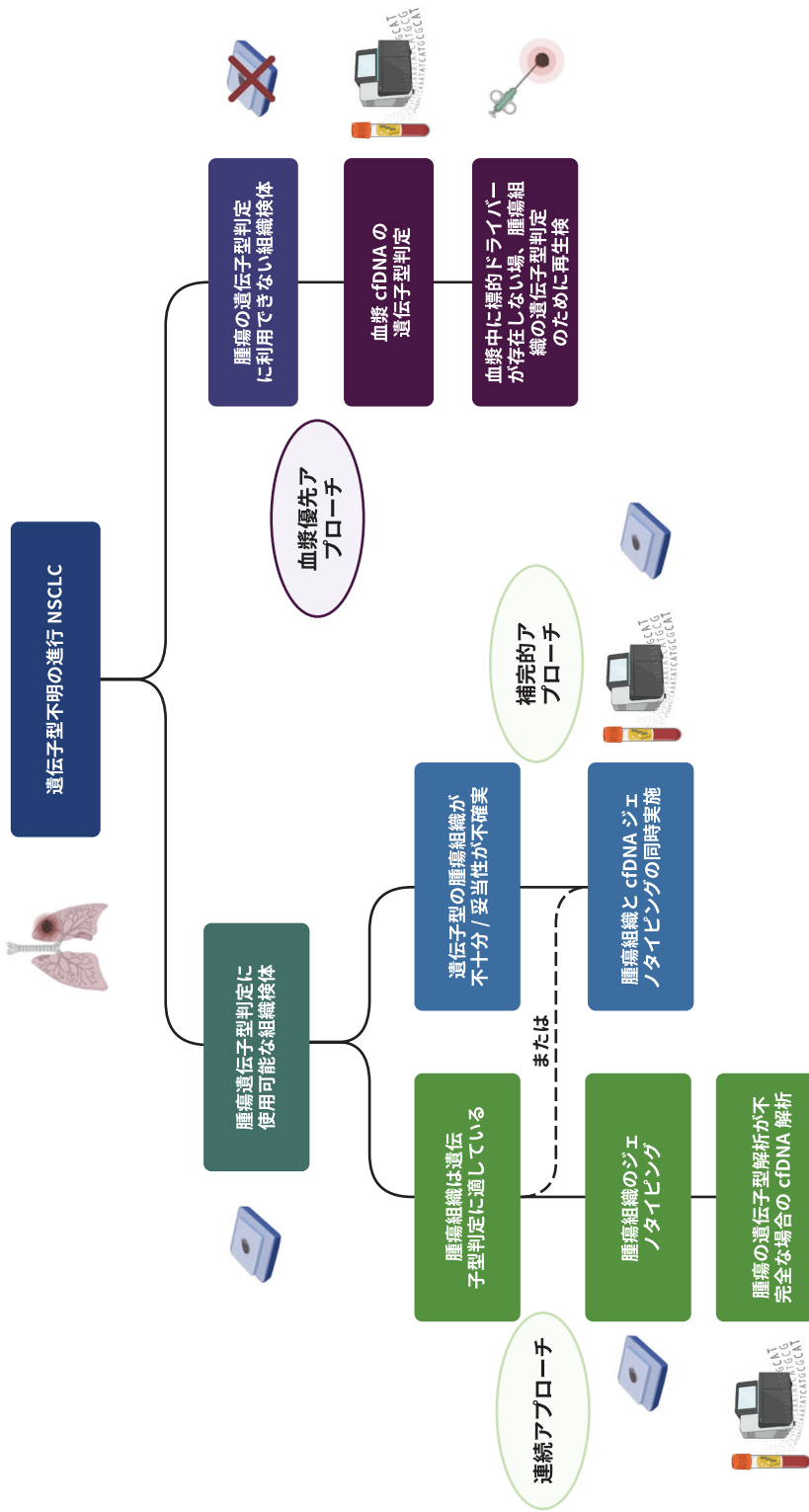


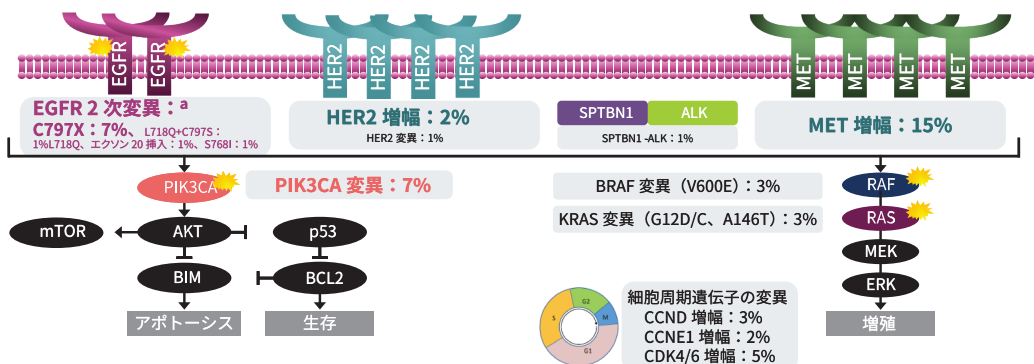
図 4-4. 治療のない進行非小細胞肺癌 (NSCLC) における液体生検使用の診断アルゴリズム (出典: Roffo 氏他¹⁶、寄稿: Alessandro Russo 氏、Papardo Hospital, Messina, Italy)

進行性 NSCLC における獲得耐性ゲノミクス

分子標的薬は、腫瘍原性ドライバーを有する NSCLC 患者の臨床的転帰に大きな改善をもたらしますが、これらの薬剤に対する獲得耐性は未解決の根本的な課題です。抵抗メカニズムを特定するには、包括的な分子検査が不可欠であり、その後の治療の指針となります。腫瘍遺伝子検査は分子プロファイリングのゴールドスタンダードと考えられていますが、⁴⁵ 再発した疾患の再生検は必ずできるとはかぎりません。²⁸ 液体生検は、非侵襲性、転帰時間の短縮、および異なる疾患部位で発生する多様な変異体の捕捉能力の点で、腫瘍遺伝子検査に注目すべき利点があります。ただし、液体生検には、血液中に ctDNA が検出されない場合に偽陰性の結果になるリスク、小細胞肺癌への変化などの組織学的情報の捕捉ができない、などの限界があります。NSCLC における血漿 cfDNA 遺伝子型決定には、PCR ベースの Cobas EGFR 遺伝子変異検査 (Roche Diagnostics)、NGS ベースの Guardant 360 コンパニオン診断 (CDx)、FoundationOne liquid CDx (Foundation Medicine) など、FDA 承認済み検査法が複数あります。

EGFR T790M 変異は、第 1 世代または第 2 世代の EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) に対する最も一般的な抵抗メカニズムであり、オシメルチニブを後続治療として開始するには T790M 検査が不可欠です。第一線治療で第 1 世代または第 2 世代の EGFR TKI が使用されている場合、液体生検は T790M 駆動型耐性の検出に進行時に組織生検に代わって使用できます。ただし、血漿検査が陰性の場合、組織生検が推奨されます。⁴⁹ FLAURA 試験の結果に基づいて、オシメルチニブが第一選択の第一線治療として推奨されています。⁵⁰ 第一線治療後の進行時に液体生検で検出されたオシメルチニブに対する多様な抵抗メカニズムは、図 4-5 に示されています。^{51, 52} 他の腫瘍原性ドライバーに対する標的薬による治療後の抵抗メカニズムの検出は必須ではありませんが、cfDNA を使用した包括的な検査は、後続の治療ガイドに使用でき、将来的にはさらに大きな管理役割を果たす可能性があります。図 4-6 は、国際肺癌学会 (IASLC) が推奨する、TKI 治療中に癌の進行が見られた患者に対する液体生検の使用を示すフローチャートです。⁵³

- 後天的 EGFR T790M のエビデンスなし
- 最も一般的な耐性メカニズムは MET 増幅および EGFR C797S 変異であった
- 他のメカニズムには ERBB2 (HER2) 増幅、PIK3CA 変異および RAS 変異が含まれる



a ベースライン時に 2 人の患者に T790M の de novo 変異があり、そのうち 1 人は進行時に C797S を獲得。

図 4-5. FLAURA 試験 (n = 91) におけるオシメルチニブによる獲得耐性候補メカニズム報告された抵抗メカニズムは別のメカニズムと重複する可能性がある (出典: Ramalingam 氏他⁵² Copyright © 2018, Elsevier.)

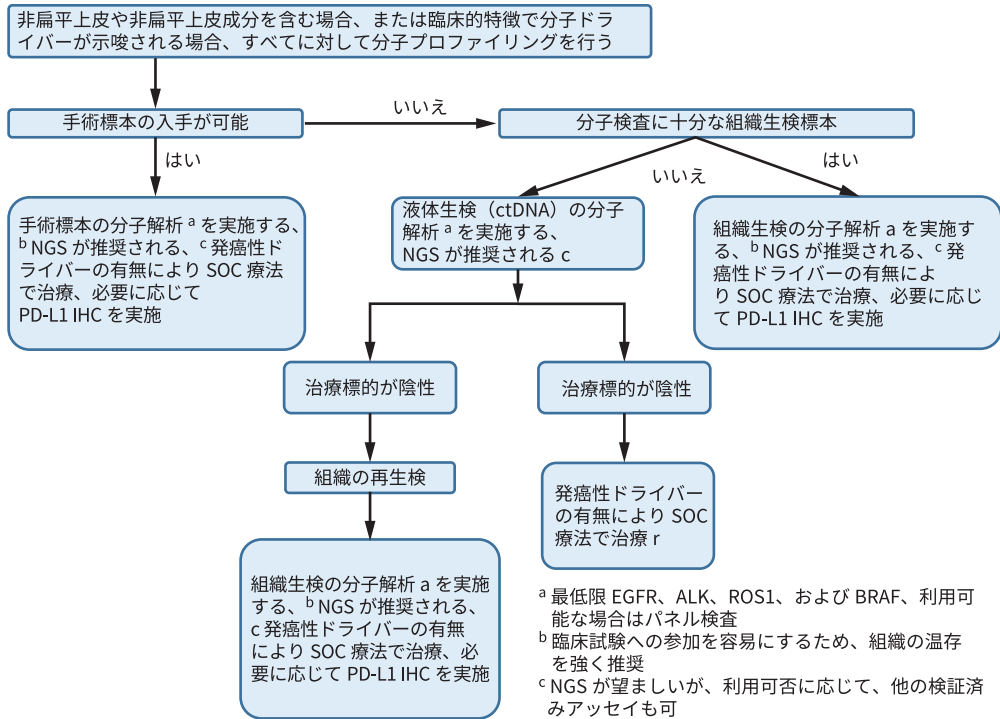


図 4-6. TKI による治療中に NSCLC が進行または再発した患者。略語：ctDNA = circulating tumor DNA (循環腫瘍 DNA)、IHC = immunohistochemistry (免疫組織化学法)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、NSCLC = non-small cell lung carcinoma (非小細胞肺癌)、SOC = standard of care (標準治療)、TKI = tyrosine kinase inhibitor (チロシキナーゼ阻害剤)。(出典：Freitas 氏他⁵³⁾

肺癌での治療モニタリング

血漿 ctDNA のレベルは、予後と治療反応の代替指標として浮上してきました。治療開始前には、進行した肺癌患者の血漿 ctDNA が存在しないことが良い予後因子であり、治療に関係なく、転帰が改善されることは、複数の研究で確認されています。⁵⁴ 血漿 ctDNA のクリアランスまたは減少は、TKI、免疫療法、化学療法と関連します。⁵⁴⁻⁵⁹ 局所進行疾患では、化学放射線後の ctDNA の持続は、再発のリスクが高い集団を特定し、さらに集中的なコンソリデーション療法の潜在的候補者を特定します。⁶⁰ 長期のチェックポイント阻害薬 (CPI) 療法を受ける患者では、検出可能な血漿 ctDNA は再発のリスクがある患者を特定し、逆に、ctDNA が検出されない場合、患者は維持 CPI を中止し、癌が進行していない可能性を確認します。⁶¹ ただし、治療方針を決定するための液体生検モニタリング (治療の強化、安全な減量など) の臨床的有用性はまだ証明されていません。連続検査における偽陽性または偽陰性の結果のリスクは、今も重要な技術的制限です。EGFR キナーゼ阻害剤 (NCT02856893, NCT04410796) および免疫療法と化学療法 (NCT04093167, NCT04966676; 図 4-7) による ctDNA レベルと治療のモニタリングは、複数の研究で検討されています。液体生検を用いたモニタリングは治療方針の決定を左右するまでには至っていませんが、重要な代替評価点として現在研究が進められています。

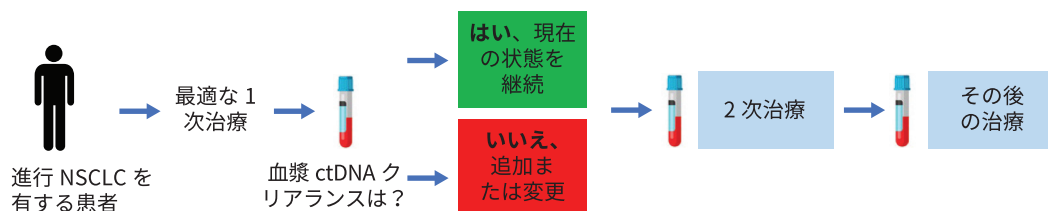


図 4-7. 液体生検によるモニタリングが治療の意思決定に組み込まれる未来。略語：ctDNA = circulating tumor DNA (循環腫瘍 DNA)、NSCLC = non-small cell lung carcinoma (非小細胞肺癌)。

チェックポイント免疫療法の予測バイオマーカー

数多くのバイオマーカーが CPI (チェックポイント阻害剤) を開発中ですが、腫瘍と間質微小環境の相互作用の複雑さ、PD-L1、腫瘍変異負荷 [TMB] など、大半の検査の連続出力 (分散型バイオマーカーとは対照的な突然変異対野生型遺伝子状態) を反映しています。¹⁶ これらのうち現在、液体生検に最も適しているのは TMB です。組織評価 TMB は米国で FDA 承認の汎腫瘍バイオマーカーですが、混合結果と検査方法論、カットポイント定義、その他のパラメータにばらつきがあるため、臨床応用で実際に使用される可能性を低めています。血液ベース検査 (B-TMB) は、後ろ向き研究および前向き研究の両方で分析による検証と評価と臨床による検証と評価がおこなれています。^{62, 63} 最近では、治療歴のない進行性 NSCLC 患者で B-TMB (≥ 16 mt/Mb) という高い第 3 相コホート BFAST が報告されました。⁶⁴ 一次評価項目の無増悪生存期間は、アテゾリズマブ群で傾向が示されました (ハザード比 [HR] 0.77; 0.59-1.00, $p = 0.054$) が、差は統計的に有意ではありませんでした。注目すべきは、結果は扁平上皮組織型の患者には利があったが、非扁平上皮集団に利がなかったことです。したがって、B-TMB の使用は、現在のところ、日常診療における進行肺癌患者の治療選択には採用されていません。メッセンジャー RNA や細胞外小胞による PD-L1 測定など、血漿ベースの多種多様な検査が開発されているが、現時点ではまだ研究段階にとどまっています。^{65, 66}

参考文献

- Chan KC, Yeung SW, Lui WB, Rainer TH, Lo YM. Effects of preanalytical factors on the molecular size of cell-free DNA in blood. *Clin Chem*. 2005;51(4):781-784.
- Hena Diaz E, Yachnin J, Grönberg H, Lindberg J. The in vitro stability of circulating tumour DNA. *PLoS One*. 2016;11(12):e0168153.
- Medina Diaz I, Nocon A, Mehnert DH, et al. Performance of Streck cfDNA blood collection tubes for liquid biopsy testing. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166354.
- Norton SE, Luna KK, Lechner JM, Qin J, Fernando MR. A new blood collection device minimizes cellular DNA release during sample storage and shipping when compared to a standard device. *J Clin Lab Anal*. 2013;27(4):305-311.
- Parpart-Li S, Bartlett B, Popoli M, et al. The effect of preservative and temperature on the analysis of circulating tumor DNA. *Clin Cancer Res*. 2017;23(10):2471-2477.
- Toro PV, Erlanger B, Beaver JA, et al. Comparison of cell stabilizing blood collection tubes for circulating plasma tumor DNA. *Clin Biochem*. 2015;48(15):993-998.
- Wong D, Moturi S, Angkachatchai V, et al. Optimizing blood collection, transport and storage conditions for cell free DNA increases access to prenatal testing. *Clin Biochem*. 2013;46(12):1099-1104.
- El Messaoudi S, Rolet F, Mouliere F, Thierry AR. Circulating cell free DNA: preanalytical considerations. *Clin Chim Acta*. 2013;424:222-230.

9. Haselmann V, Ahmad-Nejad P, Geilenkeuser WJ, et al. Results of the first external quality assessment scheme (EQA) for isolation and analysis of circulating tumour DNA (ctDNA). *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(2):220-228.
10. Lu JL, Liang ZY. Circulating free DNA in the era of precision oncology: pre- and post-analytical concerns. *Chronic Dis Transl Med*. 2016;2(4):223-230.
11. Klotten V, Rüchel N, Brüchle NO, et al. Liquid biopsy in colon cancer: comparison of different circulating DNA extraction systems following absolute quantification of *KRAS* mutations using Intplex allele-specific PCR. *Oncotarget*. 2017;8(49):86253-86263.
12. Fleischhacker M, Schmidt B, Weickmann S, et al. Methods for isolation of cell-free plasma DNA strongly affect DNA yield. *Clin Chim Acta*. 2011;412(23-24):2085-2088.
13. Malentacchi F, Pizzamiglio S, Verderio P, et al. Influence of storage conditions and extraction methods on the quantity and quality of circulating cell-free DNA (ccfDNA): the SPIDIA-DNAplus External Quality Assessment experience. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(12):1935-1942.
14. Yuan H, Zhu ZZ, Lu Y, et al. A modified extraction method of circulating free DNA for epidermal growth factor receptor mutation analysis. *Yonsei Med J*. 2012;53(1):132-137.
15. Lee TH, Montalvo L, Chrebtow V, Busch MP. Quantitation of genomic DNA in plasma and serum samples: higher concentrations of genomic DNA found in serum than in plasma. *Transfusion*. 2001;41(2):276-282.
16. Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, et al. Liquid biopsy for advanced NSCLC: a consensus statement from the International Association for the Study of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2021;16(10):1647-1662.
17. Russo A, De Miguel Perez D, Gunasekaran M, et al. Liquid biopsy tracking of lung tumor evolutions over time. *Expert Rev Mol Diagn*. 2019;19(12):1099-1108.
18. Odegaard JI, Vincent JJ, Mortimer S, et al. Validation of a plasma-based comprehensive cancer genotyping assay utilizing orthogonal tissue- and plasma-based methodologies. *Clin Cancer Res*. 2018;24(15):3539-3549.
19. Pritchett MA, Camidge DR, Patel M, et al. Prospective clinical validation of the InVisionFirst-Lung Circulating Tumor DNA assay for molecular profiling of patients with advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol*. 2019;3:PO.18.00299. doi:10.1200/PO.18.00299.
20. Schrock AB, Welsh A, Chung JH, et al. Hybrid capture-based genomic profiling of circulating tumor DNA from patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(2):255-264.
21. Krebs MG, Malapelle U, André F, et al. Practical considerations for the use of circulating tumor DNA in the treatment of patients with cancer: a narrative review. *JAMA Oncol*. 2022;8(12):1830-1839. doi:10.1001/jamaoncol.2022.4457.
22. Aggarwal C, Rolfo CD, Oxnard GR, et al. Strategies for the successful implementation of plasma-based NSCLC genotyping in clinical practice. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18(1):56-62.
23. Pascual J, Attard G, Bidard FC, et al. ESMO recommendations on the use of circulating tumour DNA assays for patients with cancer: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol*. 2022;33(8):750-768.
24. Leighl NB, Page RD, Raymond VM, et al. Clinical utility of comprehensive cell-free DNA analysis to identify genomic biomarkers in patients with newly diagnosed metastatic non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4691-4700.
25. Page RD, Drusbosky LM, Dada H, et al. Clinical outcomes for plasma-based comprehensive genomic profiling versus standard-of-care tissue testing in advanced non-small cell lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2022;23(1):72-81.
26. Palmero R, Taus A, Viteri S, et al. Biomarker discovery and outcomes for comprehensive cell-free circulating tumor DNA versus standard-of-care tissue testing in advanced non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol*. 2021;5:93-102.
27. Schwartzberg LS, Li G, Tolba K, et al. Complementary roles for tissue- and blood-based comprehensive genomic profiling for detection of actionable driver alterations in advanced NSCLC. *JTO Clin Res Rep*. 2022;3(9):100386.
28. Aggarwal C, Thompson JC, Black TA, et al. Clinical implications of plasma-based genotyping with the delivery of personalized therapy in metastatic non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol*. 2019;5(2):173-180.
29. Cui W, Milner-Watts C, O'Sullivan H, et al. Up-front cell-free DNA next generation sequencing improves target identification in UK first line advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. *Eur J Cancer*. 2022;171:44-54.

30. Mack PC, Banks KC, Espenschied CR, et al. Spectrum of driver mutations and clinical impact of circulating tumor DNA analysis in non-small cell lung cancer: analysis of over 8000 cases. *Cancer*. 2020;126(14):3219-3228.
31. Ezeife DA, Spackman E, Juergens RA, et al. The economic value of liquid biopsy for genomic profiling in advanced non-small cell lung cancer. *Ther Adv Med Oncol*. 2022;14:17588359221112696.
32. Cui W, Milner-Watts C, McVeigh TP, et al. A pilot of blood-first diagnostic cell free DNA (cfDNA) next generation sequencing (NGS) in patients with suspected advanced lung cancer. *Lung Cancer*. 2022;165:34-42.
33. Garcia-Pardo M, Czarnecka K, Law JH, et al. Plasma-first: accelerating lung cancer diagnosis and molecular profiling through liquid biopsy. *Ther Adv Med Oncol*. 2022;14:17588359221126151.
34. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(4):223-238. doi:10.1038/nrc.2017.7.
35. Aberle DR, Adams AM, Berg CD, et al; National Lung Screening Trial Research Team. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med*. 2011;365:395-409.
36. De Koning HJ, Van Der Aalst CM, De Jong PA, et al. Reduced lung-cancer mortality with volume CT screening in a randomized trial. *N Engl J Med*. 2020;382:503-513.
37. PatzEFJr, PinskyP, GatsonisC, et al. Overdiagnosis in low-dose computed tomography screening for lung cancer [published correction appears in *JAMA Intern Med*. 2014;174(5):828]. *JAMA Intern Med*. 2014;174(2):269-274. doi:10.1001/jamainternmed.2013.12738.
38. Freitas C, Sousa C, Machado F et al. The role of liquid biopsy in early diagnosis of lung cancer. *Front Oncol*. 2021;11:634316.
39. Gray J, Thompson JC, Carpenter EL, et al. Plasma cell-free DNA genotyping: from an emerging concept to a standard-of-care in metastatic non-small cell lung cancer. *Oncologist*. 2021;26:e1812-1821.
40. Malapelle U, Pisapia P, Addeo A, et al. Liquid biopsy from research to clinical practice: focus on non-small cell lung cancer. *Expert Rev Mol Diagn*. 2021;21(11):1165-1178. doi:10.1080/14737159.2021.1985468.
41. Moding EJ, Nabet BY, Alizadeh AA, Diehn M. Detecting liquid remnants of solid tumors: circulating tumor DNA minimal residual disease. *Cancer Discov*. 2021;11(12):2968-2986. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-0634.
42. Pellini B, Chaudhuri AA. Circulating tumor DNA minimal residual disease detection of non-small-cell lung cancer treated with curative intent. *J Clin Oncol*. 2022;40(6):567-575. doi:10.1200/JCO.21.01929.
43. Zhou C, Das Thakur M, Srivastava MK, et al. IMpower010: biomarkers of disease-free survival (DFS) in a phase 3 study of atezolizumab (atezo) vs best supportive care (BSC) after adjuvant chemotherapy in stage IB-IIIA NSCLC. ESMO Immuno-Oncology Congress 2021, Abstract 2O. *Ann Oncol*. 2021;32(suppl 7):S1373-S1391.
44. Carbone D, Lee J, Kris M, et al. Clinical/biomarker data for neoadjuvant atezolizumab in resectable stage IB-IIIB NSCLC: primary analysis in the LCMC3 study. *J Thorac Oncol*. 2021;16(3 suppl):S115-S116. doi:10.1016/j.jtho.2021.01.294.
45. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142:321-346.
46. Lim C, Tsao MS, Le LW, et al. Biomarker testing and time to treatment decision in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2015;26(7):1415-1421. doi:10.1093/annonc/mdv208.
47. Garcia-Pardo M, Czarnecka K, Law JH, et al. Plasma first: Accelerating lung cancer diagnosis through liquid biopsy. Abstract 3039. *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):3039. doi:10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.3039.
48. Thompson JC, Aggarwal C, Wong J, et al. Plasma genotyping at the time of diagnostic tissue biopsy decreases time-to-treatment in patients with advanced NSCLC: results from a prospective pilot study. *JTO Clin Res Rep*. 2022;3(4):100301. doi:10.1016/j.jtocrr.2022.100301.
49. Oxnard GR, Thress KS, Alden RS, et al. Association between plasma genotyping and outcomes of treatment with osimertinib (AZD9291) in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2016;34:3375-3382.

50. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J et al. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2018;378:113-125.
51. Romero A, Serna-Blasco R, Alfaro C, et al. ctDNA analysis reveals different molecular patterns upon disease progression in patients treated with osimertinib. *Transl Lung Cancer Res*. 2020;9(3):532-540. doi:10.21037/tlcr.2020.04.01.
52. Ramalingam SS, Cheng Y, Zhou C, et al. Mechanisms of acquired resistance to first-line osimertinib: preliminary data from the phase III FLAURA study. *Ann Oncol*. 2018;29:viii740.
53. Rolfo C, Mack PC, Scagliotti GV et al. Liquid biopsy for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): a statement paper from the IASLC. *J Thorac Oncol*. 2018;13:1248-1268.
54. Gray JE, Okamoto I, Sriuranpong V, et al. Tissue and plasma EGFR mutation analysis in the FLAURA trial: osimertinib versus comparator EGFR tyrosine kinase inhibitor as first-line treatment in patients with EGFR-mutated advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25(22):6644-6652. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-1126.
55. Anagnostou V, Forde PM, White JR, et al. Dynamics of tumor and immune responses during immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2019;79(6):1214-1225. doi:10.1158/0008-5472.CAN-18-1127.
56. Horn L, Whisenant JG, Wakelee H, et al. Monitoring therapeutic response and resistance: analysis of circulating tumor DNA in patients with ALK+ lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2019;14(11):1901-1911. doi:10.1016/j.jtho.2019.08.003.
57. Iijima Y, Hirotsu Y, Amemiya K, et al. Very early response of circulating tumour-derived DNA in plasma predicts efficacy of nivolumab treatment in patients with non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer*. 2017;86:349-357. doi:10.1016/j.ejca.2017.09.004.
58. Song Y, Hu C, Xie Z, et al; on behalf of AME Lung Cancer Collaborative Group. Circulating tumor DNA clearance predicts prognosis across treatment regimen in a large real-world longitudinally monitored advanced non-small cell lung cancer cohort. *Transl Lung Cancer Res*. 2020;9(2):269-279. doi: 10.21037/tlcr.2020.03.17.
59. Zulato E, Attili I, Pavan A, et al. Early assessment of KRAS mutation in cfDNA correlates with risk of progression and death in advanced non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2020;123(1):81-91. doi:10.1038/s41416-020-0833-7.
60. Moding EJ, Liu Y, Nabet BY, et al. Circulating tumor DNA dynamics predict benefit from consolidation immunotherapy in locally advanced non-small cell lung cancer. *Nat Cancer*. 2020;1(2):176-183. doi:10.1038/s43018-019-0011-0.
61. Hellmann MD, Nabet BY, Rizvi H, et al. Circulating tumor DNA analysis to assess risk of progression after long-term response to PD-(L)1 blockade in NSCLC. *Clin Cancer Res*. 2020;26(12):2849-2858. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-3418.
62. Gandara DR, Paul SM, Kowanetz M, et al. Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab. *Nat Med*. 2018;24(9):1441-1448. doi:10.1038/s41591-018-0134-3.
63. Drusbosky L, Bilen MA, Azzi G, et al. Blood-based tumor mutational burden from circulating tumor DNA (ctDNA) across advanced solid malignancies using a commercially available liquid biopsy assay. Abstract. *J Clin Oncol*. 2021;39(15 suppl):3040.
64. Peters S, Dziadziuszko R, Morabito A, et al. Atezolizumab versus chemotherapy in advanced or metastatic NSCLC with high blood-based tumor mutational burden: primary analysis of BFAST cohort C randomized phase 3 trial. *Nat Med*. 2022;28(9):1831-1839. doi:10.1038/s41591-022-01933-w.
65. Raez LE, Danenberg K, Sumarriva D, et al. Using cfRNA as a tool to evaluate clinical treatment outcomes in patients with metastatic lung cancers and other tumors. *Cancer Drug Resist*. 2021;4(4):1061-1071. doi:10.20517/cdr.2021.78.
66. Rodriguez-Martinez A, Simon-Saez I, Perales S, et al. Exchange of cellular components between platelets and tumor cells: impact on tumor cells behavior. *Theranostics*. 2022;12(5):2150-2161. doi:10.7150/thno.64252.

バイオマーカーの検出技術

5

執筆者：Yasushi Yatabe、Lynette M. Sholl、Sanja Dacic、
Keith M. Kerr、Erik Thunnissen、Anders Skanderup

バイオマーカーを検出する技術は複数あり、遺伝子変異やタンパク質の変化を検出する能力はそれぞれ異なります。現在、臨床腫瘍学において関連する主要な遺伝子異常とタンパク質異常は5つあります（表 5-1）。

1. **一塩基変異 (SNV)**：参照配列と比較すると、ある一塩基が別の塩基に置き換わっています。病理性 SNV は非同義であり、アミノ酸の変化を引き起こし、癌遺伝子機能獲得型 (*EGFR* L858R、*KRAS* G12C、*BRAF* V600E など) または腫瘍抑制遺伝子 (*TP53*、*RB1* など) の場合の機能喪失をもたらす可能性があります。終止コドン (TAA、TAG、TGA) を引き起こす変異の場合、変異からタンパク質は生成されません (同義変異)。SNV は常にアミノ酸の変化 (同義塩基変異化) をもたらすわけではなく、通常は病原性はありません。ただし、一部の同義 SNV は、転写スプライシング変化に起因する機能変化を引き起こす可能性があります。¹
2. **挿入および/または欠失 (indel)**：indel とは、アミノ酸配列を変化させ、読み枠のシフトを引き起こす可能性のある 1 塩基以上の挿入または欠失と定義されます。indel は、発癌性活性または機能障害のいずれかをもたらす可能性があります。フレーム内 *EGFR* エクソン 19 欠失と *HER2* エクソン 20 挿入は腫瘍原性変異の例ですが、*TP53*、*APC*、*RB1* などの腫瘍抑制遺伝子に存在する indel は、一般的にフレーム外にあり、変異対立遺伝子の機能低下をもたらします。
3. **遺伝子増幅、コピー数変化**：遺伝子増幅とは、タンパク質の過剰発現につながる特定の DNA セグメントのコピー数が増加することです。コピー数変化は、増加または減少した遺伝子コピーを含む一般的な用語です。たとえば、*MET* の 4 つのコピーは、必ずしも腫瘍原性ではありません。
4. **遺伝子再構成**：染色体再構成 (転座とも呼ばれる) は、染色体断片が切断され、別の染色体または同じ染色体上の別の部位に付着することによって起こり

表 5-1. 肺癌で臨床的に関連する遺伝子変異

遺伝子変異	肺癌に関連する主要遺伝子	検出方法
SNV, indel	<i>EGFR, KRAS, BRAF, HER2</i>	PCR 直接シーケンシング法, 変異特異的 PCR, NGS 断片増幅法, NGS ハイブリッド捕捉法, ddPCR
遺伝子増幅	<i>FGFR, MET</i>	FISH, ハイブリッドキャプチャー, ddPCR
遺伝子再構成	<i>ALK, ROS1, RET, NTRK, NRG</i>	逆転写 PCR 直接シーケンシング, NGS (DNA または RNA ベース), FISH, IHC (ALK)
タンパク質発現 / 過剰発現	ALK, PD-L1, HER2	IHC, ELISA, ^a 質量分析 ^a

略語：ddPCR = droplet digital polymerase chain reaction (液滴デジタルポリメラーゼ連鎖反応)、ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay (酵素結合免疫吸着検査法)、FISH = fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)、IHC = immunohistochemistry (免疫組織化学法)、indel = insertion and/or deletion (挿入および/または欠失)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、RT = reverse transcription (逆転写)、SNV = single nucleotide variant (一塩基変異)。

^a 定期的な臨床診療では使用されません。

ます。逆位は、染色体断片が同じ染色体に逆方向に再び結合することで起こります。再構成は、腫瘍性遺伝子融合（たとえば、EML4::ALK, CD74::ROS1, KIF5B::RET）を引き起こすことがあります。

5. **タンパク質の発現 / 過剰発現：** 遺伝子の増幅や再構成は、異常なタンパク質の過剰発現につながる可能性があります。HER2 の過剰発現は遺伝子増幅によって生じる可能性があります。遺伝子再構成は、タンパク質再変化につながる可能性があります（たとえば、ALK 遺伝子融合は ALK キナーゼドメインの異常な発現をもたらします）。タンパク質の異常な発現は病原性となる可能性があります。必ずしも遺伝子変異に直接関わるわけではありません（たとえば、PD-L1 を過剰発現している肺癌では、稀な例を除いて CD274/PD-L1 遺伝子の変異は認められません）。

異常の検出には、さまざまな方法が開発されており、パラフィン包埋固定標本 (FFPE) 切片中のタンパク質、遺伝子変異の原位検出から、抽出 DNA または RNA の複数の遺伝的変異の同時検出にまで及びます。各アッセイには、検査できるサンプルの種類、検出できる変異、コスト、報告時間（所要時間 [TAT]）に関連する利点と欠点があります。アッセイの特性を理解することは、最適なアッセイの選択に重要であり、落とし穴の回避に不可欠です。

所要時間

TAT は、検査を注文してからレポートを受け取るまでの時間と定義されます。臨床現場において、TAT は非常に重要な要素であり、特定のアッセイだけでなく、検査室間の検体の移動、検査室の人員配置、症例のバッチ処理などの他の要因にも関係します。以下に示すように、さまざまな検査（後述）の最適な検査室作業日数は次のとおりです。免疫組織化学法 (IHC)：2 営業日未満、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH)：2～3 日、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) / 逆転写 (RT) -PCR 直接シーケン

シング：3～4日，増幅ベースのシーケンシング：4～5日，ハイブリッドキャプチャーベースの次世代シーケンシング（NGS）：5～14日。

ハイブリッドDNA/RNA解析の場合、DNAまたはRNAの結果が得られないことがあります。これは、サンプルの量または質が不十分なためです。（第3章「標本採取と解析前の考慮事項」を参照してください。）検査室の検査時間だけでなく、患者の治療決定までの全体的な時間を考慮する必要があります。重要なことは、すべての結果が分析失敗として返された場合、臨床状態は最初に戻ることになります。

免疫組織化学法

IHCは強力な診断ツールであり、プロトコルは病理学腫瘍分類に関連するタンパク質の検出と、一部の標的分子変異の特定において強固なものとなっています。図5-1に、直接IHCと間接IHCの簡略化したグラフィック表示を示します。基本的な手法は、「免疫組織化学診断IASLCアトラス」に記載されています。方法自体は、定量的よりも質的です。²ただし、プロトコルの慎重な構築と検証により、タンパク質濃度の短い範囲（2倍）で半定量評価を実現できます。³

基本原則

組織染色法は、以下のような手順で行われます。エピトープ回収、次抗体のインキュベーション、未結合抗体の洗浄、一次抗体の重鎖に結合するラベル化二次抗体のインキュベーション、未結合抗体の洗浄、シグナル増強ステップによる可視化。

予測検査のためのIHC検証

検証方法は、診断マーカーと予測マーカーでは若干異なります。診断目的の場合、米国では通常、米国では通常、明確な陽性対照と陰性対照を含む最低20検体の検証セットが必要です。⁵予測マーカー検査では、検査の閾値が重要な役割を果たします。すべてのPD-L1アッセイが同じではないため^{6,7}、分析的かつ間接的な臨床的バリデーションが最良の近似と考えられます。⁷

免疫蛍光検査

蛍光標識（免疫蛍光検査）は、吸光基質よりも高い感度を得られます。これは、エピトープ濃度が低いシグナルの検出に免疫蛍光検査が必要となる可能性があることを意味します。³蛍光画像を可視化するには、2つのフィルターを使用します。最初のフィルターは、光が組織切片に到達する前に配置され、比較的低い波長の光は通過させますが、高い波長の光を遮断します。切片では、光が蛍光染料に到達し、染料を高い波長で励起します。2番目のフィルターは、低い波長の光を遮断し、高い波長の光を通過させます。デジタル画像の撮影には、目の代わりにカメラシステムを使用してもかまいません。複数の蛍光体を使用する場合、これらのフィルターを通過する波長を狭くできます（バンドパスフィルターを使用）。1つの蛍光体は低い波長で励起され、もう1つの蛍光体は励起後に本

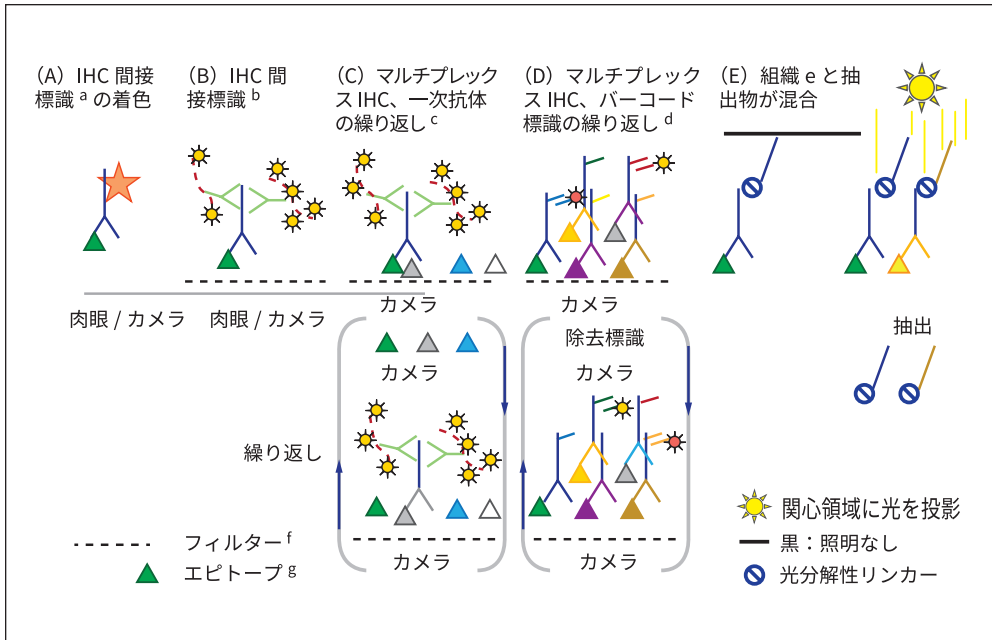


図 5-1. 空間組織タンパク質解析で使用されるさまざまな技術の簡略化されたグラフィカル表示。

^a 視覚信号の吸収色または蛍光ラベルには、高エピトープ濃度が必要です。後者の場合、クロモゲンよりもわずかに低いエピトープ濃度が必要です。

^b 信号増強は、(1) 不溶性クロモゲン（茶色ジアミノベンジン）を生成する酵素でラベル付けされた複数の二次抗体（マウス抗ウサギ、ヤギ抗ヒトなど）との結合、(2) ストレプトアビジン - ビオチン（SAB）複合体による初期増幅、(3) SAB 複合体より 5 ~ 20 倍の増幅因子を持つポリマーによる後期増幅を介して行われます。

^c 画像の最初のラウンドをキャプチャした後、間接蛍光ラベル付けとデジタル画像のキャプチャが必要です。その後、背景 / 自家蛍光のデジタル画像のキャプチャーに染料の不活化 / 除去が必要です。同じ切片でさまざまな一次抗体を使用して、この手順を繰り返せます。一次抗体（自家蛍光）の孵化前の画像は、ラベル付き後の画像から減算されます。単一または複数のマーカーは、同じ切片に投影（重ね合わせ）されることがあります。

^d 各一次抗体は、ユニークなバーコード（DNA）と結合します。複数の一次抗体が同時にインキュベートされます。蛍光体とバーコードの相補鎖を持つラベルは、最大 3 つの蛍光体で一次抗体に結合します（図式では、2 つの異なる蛍光体が表示されます）。画像化と蛍光ラベルの除去、画像取得後、通常は 3 つまで、異なる蛍光体を持つユニークな補足ラベルの次のセットをインキュベートできます。この手順は繰り返せます。すべてのマーカーは、個別に調べることも、切片に重ねて任意の組み合わせで調べることもできます。

^e 組織切片の特定のエピトープに高親和性で結合するユニークなオリゴヌクレオチドタグと光切断できるリンカーラベル化抗体を用いることで、対象領域で選択的に光を受け取ることができ、光切断可能オリゴヌクレオチドが放出され、次世代シーケンシング、フローサイトメトリー、質量分析などの読み取りに使用されます。読み取り結果は、組織学切片のデジタル画像にデジタルで重ね合わせるができます。⁴

^f フィルターは、光が組織 / 細胞を通過する前に 1 つ、組織と眼 / カメラの間に 1 つあることを意味します。最初のフィルターは高い波長の光を遮断し、2 番目のフィルターは低い波長の光を遮断します。放出波長の光だけが 2 番目のフィルターを通過します。

^g 図表示のため、エピトープは三角形で表示されます。生体内では、抗体の可変領域が立体結合し、高い親和性を持つ 3 次元（3D）構造が本質的な特徴です。エピトープによってそれぞれ、異なる 3D 構造を持っています。すべてのデジタルアプローチでは、対象領域（1 細胞でも可）を特定する必要があります。この操作には、領域 / オブジェクトの分割が必要です。そのため、電荷結合素子（CCD）カメラの画素数は、顕微鏡の接眼レンズの分解能と一致する必要があります。セグメンテーションの誤り率を低く保つためには、高品質の CCD カメラを使用する必要があります。

質的に高い波長を放出します。免疫蛍光検査はタンパク質を検出するための非常に高感度な技術ですが、現在のところ肺癌の一般的な臨床診療では使用されていません。

変異特異的 IHC

EGFR の後天的変異はタンパク質の立体構造に変化をもたらすため、この変異に特異的で野生型タンパク質とは異なるエピトープが存在する可能性があります。さらに、一部の EGFR 変異は高い頻度で発生し、特にエクソン 21 の L858R やエクソン 19 の欠失が顕著です。このため、EGFR 変異特異的抗体が開発されています。⁹⁻¹³ これらの抗体は、DNA ベースの検査では不十分な限られたサンプルサイズの場合に適用される可能性があります。IHC 反応が陽性であれば、その変異に関連している可能性が高いです。しかし、この抗体は、第 1 世代の EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) に不感性の EGFR エクソン 20 挿入変異と交差反応を示す可能性があり、エクソン 19 欠失の検出率は異なる可能性があります。エクソン 20 挿入 (A769 挿入 ASV および D770 挿入 SVD) が抗体陽性となった研究が 1 件あり、¹⁰ エクソン 19 欠失 (ELREA 以外の 5 アミノ酸欠失) は検出されない可能性があります。¹¹ 重要なことは、染色が陰性であっても、臨床的に対処可能な EGFR 変異の存在が除外されるわけではないということです。

BRAF V600E 変異に対する変異特異的抗体も開発されており^{14, 15}、高感度です。EGFR 変異特異的抗体とは対照的に、BRAF V600E 変異特異的 IHC は非 V600E 変異との交差反応がありません。¹⁶

変異特異的抗体による感度の高さは、この IHC 法がそれぞれの特化変異を検出するスクリーニングツールとして使用される可能性を示唆しています。とはいえ、IHC 陰性症例では、同じ遺伝子に他の変異が存在する可能性がありますさらに、分子アッセイによる確認が必要な場合もあります。

IHC による遺伝子再構成の検出またはスクリーニング

ALK タンパク質は正常肺組織では発現しないため、ALK タンパク質のような野生型抗体を用いた予測 IHC 検査は、ALK に対して高感度かつ特異的です。¹⁷⁻¹⁹ 対照的に、ROS1 や NTRK の IHC は特異性が低いため、再構成の存在を証明するには、オリゴトープ技術 (FISH または NGS など) が必要です。^{20, 21} ROS1 IHC の感度は高く、スクリーニングに適していますが、NTRK IHC の感度は約 80% であり^{22, 23}、ほとんどの NTRK 融合を検出できる可能性があります、すべてを検出できるわけではありません。

蛍光 in situ ハイブリダイゼーション

ALK タンパク質は正常肺組織では発現しないため、ALK タンパク質のような野生型抗体を用いた予測 IHC 検査は、ALK に対して高感度かつ特異的です。17-19 対照的に、ROS1 や NTRK の IHC は特異性が低いため、再構成の存在を証明するには、オリゴトープ技術 (FISH または NGS など) が必要です。20,21 ROS1 IHC の感度は高く、スクリーニングに適していますが、NTRK IHC の感度は約 80% であり^{22,23}、ほとんどの NTRK 融合を検出できる可能性があります、すべてを検出できるわけではありません。

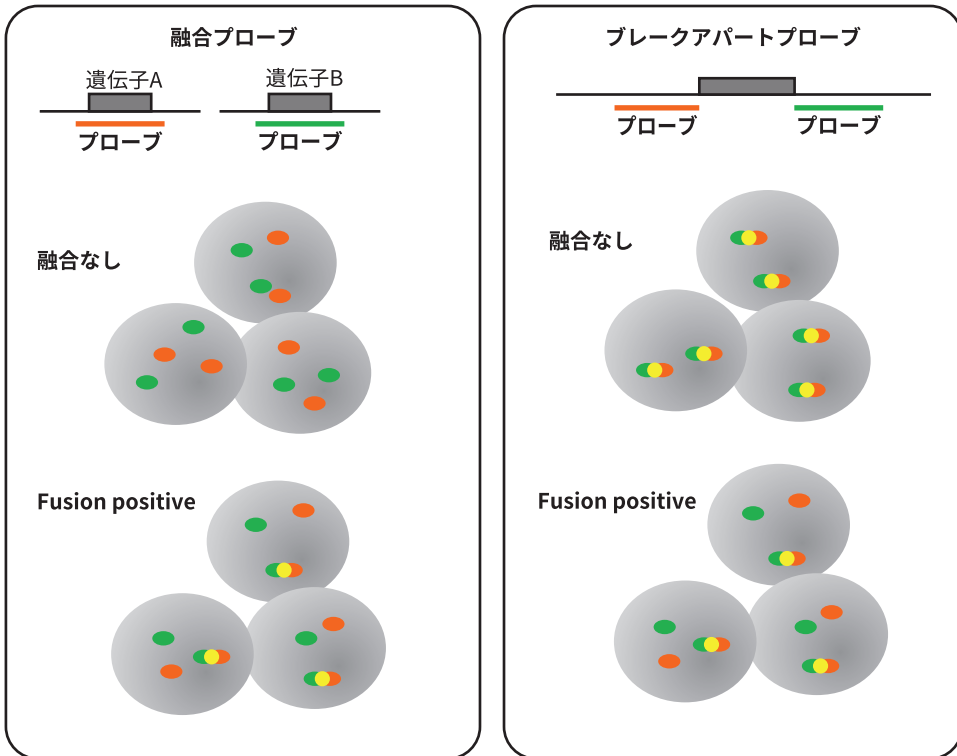


図 5-2. 転座検出のための融合プローブと分離プローブを用いた蛍光 in situ ハイブリダイゼーション。

せん。FISH には、染色体列挙プローブ (CEP) と遺伝子 / 座特異的同定 (LSI) プローブなど、いくつかの基本的なプローブが使用されます。CEP は、染色体数を反映するため、ポリソミー (多染色体性) と真の遺伝子増幅を区別するためによく用いられます。

再構成の検出

染色体再構成の融合と分断を検出するために 2 種類の FISH プローブが設計されています (図 5-2)。融合プローブセットは 2 つの異なる遺伝子座に対する異なる標識プローブで構成されています。2 つの融合遺伝子は通常互いに近接して配置されていません。2 つのプローブが近接している細胞では、偽陽性シグナルが生じる可能性があります。したがって、各検査室は陰性対照検体で検査し、融合パターンを含む核の割合のカットオフ基準を作成する必要があります。分離型プローブは、同じ遺伝子にハイブリダイズしますが、転座断点の反対側にある領域に特異的な 2 つの異なる標識プローブから構成されています。この分離戦略は、いわゆる多能性遺伝子 (*ALK* など) を伴う転座を検出する上で特に有用です。これらの遺伝子では、複数のパートナー遺伝子で融合が起こる可能性があります。通常、遺伝子転座の有無を診断するには、2 つのシグナル間の距離と、分離したシグナルを示す核の最小割合 (*ALK* では 15%) が定義されます。²⁴

遺伝子増幅の検出

遺伝子増幅アッセイは、標的遺伝子に特化したプローブを用いるため、しばしば対応するセントロメアの異なる標識プローブと組み合わせます。増幅設定では複数の標的遺伝子シグナルが観察され、標的遺伝子シグナルとセントロメアシグナルの比率の計算で、低い増幅レベルであっても全染色体ポリソミーと区別できます。

FISH 分析用サンプル

FISH プロトコルを使用して組織または細胞検査サンプルを正常に分析するには、適切な固定と、アーカイブパラフィンブロックの保管条件が必要です。^{25, 26} 強酸性溶液で処理した組織は FISH アッセイに適していません。一方、エチレンジアミンテトラ酢酸 (EDTA) またはホルム酸による軽度のデカルシフィケーションは通常、検査性能に影響を与えません。米国病理学会 (CAP)、分子病理学協会 (AMP)、国際肺癌学会 (IASLC)、などの病理学実践ガイドラインで概説されている前分析手順の推奨事項に従う必要があります。^{27, 28} TAT は、さまざまな FISH プロトコルによって判定されます。全体として、シンプルで自動化されたプロトコルの方が、手動プロトコルよりも優れています。一般に、基本的手順は IHC と同様で、1 日目に約 3 ~ 4 時間、2 日目に約 30 分を要する 2 日間のアッセイです。検査室のワークフローによっては、解釈のためにさらに 1 日必要な場合もあります。

FISH アッセイの選択

米国食品医薬品局 (FDA) 承認の FISH アッセイは現在市販されていますが、一部の検査室では、通常より費用対効果の高い独自の「自家製」プローブの開発を選択する場合があります。バクテリア人工染色体などのクローニングベクターは、自家製 FISH プローブの優れたソースです。PCR を用いた目的の DNA 配列のスクリーニング、またはメタフェース FISH の実施により、正しいクローンが得られたことを確認することが不可欠です。FDA 承認の市販キットを使用する場合でも、臨床検査に使用するプローブセットは詳細に特性化されるべきであり、正確で精密な結果を得るためには、正常対照と既知の異常患者検体および / または細胞株でカットオフ値が再現性のある性能を示す必要があります。²⁷ 特異性と感度は、市販のものと同様である必要があります。検査室で開発したプローブの使用を選択する検査室では、クローン、DNA ラベリング酵素、その他の試薬のバッチ変動にも注意を払う必要があります。²⁷

PCR、RT-PCR、ddPCR

ポリメラーゼ連鎖反応

PCR は、DNA を増幅する方法で、SNV/indel 型の突然変異の検出に一般に使用されます。生検組織中に残存する DNA は極めて微量であるため、直接分析するためには組織 DNA を PCR で増幅する必要があります。さらに、EGFR のような癌原性変異は 2 つの対立遺伝子のうち 1 つで起こり、臨床検体には常に非腫瘍性の組織が混在しています。そのため、変異対立遺伝子を検出するためのさまざまなアプローチが開発され、臨床的

に実行可能なアッセイとして確立されています。EGFR 変異検出において一般的に使用され、承認されているアッセイは以下の通りです。

対立遺伝子特異的リアルタイム PCR アッセイ

主要な対立遺伝子特異的リアルタイム PCR アッセイは、変異配列に相補的なプローブを用い、特定の技術で変異対立遺伝子を同定するものです。Therascreen (Qiagen)

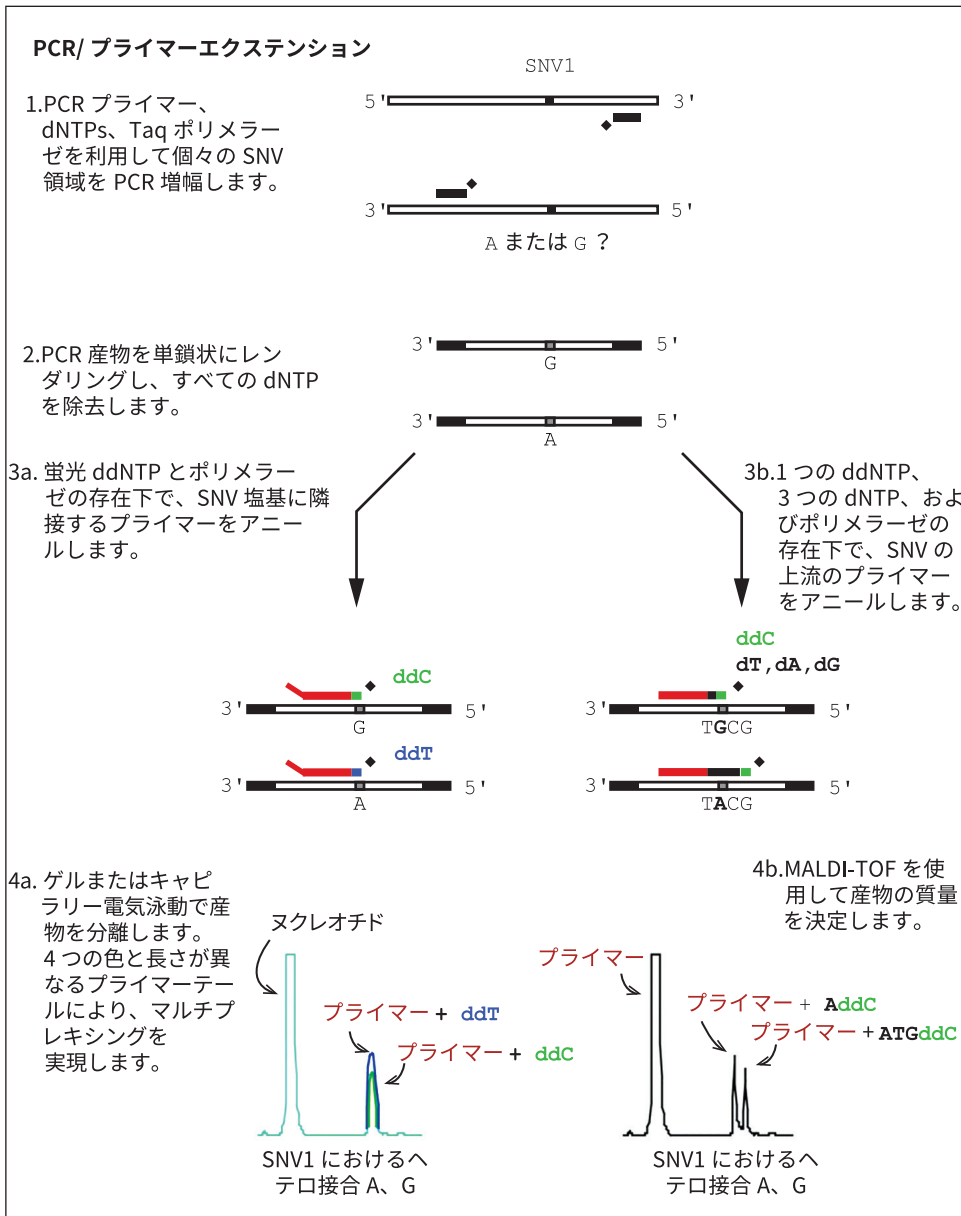


図 5-3. 一塩基延長アッセイの一般的スキーム。³¹ 略語: dNTP = deoxynucleotide triphosphate (デオキシヌクレオチド三リン酸)、ddNTP = dideoxynucleotide triphosphate (ジデオキシヌクレオチド三リン酸)、MALDI-TOF = matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight [mass spectrometry] (マトリックス支援レーザー脱離/イオン化飛行時間質量分析 [質量分析計])、PCR = polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)、SNV = single nucleotide variant (一塩基変異)。

は Scorpion プローブを使用する²⁹が、Cobas システム (Roche Diagnostics) では、補足配列とハイブリダイズされたときに 5'-3' エキソヌクレアーゼ活性に基づいて、リポーター染料と消光剤ラベル化されたプローブの置換と切断で変異を検出します。Amoy Diagnostics (AmoyDx) は TaqMan プローブを使用し、Taq ポリメラーゼを使用する Cobas と同様の検出システムです。これらのシステムでは、変異シグナルは蛍光レベルの増加として検出することができます。

一塩基プライマー伸長アッセイ

一塩基プライマー伸長アッセイでは、変異部位など、標的領域が PCR によって増幅されます。変異部位に隣接するプローブをアニーリングし、区別可能なジデオキシヌクレオチドを使用して一塩基伸長が行われます。組み込み塩基における変異型対立遺伝子と野生型対立遺伝子の違いは、蛍光染料 (SNaPshot [ThermoFisher Scientific]) または質量分析 (MassArray [Agena Bioscience]) によって検出されます (図 5-3)。

逆転写ポリメラーゼ連鎖反応

RT-PCR は、DNA PCR では長いイントロン配列のため、検出の難しい融合遺伝子の検出に一般に使用します。さまざまな融合パターンをカバーするため、複数のプライマーセットを用いた多重 PCR が一般的です。たとえば、異なる *EML4-ALK* 融合をカバーするために、マルチプレックス PCR 用に 6 種類のプライマーセットが開発されています。³⁰

液滴デジタルポリメラーゼ連鎖反応

液滴デジタル PCR (ddPCR) では、サンプル DNA は小容量のコンパートメントに限界希釈されます。理想的には、各コンパートメント内に含まれる標的分子は 1 つだけです。コンパートメント内の PCR による陽性増幅、標的分子の存在を示します。微小反応単位における存在の有無の分布に基づいて、標的分子のコピー数 / 密度がポアソン分布 (デジタル PCR) で推定されます。³¹ 微小反応単位を作成するため、水油エマルジョン滴技術は、ddPCR に高スループット、コスト効率の良いアッセイを提供します。ddPCR は高感度で正確な定量が可能なため、液体生検 (図 5-4) からの循環腫瘍 DNA (ctDNA) 分析に適した手法です。

次世代シーケンシング

基本原則

NGS は、腫瘍分子特性の解析に特化した高スループット並列シーケンシングアプローチを実現します。

標的全ゲノムシーケンシング / 全エクソームシーケンシング

全ゲノムシーケンシング (WGS) / 全エクソームシーケンシング (WES) は、新しい疾患ドライバーやバイオマーカー³⁴を検出して特性を解明するために、大規模な腫瘍コホー

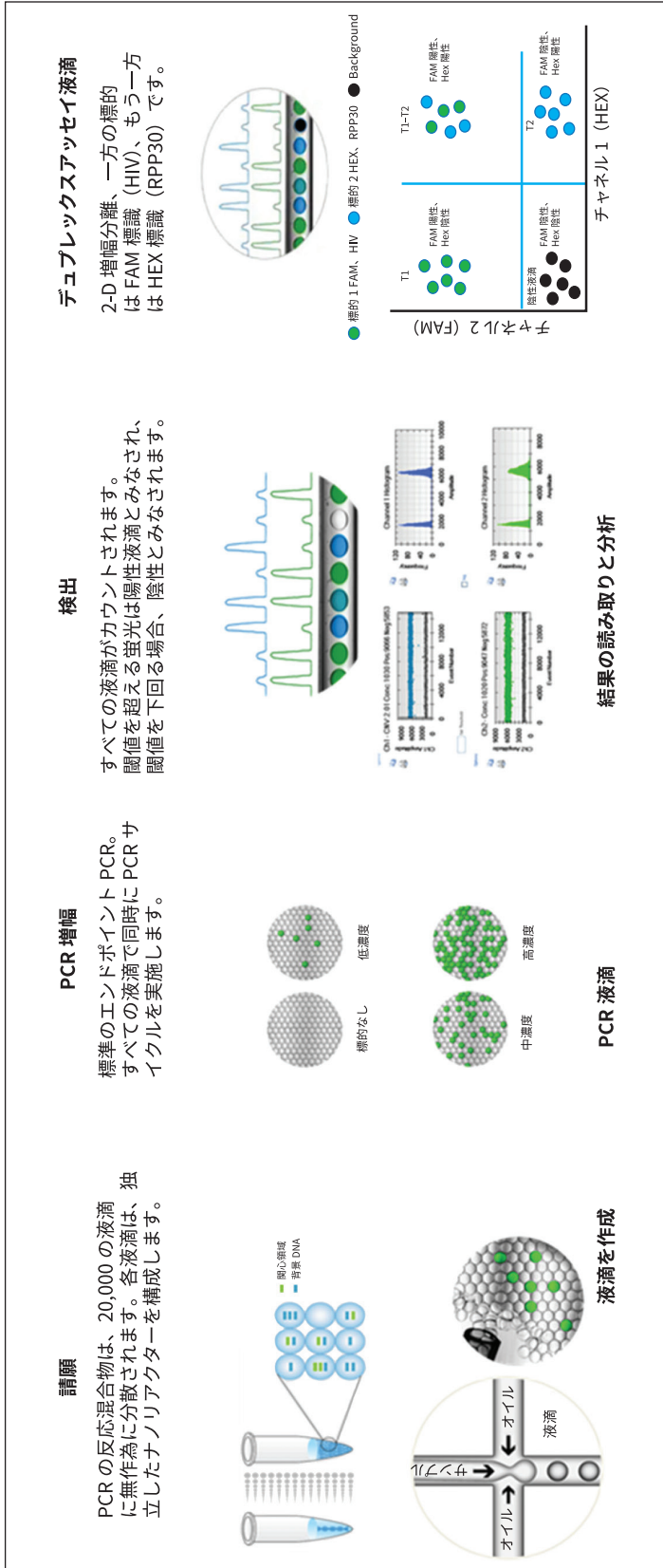


図 5-4. Bio-Rad ddPCR システムを使用した液滴デジタルポリメラーゼ連鎖反応 (ddPCR) アッセイのワークフロー。 33

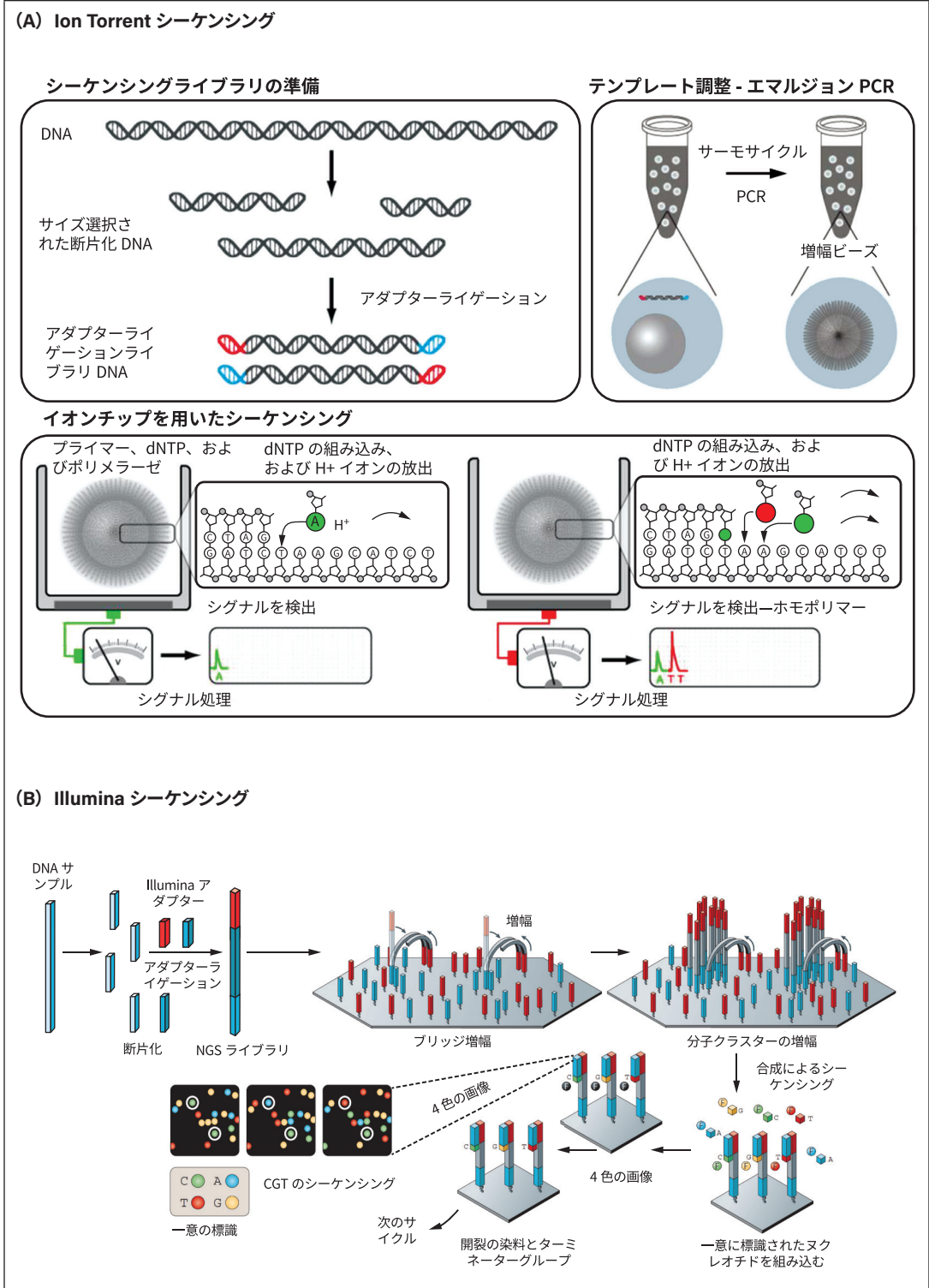


図 5-5. (A) ThermoFisher Scientific Ion Torrent と (B) Illumina システムのシーケンシングプラットフォーム。³⁸
 略語：dNTP = deoxynucleotide triphosphate (デオキシヌクレオチド三リン酸)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、PCR = polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)。

トで適用されますが、臨床現場では標的化 NGS シーケンシングが一般的に使用されま
す。合成によるシーケンシング原理は、この技術の核です。³⁵ 簡単に言えば、腫瘍サン
プルから分離された DNA 断片は、配列に接続され、逆補完 DNA 断片（リード）を
順次合成することで並行してシーケンスされます。NGS 装置は、このプロセスを大規模
に並列で実施できるため、1 日で最大 100 億リードのシーケンスが可能です。

シーケンシング技術

並列シーケンシングには、異なる原理に基づく 2 つの主要なプラットフォームがありま
す（図 5-5）。Ion Torrent PGM システム（ThermoFisher Scientific）では、特定の
アダプター配列を持つ DNA 断片を 1 分子に希釈してエマルジョン PCR を行い、増幅産
物をビーズ表面に連結します（図 5-5A）。次に、ビーズをプロトン感知ウェルにロード
し、配列決定が進むにつれて、1 つのデオキシヌクレオチド三リン酸（dNTP）がアダプ
ター部位から順次取り込まれ、放出プロトンを伴います。組み込みヌクレオチドに応じ
て放出されるプロトン数の違いは、ヌクレオチド配列に変換されます。この半導体シー
ケンサーでは、1 回の実行で生成されるデータ量は若干少なくなりますが、リードが長い
（～ 400 bp）ため、実行時間は短くなります。

一方、Illumina HiSeq システムは、ブリッジ PCR とそれに続く合成によるシーケンス
という 2 つのステップを使用する、異なる方法を採用しています（図 5-5B）。2 つの異
なるアダプター配列の末端結合後、変性した標的 DNA をフローセル上に予め固定し
た 5' 末端および 3' 末端アダプター配列とハイブリダイズされます（ブリッジ形成）。この
状態で、DNA ポリメラーゼは DNA 伸長反応を実行し、DNA を変性させて 2 つの単
一鎖 DNA 断片を生成します。その後、ブリッジ結合、伸長、変性反応を繰り返すことで、

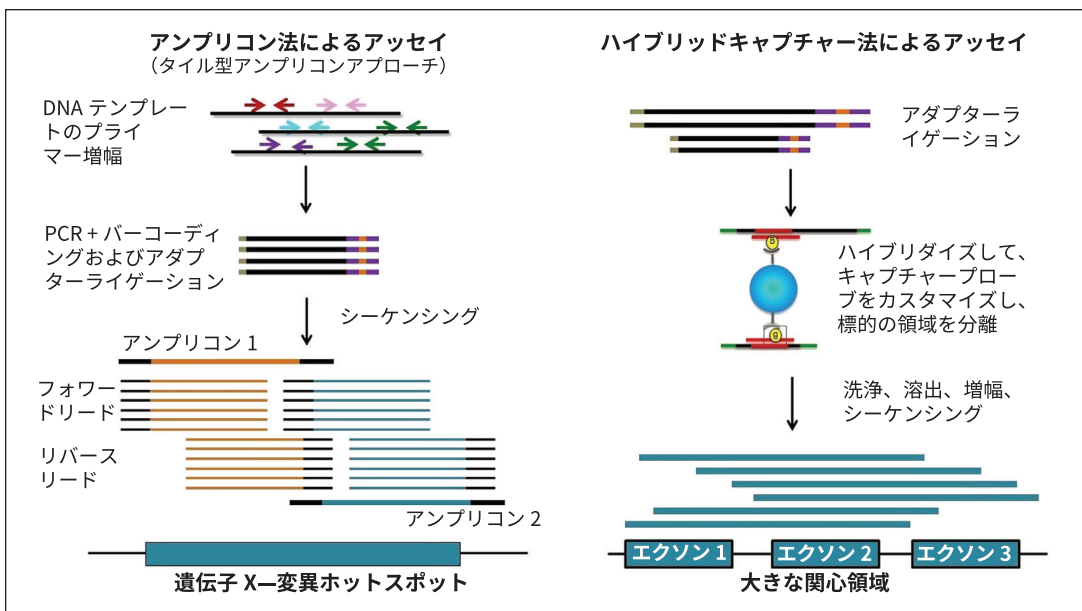


図 5-6. 増幅ベースアッセイとハイブリッド捕獲ベースアッセイの比較。略語：PCR = polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)。

大量の単一鎖 DNA 断片を局部的に増幅し、フローセル（ブリッジ PCR）にクラスターとして固定できます。シーケンシングでは、DNA ポリメラーゼによって 3' 末端ブロッキング蛍光性 dNTP の一塩基伸長が行われます。その後、塩基に結合した蛍光色素をレーザー光で励起し、その発光を写真として記録します。A、C、G、T の 4 枚の写真を撮影し、個々のクラスターに含まれる 4 種類の塩基を決定します。このプロセスは、全長の塩基配列が決定されるまで繰り返されます。

NGS（次世代シーケンシング）を腫瘍検体に適用する際の重要な判断は、シーケンシングの対象となる領域の選択です。一般的な標的 NGS アッセイでは、癌に関連する 100 ～ 500 の遺伝子に焦点を当てます。逆に、ヒトの全遺伝子または全ゲノムをシーケンスするアッセイは、一般的にそれぞれ WES および WGS と呼ばれます。³⁶ 標的アッセイと広範囲（WES/WGS）アッセイの間には明確なトレードオフが生じます。標的アッセイは通常、選択した遺伝子変異を検出するシーケンシングの深さと感度がさらに高くなります。対照的に、WES/WGS は、シーケンシング深度は低いですが、新規バイオマーカー変異や構造変異を発見する可能性は高くなります。これらの広範なアッセイは通常、さらに多くのシーケンシングデータ、さらに高い計算能力、さらに長い TAT を必要とし、標的アッセイと比較してコストが高くなるがよくあります。³⁷

アンプリコンとハイブリッドキャプチャー

標的シーケンシングを行う場合、もう一つの重要な意思決定ポイントは、関心のある遺伝子で DNA 断片を選択および濃縮する際に使用する技術です。一般に使用する 2 つの手法は、アンプリコンシーケンシングとハイブリッドキャプチャー（図 5-6）です。³⁶ どちらもほとんどのプラットフォームでサポートされます（たとえば、AmpliSeq Focus Panel と TruSight Oncology 500 はそれぞれ、Illumina プラットフォームの増幅技術とキャプチャー富集技術としてサポートされています）。

ハイブリッドキャプチャーは、選択した遺伝子から DNA 断片を結合して捕捉するために、相補的な DNA プローブを使用します。アンプリコンシーケンシングは、プライマーと多重 PCR 増幅を使用して、目的の遺伝子から DNA 断片を選択し濃縮します。アンプリコンシーケンシングは、より少量の入力 DNA から作業できるため、潜在的に有利です。しかし、PCR 増幅から得られるデータに対立遺伝子特異的なバイアスが生じるリスクがあります。また、アンプリコンシーケンシングは、シーケンスできる遺伝子 / 領域の数に制限があり、通常は小さな遺伝子パネルまたはホットスポット領域に制限されます。逆に、ハイブリッドキャプチャーにはそのような制限がなく、全エクソームまでスケールアップできます。³⁷ さらに、ハイブリッドキャプチャーによるプローブベースの DNA 断片選択は、融合タンパク質の検出にも適しています。³⁶

腫瘍細胞含量

サンプルの腫瘍細胞含有量（腫瘍細胞性または腫瘍純度とも呼ばれます）は、NGS の実施に重要な考慮事項です。腫瘍検体によっては、間質細胞や免疫細胞などの非腫瘍性組織が混在しているため、腫瘍細胞の数や割合が少ない場合があります。非

表 5-2. 現在公表されている NGS パネルテストの例

ソース	組織生検			両方			液体生検		
	DNA	RNA	DNA	RNA	DNA	DNA	DNA	DNA	DNA
パネル名	FoundationOne CDx (Foundation Medicine)	TruSight Tumor 26 検査 (Illumina)	Archer FusionPlex Lung (Invitae)	Oncomine Dx Target Test (ThermoFisher Scientific)	TruSight Oncology Comprehensive (Illumina)	FoundationOne Liquid (Foundation Medicine)	Archer LiquidPlex (Invitae)	Guardant 360 (Guardant Health)	PlasmaSELECT (Personal Genome Diagnostics)
資料既読	腫瘍 DNA	腫瘍 DNA	腫瘍 RNA	腫瘍 DNA または RNA	腫瘍 DNA または RNA	循環腫瘍 DNA	循環腫瘍 DNA	循環腫瘍 DNA	循環腫瘍 DNA
絞り込み	ハイブリッドキャプチャー	増幅	ハイブリッドキャプチャー	増幅	ハイブリッドキャプチャー	ハイブリッドキャプチャー	ハイブリッドキャプチャー	ハイブリッドキャプチャー	ハイブリッドキャプチャー
サンプルル必要	固定切片組織； 50-1000 ng DNA	固定切片組織； 30-300 ng	固定切片組織； 10 ng RNA	固定切片組織； 10 ng DNA, 10 ng RNA	FFPE 組織、2.0 mm 以上 ³ または 40 ng DNA と 40 ng RNA	2 × 8.5 mL の血液サンプル	5-10 ng DNA	5-30 ng DNA の抽出に 10 mL の血液サンプル必要	2 × 10 mL の血液サンプル
遺伝子数	324 個の遺伝子と 36 個の融合	26 個の遺伝子	17 個の遺伝子と 16 個の融合	23 個の遺伝子と 21 個の融合	523 個の遺伝子と 55 個の融合	70 個の遺伝子	28 個の遺伝子	73 個の遺伝子	64 個の遺伝子
所要時間	2 週間以上	2 ~ 3 日	2 日間	3 日間	1 週間以内	2 週間以上	2 ~ 3 日	7 日間	報告なし

略語：FFPE = formalin-fixed paraffin-embedded (パラフィン包埋固定標本)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)。

腫瘍細胞の DNA は、変異シグナルを希釈し、NGS による体細胞変異の呼び出しプロセスに悪影響を及ぼすため、腫瘍細胞含有率が低い検体では変異およびコピー数変異の検出感度が低下します³⁶ この問題は、より深いシーケンシングを実施することで部分的に軽減できますが、実行可能な場合は、腫瘍細胞含有率の高い検体を優先して NGS 解析を行う方が費用対効果の高い戦略である可能性があります³⁷ 標準値として、ほとんどの NGS パネルは腫瘍細胞含有率 20% 以上を対象として設計されています。

腫瘍遺伝子変異量の推定

腫瘍遺伝子変異量 (TMB) は、免疫チェックポイント阻害に対する応答のバイオマーカーとして出現し⁴⁰、標的となる遺伝的变化を特定するために使用される同じアッセイで評価できます。TMB は、解析されたゲノム配列のメガベースあたりの体細胞変異の数として定義され、NGS では、大量の遺伝子にわたって体細胞変異を並列的かつ偏りなく検出できるため、検体中の TMB を定量的に推定することができます。ただし、NGS 遺伝子パネルが小さすぎると、TMB を確実に推定できない可能性があります。⁴⁰ さらに、腫瘍細胞の含量は NGS アッセイの変異検出感度に影響を与える可能性があるため、腫瘍細胞の含量も TMB 推定の潜在的な交絡変数として考慮する必要があります。⁴¹

市販のパネル検査

表 5-2 に現在一般的に使用されている市販のパネル検査を示します。個々のパネルの特徴は以下の通りです。

標的核酸 (DNA ベース、RNA ベース、または両方)

DNA は RNA よりも安定しているため、DNA ベースパネルは RNA ベースパネルよりも早期に確立されています。ただし、DNA パネルにはいくつかの制限があります。⁴² *NTRK* などの大きなあるいは反復的イントロンや欠失を伴う特定の遺伝子の再構成は、DNA ベース分析では検出されない可能性があります。したがって、DNA/RNA ハイブリッドパネル、シーケンシャルパネルテスト (DNA パネルなどで陰性結果が得られた場合は RNA パネルシーケンシング) などの他のアプローチを活用できます。

絞り込み方法 (ハイブリッドキャプチャーとアンプリコン)

少量の生検組織や迅速な TAT が必要な場合はアンプリコンシーケンスが有効ですが、ハイブリッドキャプチャーシーケンシングを使用した包括的なゲノム解析では、臨床試験の可能性のあるさらなる変異の評価を可能にします。

遺伝子カバー範囲

標的パネルの性質により、主要な変異を含めても、パネルの遺伝子カバー範囲は同一ではありません。さらに、12 bp 以上の大きな indel 検出性能は、バイオインフォマティクスツールの選択によりパネル間で異なります。

必要な DNA/RNA 入力

個々のアッセイで必要とされる DNA/RNA 入力は異なります。推奨されるサイズの組織を使用しても、抽出された DNA/RNA の収量は、おそらく組織固定やブロックや未染色切片の保存などの要因に関連して異なる場合があります。特に、脱石灰化標本、不適切に固定された組織、老化したブロック（5年以上）は、標準的 FFPE サンプルと比較して収量が低い可能性があります。

結論

この章では、肺癌の分子バイオマーカーを臨床的に検出するために現在利用可能なさまざまな技術について、その長所と短所、さまざまな遺伝子変異やタンパク質の変化を同定する能力を含め、幅広く概観しました。すべてのバイオマーカーに対応できる技術はなく、この分野の急速な進歩を考えると、肺癌患者に効率的で最適な臨床治療を提供するためには、現在および新たな技術を理解することが不可欠です。

参考文献

1. Supek F, Miñana B, Valcárcel J, Gabaldón T, Lehner B. Synonymous mutations frequently act as driver mutations in human cancers. *Cell*. 2014;156(6):1324-1335. doi:10.1016/j.cell.2014.01.051.
2. Yatabe Y, Borczuk AC, Cooper WA, et al, eds. *IASLC Atlas of Diagnostic Immunohistochemistry*. International Association for the Study of Lung Cancer;2020.
3. Prinsen CF, Klaassen CH, Thunnissen FB. Microarray as a model for quantitative visualization chemistry. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2003;11(2):168-173. doi:10.1097/00129039-200306000-00014.
4. Merritt CR, Ong GT, Church SE, et al. Multiplex digital spatial profiling of proteins and RNA in fixed tissue. *Nat Biotechnol*. 2020;38:586-599.
5. Fitzgibbons PL, Bradley LA, Fatheree LA, et al. Principles of analytic validation of immunohistochemical assays: Guideline from the College of American Pathologists Pathology and Laboratory Quality Center. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(11):1432-1443. doi:10.5858/arpa.2013-0610-CP.
6. Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, et al. PD-L1 immunohistochemistry comparability study in real-life clinical samples: results of blueprint phase 2 project. *J Thorac Oncol*. 2018;13(9):1302-1311. doi:10.1016/j.jtho.2018.05.013.
7. Dodson A, Parry S, Lissenberg-Witte B, et al. External quality assessment demonstrates that PD-L1 22C3 and SP263 assays are systematically different. *J Pathol Clin Res*. 2020;6(2):138-145. doi:10.1002/cjp2.153.
8. Thunnissen E. How to validate predictive immunohistochemistry testing in pathology? A practical approach exploiting the heterogeneity of programmed death ligand-1 present in non-small cell lung cancer. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(1):11-12. doi:10.5858/arpa.2018-0410-ED.
9. Kawahara A, Yamamoto C, Nakashima K, et al. Molecular diagnosis of activating EGFR mutations in non-small cell lung cancer using mutation-specific antibodies for immunohistochemical analysis. *Clin Cancer Res*. 2010;16(12):3163-3170. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-3239.
10. Kitamura A, Hosoda W, Sasaki E, Mitsudomi T, Yatabe Y. Immunohistochemical detection of EGFR mutation using mutation-specific antibodies in lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2010;16(13):3349-3355. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-0129.
11. Simonetti S, Molina MA, Queralt C, et al. Detection of EGFR mutations with mutation-specific antibodies in stage IV non-small-cell lung cancer. *J Transl Med*. 2010;8:135. doi:10.1186/1479-5876-8-135.

12. Brevet M, Arcila M, Ladanyi M. Assessment of EGFR mutation status in lung adenocarcinoma by immunohistochemistry using antibodies specific to the two major forms of mutant EGFR. *J Mol Diagn*. 2010;12(2):169-176. doi:10.2353/jmoldx.2010.090140.
13. Jiang G, Fan C, Zhang X, et al. Ascertaining an appropriate diagnostic algorithm using EGFR mutation-specific antibodies to detect EGFR status in non-small-cell lung cancer. *PLoS One*. 2013;8(3):e59183. doi:10.1371/journal.pone.0059183.
14. Sasaki H, Shimizu S, Tani Y, et al. Usefulness of immunohistochemistry for the detection of the BRAF V600E mutation in Japanese lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2013;82(1):51-54. doi:10.1016/j.lungcan.2013.06.014.
15. Ilie M, Long E, Hofman V, et al. Diagnostic value of immunohistochemistry for the detection of the BRAFV600E mutation in primary lung adenocarcinoma Caucasian patients. *Ann Oncol*. 2013;24(3):742-748.
16. Seto K, Haneda M, Masago K, et al. Negative reactions of BRAF mutation-specific immunohistochemistry to non-V600E mutations of BRAF. *Pathol Int*. 2020;70(5):253-261. doi:10.1111/pin.12903.
17. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology [published correction appears in *J Thorac Oncol*. 2013;8(10):1343]. *J Thorac Oncol*. 2013;8(7):823-859. doi:10.1097/JTO.0b013e318290868f.
18. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):321-346. doi:10.5858/arpa.2017-0388-CP.
19. Cutz JC, Craddock KJ, Torlakovic E, et al. Canadian anaplastic lymphoma kinase study: a model for multicenter standardization and optimization of ALK testing in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2014;9(9):1255-1263. doi:10.1097/JTO.0000000000000239.
20. Thunnissen E, Allen TC, Adam J, et al. Immunohistochemistry of pulmonary biomarkers: a perspective from members of the Pulmonary Pathology Society. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):408-419. doi:10.5858/arpa.2017-0106-SA.
21. Penault-Llorca F, Rudzinski ER, Sepulveda AR. Testing algorithm for identification of patients with TRK fusion cancer. *J Clin Pathol*. 2019;72(7):460-467. doi:10.1136/jclinpath-2018-205679.
22. Gatalica Z, Xiu J, Swensen J, Vranic S. Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions. *Mod Pathol*. 2019;32(1):147-153. doi:10.1038/s41379-018-0118-3.
23. Hsiao SJ, Zehir A, Sireci AN, Aisner DL. Detection of tumor NTRK gene fusions to identify patients who may benefit from tyrosine kinase (TRK) inhibitor therapy. *J Mol Diagn*. 2019;21(4):553-571. doi:10.1016/j.jmoldx.2019.03.008.
24. Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S, et al. Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the Western population [published correction appears in *Clin Cancer Res*. 2009;15(22):7110]. *Clin Cancer Res*. 2009;15(16):5216-5223. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-0802.
25. Cook JR. Paraffin section interphase fluorescence in situ hybridization in the diagnosis and classification of non-Hodgkin lymphomas. *Diagn Mol Pathol*. 2004;13(4):197-206. doi:10.1097/01.pdm.0000135286.05198.89.
26. Hunt JL. Molecular pathology in anatomic pathology practice: a review of basic principles. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(2):248-260. doi:10.5858/2008-132-248-MPIAPP.
27. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358. doi:10.1016/j.jtho.2017.12.001.

28. Roy-Chowdhuri S, Dacic S, Ghofrani M, et al. Collection and handling of thoracic small biopsy and cytology specimens for ancillary studies: guideline from the College of American Pathologists in collaboration with the American College of Chest Physicians, Association for Molecular Pathology, American Society of Cytopathology, American Thoracic Society, Pulmonary Pathology Society, Papanicolaou Society of Cytopathology, Society of Interventional Radiology, and Society of Thoracic Radiology. *Arch Pathol Lab Med*. 2020;10.5858/arpa.2020-0119-CP. doi:10.5858/arpa.2020-0119-CP.
29. Whitcombe D, Theaker J, Guy SP, Brown T, Little S. Detection of PCR products using self-probing amplicons and fluorescence. *Nat Biotechnol*. 1999;17(8):804-807. doi:10.1038/11751.
30. Takeuchi K, Choi YL, Soda M, et al. Multiplex reverse transcription-PCR screening for EML4-ALK fusion transcripts. *Clin Cancer Res*. 2008;14(20):6618-6624. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1018.
31. Vogelstein B, Kinzler KW. Digital PCR. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(16):9236-9241. doi:10.1073/pnas.96.16.9236.
32. Kirk BW, Feinsod M, Favis R, Kliman RM, Barany F. Single nucleotide polymorphism seeking long term association with complex disease. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(15):3295-3311. doi:10.1093/nar/gkf466.
33. Chung HK, Hattler JB, Narola J, et al. Development of droplet digital PCR-based assays to quantify HIV proviral and integrated DNA in brain tissues from viremic individuals with encephalitis and virally suppressed aviremic individuals. *Microbiol Spectr*. 2022;10(1):e0085321. doi:10.1128/spectrum.00853-21.
34. Garraway LA, Lander ES. Lessons from the cancer genome. *Cell*. 2013;153(1):17-37. doi:10.1016/j.cell.2013.03.002.
35. Shendure J, Balasubramanian S, Church GM, et al. DNA sequencing at 40: past, present and future [published correction appears in *Nature*. 2019;568(7752):E11]. *Nature*. 2017;550(7676):345-353. doi:10.1038/nature24286.
36. Gagan J, Van Allen EM. Next-generation sequencing to guide cancer therapy. *Genome Med*. 2015;7(1):80. doi:10.1186/s13073-015-0203-x.
37. Berger MF, Mardis ER. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(6):353-365. doi:10.1038/s41571-018-0002-6.
38. Anandhakumar C, Kizaki S, Bando T, Pandian GN, Sugiyama H. Advancing small-molecule-based chemical biology with next-generation sequencing technologies. *Chembiochem*. 2015;16(1):20-38. doi:10.1002/cbic.201402556.
39. Jennings LJ, Arcila ME, Corless C, et al. Guidelines for validation of next-generation sequencing-based oncology panels: a joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *J Mol Diagn*. 2017;19(3):341-365.
40. Budczies J, Allgäuer M, Litchfield K, et al. Optimizing panel-based tumor mutational burden (TMB) measurement. *Ann Oncol*. 2019;30(9):1496-1506. doi:10.1093/annonc/mdz205.
41. Anagnostou V, Niknafs N, Marrone K, et al. Multimodal genomic features predict outcome of immune checkpoint blockade in non-small-cell lung cancer. *Nat Cancer*. 2020;1(1):99-111. doi:10.1038/s43018-019-0008-8.
42. Benayed R, Offin M, Mullaney K, et al. High yield of RNA sequencing for targetable kinase fusions in lung adenocarcinomas with no mitogenic driver alteration detected by DNA sequencing and low tumor mutation burden. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4712-4722. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0225.

分子検査ガイドラインと実践 のグローバルな展望

6

執筆者：Deepali Jain、Wendy A. Cooper、Lizza E. Hendriks、Fred R. Hirsch、Mehdi Karkouri、Keith M. Kerr、Dongmei Lin、Ming-Sound Tsao、Yasushi Yatabe

ここ10年半の間に、肺癌、特に非小細胞肺癌（NSCLC）の管理は、標的療法を取り入れる方向へとますますシフトしています。^{1,2} 肺癌診断時の検査中、その後に行う分子検査は、患者を個別化治療に選択する予測バイオマーカーを特定する不可欠なツールとなっています。^{3,4} これらのバイオマーカーの大半は、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、シーケンスベース方式などの最新分子技術で検出され、迅速かつ正確な結果が得られます。さらに、患者の管理支援に必要な遺伝子検査は、特定の国内および地方の基準（たとえば、米国における臨床検査改善法（Clinical Laboratory Improvement Amendment）規制）に準拠した検査室で実施されることが強く推奨されています。さらに、複数の国際団体（米国病理学会 [CAP]、国際肺癌学会 [IASLC]、分子病理学協会 [AMP]、米国臨床腫瘍学会 [ASCO]、欧州腫瘍学会 [ESMO]、国立総合癌ネットワーク [NCCN]）が発行した複数のガイドラインでは、検査や治療の対象となる肺癌患者の選択、必要な検体、分子検査の方法とプラットフォームについて詳細な推奨がなされています^{3,5-7} 本章の目的は、世界レベルでの肺癌患者に対するこれらおよびその他の分子検査ガイドラインの実施の概要を提供することです。

ガイドラインの作成と指針

かつては、臨床的意思決定は担当医師の経験と技量に大きく依存していました。しかし、1991年にカナダのGuyattによりエビデンスに基づいた医療（EBM: evidence-based medicine）が提唱されると⁸、質の高い医療の必要性に対する社会的な意識の高まりとともに、その概念はさまざまな臨床分野に広がりました。現在の実践ガイドラインは、EBM概念に基づいた、2011年の米国医療研究所（IOM）の報告書「信頼できる臨床実践ガイドライン」⁹、に基づいています。この報告書では、実践ガイドラ

インの定義とガイドラインの開発方法を複数紹介しています。GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation: 推奨事項のアセスメント、策定、評価の等級付け) は、世界で最も広く使用されているシステムです。¹⁰ GLIDES (GuideLines Into Decision Support: 意思決定支援のガイドライン) は、2008年から2013年までに米国保健医療研究品質局 (AHRQ) との契約に基づくプロジェクトの結果として生まれたシステムです。¹¹ 両システムとも、システマティックレビューを通じてエビデンスレベルを決定します。最近の CAP/IASLC/AMP 分子検査ガイドラインは、このシステムを使用して作成されています。¹²

CAP/IASLC/AMP、ASCO、NCCN

CAP/IASLC/AMP 分子検査パネルのような特定のガイドラインは、検査室に焦点を当て、病理医および/または分子診断医に、資源集約的な分子検査法の使用を指示し、利用可能な標的療法に適した検査法の選択を確実にする権限を与えています。原典の CAP/IASLC/AMP ガイドラインは 2013 年に発表され、その後の国内外の取り組みのモデルとなっています。¹³ 原典のガイドラインとその 2018 年更新版は、ASCO から支持を得ており、NCCN ガイドラインの主要な参考文献となっています。^{5, 6, 14} これらの文書は、過去 10 年間における標的治療薬の承認ペースの速さとの相対的なタイミングの結果として、検査と治療の推奨事項が異なっています。CAP/IASLC/AMP ガイドラインは現在改訂中で 2024 年に最新版が出版される予定です。

European Society for Medical Oncology (欧州臨床腫瘍学会)

ESMO は肺癌患者管理のためのガイドラインを定期的に発表しており⁷、その中には欧州医薬品庁 (EMA) が治療法を承認している幅広い標的の検査に関する推奨も含まれています。⁷

EMA 承認は一定の容認を与えるものですが、各国の薬剤入手を保証するものではありません。少なくとも、各国の公衆衛生制度の状況では、各国は医薬品を承認し、程度の差こそあれ、検査を促進する可能性があります。そのため、検査を推進する主な決定要因は、関連する標的治療薬の入手可能性であり、このことは、地域の診療のばらつきを反映した無数の国別、あるいは地域別のガイドラインを生み出すことにつながります。推奨される検査対象は国によって異なります。ただし、*EGFR*, *ALK*, *ROS1*、および *PD-L1* はすべてのガイドラインで推奨されており、*BRAF*、および *NTRK* は大半で推奨されていますが、*KRAS*, *MET*, *RET* および *ERBB2 (HER2)* 検査は多くの国で取り上げられていません。¹⁵ 検査の提供は、検査室へのアクセスと検査の払い戻しの取り決めに依存します。¹⁵ 次世代シーケンシング (NGS) は ESMO および多くの国内ガイドラインで推奨事項として組み込まれていますが、NGS へのアクセスは普遍的ではありません。¹⁶ 欧州連合 (EU) 内のイニシアチブは、この格差への対処を目的としています。癌遺伝子中毒転移性 NSCLC に関する 2023 年 ESMO ガイドラインによると、検査に推奨されるバイオマーカーは、*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *RET*, *MET* (エ

表 6-1. 米国と欧州のガイドラインの概要

ガイドライン	母集団	標的	検査方法 ^a
CAP/IASLC/ AMP 2018	新規診断患者	EGFR	PCR/NGS
		ALK	IHC ± FISH
		ROS1	IHC (スクリーニング) および FISH/PCR/NGS
		RET, MET, ERBB2 (HER2), KRAS, BRAF	NGS の多重パネルの一部、最初に、または EGFR, ALK, ROS1 が陰性のとき
	標的治療で再発した患者	EGFR T790M (cfDNA/ 組織 DNA)	分析感度 5% (PCR ベース /NGS)
ESMO 2023 ^b	新規診断患者	EGFR	認証された方法でエクソン 18-21 の変異を検出する (DNA NGS 推奨)
		ALK	RNA NGS, IHC ± 分子確認 (NGS, FISH)
		ROS1	RNA NGS, IHC スクリーニング、分子確認必須 (NGS, FISH)
		RET, MET, NTRK, ERBB2 (HER2), KRAS, BRAF	DNA/RNA NGS パネル検査
		PD-L1	IHC
	EGFR T790M, MET (適切な場合) (cfDNA/ 組織 DNA)	PCR/NGS/ISH	
標的治療で再発した患者	EGFR (カテゴリー 1)	広範囲分子プロファイリング (NGS) ^c	
NCCN 2022	新規診断患者	ALK (カテゴリー 1)	広範囲分子プロファイリング (NGS)
		KRAS, ROS1, BRAF, NTRK1/2/3, MET エクソン 14 スキッピング、RET	
		PD-L1	
	標的治療で再発した患者	EGFR T790M とその他のゲノム耐性変異 (cfDNA/ 組織 DNA)	広範囲分子プロファイリング (NGS)

略語：AMP = Association for Molecular Pathology (分子病理学会)、ASCO = American Society of Clinical Oncology (米国臨床腫瘍学会)、CAP = College of American Pathologists (米国臨床病理医協会)、cfDNA = cell-free DNA (無細胞 DNA)、ESMO = European Society for Medical Oncology (欧州臨床腫瘍学会)、FISH = fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)、IASLC = International Association for the Study of Lung Cancer (国際肺癌学会)、IHC = immunohistochemistry (免疫組織化学法)、ISH = in situ hybridization (in situ ハイブリダイゼーション)、NCCN = National Comprehensive Cancer Network (全米総合がん情報ネットワーク)、NGS = next generation sequencing (次世代シーケンシング)、PCR = polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)。

^a マルチプレックスシーケンシングパネルは、単一遺伝子検査よりも優先されます。ASCO は BRAF 変異を追加したこれらのガイドラインを支持しました。⁵

^b ESMO 2023 ガイドライン。⁷

^c また、高レベルの MET 増幅や ERBB2 (HER2) 変異などの新興バイオマーカーを検出することを目指しています。

クソン 14 スキップと増幅)、NTRK、ERBB2 (HER2) 変異、EGFR エクソン 20 挿入変異、KRAS G12C 変異です。⁷ 米国と欧州のガイドラインの概要は、表 6-1 に示されています。

地域特有のバイオマーカー検査の実践

バイオマーカーの選択は、その国特有のニーズと資源の利用可能性に応じて、国によって異なります。多くの国にとって、予測バイオマーカーを同定する分子スクリーニングの

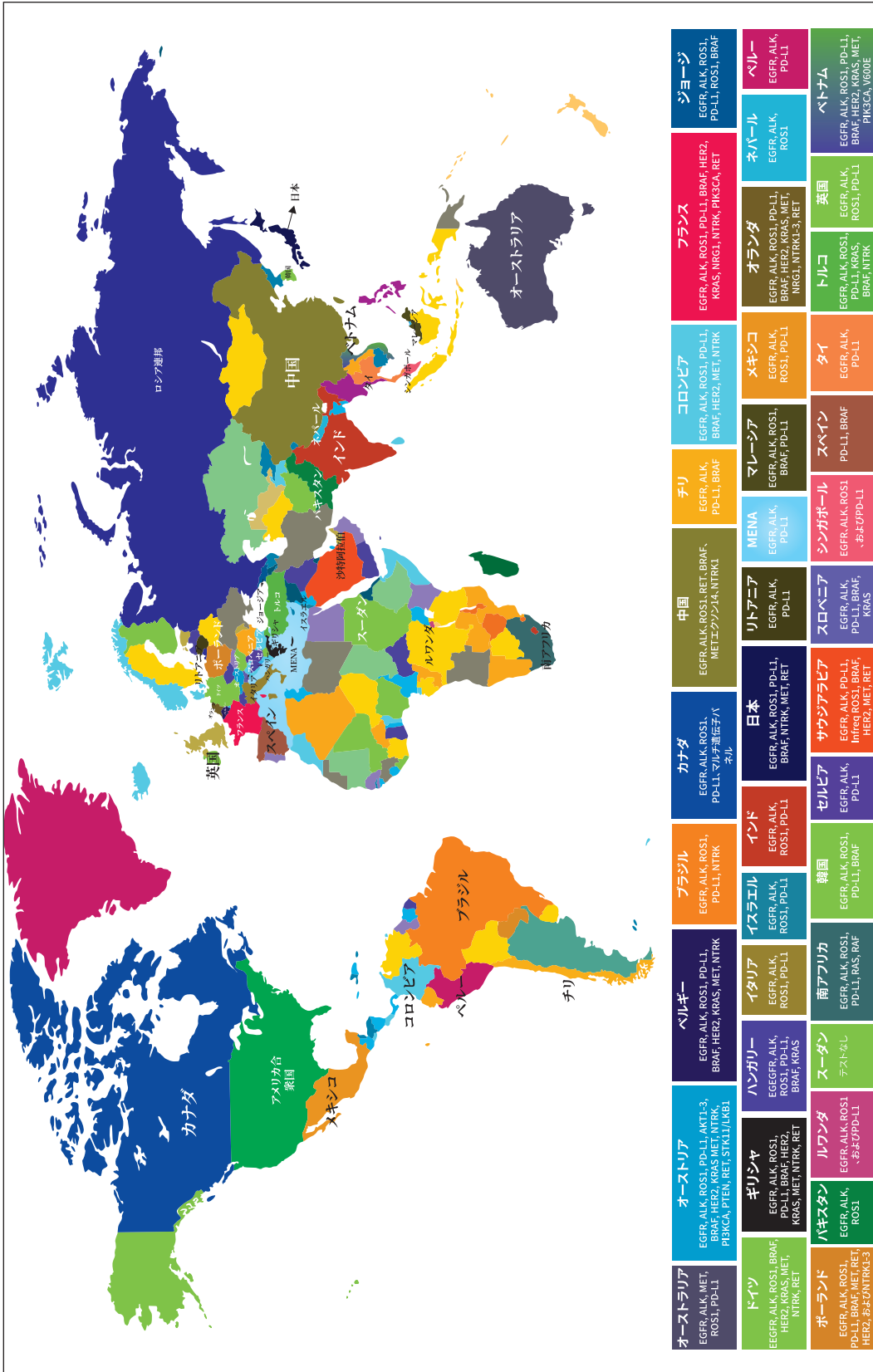


図 6-1. 世界地図上のさまざまな国々でテストされた予測バイオマーカー。略語：MENA = Middle East and North Africa (中東・北アフリカ)。(出典：Journal of Thoracic Oncology シリーズ。21)

ために、これらのバイオマーカー検査を実施することは、運用上および物流上の制約から困難です。^{15, 17, 18}したがって、大半の国では低所得国や中所得国だけでなく先進国も含め、それぞれの地域で独自のバイオマーカー検査を実施しています。どの国にも、分子検査の費用、検査インフラの利用可能性、技術的・解釈的専門知識へのアクセス、医療保険や償還に関する政府の方針、現地当局による検査承認の要件など、独自の制約があります。国によっては、分子検査が利用可能であるにもかかわらず、標的治療が利用できなかつたり、患者が経済的にアクセスできなかつたりする場合があります。^{15, 19, 20} 図 6-1 に各国のバイオマーカー検査の実施状況を示します。ほとんどの国で *EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*PD-L1* が実施されていますが、*EGFR*、または *EGFR* と *ALK* のみが実施されている国もあります。次に、国ごとの例をいくつか示します。

北米

アメリカ合衆国

アメリカ合衆国では、NCCN ガイドラインが治療方針の指針として広く使用されており、支払者（主に民間保険会社）のベンチマークとしても使用されています。⁶ これらのガイドラインは、現在の臨床的エビデンスに基づく専門家の意見として、規制（米国食品医薬品局（FDA））による医薬品承認に大きく左右されます。NCCN ガイドラインは新しい承認を反映するために年に数回更新されるため、最新の検査や治療環境を反映する傾向があります。一方、CAP/IASLC/AMP などのシステムガイドラインは、査読済みの公表証拠の厳格かつ時間のかかるレビューに依存しており¹²、現実的な理由から数年ごとにしか更新されません。

公表されるガイドラインの認知された役割や価値にもかかわらず、それらの推奨事項の遵守は依然として不十分です。2018 年から 2020 年にかけて地域の腫瘍内科診療所から収集された実データに基づく調査によると、転移性非扁平上皮 NSCLC 患者の 91% が少なくとも 1 つの単一遺伝子解析を実施していたものの、治療関連遺伝子を 5 つ以上評価したのは 49% のみで、NGS を実施したのは 39% のみでした。²² 広範囲で、かつ設定に依存しない医療データベースの検討によると、NSCLC 患者の NGS 検査に関して、米国で約 55% の白人患者が NGS を何らかの時点で受けているのに対し、黒人患者は約 44% であることを明らかにしました。²³ 組織ベース検査に伴う検体不足、検査結果判明までに長時間を要する、といった課題が認識されていることから、無細胞 DNA (cfDNA) 解析（液体生検）は米国の医療現場で大きな地位を占めるようになりました。米国では cfDNA 特有の検査ガイドラインが不足していますが、改訂された CAP/IASLC/AMP ガイドラインでは、腫瘍組織が不十分でバイオマーカー検査が不可能な患者や、標的治療後に分子特性評価が必要な患者に有用であることが認められています。¹² IASLC は 2021 年に推奨を発表しましたが、²⁴ これは専門家の意見に基づいており、文献の系統的レビューに基づいていないわけではありません。（第 4 章を参照。）

カナダ

カナダでは、医療制度はほぼ全額国費で賄われているため、癌患者が日常的に受けられる分子検査の範囲は医療当局によって決定されます。州政府が医療を管轄しているため、患者が利用できる検査の種類とシステムは州によって異なる場合があります。検査は主に分子診断検査室で行われ、そのほとんどは主要な病院の検査医学部または病理学部内に設立されています。一般に、大半の州の癌治療当局は、Health Canada に承認された新規薬剤が公的資金提供を検討されているときに、バイオマーカー検査の資金提供を検討を開始します。このような検討で考慮される主な課題は、提唱されている検査と検査方法 / アッセイの費用対効果、およびそれらが関連する癌患者医療の提供に及ぶ影響です。²⁵⁻²⁸ 資金は一般に国際間で受け入れられているガイドライン (CAP/IASLC/AMP、ASCO、ESMO など) に従っていますが、カナダの主要な意見リーダーのグループからの定期的合意またはレビュー出版物は、カナダの実情で推奨事項が提示されることがあります。²⁹⁻³⁵ 現在、肺癌においては、EGFR、ALK、ROS1、BRAF V600E、NTRK、KRAS G12C、EGFR T790M 変異など、すべての標的変異に対して分子検査が推奨されています。これは、EGFR 変異非小細胞肺癌 (NSCLC) 患者で、第1世代および / または第2世代のEGFR キナーゼ阻害薬で進行した患者に対して行われます。³⁵ 新しいマーカーは、対応する標的薬剤がカナダで承認されると追加されます。血漿検体 (液体生検) 中の循環するEGFR T790M 変異を検査することも代替 (推奨) または補完方法として推奨します。検査方法の選択は、多方面からの意見に基づき検査室が判定しますが、検査室は臨床導入前に個々のアッセイの検証に承認済みのガイドラインに準拠する必要があります。これは極めて重要です。なぜなら、米国とは異なり、Health Canada は特定の薬剤承認を、特定のコンパニオン診断検査ではなく、「検証済み検査」に関連付けることが多いからです。このアプローチは、EGFR、ALK、ROS1、PD-L1³⁶⁻³⁹ など、肺バイオマーカー検査を最適化および標準化するため、複数のカナダ多施設研究の実施を促進しました。

ヨーロッパ

2019年の調査によると、⁴⁰ ヨーロッパの医師はNSCLC バイオマーカー検査に関する (国際) ガイドラインを認識しています。検査の選択基準は国々全体で似通っています。転移性NSCLC患者全員を対象としたPD-L1検査と、非扁平上皮NSCLCまたは扁平上皮組織型で喫煙歴のない患者を対象とした腫瘍原性ドライバーの分子検査をおこないます。ヨーロッパ全体の分子検査の状況は非常に多様です。ヨーロッパの約3分の2の国では、「リフレックス検査」 (病理医主導) が一般的で、他の国々では検査はオンデマンドで行われます。検査は通常、自宅または地域の検査室で実施されます。約3分の4の国では、NGSが一般的に行われています。他の国々では、リアルタイムPCRが使用されています。^{15, 40}

ヨーロッパ諸国は、医療システムと医療経済の多様な範囲を有し、それらはすべて、腫瘍分子プロファイリングの配布を左右します。^{41, 42} すべての国でEGFR、ALKおよびPD-L1検査を利用できますが、払い戻し方法は、国または民間の健康保険による全額補償から製薬会社の資金提供をはじめ、特定バイオマーカーに対する資金供与がな

い場合、あるいは検査そのものが行われない場合まで、払い戻しの実施方法は異なります。⁴⁰ フランスなどの国々では、政府支援により常設プログラムがあり、一部のセンターで集中的、かつ体系的な分子検査を実施しています。⁴³

テスト基準に関する認識はあるものの、すべての患者が検査にアクセスできるわけではなく、アクセス可能な国でも、検査基準を満たすすべての腫瘍が検査されていない可能性もあります。ただし、テスト率は時間の経過とともに増加しています。^{15, 44-47} 重要なことに、患者がバイオマーカー検査結果を認識してはいないようです。ヨーロッパの調査では、腫瘍検査の実施を認知している患者の 23% は結果を知りませんでした。⁴⁸

アジア太平洋地域

アジア太平洋地域は多様性に富み、日本など、NGS 検査が払い戻される国もあれば、インドネシアのように腫瘍学ケアへのアクセスが不十分な国もあります。アジアでは、コンパニオン診断にはあまり重点を置かず、NGS の費用と払い戻しについては各国によって大きく異なります。多くの国では、現地の医薬品の承認が FDA/EMA 承認から最大 2 年遅れることを考慮して、バイオマーカー検査は新規治療法へのアクセスを前提とした実用的アプローチを採用しています。これは香港、台湾、シンガポールにも当てはまります。

オーストラリア

オーストラリアでは、*EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*MET* の変異、ならびに PD-L1 免疫組織化学 (IHC) 検査が定期的に行われ、政府による資金提供が行われています。さらに大規模なセンターでは NGS パネル検査が実施されていますが、この検査はどこでも受けられるわけではありません。*ALK* および *ROS1* については、IHC スクリーニングが行われ、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) 検査による再配列の確認は現在、標的薬剤の利用必要とされています。*RET* および *NTRK1-3* など、あまり一般的でない融合型検査はあまり普及していません。現在、オーストラリアでは液体生検を用いた分子検査は一般的に実施されていないため、政府による資金提供は行われていません。⁴⁹

中国

中国本土で承認される標的治療薬には、*EGFR* および *BRAF* 変異、*ALK*、*ROS1*、*RET*、*NTRK* 融合、および *MET* エクソン 14 スキッピング変異などがありません。したがって、中国のガイドラインでは、前述の遺伝子に関する検査が推奨されています。*KRAS* および *ERBB2* (*HER2*) 遺伝子変異、およびその他の遺伝子を標的とする薬剤は臨床試験中で、これらの標的は拡張検査の成分として推奨されています。^{50, 51}

変異の検査方法として PCR ベース方法と NGS が推奨されています。一方、遺伝子融合は FISH、アレル抵抗性変異システム (ARMS) ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR)、NGS (RNA ベース)、IHC によって検出されます。*ALK* IHC (D5F3) はコンパニオン診断検査として推奨されますが、*ROS1* および神経栄養性チロシンキナーゼ (*NTRK/pan-TRK*) IHC はスクリーニング検査として推奨されます。^{50, 52, 53} 非扁平上皮組織

型の NSCLC ステージ IB 以上で、通常、手術標本で分子検査が行われます。進行性 NSCLC の場合、組織生検が好まれます。組織標本がない場合、液体生検も検討できます。さらに、PD-L1 検出も同等に重要であり、同時に行う必要があります。^{54, 55}

インド

インドのガイドラインでは、腫瘍医の裁量に応じて、連続検査または同時検査を推奨します。⁵⁶ 現在インドでは、新規遺伝子標 (*BRAF*, *MET*, *RET*, *HER2*, *KRAS*) の治療法はほとんど利用できません。したがって、これらの遺伝子は、進行性 NSCLC のすべての患者に通常分子検査に組み込まれるわけではありませんが、第 1 線の治療に進行または抵抗性を示す患者で検査する場合があります。専門家パネルは、*EGFR*、*ALK*、および *ROS1* 遺伝子、および PD-L1 タンパク質を分子検査の第 1 線バイオマーカーとして推奨します。⁵⁶

腫瘍医の判断と患者の経済的余裕に応じて、単一遺伝子検査と NGS の両方をお勧めします。ARMS-PCR、デジタル PCR、NGS は、NSCLC の *EGFR* 変異検査に推奨される方法です。*ALK* 再配置と PD-L1 発現については IHC が推奨されており、*ROS1* 再配置は IHC でスクリーニングされた後、FISH で確認されます。

第 1 線治療ではオシメルチニブの利用が限られているため、患者は再発時に液体生検で *EGFR* T790M 変異の検査を受けることがよくあります。ただし、液体生検の結果が陰性の場合、腫瘍生検を受けるようにアドバイスされます。

日本

日本では、バイオマーカー検査は政府の医療政策によって規制されていて、ほとんどの予測バイオマーカー検査は健康保険で賄われます。進行性肺癌患者は、診断後に焦点多重検査を行うことが一般的であり、標準治療後に進行した一部の患者には包括的ゲノムプロファイリング検査が適用されます。^{57, 58} 治療ガイドラインの観点から、日本肺癌学会 (JLCS) は、GRADE システムで開発され、毎年更新される肺癌治療のガイドラインを公表しています。国際文献には、その概要が報告されています。⁵⁹ 個々の予測バイオマーカーについては、JLCS のバイオマーカー委員会が *EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*、*MET*、*KRAS* および多重検査のガイダンスを備えた適切な分子検査の実施を促進しています。*ALK*⁶⁰、*MET*⁶¹、および多重検査⁵⁸ のガイダンスは英語版を入手できます。

アフリカと中東

アフリカと中東の NSCLC 患者のバイオマーカー検査は、高所得国と低中所得国が混在しているため、多様です。中東の高所得国とは異なり、サハラ砂漠以南諸国では肺癌バイオマーカー検査の利用が非常に限られています。^{62, 63} 地域の検査技術も不足しています。国内に検査サイトが存在しない、中央に集中していることもあって結果の返却に時間がかかります。一部複数の国では、欧州の研究所に分子検査を外部委託しています。大半の場合、患者が検査費用を負担します。南アフリカなどの諸国では、バイオマーカー検査や標的治療へのアクセスは、患者が民間医療サービスを受けるか、

公的医療サービスを受けるかによって左右される事情があります。⁶⁴ これは診断ツールにも当てはまり、全国的には組織病理学検査室検査が利用できない場合があります。また、他の設定での通常の技術（免疫組織化学法など）は見つけにくい場合があります。⁶⁵ つまり、特定の諸国では、免疫組織化学法を用いた NSCLC の基本的な組織学分類でさえ利用できない場合があります。ましてや分子検査は利用できません。¹⁹ さらに、標的治療へのアクセスは極めて限られており、治療費は一般にほとんどの公的医療システムでは賄われません。この大きなギャップは、NSCLC 治療を遅らせ、これらの患者に対する最善の治療を施す取り組みを妨げます。

結論

肺癌の標準バイオマーカー検査ガイドラインの世界規模の実施は、国ごとの地方要因や地域要因に依存します。これらの要因には、資源やインフラの可用性、経済的余裕、政府または民間団体による償還政策、検査試薬へのアクセス、薬剤承認メカニズムなどがあります。特定の検査に関する推奨事項は国ごとに一貫してはいませんが、EGFR、ALK、ROS、PD-L1 検査は広く実施されています。新規標的治療法の利用が拡大するに伴って、このリストは拡大し、マルチプレックス検査への移行が必要になると予想されます。

参考文献

1. Alexander M, Kim SY, Cheng H. Update 2020: management of non-small cell lung cancer. *Lung*. 2020;198(6):897-907.
2. Morgensztern D, Campo MJ, Dahlberg SE, et al. Molecularly targeted therapies in non-small-cell lung cancer annual update 2014. *J Thorac Oncol*. 2015;10(1 suppl 1):S1-63.
3. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(3):321-346.
4. Nooreldeen R, Bach H. Current and future development in lung cancer diagnosis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16):8661.
5. Kalemkerian GP, Narula N, Kennedy EB, et al. Molecular testing guideline for the selection of patients with lung cancer for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2018;36(9):911-919.
6. Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, et al. Non-small cell lung cancer, version 3.2022, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Cancer Netw*. 2022;20(5):497-530.
7. Hendriks LE, Kerr K, Menis J, et al. Oncogene-addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO clinical practice guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2023. [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(22\)04781-0/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(22)04781-0/fulltext).
8. Guyatt GH. Evidence-based medicine. *ACP J Club*. 1991;114(2):A16.
9. Institute of Medicine. *Clinical Practice Guidelines We Can Trust*. National Academies Press; 2011.
10. Welcome to the GRADE Working Group. GRADE. 2004-2002. Updated January 21, 2021. <https://www.gradeworkinggroup.org/>.
11. GuideLines Into DEcision Support (GLIDES). Yale School of Medicine. Updated January 21, 2021. <https://medicine.yale.edu/cmi/glides/>.
12. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2018;13(3):323-358.

13. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol.* 2013;8(7):823-859.
14. Leighl NB, Rekhtman N, Biermann WA, et al. Molecular testing for selection of patients with lung cancer for epidermal growth factor receptor and anaplastic lymphoma kinase tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology guideline. *J Clin Oncol.* 2014;32(32):3673-3679.
15. Kerr KM, Bibeau F, Thunnissen E, et al. The evolving landscape of biomarker testing for non-small cell lung cancer in Europe. *Lung Cancer Amst Neth.* 2021;154:161-175.
16. Horgan D, Curigliano G, Rieß O, et al. Identifying the steps required to effectively implement next-generation sequencing in oncology at a national level in Europe. *J Pers Med.* 2022;12(1):72.
17. Barta JA, Powell CA, Wisnivesky JP. Global epidemiology of lung cancer. *Ann Glob Health.* 2019;85(1):8.
18. Smeltzer MP, Wynes MW, Lantuejoul S, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer global survey on molecular testing in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2020;15(9):1434-1448.
19. Elhassan MMA, Mohamedani AA, Mohamed SAH, et al. Lung cancer in Sudan. *J Thorac Oncol.* 2022;17(4):489-498.
20. Sheikh HS, Munawar K, Sheikh F, Qamar MFU. Lung cancer in Pakistan. *J Thorac Oncol.* 2022;17(5):602-607.
21. Lung cancer worldwide. Editorial series. *J Thorac Oncol.* 2019-2022.
22. Robert NJ, Espirito JL, Chen L, et al. Biomarker testing and tissue journey among patients with metastatic non-small cell lung cancer receiving first-line therapy in the US Oncology Network. *Lung Cancer Amst Neth.* 2022;166:197-204.
23. Bruno DS, Hess LM, Li X, Su EW, Patel M. Disparities in biomarker testing and clinical trial enrollment among patients with lung, breast, or colorectal cancers in the United States. *JCO Precis Oncol.* 2022;6:e2100427.
24. Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, et al. Liquid biopsy for advanced NSCLC: a consensus statement from the International Association for the Study of Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2021;16(10):1647-1662.
25. Djalalov S, Beca J, Hoch JS, et al. Cost effectiveness of EML4-ALK fusion testing and first-line crizotinib treatment for patients with advanced ALK-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2014;32(10):1012-1019.
26. Ontario Health (Quality). Cell-free circulating tumour DNA blood testing to detect EGFR T790M mutation in people with advanced non-small cell lung cancer: a health technology assessment. *Ont Health Technol Assess Ser.* 2020;20(5):1-176.
27. Makarem M, Ezeife DA, Smith AC, et al. Reflex ROS1 IHC screening with FISH confirmation for advanced non-small cell lung cancer—a cost-efficient strategy in a public healthcare system. *Curr Oncol Tor Ont.* 2021;28(5):3268-3279.
28. Ezeife DA, Spackman E, Juergens RA, et al. The economic value of liquid biopsy for genomic profiling in advanced non-small cell lung cancer. *Ther Adv Med Oncol.* 2022;14:17588359221112696.
29. Ellis PM, Blais N, Soulieres D, et al. A systematic review and Canadian consensus recommendations on the use of biomarkers in the treatment of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2011;6(8):1379-1391.
30. Melosky B, Blais N, Cheema P, et al. Standardizing biomarker testing for Canadian patients with advanced lung cancer. *Curr Oncol Tor Ont.* 2018;25(1):73-82.
31. Stockley T, Souza CA, Cheema PK, et al. Evidence-based best practices for EGFR T790M testing in lung cancer in Canada. *Curr Oncol Tor Ont.* 2018;25(2):163-169.
32. Melosky B, Cheema P, Agulnik J, et al. Canadian perspectives: update on inhibition of ALK-positive tumours in advanced non-small-cell lung cancer. *Curr Oncol Tor Ont.* 2018 Oct;25(5):317-328.
33. Cheema PK, Gomes M, Banerji S, et al. Consensus recommendations for optimizing biomarker testing to identify and treat advanced EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. *Curr Oncol Tor Ont.* 2020;27(6):321-329.
34. Bebb DG, Banerji S, Blais N, et al. Canadian consensus for biomarker testing and treatment of TRK fusion cancer in adults. *Curr Oncol Tor Ont.* 2021;28(1):523-548.

35. Ionescu DN, Stockley TL, Banerji S, et al. Consensus recommendations to optimize testing for new targetable alterations in non-small cell lung cancer. *Curr Oncol Tor Ont.* 2022;29(7):4981-4997.
36. Cutz JC, Craddock KJ, Torlakovic E, et al. Canadian anaplastic lymphoma kinase study: a model for multicenter standardization and optimization of ALK testing in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2014;9(9):1255-1263.
37. Torlakovic E, Albadine R, Bigras G, et al. Canadian multicenter project on standardization of programmed death-ligand 1 immunohistochemistry 22C3 laboratory-developed tests for pembrolizumab therapy in NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2020;15(8):1328-1337.
38. Cheung CC, Smith AC, Albadine R, et al. Canadian ROS proto-oncogene 1 study (CROS) for multi-institutional implementation of ROS1 testing in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth.* 2021;160:127-135.
39. Leighl NB, Kamel-Reid S, Cheema PK, et al. Multicenter validation study to implement plasma epidermal growth factor receptor T790M testing in clinical laboratories. *JCO Precis Oncol.* 2020;4:520-533.
40. Thunnissen E, Weynand B, Udovicic-Gagula D, et al. Lung cancer biomarker testing: perspective from Europe. *Transl Lung Cancer Res.* 2020;9(3):887-897.
41. Horgan D, Ciliberto G, Conte P, et al. Bringing greater accuracy to Europe's healthcare systems: the unexploited potential of biomarker testing in oncology. *Biomed Hub.* 2020;5(3):182-223.
42. Horgan D, Ciliberto G, Conte P, et al. Bringing onco-innovation to Europe's healthcare systems: the potential of biomarker testing, real world evidence, tumour agnostic therapies to empower personalised medicine. *Cancers.* 2021;13(3):583.
43. Hofman P, Rouleau E, Sabourin JC, et al. Predictive molecular pathology in non-small cell lung cancer in France: the past, the present and the perspectives. *Cancer Cytopathol.* 2020;128(9):601-610.
44. Griesinger F, Eberhardt W, Nusch A, et al. Biomarker testing in non-small cell lung cancer in routine care: analysis of the first 3,717 patients in the German prospective, observational, nation-wide CRISP registry (AIO-TRK-0315). *Lung Cancer Amst Neth.* 2021;152:174-184.
45. Salas C, Martín-López J, Martínez-Pozo A, et al. Real-world biomarker testing rate and positivity rate in NSCLC in Spain: Prospective Central Lung Cancer Biomarker Testing Registry (LungPath) from the Spanish Society of Pathology (SEAP). *J Clin Pathol.* 2022;75(3):193-200.
46. Provencio M, Cobo M, Rodriguez-Abreu D, et al. Determination of essential biomarkers in lung cancer: a real-world data study in Spain with demographic, clinical, epidemiological and pathological characteristics. *BMC Cancer.* 2022;22(1):732.
47. Steeghs EMP, Groen HJM, Schuurings E, et al. Mutation-tailored treatment selection in non-small cell lung cancer patients in daily clinical practice. *Lung Cancer Amst Neth.* 2022;167:87-97.
48. Tufman A, Redmond K, Giannopoulou A, et al. Patient perception of burden of disease and treatment preferences in non-small cell lung cancer: results from a European survey. *Lung Cancer Amst Neth.* 2022;168:59-66.
49. John T, Cooper WA, Wright G, et al. Lung cancer in Australia. *J Thorac Oncol.* 2020;15(12):1809-1814.
50. Chinese Society of Pathology, Pathology Quality Control Center; Chinese Medical Association Chinese Society of Oncology; China Anti-Cancer Association Chinese Society of Lung Cancer; Chinese Thoracic Oncology Group. Guidelines on clinical practice of molecular tests in non-small cell lung cancer in China. Article in Chinese. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2021;50(4):323-332.
51. Hong DS, DuBois SG, Kummar S, et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. *Lancet Oncol.* 2020;21(4):531-540.
52. Davies KD, Lomboy A, Lawrence CA, et al. DNA-based versus RNA-based detection of MET exon 14 skipping events in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(4):737-741.
53. Wu YL, Tsuboi M, He J, et al. Osimertinib in resected EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2020;383(18):1711-1723.
54. Chinese Anti-Cancer Association, Lung Cancer Study Group of Committee of Oncopathology; Chinese Society of Lung Cancer; Expert Group on PD-L1 Testing Consensus. Chinese expert consensus on standards of PD-L1 immunohistochemistry testing for non-small cell lung cancer. Article in Chinese. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* 2020;23(9):733-740.

55. Felip E, Altorki N, Zhou C, et al. Adjuvant atezolizumab after adjuvant chemotherapy in resected stage IB-IIIA non-small-cell lung cancer (IMpower010): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2021;398(10308):1344-1357.
56. Prabhaskar K, Advani SH, Batra U, et al. Biomarkers in non-small cell lung cancers: Indian consensus guidelines for molecular testing. *Adv Ther*. 2019;36(4):766-785.
57. Motoi N, Yatabe Y. Lung cancer biomarker tests: the history and perspective in Japan. *Transl Lung Cancer Res*. 2020;9(3):879-886.
58. Yatabe Y, Sunami K, Goto K, et al. Multiplex gene-panel testing for lung cancer patients. *Pathol Int*. 2020;70(12):921-931.
59. Ninomiya K, Teraoka S, Zenke Y, et al. Japanese Lung Cancer Society guidelines for stage IV NSCLC with EGFR mutations. *JTO Clin Res Rep*. 2021;2(1):100107.
60. Mitsudomi T, Yatabe Y, Akita H, et al.; Biomarker Committee, the Japan Lung Cancer Society. *Guidance for ALK Gene Testing in Lung Cancer Patients*. Version 1.2. Japan Lung Cancer Society;2011. <https://www.haigan.gr.jp/uploads/files/photos/641.pdf>.
61. Yatabe Y, Goto K, Matsumoto S, et al. METex14 skipping testing guidance for lung cancer patients: the guidance from the Biomarker Committee, the Japan Lung Cancer Society. *Haigan*. 2021;61(5):361-370. <https://doi.org/10.2482/haigan.61.361>.
62. Slavik T, Asselah F, Fakhruddin N, et al. Diagnosis and predictive molecular analysis of non-small-cell lung cancer in the Africa-Middle East region: challenges and strategies for improvement. *Clin Lung Cancer*. 2014;15(6):398-404.
63. Niyibizi BA, Muhizi E, Ndoli DA, et al. Lung cancer in Rwanda. *J Thorac Oncol*. 2022;17(9):1074-1077.
64. van Eeden R, Tunmer M, Geldenhuys A, Nayler S, Rapoport BL. Lung cancer in South Africa. *J Thorac Oncol*. 2020;15(1):22-28.
65. Patel K, Strother RM, Ndiangui F, et al. Development of immunohistochemistry services for cancer care in western Kenya: implications for low- and middle-income countries. *Afr J Lab Med*. 2016;5(1):187.

執筆者：Helena Yu、Fernando Lopez-Rios、Dong-Wan Kim、
Julia K. Rotow、Jordi Remon

遺伝子の構造と機能

上皮成長因子受容体 (EGFR/ErbB1) は、ErbB2 (HER2)、ErbB3 (HER3)、および ErbB (HER4) 受容体とともに、*ERBB* 受容体ファミリーを構成します。これらの受容体ファミリーのメンバーは、リガンド結合におけるホモダイマーおよびヘテロダイマーとしてシグナルを伝達します。ただし例外として、HER2 は既知のリガンドが存在しない場合の二量体化に関与します。¹EGFR タンパク質は膜貫通受容体チロシンキナーゼで、細胞外ドメイン (ECD)、膜近傍ドメイン (TMD)、傍膜貫通ドメイン (JMD)、チロシンキナーゼドメイン (TKD)、C 末端で構成されます。²

上皮成長因子 (EGF)、形質転換成長因子アルファ (TGF α)、アンフィレギュリン (AREG) などを含む各種リガンドに結合する際、²ECD の立体構造変化によって受容体の二量体化が可能になります。³ この二量体化により、TKD の C ロープと N ロープの間の非対称相互作用が誘発され、C 末端の受信者チロシンキナーゼとリン酸化部位の自己リン酸化が起こります。JMD は、膜近傍ラッチ機序により、この相互作用を安定化させることが実証されています (図 7-1)。^{4, 5}TKD 内で、このリン酸化反応は α C ヘリックスの位置に立体構造変化を誘発し、その結果、基質結合を許容するオープンコンフォメーションを活用する、活性化ループの位置に立体構造変化を誘発します。⁶C 末端内では、リン酸化ドッキングサイトが下流へのシグナル伝達の追加のメディエータを結合します。EGFR の活性化は最終的に、複数の下流へのシグナル伝達経路の活性化を促します。これには細胞の成長と生存を促進する分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ (MAPK)、ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI3K)/AKT、ヤヌスキナーゼ (JAK) /シグナル伝達性転写因子 (STAT) 経路が含まれます。⁷

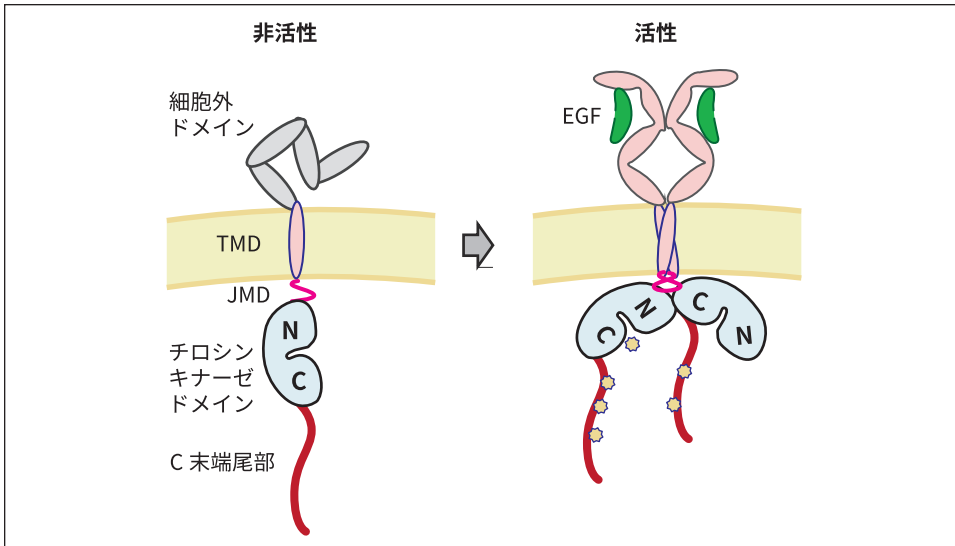


図 7-1. 非活性コンフォメーションと活性コンフォメーションの EGFR タンパク質構造リガンド EGF の結合は、タンパク質二量体化を可能にするコンフォメーションの変化を誘発します。チロシンキナーゼのドメイン間の相互作用により、キナーゼ触媒活性化と下流シグナル伝達の媒介のドッキングが可能になります。略語：EGF = epidermal growth factor (上皮成長因子)、C = C-lobe (C ロープ)、JMD = juxtamembrane domain (傍膜貫通ドメイン)、N = N-lobe (N ロープ)、TMD = transmembrane domain (膜貫通ドメイン)。(出典：Jura 氏他⁴⁾)

疫学的、臨床的、組織学的特徴

世界での *EGFR* 変異の発症率は、欧州の集団の肺腺癌の約 12% から、北米の 15%、アジアでは 49% とさまざまです。⁸ 発症率が最も高かったのは、女性で喫煙経験がなく年齢が低い患者でした。⁹ 腺癌のすべての患者で検査することが引き続き重要です。*EGFR* 活性化変異はすべての肺癌患者集団で検出される可能性があるからです。たとえば、1 つの症例シリーズでは、喫煙歴のない患者の 52% から *EGFR* 活性化変異が検出されており、さらに、*EGFR* 変異は過去に喫煙歴がある患者の 21% と、現在喫煙している患者の 6% で見られます。一方で、扁平上皮組織構造を伴う非小細胞肺癌 (NSCLC) では *EGFR* 変異は珍しく、発症率は現在も低く、特に他の標準的な人口統計学的特徴 (非喫煙者など) や混合型腺扁平上皮癌では低くなっています。¹¹

頻度は検査戦略によって異なり、戦略は *EGFR* の地理的不均一性を考慮する必要があるため、当面の間、*EGFR* 変異の分子疫学は細心の注意を払って解釈を行うべきです。たとえば、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) の使用は、一部のアンコモン変異や複合変異が見逃されるとしても、発症率の高い地域では妥当なアプローチである場合があります。¹² 逆に、次世代シーケンシング (NGS) の使用は、アンコモン変異の頻度に対する理解を変える可能性があります。¹³

検査戦略

肺癌バイオマーカー検査に携わる者はすべて、*EGFR* 変異を識別するために一般に使用される各種の技術の性能指標を認識しておく必要があります (表 7-1)。^{14, 15}

表 7-1. EGFR 変異の検出方法

技術	分析感度	診断感度	バリエーションの正確なアノテーション	報告された対立遺伝子頻度	インプット DNA	費用	ターンアラウンドタイム
PCR と直接シーケンシング	最も低い	優れている	はい	いいえ	高	最も低い	3～4日
PCR とピロシーケンス	可変的	中	時々	いいえ	高	低	3～4日
リアルタイム PCR	高	中	時々	いいえ	低	低	数時間から1～2日
デジタル PCR	最も高い	低	はい	いいえ	最も低い	低	数時間から1～2日
NGS ターゲットアンプリコンベース	可変的 (高)	可変的 (高)	はい	はい	低	中	1～2日から10日
NGS ターゲットハイブリダイゼーションキャプチャー	可変的 (高)	可変的 (高)	はい	はい	高	中	15～20日
NGS 全エクソーム	可変的	優れている	はい	はい	高	高	数週間
NGS 全ゲノム	可変的	優れている	はい	はい	高	最も高い	数週間

略語：NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、PCR = polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)

(出典：Pao 氏他¹⁴、Pennell 氏他¹⁵)

以下のセクションでは、EGFR 変異の検出に利用できる検査の各タイプについて説明しています。EGFR 変異が最初に検出された時点では、主に直接的（サンガー）シーケンシングと迅速な PCR アプローチが使用されていました。^{16, 17} 過去 20 年間でまず、業務用のリアルタイム PCR アッセイが開発され、続いて NGS パネルの臨床応用が行われました。¹⁸⁻²⁰ したがって、これら 2 つのアプローチは EGFR 変異の検出に最も多く使用された技術であり、米国食品医薬品局 (FDA) 承認のリアルタイム PCR アッセイと NGS パネルが複数存在します。米国内および国際的なガイドラインの多くは、包括的なバイオマーカー検査を推奨しており、そのため NGS ベースの EGFR 検査の導入が増えています。^{21, 22}

分析感度（単に感度と呼ばれることが多い）は検出限界で、任意の検体で検出できる腫瘍細胞の最小割合のことです。診断鋭敏度は、アッセイの網羅性、つまり任意のアッセイによって検出できる遺伝子に対して報告される全変異の割合に関係します。¹⁵ この考えに沿うと、こうしたアッセイの一部はバリエーションを識別できず（結果は「変異を検出」か「変異非検出」、または「エクソン 19 検出、それ以外は特定不能」）、NGS パネルのみが信頼できるアレル頻度の推定値を提供します。ハイブリダイゼーションキャプチャー NGS パネルは、アンプリコンベースの NGS やリアルタイムの PCR アッセイよりかなり多くのインプット DNA が必要であるため、成功率は多くの場合、標本内に存在する DNA 量と関係します。最後に、超高速リアルタイム PCR キットまたは完全自動化 NGS ワークフローは、最小限の作業時間で完了でき、1～2 日以内に結果が出るとは、強調する価値があります。²³⁻²⁵

EGFR 変異のタイプと臨床的意義

NSCLC 患者の EGFR 変異に関する検査戦略と臨床的意義をより良く理解するには、これらを次の 5 つのカテゴリーに分けると便利です。

1. コモン変異

最も一般的な EGFR 活性型変異は、エクソン 19 のフレーム内欠失変異（アミノ酸残基 747-750）と、エクソン 21 の L858R 点変異で、これらは EGFR 変異全体の 80% ~ 85% を占めています。²¹ これらの変異を持つ NSCLC 患者は EGFR チロシンキナーゼ阻害薬（TKI）に対する反応が良く、EGFR TKI は進行 / 転移性疾患のファーストライン治療において、現在の標準治療となっています。ゲフィチニブとエルロチニブを含む第一世代の EGFR TKI と、アファチニブとダコミチニブを含む第二世代の EGFR TKI は、ファーストライン設定でのプラチナ製剤による化学療法と比較して統計的に有意な無増悪生存期間（PFS）を示しました。²⁶⁻³⁰ 第 2 相臨床試験では、アファチニブでゲフィチニブよりも長い PFS が報告されていますが、全生存率（OS）では差異はありません。^{31, 32} 同様に、第 3 相臨床試験では、もう 1 つの第二世代 EGFR TKI であるダコミチニブで、ゲフィチニブと比較して PFS における有意な改善が報告されていますが、OS における差異は報告されていません（必要な p 値 0.025、獲得 p 値 0.04）。しかし、アファチニブ臨床試験とは対照的に、ダコミチニブ臨床試験では脳転移のある患者は認められませんでした。³³⁻³⁵ 第二世代の EGFR TKI は良好な転帰を報告していますが、これらの EGFR TKI はゲフィチニブに比べて皮疹や下痢などの毒性の発現率が高いことが報告されています。^{31, 33}

第二世代 EGFR TKI のオシメルチニブは当初、第 1 相 AURA 試験と第 3 相 AURA3 試験で、それ以前の第一世代または第二世代 EGFR TKI の失敗後の獲得耐性 T790M 変異を有する患者向けに開発されました。³⁶⁻³⁸ オシメルチニブは治療歴のない患者コホートの AURA 研究で有望な効果が見られ、³⁹FLAURA 研究のファーストライン設定での使用について評価されました。この研究では、進行性 / 転移性 EGFR エクソン 19 欠失変異とエクソン 21 L858R 変異を有する治療歴のない患者が、オシメルチニブ、エルロチニブ、ゲフィチニブのいずれかにランダムに割り付けられました。研究ではオシメルチニブが主要評価項目である PFS を有意に延長し、OS の追跡期間分析でもオシメルチニブの効果が示されました。^{40, 41} また、オシメルチニブは、第一世代 EGFR TKI と比べて、中枢神経系（CNS）活性化の改善が見られました。⁴² 現在、オシメルチニブは進行性 / 転移性疾患のファーストライン治療における優先的な治療オプションとなっています。ただし、第三世代 EGFR TKI のアウモレルチニブ、⁴³フルモネルチニブ、⁴⁴ラゼルチニブ⁴⁵についてはすでに、EGFR 変異進行性 NSCLC を有する患者のファーストライン治療において、ゲフィチニブよりも長い PFS 率が報告されています。また、ファーストライン治療では、MARIPOSA 試験（NCT04487080）でラゼルチニブとアミバンタマブ（EGFR-MET 二重特異性モノクローナル抗体）の併用について評価が行われています。FLAURA2 試験（NCT04035486）では、プラチナ製剤による化学療法をオシメルチニブに追加した場合の効果について評が行われ、ECOG-ACRIN 5182 第 3 相試験（NCT04181060）では、オシメルチニブ単独の場合と、オシメルチニブにベバシズマブを併用した場合につ

いて、評価が行われました。最近では、オシメルチニブを使用したアジュバント臨床試験で、外科切除されたステージ IB から IIIA の *EGFR* 変異陽性 NSCLC の患者について、プラシーボ群と比べて無病生存率の著しい改善が確認されました。⁴⁶

2. アンコモン（非定型）変異

アンコモン（非定型）変異には、エクソン 19 欠失変異、L858R 変異、T790M 変異を除くすべての変異が含まれます。最も頻繁に確認されるのは、エクソン 18 の G719X（全 *EGFR* 変異の 0.9% ~ 4.8%）、エクソン 21 の L861X（全 *EGFR* の 0.5% ~ 3.5%）、エクソン 20 の S768I（全 *EGFR* 変異の 0.5% ~ 2.5%）です。⁴⁷ これらは稀な変異で、一部のもっと限定されたパネルには含まれないため、これらを特定するには NGS が必要な場合があります。これらのアンコモン変異は *EGFR* TKI に対し感度が高い可能性があるため、これらの存在を確認することは重要です。こうした非定型 *EGFR* 変異は、ゲフィチニブまたはエルロチニブに対して臨床反応を示します。ただし全奏効率（ORR）と PFS 率はコモン *EGFR* 変異よりも低くなります。^{48, 49} アファチニブは G719X、L861Q、S768I 変異に対する活性を示し、FDA の承認を受けています。^{50, 51} オシメルチニブも単群第 2 相試験と⁵² 実際的な後ろ向き試験で、アンコモン変異に対して臨床的に有意な活性を示しています。⁵³

臨床的な意味を持つ可能性がある、それほど一般的ではない *EGFR* の変異には、キナーゼドメイン重複（KDD）と癌遺伝子 *EGFR* 融合があります。*EGFR*-KDD を有する患者は、*EGFR* TK に臨床反応を示していますが、奏功期間はさまざまです。⁵⁴⁻⁵⁶ KDD は *ERBB* ファミリーのメンバー全体で見つかるまれな活性化遺伝子変異です。*EGFR*-KDD は、*EGFR* TKD（エクソン 18 ~ 25）のタンデムインフレーム重複の結果生じます。これらは NSCLC 症例の最大 1.4% で発生し、他の充実性腫瘍で発生することもあり、神経膠腫や消化（GI）管癌で最も多く見つかっています。*EGFR*-KDD は恒常的活性型分子内 TKD 二量体を形成し、EGF リガンド結合の必要性をなくします。⁵⁷ 癌遺伝子 *EGFR* 融合は、0.5% ~ 0.13% の NSCLC 症例で報告されている別の希少ドライバー変異で、さまざまな *EGFR* 融合パートナーが報告されており、最も一般的なのは *EGFR*-*RAD51* 融合です。⁵⁸ これらの融合は、二量体化と癌遺伝子シグナル伝達を促進し、*EGFR* タンパク質分解に影響する場合があります。⁵⁹ いくつかの症例シリーズで、*EGFR* 融合の活性化に対する *EGFR* TKI 治療の効果が証明されています。^{59, 60}

従来、*EGFR* の増幅と過剰発現は、*EGFR* 標的療法への反応性のバイオマーカーとして評価されてきました。*EGFR* の過剰発現は、*EGFR* TKI 治療の効果についての信頼できるバイオマーカーを提供していませんが、⁶¹ 従来影響力のある *EGFR* ドライバー変異の管理のための *EGFR* TKI 治療に対する獲得耐性（AR）における *EGFR* の増幅または過剰発現の獲得は、引き続き有効な臨床調査の領域です。^{62, 63}

3. *EGFR* エクソン 20 挿入

EGFR エクソン 20 挿入は現在影響力のある非定型変異の最大のサブセット（全 *EGFR* 変異の 0.8% ~ 4.2%）^{12, 13, 47} ですが、生物学的および臨床的観点からは非常に不均

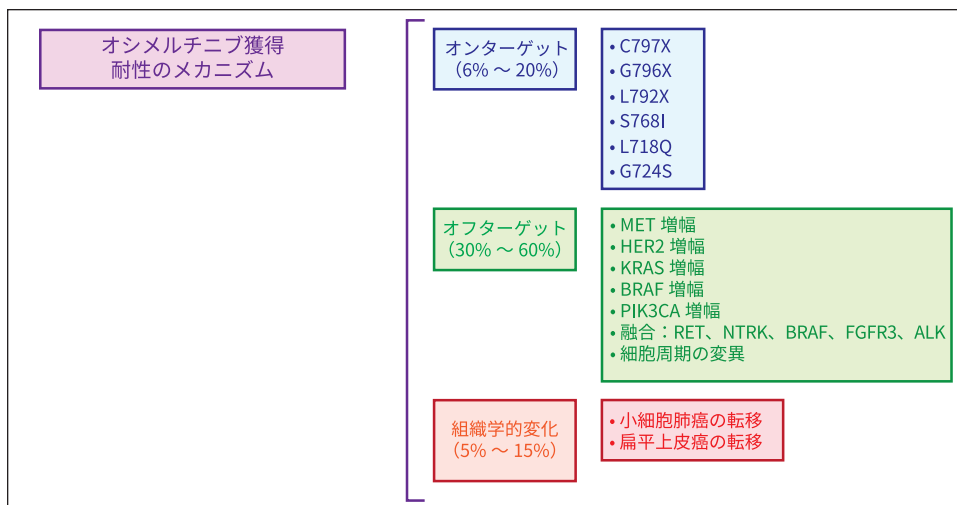


図 7-2. オシメルチニブへの獲得耐性の機序

一で、そのためエクソン 20 挿入をすべて検出し、変異の正確なアノテーションを提供する NGS が必要です。²¹EGFR エクソン 20 挿入を有する患者では従来の EGFR TKI は、おそらく FQEA サブタイプを除いてあまり奏功しません。^{50, 64} ポジオチニブは不可逆的 EGFR TKI で、EGFR エクソン 20 挿入を有する患者群で臨床活性を示しています。ただし、発疹や下痢などの副作用率が高く、頻繁な投与中断や投与量削減により、PFS 期間が比較的短くなっています。^{65, 66} 最近では、プラチナ難治性 NSCLC で、画期的な EGFR TKI モボセルチニブ⁶⁷ とアミバンタマブ⁶⁸ が、従来の方法と比べ ORR と PFS 率の改善を示しました。その結果 FDA は、転移性 NSCLC と EGFR エクソン 20 挿入変異を有する患者向けに、モボセルチニブとアミバンタマブの迅速承認を行いました。この疾患はプラチナ製剤による化学療法の治療中または治療後に進行が見られていました。その他の薬剤、たとえばスンボセルチニブ、CLN081、フルモネルチニブを使用した試験がこの集団に対して行われており、有望な初期結果を示しています。⁶⁹⁻⁷¹

4. 複合変異

複合変異は二重、複雑、複数とも呼ばれます。これは同じ検体に複数の独立した EGFR 変異が存在するからで、全 EGFR 変異の 4% ~ 26% を占めています。コモンとコモン (10% ~ 20%)、コモンとアンコモン (30% ~ 50%)、アンコモンとアンコモン (25% ~ 40%)、コモンまたはアンコモンと de novo T790M 変異 (10% ~ 50%) など、さまざまなタイプの組み合わせが見られます。⁷²

5. 耐性変異

最初に第一および第二世代 EGFR TKI で治療を受けた EGFR 変異型肺癌患者については、50% ~ 60% の症例で、オシメルチニブの有効性に対して感度が高くなる AR EGFR エクソン 20 T790M 変異が発生する可能性があります。³⁷

ファーストライン治療において最初にオシメルチニブで治療を受けた患者の場合、オシメルチニブに対する AR の機序は不均一かつ複雑ですが、⁷³ オンターゲット耐性 (10% ~ 20%)、バイパス癌遺伝子経路の活性化によるオフターゲット耐性 (30%-60%)、組織学的形質転換 (5%-15%) という 3 つの主要なカテゴリーに分けることができます (図 7-2)。こうした機序の特性は、その後の治療の選択や臨床試験への患者の登録のための実用的な知見を示す場合があります。したがって、病状悪化時には再生検 (リキッド、組織、その両方) が推奨されます。²¹ 特に、リキッドバイオプシーは AR の機序としての組織学的形質転換を把握しません。ただし、半数以内の患者で、オシメルチニブに対する AR の機序は依然として不明で、準最適 TKI 血漿濃度に関連している可能性があります。⁷⁴ 最近の第 2 相前向きコホート (ELIOS 研究) では、オシメルチニブでの治療中に進行があった患者の 39% のみが、一対の組織生検を受けていました。この研究では、15% の症例でオンターゲット耐性が報告されており、17% の症例でバイパス機序が発生していました。これらのデータは、増悪後の組織生検取得の課題を示しており、より包括的な被侵襲的検査方法の必要性を示しています。⁷⁵

オシメルチニブ後のオンターゲット耐性

オシメルチニブはエクソン 20 ~ C797 残基と不可逆的に結合することで、変異した EGFR を選択的にブロックします。このスポットでの変異は最も一般的な AR の EGFR 依存機序で、通常はセリンの代替であり、C797S 変異につながります。臨床設定での C797X の発生率は、オシメルチニブの治療ラインに応じて異なります (ファーストラインで 7%、セカンドラインで 15% ~ 22%)。⁷⁶⁻⁷⁸ セカンドライン治療では、*cis* 症例 (同じ対立遺伝子、症例の 66%) の T790M 陽性と後天的 C797X 変異を伴うオシメルチニブ耐性 NSCLC を克服するために、EAI045、JBJ-04-1252、BBT-176、BLU-945 など、第四世代 EGFR TKI が開発されました。これらは前臨床試験での活性が報告されています。⁷⁹⁻⁸¹ 第 1 相 SYMPHONY 試験 (NCT04862780) では、BLU-945 とオシメルチニブの併用は、EGFR/T790M/C797S 陽性のオシメルチニブ耐性 NSCLC を有する 11 名の患者で用量依存的な臨床活性が報告されています。同様にトランス型の症例で (異なる対立遺伝子、症例の 34%)、後天的 C797X 変異と T790M 変異を有する患者群のセカンドライン設定では、前臨床データと一部の症例報告が、第一世代と第二世代の EGFR TKI とオシメルチニブの併用を支持しています。^{73, 82} 最後に、合併する T790M がない C797X 変異を伴う腫瘍のファーストライン治療におけるオシメルチニブの失敗後の第一世代および第二世代の EGFR TKI の使用が、選択肢となる可能性があります。⁷³ この設定では前臨床モデルで、C797S が介在する NSCLC の耐性を克服するために、OBX02-011 および BLU-701 が有望な新しい EGFR TKI となり得ることが示唆されています。⁸³ 実際、BLU-701 は脳浸透剤であることが報告されています ($K_{p_{uu}} > 0.9$)。⁸³ ただし、先行するすべての戦略の臨床的エビデンスは限られており、プラチナ製剤による化学療法 (免疫チェックポイント阻害剤およびペバシズマブの併用の有無にかかわらず) は標準的なセカンドライン治療の選択肢です。^{83, 84} ただし、この設定での化学療法と免疫療法の併用の役割は、CheckMate 722 試験の結果から依然として議論の

余地があります。CheckMate 722 治験では化学療法の場合と比較して、この戦略では PFS と OS に関する報告がありませんでした。⁸⁶ 最近では、抗 HER3 パトリツマブデルクステカン⁸⁷ や抗トロホブラスト細胞表面抗原 2 (TROP2) ダトポタマブデルクステカン⁸⁸ など、抗体薬物複合体 (ADC) 剤が、既知と未知の EGFR TKI 耐性機序にわたる臨床活性を示しています。これは、バイオマーカー中心のアプローチが実現可能でない場合や、特定の AR 機序が欠如している場合に、これらの薬剤が潜在的な非依存性治療戦略であることを示しています。

オフターゲット耐性

MET 増幅は、オシメルチニブに対する AR の最も一般的なオフターゲット作用です(ファーストライン 15%、セカンドライン 20% のオシメルチニブ、どちらもリキッドバイオプシーで検出され、実際の事象より過小評価になる可能性あり)。^{76, 77} 特に、さまざまな診断ツールと、各種の臨床試験で使用される *MET* 増幅の定義の非一貫性が、臨床現場での *MET* 阻害剤の使用を混乱させてきました。現在、最も広く採用されている *MET* 増幅の定義は、*MET* 遺伝子コピー数 5 以上、または *MET/CEP7* です。⁸⁹ *MET* 増幅耐性は、ERBB3 の EGFR 非依存性リン酸化反応と、PI3K/AKT 経路の下流活性を誘発し、EGFR 阻害剤があってもバイパストラックを提供します。⁹⁰

従来 AR の機序は、臨床的に、EGFR TKI への *MET* TKI の追加を通じて扱われており、この組み合わせは、複数の第 1 相および第 2 相臨床試験で確実に有効性が確立され、⁹¹⁻⁹⁴ また、最近では INSIGHT2 および SAVANNAH 試験でも確認されました。実際、初期データは、この個別化戦略が標準的な科学療法と比べて結果を改善したことを示唆しています。⁸⁹ ただし、これは以下の継続中の無作為化第 3 相試験で確認を行う必要があります。GEOMETRY-E (NCT04816214)、SAFFRON (NCT0526139)、MARIPOSA-2 (NCT04988295)。同様に、アミバンタマブとラゼルチニブの組み合わせは、オシメルチニブ再発 NSCLC での臨床活性が報告されています。化学療法での以前の治療にもかかわらず、効果は同様に、特定された EGFR/*MET* 耐性がある患者群もない患者群も奏功がありました。結果は、陽性免疫組織化学 (IHC) スコア (EGFR + *MET* スコア ≥ 400) を有する患者群に注目すべき点がありました。^{63, 97} 最後にオシメルチニブ再発 NSCLC では、オシメルチニブとテリソツズマブの組み合わせ (ADC 抗 *MET*) は、*MET* の過剰発現がある腫瘍 (3 以上の強度で 25% 以上の腫瘍細胞) で効果が報告されています。⁹⁸ *MET* の発現はわかりやすいバイオマーカーですが、IHC による患者の分類は、異なる腫瘍領域では最大 40% 異なる可能性があります。⁹⁹

識別された耐性のパターンに沿った特定の TKI でのオシメルチニブの有効性は、*RET* 融合^{100, 101} および *BRAF V600E* 変異^{102, 103} など、他のバイパス耐性の機序でも研究されています。ただしエビデンスはまだ限定的です。ORCHARD 試験 (NCT03944772) は、オシメルチニブとの組み合わせによる各種のアプローチでの進展で、バイオマーカー中心の戦略の役割を前向き研究で評価しています。特に、パトリツマブデルクステカン⁸⁷ は、バイパス機序を含め、さまざまな EGFR TKI AR 機序での

有効性が報告されています。最後に、T790M 陰性腫瘍のその他の潜在的な非依存性治療の選択肢は、オシメルチニブと、ネシツムマブ（モノクローナル抗体抗 EGFR）¹⁰⁴ またはセルメチニブ（MAPK キナーゼ / 細胞外シグナル制御キナーゼ [MEK/ERK] 阻害剤）の組み合わせです。¹⁰⁵

組織学的形質転換

AR の組織学的形質転換機序は、不十分な臨床結果を伴います。ベースライン TP53 または Rb 変異および超変異 APOBEC シグネチャーがある腫瘍は、小細胞肺癌（SCLC）形質転換のリスクが大きくなります。^{106, 107} また、後天的 TERT 増幅¹⁰⁸ SCLC 形質転換のある腫瘍は、EGFR 変異を保持します。¹⁰⁹ これは独立した de novo 癌ではないことを示唆しています。プラチナエトポシド化学療法は標準治療ですが、有効性は限定的です。¹¹⁰ 扁平上皮癌の形質転換も、治療ラインにかかわらず、オシメルチニブ再発腫瘍の 15% で報告されています。⁶² 扁平上皮形質転換のある腫瘍は、ゲノム的にかなりの複雑性を示し、最善の治療法として科学療法に免疫チェックポイント阻害剤を併用すべきかどうかは依然として不明です。

リキッドバイオプシーの役割

日常の治療では、進行疾患の場所とサイズのため、第一、第二、第三世代の EGFR TKI を使用して治療を開始したすべての患者が、進行時に新たな組織生検を行うのに適した候補というわけではなく、その結果、治療開始が遅れる場合があります。さらに、腫瘍内不均一性は、転移部位の 1 つの組織生検が進行性の腫瘍のゲノムランドスケープ全体を代表するものではないという問題が、認識されています。¹¹¹⁻¹¹³ そのため、ベースラインと AR では、リキッドバイオプシーがゲノムプロファイルの適切なツールとして確立されました。現在は、ファーストラインのオシメルチニブに対する AR の機序のほとんどが、リキッドバイオプシー評価に基づき報告されています。⁷⁶（第 4 章も参照）

参考文献

1. Du Z, Lovly CM. Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer. *Mol Cancer*. 2018;17(1):58. doi:10.1186/s12943-018-0782-4.
2. Purba ER, Saita EI, Maruyama IN. Activation of the EGF receptor by ligand binding and oncogenic mutations: the "rotation model." *Cells*. 2017;6(2):13. doi:10.3390/cells6020013.
3. Burgess AW, Cho HS, Eigenbrot C, et al. An open-and-shut case? recent insights into the activation of EGF/ErbB receptors. *Mol Cell*. 2003;12(3):541-552. doi:10.1016/j.s1097-2765(03)00350-2.
4. Jura N, Endres NE, Engel K, et al. Mechanism for activation of the EGF receptor catalytic domain by the juxtamembrane segment [published correction appears in *Cell*. 2009;138(3):604]. *Cell*. 2009;137(7):1293-1307. doi:10.1016/j.cell.2009.04.025.
5. Red Brewer M, Choi SH, Alvarado D, et al. The juxtamembrane region of the EGF receptor functions as an activation domain. *Mol Cell*. 2009;34(6):641-651. doi:10.1016/j.molcel.2009.04.034.
6. Zhang X, Gureasko J, Shen K, Cole PA, Kuriyan J. An allosteric mechanism for activation of the kinase domain of epidermal growth factor receptor. *Cell*. 2006;125(6):1137-1149. doi:10.1016/j.cell.2006.05.013.

7. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001;2(2):127-137. doi:10.1038/35052073.
8. Melosky B, Kambartel K, Häntschel M, et al. Worldwide prevalence of epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Mol Diagn Ther.* 2022;26(1):7-18. doi:10.1007/s40291-021-00563-1.
9. Zhang YL, Yuan JQ, Wang KF, et al. The prevalence of EGFR mutation in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2016;7(48):78985-78993. doi:10.18632/oncotarget.12587.
10. D'Angelo SP, Pietanza MC, Johnson ML, et al. Incidence of EGFR exon 19 deletions and L858R in tumor specimens from men and cigarette smokers with lung adenocarcinomas. *J Clin Oncol.* 2011;29(15):2066-2070. doi:10.1200/JCO.2010.32.6181.
11. Ho HL, Kao HL, Yeh YC, Chou TY. The importance of EGFR mutation testing in squamous cell carcinoma or non-small cell carcinoma favor squamous cell carcinoma diagnosed from small lung biopsies. *Diagn Pathol.* 2019;14(1):59. doi:10.1186/s13000-019-0840-2.
12. Lin HM, Yin Y, Crossland V, Wu Y, Ou SI. EGFR testing patterns and detection of EGFR exon 20 insertions in the United States. *JTO Clin Res Rep.* 2022;3(3):100285. doi:10.1016/j.jtocrr.2022.100285.
13. Passaro A, Mok T, Peters S, Popat S, Ahn MJ, de Marinis F. Recent advances on the role of EGFR tyrosine kinase inhibitors in the management of NSCLC with uncommon, non exon 20 insertions, EGFR mutations. *J Thorac Oncol.* 2021;16(5):764-773. doi:10.1016/j.jtho.2020.12.002.
14. Pao W, Ladanyi M. Epidermal growth factor receptor mutation testing in lung cancer: searching for the ideal method. *Clin Cancer Res.* 2007;13(17):4954-4955. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-1387.
15. Pennell NA, Arcila ME, Gandara DR, West H. Biomarker testing for patients with advanced non-small cell lung cancer: real-world issues and tough choices. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2019;39:531-542. doi:10.1200/EDBK_237863.
16. Pan Q, Pao W, Ladanyi M. Rapid polymerase chain reaction-based detection of epidermal growth factor receptor gene mutations in lung adenocarcinomas. *J Mol Diagn.* 2005;7(3):396-403. doi:10.1016/S1525-1578(10)60569-7.
17. Conde E, Angulo B, Tang M, et al. Molecular context of the EGFR mutations: evidence for the activation of mTOR/S6K signaling. *Clin Cancer Res.* 2006;12(3 pt 1):710-717. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-1362.
18. Angulo B, Conde E, Suárez-Gauthier A, et al. A comparison of EGFR mutation testing methods in lung carcinoma: direct sequencing, real-time PCR and immunohistochemistry. *PLoS One.* 2012;7(8):e43842. doi:10.1371/journal.pone.0043842.
19. Lopez-Rios F, Angulo B, Gomez B, et al. Comparison of molecular testing methods for the detection of EGFR mutations in formalin-fixed paraffin-embedded tissue specimens of non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol.* 2013;66(5):381-385. doi:10.1136/jclinpath-2012-201240.
20. Cheng DT, Mitchell TN, Zehir A, et al. Memorial Sloan Kettering-Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets (MSK-IMPACT): a hybridization capture-based next-generation sequencing clinical assay for solid tumor molecular oncology. *J Mol Diagn.* 2015;17(3):251-264. doi:10.1016/j.jmoldx.2014.12.006.
21. Passaro A, Leighl N, Blackhall F, et al. ESMO expert consensus statements on the management of EGFR mutant non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2022;33(5):466-487. doi:10.1016/j.annonc.2022.02.003.
22. Hess LM, Krein PM, Haldane D, Han Y, Sireci AN. Biomarker testing for patients with advanced/metastatic nonsquamous NSCLC in the United States of America, 2015 to 2021. *JTO Clin Res Rep.* 2022;3(6):100336. doi:10.1016/j.jtocrr.2022.100336.
23. Momeni-Boroujeni A, Salazar P, Zheng T, et al. Rapid EGFR mutation detection using the Idylla platform: single-institution experience of 1200 cases analyzed by an in-house developed pipeline and comparison with concurrent next-generation sequencing results. *J Mol Diagn.* 2021;23(3):310-322. doi:10.1016/j.jmoldx.2020.11.009.
24. Bormann Chung C, Lee J, Barritault M, et al. Evaluating targeted next-generation sequencing assays and reference materials for NTRK fusion detection. *J Mol Diagn.* 2022;24(1):18-32. doi:10.1016/j.jmoldx.2021.09.008.
25. Zehir A, Benayed R, Shah RH, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients [published correction appears in *Nat Med.* 2017 Aug 4;23 (8):1004]. *Nat Med.* 2017;23(6):703-713. doi:10.1038/nm.4333.

26. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 2009;361(10):947-957. doi:10.1056/NEJMoa0810699.
27. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med.* 2010;362(25):2380-2388. doi:10.1056/NEJMoa0909530.
28. Zhou C, Wu YL, Chen G, et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2011;12(8):735-742. doi:10.1016/S1470-2045(11)70184-X.
29. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13(3):239-246. doi:10.1016/S1470-2045(11)70393-X.
30. Yang JCH, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol.* 2015;16(2):141-151. doi:10.1016/S1470-2045(14)71173-8.
31. Park K, Tan EH, O'Byrne K, et al. Afatinib versus gefitinib as first-line treatment of patients with EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (LUX-Lung 7): a phase 2B, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(5):577-589. doi:10.1016/S1470-2045(16)30033-X.
32. Paz-Ares L, Tan EH, O'Byrne K, et al. Afatinib versus gefitinib in patients with EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer: overall survival data from the phase IIb LUX-Lung 7 trial. *Ann Oncol.* 2017;28(2):270-277. doi:10.1093/annonc/mdw611.
33. Wu YL, Cheng Y, Zhou X, et al. Dacomitinib versus gefitinib as first-line treatment for patients with EGFR-mutation-positive non-small-cell lung cancer (ARCHER 1050): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(11):1454-1466. doi:10.1016/S1470-2045(17)30608-3.
34. Mok TS, Cheng Y, Zhou X, et al. Improvement in overall survival in a randomized study that compared dacomitinib with gefitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer and EGFR-activating mutations. *J Clin Oncol.* 2018;36(22):2244-2250. doi:10.1200/JCO.2018.78.7994.
35. Mok TS, Cheng Y, Zhou X, et al. Updated overall survival in a randomized study comparing dacomitinib with gefitinib as first-line treatment in patients with advanced non-small-cell lung cancer and EGFR-activating mutations. *Drugs.* 2021;81(2):257-266. doi:10.1007/s40265-020-01441-6.
36. Jänne PA, Yang JCH, Kim DW, et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2015;372(18):1689-1699. doi:10.1056/NEJMoa1411817.
37. Mok TS, Wu YL, Ahn MJ, et al. Osimertinib or platinum-pemetrexed in EGFR T790M-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2017;376(7):629-640. doi:10.1056/NEJMoa1612674.
38. Papadimitrakopoulou VA, Mok TS, Han JY, et al. Osimertinib versus platinum-pemetrexed for patients with EGFR T790M advanced NSCLC and progression on a prior EGFR-tyrosine kinase inhibitor: AURA3 overall survival analysis. *Ann Oncol.* 2020;31(11):1536-1544. doi:10.1016/j.annonc.2020.08.2100.
39. Ramalingam SS, Yang JCH, Lee CK, et al. Osimertinib as first-line treatment of EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(9):841-849. doi:10.1200/JCO.2017.74.7576.
40. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2018;378(2):113-125. doi:10.1056/NEJMoa1713137.
41. Ramalingam SS, Vansteenkiste J, Planchard D, et al. Overall survival with osimertinib in untreated, EGFR-mutated advanced NSCLC. *N Engl J Med.* 2020;382(1):41-50. doi:10.1056/NEJMoa1913662.
42. Reungwetwattana T, Nakagawa K, Cho BC, et al. CNS response to osimertinib versus standard epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in patients with untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;JCO2018783118. doi:10.1200/JCO.2018.78.3118.

43. Lu S, Dong X, Jian H, et al. AENEAS: a randomized phase III trial of aumolertinib versus gefitinib as first-line therapy for locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer with *EGFR* exon 19 deletion or L858R mutations. *J Clin Oncol*. 2022;40(27):3162-3171. doi:10.1200/JCO.21.02641.
44. Shi Y, Chen G, Wang X, et al. Furmonertinib (AST2818) versus gefitinib as first-line therapy for Chinese patients with locally advanced or metastatic *EGFR* mutation-positive non-small-cell lung cancer (FURLONG): a multicentre, double-blind, randomised phase 3 study. *Lancet Respir Med*. 2022;10(11):1019-1028. doi:10.1016/S2213-2600(22)00168-0.
45. Cho BC, Ahn M-J, Kang JH, et al. LBA7: a randomized, double-blind, multinational phase III study to assess the efficacy and safety of lazertinib versus gefitinib in the first-line treatment of patients with *EGFR* mutation (*EGFRm*), advanced NSCLC (LASER301; NCT04248829). *Ann Oncol*. 2022;33:S1560. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.10.349>.
46. Wu YL, Tsuboi M, He J, et al. Osimertinib in resected *EGFR*-mutated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(18):1711-1723. doi:10.1056/NEJMoa2027071.
47. John T, Taylor A, Wang H, et al. Uncommon *EGFR* mutations in non-small-cell lung cancer: a systematic literature review of prevalence and clinical outcomes. *Cancer Epidemiol*. 2022;76:102080. doi:10.1016/j.canep.2021.102080.
48. Keam B, Kim DW, Park JH, et al. Rare and complex mutations of epidermal growth factor receptor, and efficacy of tyrosine kinase inhibitor in patients with non-small cell lung cancer. *Int J Clin Oncol*. 2014;19(4):594-600. doi:10.1007/s10147-013-0602-1.
49. Janning M, Süptitz J, Albers-Leischner C, et al. Treatment outcome of atypical *EGFR* mutations in the German National Network Genomic Medicine Lung Cancer (nNGM). *Ann Oncol*. 2022;33(6):602-615. doi:10.1016/j.annonc.2022.02.225.
50. Yang JCH, Sequist LV, Geater SL, et al. Clinical activity of afatinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring uncommon *EGFR* mutations: a combined post-hoc analysis of LUX-Lung 2, LUX-Lung 3, and LUX-Lung 6. *Lancet Oncol*. 2015;16(7):830-838. doi:10.1016/S1470-2045(15)00026-1.
51. Yang JC, Schuler M, Popat S, et al. Afatinib for the treatment of NSCLC harboring uncommon *EGFR* mutations: a database of 693 cases. *J Thorac Oncol*. 2020;15(5):803-815. doi:10.1016/j.jtho.2019.12.126.
52. Cho JH, Lim SH, An HJ, et al. Osimertinib for patients with non-small-cell lung cancer harboring uncommon *EGFR* mutations: a multicenter, open-label, phase II trial (KCSG-LU15-09). *J Clin Oncol*. 2020;38(5):488-495. doi:10.1200/JCO.19.00931.
53. Bar J, Peled N, Schokrpur S, et al. Uncommon *EGFR* mutations: international case series on efficacy of osimertinib in real-life practice in first line setting (UNICORN). *J Thorac Oncol*. 2022;S1556-0864(22)01854-8. doi:10.1016/j.jtho.2022.10.004.
54. Gallant JN, Sheehan JH, Shaver TM, et al. *EGFR* kinase domain duplication (*EGFR-KDD*) is a novel oncogenic driver in lung cancer that is clinically responsive to afatinib. *Cancer Discov*. 2015;5(11):1155-1163. doi:10.1158/2159-8290.CD-15-0654.
55. Wang J, Li X, Xue X, et al. Clinical outcomes of *EGFR* kinase domain duplication to targeted therapies in NSCLC. *Int J Cancer*. 2019;144(11):2677-2682. doi:10.1002/ijc.31895.
56. Lee C, Kim M, Kim DW, et al. Acquired resistance mechanism of *EGFR* kinase domain duplication to *EGFR* TKIs in non-small cell lung cancer. *Cancer Res Treat*. 2022;54(1):140-149. doi:10.4143/crt.2021.385.
57. Naidoo J, Sima CS, Rodriguez K, et al. Epidermal growth factor receptor exon 20 insertions in advanced lung adenocarcinomas: clinical outcomes and response to erlotinib. *Cancer*. 2015;121(18):3212-3220. doi:10.1002/cncr.29493.
58. Robichaux JP, Elamin YY, Tan Z, et al. Mechanisms and clinical activity of an *EGFR* and *HER2* exon 20-selective kinase inhibitor in non-small cell lung cancer. *Nat Med*. 2018;24(5):638-646. doi:10.1038/s41591-018-0007-9.
59. Prelaj A, Bottiglieri A, Proto C, et al. Pozitotinib for *EGFR* and *HER2* exon 20 insertion mutation in advanced NSCLC: results from the expanded access program. *Eur J Cancer*. 2021;149:235-248. doi:10.1016/j.ejca.2021.02.038.

60. Zhou C, Ramalingam SS, Kim TM, et al. Treatment outcomes and safety of mobocertinib in platinum-pretreated patients with EGFR exon 20 insertion-positive metastatic non-small cell lung cancer: a phase 1/2 open-label nonrandomized clinical trial. *JAMA Oncol.* 2021;7(12):e214761. doi:10.1001/jamaoncol.2021.4761.
61. Park K, Haura EB, Leighl NB, et al. Amivantamab in EGFR exon 20 insertion-mutated non-small-cell lung cancer progressing on platinum chemotherapy: initial results from the CHRYSALIS phase I study. *J Clin Oncol.* 2021;39(30):3391-3402. doi:10.1200/JCO.21.00662.
62. Wang M, Yang JCH, Mitchell PL, et al. Sunvozertinib, a selective EGFR inhibitor for previously treated non-small cell lung cancer with EGFR exon 20 insertion mutations. *Cancer Discov.* 2022;12(7):1676-1689. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-1615.
63. Yu HA, Tan DSW, Smit EF, et al. Phase (Ph) 1/2a study of CLN-081 in patients (pts) with NSCLC with EGFR exon 20 insertion mutations (Ins20). *J Clin Oncol.* 2022;40(16 suppl):9007. doi:10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.9007.
64. Lin Y, Hu Z, Zhang Y, et al. Preliminary clinical investigations of high-dose furmonertinib in NSCLC with EGFR exon 20 insertions (20ins). *J Clin Oncol.* 2022;40(16 suppl):e21029. doi:10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.e21029.
65. Attili I, Passaro A, Pisapia P, Malapelle U, de Marinis F. Uncommon EGFR compound mutations in non-small cell lung cancer (NSCLC): a systematic review of available evidence. *Curr Oncol.* 2022;29(1):255-266. doi:10.3390/curroncol29010024.
66. Passaro A, Jänne PA, Mok T, Peters S. Overcoming therapy resistance in EGFR-mutant lung cancer. *Nat Cancer.* 2021;2(4):377-391. doi:10.1038/s43018-021-00195-8.
67. Du Z, Brown BP, Kim S, et al. Structure-function analysis of oncogenic EGFR kinase domain duplication reveals insights into activation and a potential approach for therapeutic targeting. *Nat Commun.* 2021;12(1):1382. doi:10.1038/s41467-021-21613-6.
68. Raez LE, Pinto JA, Schrock AB, Ali SM. EGFR-RAD51 fusion: a targetable partnership originated from the tumor evolution? *J Thorac Oncol.* 2018;13(3):e33-e34. doi:10.1016/j.jtho.2017.10.005.
69. Konduri K, Gallant JN, Chae YK, et al. EGFR fusions as novel therapeutic targets in lung cancer. *Cancer Discov.* 2016;6(6):601-611. doi:10.1158/2159-8290.CD-16-0075.
70. Copia Sperandio R, Luiza Teixeira Tostes F, Vidal Campregher P, et al. EGFR-RAD51 fusion in lung adenocarcinoma with systemic and intracranial response to osimertinib: a case report and review of the literature. *Lung Cancer.* 2022;166:94-97. doi:10.1016/j.lungcan.2022.02.006.
71. Fukuoka M, Wu YL, Thongprasert S, et al. Biomarker analyses and final overall survival results from a phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib versus carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer in Asia (IPASS). *J Clin Oncol.* 2011;29(21):2866-2874. doi:10.1200/JCO.2010.33.4235.
72. Schoenfeld AJ, Chan JM, Kubota D, et al. Tumor analyses reveal squamous transformation and off-target alterations as early resistance mechanisms to first-line osimertinib in EGFR-mutant lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(11):2654-2663. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-3563.
73. Bauml J, Cho BC, Park K, et al. Amivantamab in combination with lazertinib for the treatment of osimertinib-relapsed, chemotherapy-naïve EGFR mutant (EGFRm) non-small cell lung cancer (NSCLC) and potential biomarkers for response. *J Clin Oncol.* 2021;39(15 suppl):9006. doi:10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.9006.
74. Geraud A, Mezquita L, Auclin E, et al. Chronic plasma exposure to kinase inhibitors in patients with oncogene-addicted non-small cell lung cancer. *Cancers (Basel).* 2020;12(12):E3758. doi:10.3390/cancers12123758.
75. Piotrowska Z, Ahn MJ, Pang YK, et al. LBA53 ELIOS: a multicentre, molecular profiling study of patients (pts) with epidermal growth factor receptor-mutated (EGFRm) advanced NSCLC treated with first-line (1L) osimertinib. *Ann Oncol.* 2022;33:S1420-S1421. doi:10.1016/j.annonc.2022.08.055.
76. Ramalingam SS, Cheng Y, Zhou C, et al. Mechanisms of acquired resistance to first-line osimertinib: preliminary data from the phase III FLAURA study. *Ann Oncol.* 2018;29:viii740. doi:10.1093/annonc/mdy424.063.
77. Papadimitrakopoulou VA, Wu YL, Han JY, et al. Analysis of resistance mechanisms to osimertinib in patients with EGFR T790M advanced NSCLC from the AURA3 study. *Ann Oncol.* 2018;29:viii741. doi:10.1093/annonc/mdy424.064.

78. Oxnard GR, Hu Y, Mileham KE, et al. Assessment of resistance mechanisms and clinical implications in patients with EGFR T790M-positive lung cancer and acquired resistance to osimertinib. *JAMA Oncol.* 2018;4(11):1527-1534. doi:10.1001/jamaoncol.2018.2969.
79. Wang S, Song Y, Liu D. EAI045: the fourth-generation EGFR inhibitor overcoming T790M and C797S resistance. *Cancer Lett.* 2017;385:51-54. doi:10.1016/j.canlet.2016.11.008.
80. To C, Jang J, Chen T, et al. Single and dual targeting of mutant EGFR with an allosteric inhibitor. *Cancer Discov.* 2019;9(7):926-943. doi:10.1158/2159-8290.CD-18-0903.
81. Schalm SS, Dineen T, Lim SM, et al. BLU-945, a highly potent and selective 4th generation EGFR TKI for the treatment of EGFR T790M/C797S resistant NSCLC. *Ann Oncol.* 2020;31:S1391. doi:10.1016/j.annonc.2020.10.378.
82. Niederst MJ, Hu H, Mulvey HE, et al. The allelic context of the C797S mutation acquired upon treatment with third-generation EGFR inhibitors impacts sensitivity to subsequent treatment strategies. *Clin Cancer Res.* 2015;21(17):3924-3933. doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-0560.
83. Conti C, Campbell J, Woessner R, et al. Abstract 1262: BLU-701 is a highly potent, brain-penetrant and WT-sparing next-generation EGFR TKI for the treatment of sensitizing (ex19del, L858R) and C797S resistance mutations in metastatic NSCLC. *Cancer Res.* 2021;81(13 suppl):1262-1262. doi:10.1158/1538-7445.AM2021-1262.
84. Nogami N, Barlesi F, Socinski MA, et al. IMpower150 final exploratory analyses for atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in key NSCLC patient subgroups with EGFR mutations or metastases in the liver or brain. *J Thorac Oncol.* 2022;17(2):309-323. doi:10.1016/j.jtho.2021.09.014.
85. Lu S, Wu L, Jian H, et al. ORIENT-31: phase III study of sintilimab with or without IBI305 plus chemotherapy in patients with EGFR mutated nonsquamous NSCLC who progressed after EGFR-TKI therapy. *Ann Oncol.* 2022;33(1):112-113. doi:10.1016/j.annonc.2021.10.007.
86. Mok TSK, Nakagawa K, Park K, et al. LBA8: nivolumab (NIVO) + chemotherapy (chemo) vs chemo in patients (pts) with EGFR-mutated metastatic non-small cell lung cancer (mNS-CLC) with disease progression after EGFR tyrosine kinase inhibitors (TKIs) in CheckMate 722. *Ann Oncol.* 2022;33:S1561-2. https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.10.350.
87. Jänne PA, Baik C, Su WC, et al. Efficacy and safety of patritumab deruxtecan (HER3-DXd) in EGFR inhibitor-resistant, EGFR-mutated non-small cell lung cancer. *Cancer Discov.* 2022;12(1):74-89. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-0715.
88. Garon EB, Johnson ML, Lisberg AE, et al. Efficacy of datopotamab deruxtecan (Dato-DXd) in patients (pts) with advanced/metastatic (adv/met) non-small cell lung cancer (NSCLC) and actionable genomic alterations (AGAs): preliminary results from the phase I TROPION-PanTumor01 study. *Ann Oncol.* 2021;32:S1326-S1327. doi:10.1016/j.annonc.2021.08.2128.
89. Wu YL, Cheng Y, Zhou J, et al. Tepotinib plus gefitinib in patients with EGFR-mutant non-small-cell lung cancer with MET overexpression or MET amplification and acquired resistance to previous EGFR inhibitor (INSIGHT study): an open-label, phase 1b/2, multicentre, randomised trial. *Lancet Respir Med.* 2020;8(11):1132-1143. doi:10.1016/S2213-2600(20)30154-5.
90. Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science.* 2007;316(5827):1039-1043. doi:10.1126/science.1141478.
91. Wu YL, Zhang L, Kim DW, et al. Phase Ib/II study of capmatinib (INC280) plus gefitinib after failure of epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitor therapy in patients with EGFR-mutated, MET factor-dysregulated non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(31):3101-3109. doi:10.1200/JCO.2018.77.7326.
92. Yang JJ, Fang J, Shu YQ, et al. A phase Ib study of the highly selective MET-TKI savolitinib plus gefitinib in patients with EGFR-mutated, MET-amplified advanced non-small-cell lung cancer. *Invest New Drugs.* 2021;39(2):477-487. doi:10.1007/s10637-020-01010-4.

93. Sequist LV, Han JY, Ahn MJ, et al. Osimertinib plus savolitinib in patients with EGFR mutation-positive, MET-amplified, non-small-cell lung cancer after progression on EGFR tyrosine kinase inhibitors: interim results from a multicentre, open-label, phase 1b study. *Lancet Oncol.* 2020;21(3):373-386. doi:10.1016/S1470-2045(19)30785-5.
94. Yu HA, Ambrose H, Baik C, et al. ORCHARD osimertinib + savolitinib interim analysis: a biomarker-directed phase II platform study in patients (pts) with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) whose disease has progressed on first-line (1L) osimertinib. *Ann Oncol.* 2021;32:S978-S979. doi:10.1016/j.annonc.2021.08.1844.
95. Ahn M, De Marinis F, Bonanno L, et al. EP08.02-140: MET biomarker-based preliminary efficacy analysis in SAVANNAH: savolitinib+osimertinib in EGFRm NSCLC post-osimertinib. *J Thorac Oncol.* 2022;17:S469-70. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2022.07.823>.
96. Mazieres J, Kim TM, Lim BK, et al. LBA52 Tepotinib + osimertinib for EGFRm NSCLC with MET amplification (METamp) after progression on first-line (1L) osimertinib: initial results from the INSIGHT 2 study. *Ann Oncol.* 2022;33:S1419-S1420. doi:10.1016/j.annonc.2022.08.054.
97. Shu CA, Goto K, Ohe Y, et al. Amivantamab and lazertinib in patients with EGFR-mutant non-small cell lung (NSCLC) after progression on osimertinib and platinum-based chemotherapy: updated results from CHRYSALIS-2. *J Clin Oncol.* 2022;40(16 suppl):9006. doi:10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.9006.
98. Goldman JW, Horinouchi H, Cho BC, et al. Phase 1/1b study of telisotuzumab vedotin (Teliso-V) + osimertinib (Osi), after failure on prior Osi, in patients with advanced, c-Met overexpressing, EGFR-mutated non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol.* 2022;40(16 suppl):9013. doi:10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.9013.
99. Casadevall D, Gimeno J, Clavé S, et al. MET expression and copy number heterogeneity in nonsquamous non-small cell lung cancer (nsNSCLC). *Oncotarget.* 2015;6(18):16215-16226. doi:10.18632/oncotarget.3976.
100. Piotrowska Z, Iozaki H, Lennerz JK, et al. Landscape of acquired resistance to osimertinib in EGFR-mutant NSCLC and clinical validation of combined EGFR and RET inhibition with osimertinib and BLU-667 for acquired RET fusion. *Cancer Discov.* 2018;8(12):1529-1539. doi:10.1158/2159-8290.CD-18-1022.
101. Rotow J, Patel J, Hanley M, et al. Combination osimertinib plus selpercatinib for EGFR-mutant non-small cell lung cancer (NSCLC) with acquired RET fusions. *J Thorac Oncol.* 2021;16(3):S230. doi:10.1016/j.jtho.2021.01.150.
102. Meng P, Koopman B, Kok K, et al. Combined osimertinib, dabrafenib and trametinib treatment for advanced non-small-cell lung cancer patients with an osimertinib-induced BRAF V600E mutation. *Lung Cancer.* 2020;146:358-361. doi:10.1016/j.lungcan.2020.05.036.
103. Valet O, Swalduz A, Bousageon M, et al. Response to the combination of osimertinib, dabrafenib, and trametinib in leptomeningitis from EGFR-mutant NSCLC with acquired BRAF V600E mutation: a case report. *JTO Clin Res Rep.* 2021;2(6):100192. doi:10.1016/j.jtocrr.2021.100192.
104. Riess JW, Krailo MD, Padda SK, et al. Osimertinib plus necitumumab in EGFR-mutant NSCLC: final results from an ETCTN California Cancer Consortium phase I study. *J Clin Oncol.* 2022;40(16 suppl):9014. doi:10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.9014.
105. Yang JCH, Ohe Y, Chiu CH, et al. Osimertinib plus selumetinib in EGFR-mutated, non-small cell lung cancer after progression on EGFR-TKIs: a phase 1b, open-label, multicenter trial (TATTON Part B). *Clin Cancer Res.* 2022;clincanres.4329.2022-1-26 08:36:37.517. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-4329.
106. Lee JK, Lee J, Kim S, et al. Clonal history and genetic predictors of transformation into small-cell carcinomas from lung adenocarcinomas. *J Clin Oncol.* 2017;35(26):3065-3074. doi:10.1200/JCO.2016.71.9096.
107. Offin M, Chan JM, Tenet M, et al. Concurrent RB1 and TP53 alterations define a subset of EGFR-mutant lung cancers at risk for histologic transformation and inferior clinical outcomes. *J Thorac Oncol.* 2019;14(10):1784-1793. doi:10.1016/j.jtho.2019.06.002.
108. McLeer A, Foll M, Brevet M, et al. Detection of acquired TERT amplification in addition to predisposing p53 and Rb pathways alterations in EGFR-mutant lung adenocarcinomas transformed into small-cell lung cancers. *Lung Cancer.* 2022;167:98-106. doi:10.1016/j.lungcan.2022.01.008.
109. Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, et al. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci Transl Med.* 2011;3(75):75ra26. doi:10.1126/scitranslmed.3002003.

110. Marcoux N, Gettinger SN, O’Kane G, et al. EGFR-mutant adenocarcinomas that transform to small-cell lung cancer and other neuroendocrine carcinomas: clinical outcomes. *J Clin Oncol*. 2019;37(4):278-285. doi:10.1200/JCO.18.01585.
111. Lim C, Sung M, Shepherd FA, et al. Patients with advanced non-small cell lung cancer: are research biopsies a barrier to participation in clinical trials? *J Thorac Oncol*. 2016;11(1):79-84. doi:10.1016/j.jtho.2015.09.006.
112. Piotrowska Z, Niederst MJ, Mino-Kenudson M, et al. Variation in mechanisms of acquired resistance among EGFR-mutant NSCLC patients with more than 1 postresistant biopsy: metastatic non-small cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2014;90(5):S6-S7. doi:10.1016/j.ijrobp.2014.08.032.
113. Hata A, Katakami N, Yoshioka H, et al. Spatiotemporal T790M heterogeneity in individual patients with EGFR-mutant non-small-cell lung cancer after acquired resistance to EGFR-TKI. *J Thorac Oncol*. 2015;10(11):1553-1559. doi:10.1097/JTO.0000000000000647.

ALK 遺伝子の構造と機能

未分化リンパ腫キナーゼ (ALK) 遺伝子は染色体の、2 番染色体短腕 (2p23) に位置し、インスリン受容体スーパーファミリーに属する受容体チロシンキナーゼをコードします。^{1,2} ALK 遺伝子は、細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通部位、細胞内キナーゼ触媒ドメインから構成される単鎖膜受容体を形成する 1620 アミノ酸タンパク質をコードします。(図 8-1)。^{1,2} このタンパク質は、白血球チロシンキナーゼの細胞内ドメインと、c-ros およびインスリン様成長因子 1 受容体キナーゼと高い相同性があります。^{1,2} リガンドの結合の際、ALK 受容体にはホモ二量体化と、キナーゼドメインのチロシンリン酸化が起き、それに続く複数の下流シグナル伝達経路の活性化が起きます。これにはホスホイノシチド 3 キナーゼ (PI3K) /Akt、PI3K/ ホスホリパーゼ、C ガンマ、ヤヌスキナーゼ / シグナル伝達兼転写活性化因子 (JAK/STAT)、RAS/ 分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ (MAPK) が含まれ、細胞成長、分化、生存における役割を持ちます。³⁻⁵ プレイオトロフィンとミッドカインはどちらも ALK 向けの生理学的なリガンドとして提案されましたが、この結果を実証することができない他の点について不確定要素があります。⁴⁻⁸ ALK を通じた哺乳類細胞のシグナル伝達は、神経系の発達と細胞生存に関わっています。^{1,2,9} タンパク質発現は発達中に神経系で発生し、出生後は減少しますが、成人では一部の神経で発現が見られます。^{1,2,9}

腫瘍発生における変異の種類と役割

他の受容体チロシンキナーゼと同様に、ALK の発癌能は、再構成、変異、増幅など、遺伝子バリエーションの活性化の結果生じます。これは最初に未分化大細胞型リンパ腫で報告され、2 番および 5 番染色体 (2;5) (p23;q35) 間の転座によって起きる、ヌクレオフォスミン (NPM1::ALK) を有する発癌融合遺伝子を形成することが確認されました。^{1,2}

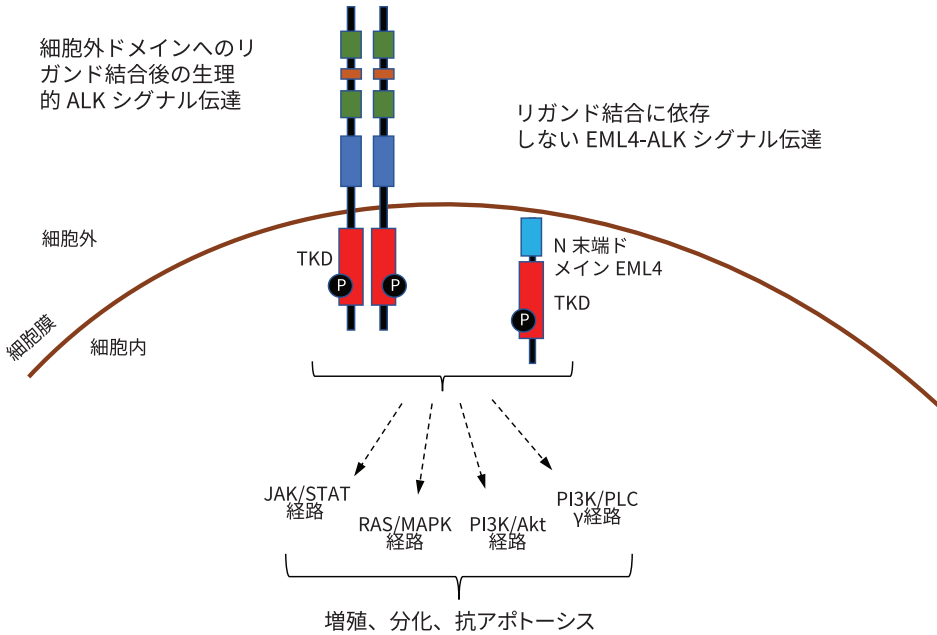


図 8-1. 細胞外ドメインへのリガンド結合に続く生理的 ALK シグナル伝達（左）と、リガンド結合を伴わない構成的 EML4-ALK シグナル伝達（右）。略語：AK = Janus kinase（ヤヌスキナーゼ）、MAPK = mitogen-activated protein kinase（分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ）、PI3K = phosphoinositide 3-kinase（ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ）、PLC γ = phospholipase C-gamma（ホスホリパーゼ C ガンマ）、STAT = signal transducer and activator of transcription（シグナル伝達兼転写活性化因子）、TKD = tyrosine kinase domain（チロシンキナーゼドメイン）。

発癌活性化転座はその後、非小細胞肺癌（NSCLC）、炎症性筋繊維瘍で報芽細胞性腫瘍を含むさまざまな悪性腫瘍で報告されています。また、頻度は少ないですが黒色腫、中皮腫、結腸直腸癌や乳癌を含む各種の悪性腫瘍でも報告されています。^{4, 10, 11}

肺腺癌のサブセットでは、ALK を含む発癌性転座が発生する場合があります。これは一般的には、微小管形成に不可欠な 120 kDa タンパク質をコードする

表 8-1. 最も一般的な EML4::ALK バリエント融合

バリエント	EML4::ALK- 融合タイプ	頻度 (%)
1	E13;A20	55
2	E20;A20	10
3a/b	E6a/b;A20	30
4	E14;ins11del49A20	3
5a/b	E2:A20 (5a)、E2ins117A20 (5b)	1
6	E3;ins69A20	1
7	E14;del12A20	<1
8a/b	E17;ins30A20 (8a)、E17ins30;ins65A20 (8b)	<1

(出典：Choi 氏他、Li 氏他^{18, 19)}

EML4 (echinoderm microtubule-associated protein-like 4) の N 末端を持つ細胞質キナーゼドメイン (エクソン 20 ~ 29) を含む *ALK* の 3' 側を融合する 2 番染色体における小規模な逆位が原因です (Inv[2] [p21;p23])。¹²⁻¹⁴ 現在まで少なくとも 13 の *EML4::ALK* 融合バリエーションが報告されていますが、すべて細胞内チロシンキナーゼドメイン (TKD) をコードする *ALK* の同じポジションと、コイルドコイルドメインを含む *EML4* の可変長を取り込んでいます (表 8-1)。^{13, 15-19}

NSCLC における *ALK* 融合パートナーの約 95% を占める *EML4* に加え、新たなパートナーの特定を加速する次世代シーケンシング (NGS) の使用が増えたことにより、現在まで 90 以上の異なる新たなパートナーが特定されています。¹² 融合体パートナーは一般的に 2 番染色体の短腕に座位しますが、他の染色体に座位する場合もあり、これには *KIF5B*, *TFG*, *KLC1*, *PTPN3*, *HIP1*, *STRN*, *TPR*, *DCTN1*, *SQSTM1*, *NPM1*, *BCL11A*, *BIRC6* があります。^{10-12, 15, 20} 発癌融合遺伝子は、主に構成キナーゼ活性を有し、抑制されない増殖と生存を含む発癌特性につながる異常なオンコプロテインをコードします。^{3, 15} 異常な融合遺伝子は特質上、*ALK* タンパク質の過剰発現を引き起こします。*ALK* 遺伝子コピー数の増加も、NSCLC を含む複数の腫瘍で報告されています。¹⁰ *ALK* 転座は、文献で報告されたまれな症例を除き、他の発癌変異とは相互に排他的です。*ALK* チロシンキナーゼ阻害剤 (ALKi) 治療後の NSCLC では、獲得耐性の機序として、二次的な獲得点突然変異が起こる可能性があります。¹⁰

疫学的、臨床的、組織学的特徴

ALK 再構成肺腺癌は肺腺癌の 4% ~ 5% を占め、アジア系および非アジア系の集団で同様の発生率が報告されています。^{13, 21} *ALK* 融合体は、非喫煙者または軽喫煙者に多く発生し、その発生率は 12% ですが、EGFR 遺伝子変異よりも女性との関連は強くありません。²² *ALK* 再構成肺癌の患者の年齢中央値は他の NSCLC 患者より約 10 歳若く、進行期を呈する患者の割合が高いです。²¹ 肺癌における *ALK* 再構成は腺癌の組織型、特に針状および / または固形増殖パターン、あるいは印環細胞癌の細胞学的特徴と強く関連しています。²¹

検査戦略

免疫組織化学法 (IHC)、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH)、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR)、または次世代シーケンシング (NGS) アッセイを使用して、*ALK* 再構成 NSCLC を同定することができます。

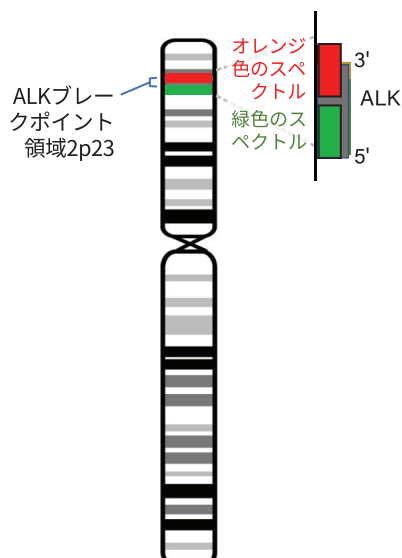


図 8-2. *ALK* 3' 端へのオレンジラベルのプロープ結合と、*ALK* 5' への緑色ラベルのプロープ結合を示す、*ALK* break-apart 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) プロープ設計の概略図。区切り点のいずれかの端に各プロープを配置。

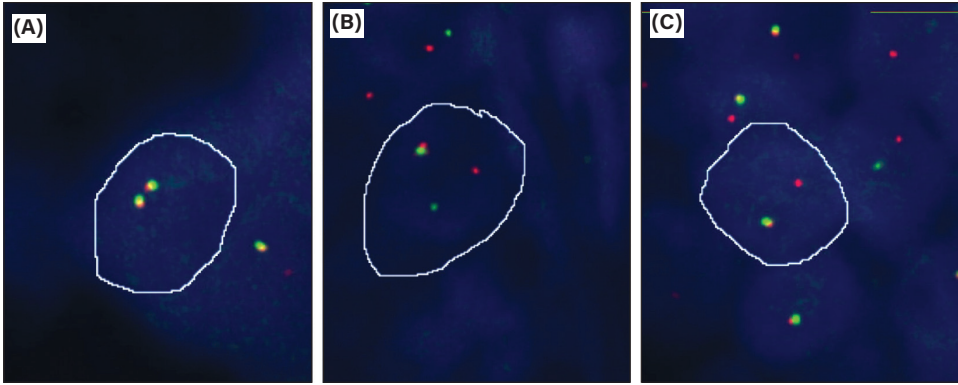


図 8-3. break apart プローブを使用した *ALK* 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH)。(A) 細胞が欠損した *ALK* 再構成を示す 2 つの融合したシグナル (B) 融合パートナーにかかわらず *ALK* 再構成のある細胞を示す、1 組の通常の融合シグナルと、分割した赤色の 3' シグナルおよび緑色の 5' シグナル。(C) 1 組の通常の融合シグナルと、*ALK* キナーゼドメインのある単一の赤色 3' シグナルも、*ALK* 再構成が陽性の細胞を示します。

蛍光 in situ ハイブリダイゼーション

FISH は NSCLC における *ALK* 融合体の検出に使用された最初のコンパニオン診断検査です。融合パートナーに関係なく再構成を検出するために、二重融合シグナルプローブではなく、ブレイクアパートプローブが採用されました (図 8-2)。最も一般的な *EML4::ALK* 融合体では、2 番染色体上に小さな逆位があるため、分裂した FISH シグナルが近接して観察されることがよくあります。FISH による陽性細胞は、最大シグナルの直径の少なくとも 2 倍の分離を有するスプリットシグナル、または最低 50 細胞をカウントした細胞の少なくとも 15% における 5'シグナルの消失によって定義されます (図 8-3)。

免疫組織化学法

D5F3 または 5A4 など高感度クローンを使用する *ALK* IHC は、NSCLC における機能的 *ALK* 再構成に対する信頼できる代替として使用できます (図 8-4)。²³ 初期の研究では融合 *ALK* タンパク質の発現はリンパ腫よりも NSCLC で低いことが判明しており、

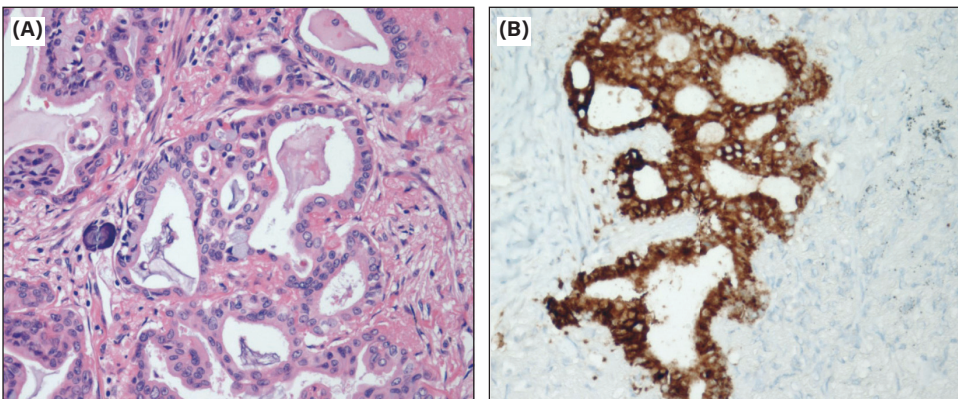


図 8-4. (A) 篩状構造と少数の印環細胞を有する *ALK* 陽性腺癌。(B) *ALK* (D5F3 クローン) の免疫組織化学法が陽性の細胞質染色を示し、*ALK* 再構成を示している可能性が非常に高くなっています。

NSCLCにおけるALK IHCにはより高感度な検出法を用いた高親和性クローンが必要です。ALK IHC アッセイは現在、臨床上標準的なツールで、Ventana ALK D5F3 など市販の IHC アッセイは、一部の国で抗 ALK 阻害剤アレクチニブのコンパニオン診断の選択肢として承認されています。ALK IHC を解釈する際の潜在的なピットフォールには、細胞質細胞内ムチンが原因で偽陰性に解釈される場合と、一部の神経内分泌癌で ALK 融合体の欠如にもかかわらず陽性染色が出る場合があります。²⁴ 適切なクローンを使用する ALK IHC は、ALK 再構成に対して高い感度を示しますが、FISH と IHC の間では食い違う結果が多数報告されています。ALK IHC 陽性 / FISH 陰性の症例は、NGS による実証された融合事象においても、治療に対する感度が低いことを示すデータがあります。^{25, 26} この食い違いの原理と、臨床結果に対する明らかな悪影響については不明です。

逆転写ポリメラーゼ連鎖反応

RT-PCR は最初は、ALK 融合体の通常臨床的特定には推奨されていませんでした。その理由は、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織から高品質な RNA を取得することが困難であるためと、多数の融合パターン / パートナー遺伝子があることで結果が偽陰性となるリスクがあるためです。²⁷ ただし、標準化された解析前の手法と改善された抽出技術で扱われる通常の FFPE 標本で、RNA が比較的良好に保存されていることがあります。また現在は、融解曲線を使用する複数の RT-PCR アッセイが市販されています。RT-PCR の主な限界点は、アッセイの設計に含まれていない新たな融合体を特定できないことです。さらに、臨床感度が改善された RNA ベースの NGS アッセイも、FFPE 由来の RNA を使用する ALK 融合体の検出に関して信頼がおけることが確認されています。

次世代シーケンシングアッセイ

ALK 融合体は、FFPE からの DNA または RNA ベースのアッセイを使用する NGS によって検出でき、既知のバリエーション (アンプリコンベースアッセイ)、または既知および未知の融合体バリエーションの両方の検出を可能にします。NGS アッセイは、融合体パートナー / バリエーションを特定でき、ALK に加えて他の遺伝子の変異についても同時に検査できるという利点があります。ALK 再構成 NSCLC の特定における NGS アッセイの制約には以下があります。

- 比較的大量の組織が必要：ハイブリッドキャプチャーベースの NGS アッセイでは核酸の要件が比較的高いことを考えると、小生検または少量の細胞診検体は適していません。アンプリコンベースのホットスポットパネルとアンカーマルチプレックス PCR (AMP) / NGS には、DNA/RNA の要件が低いという利点があります。AMP/NGS はターゲット NGS の一形態で、融合体パートナーについて事前の知識がなくても発癌融合体の検出が可能です。
- DNA ベースの NGS アッセイにおける偽陰性：DNA のゲノムブレイクポイントは、RNA の融合パターンと比べて多様です。そのため、ALK 融合体は DNA NGS から見逃される可能性があり、特定には RNA シーケンシングを必要とする場合があります。²⁸

- 腫瘍細胞含有物量が低く、標本の感度が最適ではない：NGS は対象となる対立遺伝子の頻度に基づくため、腫瘍細胞の比率が低い標本の融合体の検出は困難な場合があります。ただしこれは *ALK* の評価に固有のことではありません。分子バーコード法とディープシーケンシングは、この問題を克服するための試みとして有用です。

臨床的意義

ALK 再構成 NSCLC は、*ALKi* 治療に対して非常に高い感度を示します。2014 年、*ALKi* クリゾチニブがプラチナ製剤 2 剤併用化学療法よりも優れた標準治療であることが、画期的な第 3 相臨床試験で初めて支持され、顕著な無増悪生存期間（PFS）と忍容性の優位性が示されましたが、その後、クリゾチニブ初回投与で 4 年時点で 57% の患者が生存しており、全生存期間（OS）の優位性が確認されました。^{29,30}

経験が進むとともに、クリゾチニブによる治療を受けた症例の 70% で中枢神経系（CNS）における進行があったことが報告されました。³¹ もともと *ALK* 再構成 NSCLC は脳に転移する傾向があり、約 25% が診断時に CNS 疾患を有しています。

その結果、薬剤耐性機序克服にクリゾチニブが失敗したことで、脳浸透性の高さと、*ALK* へのより「的確な」親和性確保のために有効な療法として、初めて次世代 *ALKi* 療法が開発されました。³²⁻³⁷

クリゾチニブの後の安全性と有効性が実証され、次世代 *ALKi* 療法（セリチニブ、アレクチニブ、ブリガチニブ、エンサルチニブ）は急速に最前線の第 3 相検査となりました。これらはすべて試験設計で治療の標準として、セリチニブとクリゾチニブを使用した化学療法であるコンパレータアームに対して優れていることが実証されました。³⁸⁻⁴¹ セリチニブの生存期間中央値が、代替の第二世代 *ALKi* 療法より劣り、忍容性も低いことを考慮すると、*ALK* の経験的治療パラダイムにおけるセリチニブの重要性は低下しています。一方、アレクチニブ、ブリガチニブ、エンサルチニブの試験間を比較した結果では、PFS が同程度で、アレクチニブとブリガチニブはエンサルチニブよりも CNS での高い有効性が示されました。現在までで最も長い PFS 中央値は、アレクチニブの 35 カ月間で（研究者による評価）、第 3 相データの成熟した OS 率と、5 年生存率 63% で、OS 率中央値は 8 年を超すと予測されます。⁴²

ALKi 療法の副作用プロファイルでは、一貫したクラスエフェクトと、*ALKi* 療法に固有の潜在的な有害作用があり、許容できない副作用の状況で代替の *ALKi* を選択する際、臨床的に重要な意味を持つ可能性があります。

高活性で脳浸透性の *ALKi* ロルラチニブによる第三世代の単群第 1 相および第 2 相試験データにより、*ALKi* 療法を 1 回から複数回受けた後の前治療患者における有効性が確立されました。^{36,43} ロルラチニブは、前世代の *ALKi* 療法に耐性を付与する一般的な変異があっても有効です。⁴⁴ ロルラチニブ（対クリゾチニブ）のファーストライン第 3 相試験では、PFS の中央値は未達ですが、3 年後に 64% が無増悪であり、ベースライン CNS 転移を有する患者では 50% が無増悪であるという画期的なデータが得ら

れています。これらは現在までで最も説得力のある、未成熟なファーストライン生存データです。^{45, 46}

2022年には、第四世代 ALKi 療法が研究の初期フェーズに入り、以前の ALKi 療法に対する汎耐性のある変異を含め、ALK 複合耐性変異において前臨床活性を示しました。^{47, 48} 追加の、多くは標的治療を行う ALKi 療法を含む新しい併用治療の前向き臨床試験が進行中で、この戦略によって薬剤耐性出現の防止または克服、生存率の向上、忍容性の保持が可能かどうかの研究が行われています。

現在は、通常の臨床実践で特定の ALKi の選択を導くその他の分子バイオマーカーは存在しません。ベースラインで脳転移がある場合、または脳を保護する意図がある場合は、最適な ALKi 療法の選択に役立ちます。大部分の患者については、薬剤の入手可能性と限られたシーケンシングデータに基づき経験的に各ラインの治療が選択されます。

耐性機序

行性疾患における ALKi の優れた有効性と忍容性にもかかわらず、薬剤耐性は依然として避けられません。この背後の機序の一端は、これらの治療薬が細胞毒性よりも殺細胞性に優れ、クローン選択現象を生じさせることにあります。

薬剤耐性の機序はクリゾチニブで初めて報告され、一次耐性と後天性（二次）耐性に大別され、「後天性」から「ALK 依存性」または「ALK 非依存性」の機序に分類されます。^{49, 50} 一次耐性はまれで、遺伝子型の偽陽性や分子学的・組織学的に多様な表現型が原因である可能性があります。二次耐性ではまれに小細胞型、扁平上皮型、神経内分泌型などの組織型変換が起こることがあり、おそらく ALK に対してより強力な後世代の ALKi 療法で頻度が高くなります。^{51, 52}

ALK 依存的な機序は、一般的に ALK 耐性変異の出現を伴うもので、TKD の細胞内薬剤結合ポケットに生じることが多いです。これは第一世代および第二世代の ALKi 療法を受けた症例の 25% ~ 50% 以上で報告されており、同じ腫瘍細胞または異なる腫瘍細胞クローンで進化する 1 つまたは複数の変異が関与している可能性があります。⁵³ 耐性の機序を判断するためには、臨床的に関連性のある非 ALK 遺伝子と ALK キナーゼドメインの両方を可能な限り包括的に捉えた広範な分子遺伝子シーケンズパネルを利用した組織生検および / またはリキッド生検のいずれかが必要です。

クリゾチニブの場合、最も一般的な TKD は、薬剤結合を直接阻止するゲートキーパー L1196M 変異ですが、一方、第二世代 ALKi 療法の場合は、最も一般的なのはソルベントフロント G1202R 変異で、これは立体障害によって薬剤結合を回避します。⁴⁴ 報告されている ALK 耐性変異は 50 種類以上あり、前臨床および臨床データから、新たに出現した多数の耐性変異が存在する場合の ALKi 療法の感度が確立されつつあります。これらの耐性変異の分子構造と特性を考慮すると、ALKi への暴露はそれぞれに異なると考えられます。複数の TKD 変異が発生した場合、これらは初期の世代の ALKi 療法に対して耐性がある可能性が高く、G1202R と同時発生している場合、ロラチニブにも耐性がある可能性が高くなります。⁵⁴

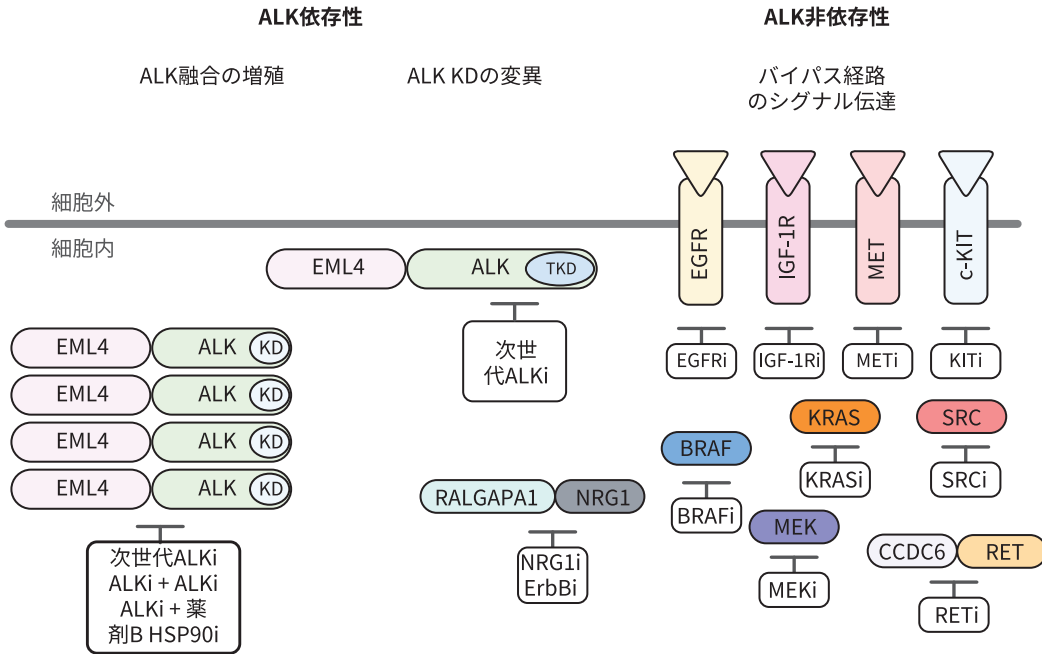


図 8-5. ALK 阻害剤への耐性機序。耐性機序には ALK 依存または ALK 非依存があり、患者によってさまざまです。略語: HSP = heat shock protein (熱ショックタンパク質)、i = inhibitor (阻害剤)、KD = kinase domain (キナーゼドメイン)、TKD = tyrosine kinase domain (チロシンキナーゼドメイン)。(出典: Lovly。⁶⁴)

個別の ALK 融合バリエントでは、ALKi の耐久性のある有効性が生じやすくなる場合があります。これはオンコプロテインの安定性と遺伝子の脆弱性がさまざまに異なるためです。特定の融合バリエントが ALKi の性能を予測する可能性を示唆する前臨床および臨床研究の報告があります。最も多いのは EML4::ALK バリエント 1 で、第一世代および第二世代の阻害剤で PFS が優れていることを示唆しています。ただし、EML4::ALK バリエント 3 は、バリエント 1 と比較すると、ロルラチニブで優れた結果を示しています。⁵⁵⁻⁵⁹ 興味深いことに、隠れたバリエントは、バリエント 3 の ALK 依存と、バリエント 1 の ALK 非依存がより多く、さまざまな耐性の兆候を生じやすい可能性があります。⁵⁷ ALK 耐性変異以外では、ALK 依存変異の別の機序として、ALK 遺伝子コピー数の増加と、ALK オンコプロテインの出現の増加があります。これらの特性は通常の検査では行われず、臨床的に関連性のある遺伝子コピーまたはタンパク質レベルの増加を定義する最適な技術および閾値ではありません。

ALK 非依存耐性機序 (バイパス経路介在機序の活性化) は、単独で、またはもっと一般的には ALK 依存耐性バリエントと呼応して発生する場合があります。次世代 ALKi で治療を受けた患者の 50% 以上で示される可能性があります (図 8-5)。ALK 非依存耐性は、受けた治療ラインと後の世代の ALKi の投与量に沿って増加します。ALK 非依存耐性機序には、KRAS、ERBB2、BRAF、EGFR、MET、MEK、KIT などの変異に続発する異常な経路の活性化があります。^{49, 50, 60-63} ALK 再構成における特定の非 ALK 共変異は、ALKi 単独療法に対する弱毒化した反応を予測します。最も確立されているのは TP53 変異です。⁵⁸ ALK 非依存耐性では、最善の治療戦略はまだ確定していません。

ん。前臨床データと少数の症例で、効果的な標的療法の組み合わせが報告されています。しかし、実践でこれらの併用戦略を使用できるケースは限られています。^{63, 65-67} 臨床試験では、バイオマーカーの情報に基づく個別化された方法ではない、すべての組み合わせを調査する治療戦略の研究が行われています。ClinicalTrials.govに掲載されているこうした臨床試験には、血管内皮成長因子 (VEGF)、SHP2、または MAPK 阻害剤、あるいは化学療法または放射線治療を併用する ALKi 療法が含まれます。

参考文献

- Iwahara T, Fujimoto J, Wen D, et al. Molecular characterization of ALK, a receptor tyrosine kinase expressed specifically in the nervous system. *Oncogene*. 1997;14(4):439-449.
- Morris SW, Naeve C, Mathew P, et al. ALK, the chromosome 2 gene locus altered by the t(2;5) in non-Hodgkin's lymphoma, encodes a novel neural receptor tyrosine kinase that is highly related to leukocyte tyrosine kinase (LTK) [published correction appears in *Oncogene* 1997 Dec 4;15(23):2883]. *Oncogene*. 1997;14(18):2175-2188.
- Lee CC, Jia Y, Li N, et al. Crystal structure of the ALK (anaplastic lymphoma kinase) catalytic domain. *Biochem J*. 2010;430(3):425-437.
- Palmer RH, Vernersson E, Grabbe C, Hallberg B. Anaplastic lymphoma kinase: signaling in development and disease. *Biochem J*. 2009;420(3):345-361.
- Stoica GE, Kuo A, Aigner A, et al. Identification of anaplastic lymphoma kinase as a receptor for the growth factor pleiotrophin. *J Biol Chem*. 2001;276(20):16772-16779.
- Guan J, Umapathy G, Yamazaki Y, et al. FAM150A and FAM150B are activating ligands for anaplastic lymphoma kinase. *Elife*. 2015;4:e09811.
- Perez-Pinera P, Zhang W, Chang Y, Vega JA, Deuel TF. Anaplastic lymphoma kinase is activated through the pleiotrophin/receptor protein-tyrosine phosphatase beta/zeta signaling pathway: an alternative mechanism of receptor tyrosine kinase activation. *J Biol Chem*. 2007;282(39):28683-28690.
- Stoica GE, Kuo A, Powers C, et al. Midkine binds to anaplastic lymphoma kinase (ALK) and acts as a growth factor for different cell types. *J Biol Chem*. 2002;277(39):35990-35998.
- Vernersson E, Khoo NK, Henriksson ML, et al. Characterization of the expression of the ALK receptor tyrosine kinase in mice. *Gene Expr Patterns*. 2006;6(5):448-461.
- Du X, Shao Y, Qin HF, Tai YH, Gao HJ. ALK-rearrangement in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Thorac Cancer*. 2018;9(4):423-430.
- Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. [published correction appears in *N Engl J Med*. 2011 Feb 10;364(6):588]. *N Engl J Med*. 2010;363(18):1693-1703.
- Ou SI, Zhu VW, Nagasaka M. Catalog of 5' fusion partners in ALK-positive NSCLC circa 2020. *JTO Clin Res Rep*. 2020;1(1):100015.
- Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007;448(7153):561-566.
- Solomon B, Varella-Garcia M, Camidge DR. ALK gene rearrangements: a new therapeutic target in a molecularly defined subset of non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2009;4(12):1450-1454.
- Della Corte CM, Viscardi G, Di Liello R, et al. Role and targeting of anaplastic lymphoma kinase in cancer. *Mol Cancer*. 2018;17(1):30.
- Heuckmann JM, Balke-Want H, Malchers F, et al. Differential protein stability and ALK inhibitor sensitivity of EML4-ALK fusion variants. *Clin Cancer Res*. 2012;18(17):4682-4690.
- Takeuchi K, Choi YL, Soda M, et al. Multiplex reverse transcription-PCR screening for EML4-ALK fusion transcripts. *Clin Cancer Res*. 2008;14(20):6618-6624.
- Choi YL, Takeuchi K, Soda M, et al. Identification of novel isoforms of the EML4-ALK transforming gene in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2008;68(13):4971-4976.
- Li T, Maus MK, Desai SJ, et al. Large-scale screening and molecular characterization of EML4-ALK fusion variants in archival non-small-cell lung cancer tumor specimens using quantitative reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Thorac Oncol*. 2014;9(1):18-25.

20. Kang J, Deng QM, Peng KC, et al. Clinicopathological features and resistance mechanisms in HIP1-ALK-rearranged lung cancer: a multicenter study. *Genes Chromosomes Cancer*. 2022;61(4):177-186.
21. Fan L, Feng Y, Wan H, Shi G, Niu W. Clinicopathological and demographical characteristics of non-small cell lung cancer patients with ALK rearrangements: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(6):e100866.
22. Paik PK, Johnson ML, D'Angelo SP, et al. Driver mutations determine survival in smokers and never-smokers with stage IIIB/IV lung adenocarcinomas. *Cancer*. 2012;118(23):5840-5847.
23. Selinger CI, Rogers TM, Russell PA, et al. Testing for ALK rearrangement in lung adenocarcinoma: a multicenter comparison of immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization. *Mod Pathol*. 2013;26(12):1545-1553.
24. Akhoundova D, Haberecker M, Fritsch R, et al. Targeting ALK in neuroendocrine tumors of the lung. *Front Oncol*. 2022;12:911294.
25. Blackhall FH, Peters S, Bubendorf L, et al. Prevalence and clinical outcomes for patients with ALK-positive resected stage I to III adenocarcinoma: results from the European Thoracic Oncology Platform Lungscape project. *J Clin Oncol*. 2014;32(25):2780-2787.
26. Mok T, Peters S, Camidge DR, et al. Outcomes according to ALK status determined by central immunohistochemistry or fluorescence in situ hybridization in patients with ALK-positive NSCLC enrolled in the phase 3 ALEX study. *J Thorac Oncol*. 2021;16(2):259-268.
27. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology [published correction appears in *J Thorac Oncol*. 2013 Oct;8(10):1343]. *J Thorac Oncol*. 2013;8(7):823-859.
28. Benayed R, Offin M, Mullaney K, et al. High yield of RNA sequencing for targetable kinase fusions in lung adenocarcinomas with no mitogenic driver alteration detected by DNA sequencing and low tumor mutation burden. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4712-4722.
29. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer [published correction appears in *N Engl J Med*. 2015 Oct 15;373(16):1582]. *N Engl J Med*. 2014;371(23):2167-2177.
30. Solomon BJ, Kim DW, Wu YL, et al. Final overall survival analysis from a study comparing first-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-mutation-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36(22):2251-2258.
31. Costa DB, Shaw AT, Ou SH, et al. Clinical experience with crizotinib in patients with advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer and brain metastases. *J Clin Oncol*. 2015;33(17):1881-1888.
32. Shaw AT, Kim TM, Crinò L, et al. Ceritinib versus chemotherapy in patients with ALK-rearranged non-small-cell lung cancer previously given chemotherapy and crizotinib (ASCEND-5): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(7):874-886.
33. Novello S, Mazières J, Oh IJ, et al. Alectinib versus chemotherapy in crizotinib-pretreated anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive non-small-cell lung cancer: results from the phase III ALUR study. *Ann Oncol*. 2018;29(6):1409-1416.
34. Gettinger SN, Bazhenova LA, Langer CJ, et al. Activity and safety of brigatinib in ALK-rearranged non-small-cell lung cancer and other malignancies: a single-arm, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(12):1683-1696.
35. Popat S, Liu G, Lu S, et al. Brigatinib vs alectinib in crizotinib-resistant advanced anaplastic lymphoma kinase-positive non-small-cell lung cancer (ALTA-3). *Future Oncol*. 2021;17(32):4237-4247.
36. Solomon BJ, Besse B, Bauer TM, et al. Lorlatinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: results from a global phase 2 study [published correction appears in *Lancet Oncol*. 2019 Jan;20(1):e10]. *Lancet Oncol*. 2018;19(12):1654-1667.
37. Horn L, Infante JR, Reckamp KL, et al. Ensartinib (X-396) in ALK-positive non-small cell lung cancer: results from a first-in-human phase I/II, multicenter study. *Clin Cancer Res*. 2018;24(12):2771-2779.
38. Soria JC, Tan DSW, Chiari R, et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2017;389(10072):917-929.
39. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus crizotinib in untreated ALK-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2017;377(9):829-838.

40. Camidge DR, Kim HR, Ahn MJ, et al. Brigatinib versus crizotinib in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2018;379(21):2027-2039.
41. Horn L, Wang Z, Wu G, et al. Ensartinib vs crizotinib for patients with anaplastic lymphoma kinase-positive non-small cell lung cancer: a randomized clinical trial. *JAMA Oncol*. 2021;7(11):1617-1625.
42. Mok T, Camidge DR, Gadgeel SM, et al. Updated overall survival and final progression-free survival data for patients with treatment-naïve advanced ALK-positive non-small-cell lung cancer in the ALEX study. *Ann Oncol*. 2020;31(8):1056-1064.
43. Shaw AT, Felip E, Bauer TM, et al. Lorlatinib in non-small-cell lung cancer with ALK or ROS1 rearrangement: an international, multicentre, open-label, single-arm first-in-man phase 1 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(12):1590-1599.
44. Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, et al. Molecular mechanisms of resistance to first- and second-generation ALK inhibitors in ALK-rearranged lung cancer. *Cancer Discov*. 2016;6(10):1118-1133.
45. Shaw AT, Bauer TM, de Marinis F, et al. First-line lorlatinib or crizotinib in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(21):2018-2029.
46. Solomon B, Bauer T, Mok T, et al. Updated efficacy and safety from the phase 3 CROWN study of first-line lorlatinib vs crizotinib in advanced anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive non-small cell lung cancer (NSCLC) [AACR conference abstract CT223]. *Cancer Res*. 2022;82(12 suppl):CT223.
47. Murray BW, Zhai D, Deng W, et al. TPX-0131, a potent CNS-penetrant, next-generation inhibitor of wild-type ALK and ALK-resistant mutations. *Mol Cancer Ther*. 2021;20(9):1499-1507.
48. Pelish HE, Tangpeerachaikul A, Kohl NE, et al. NUV-655 (NVL-655) is a selective, brain-penetrant ALK inhibitor with antitumor activity against the lorlatinib-resistant G1202R/L1196M compound mutation. Abstract 1468. *Cancer Res*. 2021;81(13 suppl):1468.
49. Katayama R, Shaw AT, Khan TM, et al. Mechanisms of acquired crizotinib resistance in ALK-rearranged lung cancers. *Sci Transl Med*. 2012;4(120):120ra17.
50. Doebele RC, Pilling AB, Aisner DL, et al. Mechanisms of resistance to crizotinib in patients with ALK gene rearranged non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;18(5):1472-1482.
51. Balla A, Khan F, Hampel KJ, Aisner DL, Sidiropoulos N. Small-cell transformation of ALK-rearranged non-small-cell adenocarcinoma of the lung. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*. 2018;4(2):a002394.
52. Fares AF, Lok BH, Zhang T, et al. ALK-rearranged lung adenocarcinoma transformation into high-grade large cell neuroendocrine carcinoma: clinical and molecular description of two cases. *Lung Cancer*. 2020;146:350-354.
53. Gainor J. Next generation ALK inhibitors and mechanisms of resistance to therapy. *Ann Oncol*. 2015;26(suppl 2):iii14.
54. Yoda S, Lin JJ, Lawrence MS, et al. Sequential ALK inhibitors can select for lorlatinib-resistant compound ALK mutations in ALK-positive lung cancer. *Cancer Discov*. 2018;8(6):714-729.
55. Ruano-Ravina A, Provencio-Pulla M. Differential crizotinib response duration among ALK fusion variants in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *Transl Cancer Res*. 2017:S54-S56.
56. Camidge DR, Dziadziuszko R, Peters S, et al. Updated efficacy and safety data and impact of the EML4-ALK fusion variant on the efficacy of alectinib in untreated ALK-positive advanced non-small cell lung cancer in the global phase III ALEX study [published correction appears in *J Thorac Oncol*. 2019 Nov;14(11):2023]. *J Thorac Oncol*. 2019;14(7):1233-1243.
57. Lin JJ, Zhu VW, Yoda S, et al. Impact of EML4-ALK variant on resistance mechanisms and clinical outcomes in ALK-positive lung cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36(12):1199-1206.
58. Camidge R, Niu H, Kim HY, et al. Correlation of baseline molecular and clinical variables with ALK inhibitor efficacy in ALTA-1L. *J Clin Oncol*. 2020;38(15 suppl):9517-9517.
59. Childress MA, Himmelberg SM, Chen H, et al., ALK fusion partners impact response to ALK inhibition: differential effects on sensitivity, cellular phenotypes, and biochemical properties. *Mol Cancer Res*. 2018;16(11):1724-1736.
60. Crystal AS, Shaw AT, Sequist LV, et al. Patient-derived models of acquired resistance can identify effective drug combinations for cancer. *Science*. 2014;346(6216):1480-1486.
61. Lovly CM, Shaw AT. Molecular pathways: resistance to kinase inhibitors and implications for therapeutic strategies. *Clin Cancer Res*. 2014;20(9):2249-2256.
62. Friboulet L, Li N, Katayama R, et al. The ALK inhibitor ceritinib overcomes crizotinib resistance in non-small cell lung cancer. *Cancer Discov*. 2014;4(6):662-673.

63. Dagogo-Jack I, Yoda S, Lennerz JK, et al. MET alterations are a recurring and actionable resistance mechanism in ALK-positive lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(11):2535-2545.
64. Lovly CM. Combating acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors in lung cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2015;e165-e173. doi:10.14694/EdBook_AM.2015.35.e165.
65. Miyawaki M, Yasuda H, Tani T, et al. Overcoming EGFR bypass signal-induced acquired resistance to ALK tyrosine kinase inhibitors in ALK-translocated lung cancer. *Mol Cancer Res.* 2017;15(1):106-114.
66. Tanizaki J, Okamoto I, Okabe T, et al. Activation of HER family signaling as a mechanism of acquired resistance to ALK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2012;18(22):6219-6226.
67. Tanizaki J, Okamoto I, Takezawa K, et al. Combined effect of ALK and MEK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small-cell lung cancer cells. *Br J Cancer.* 2012;106(4):763-767.

遺伝子の構造と機能

ROS 癌原遺伝子 1 (ROS1 : ROS proto-oncogene 1) は、インスリン受容体ファミリーに属し、進化的に ALK ファミリーに近い受容体型チロシンキナーゼ (RTK) です。ROS1 遺伝子は、6 番染色体 (領域 6q22.1) 上に位置しており、独自の特徴を持つ膜貫通受容体タンパク質をコードします。細胞外 N 末端ドメインは、エクソン 1 から 32 にまたがっており、すべてのヒト RTK ファミリーの中で最も大きな細胞外ドメインの 1 つです。ROS1 の C 末端部分は、キナーゼドメイン (KD) と単一膜貫通 (TM) ドメインをコードします (図 9-1)。野生型 ROS1 タンパク質の生理的役割はほとんど知られておらず、そのリガンドもヒトでは同定されていません。^{1,2}

腫瘍発生における変異の種類と役割

発癌性 ROS1 遺伝子の再構成は、エクソン 32、34、35、36、またはイントロン 31、33 の 5' 末端で発生します。^{3,4} この細胞外コイル - コイルドメインは、遺伝子パートナーの N 末端と融合する細胞質内 KD とは対照的に、ROS1 融合には含まれません。同定された主なパートナー遺伝子は、CD74 (38% ~ 54%)、EZR (13% ~ 24%)、SDC4

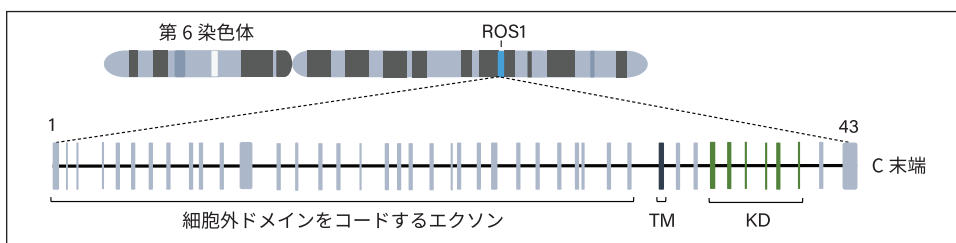


図 9-1. 6 番染色体の ROS1 遺伝子の模式図。略語：KD = kinase domain (キナーゼドメイン)、TM = transmembrane (膜貫通)。

(9%～13%)、*SLC34A2* (5%～10%)、*TPM3* (3%～15%)、および *FIG*、もしくは *GOPC* (2%～3%) であり、現在までに最大 28 の他のパートナーも報告されていますが、それぞれが占める割合は 1% 未満です。⁵ *ROS1* 融合タンパク質は、発癌性を有する活性化キナーゼであり、細胞の分化、増殖、成長、生存に関与するホスホイノシチド 3-キナーゼ (PI3K) -AKT- ラパマイシンキナーゼ標的 (mTOR) 経路などのリン酸化を介して、さまざまなシグナル伝達経路を活性化することができます。癌原性 *ROS1* 融合は、非小細胞肺癌 (NSCLC) 以外にも、膠芽腫、胆管癌、炎症性筋線維芽細胞腫など、多種多様な癌で発生する可能性があります。NSCLC では、活性化 *ROS1* 遺伝子の変異や増幅は報告されておらず、癌原性の同時変異を伴う *ROS1* 再構成の発生は非常にまれで、主に *EGFR* または *KRAS* の変異に代表されます。⁶

疫学的、臨床的、組織学的特徴

ROS1 融合は、肺癌では非常にまれであり、頻度は 0.9%～2.9% の範囲です。これらの融合は、若年の患者、女性、非喫煙経験者に多く見られます。^{7,8} 通常、これらは、進行期の甲状腺転写因子 -1 (TTF1) 陽性腺癌の患者で診断され^{1,9}、扁平上皮癌または大細胞癌ではほとんど見られません。¹⁰ *ROS1* 再構成腫瘍は通常、篩状の特徴、砂腫に富む間質、および印環癌細胞を含む堅固な構造を持っています。¹⁰ 患者は、血栓塞栓性イベントおよび播種性血管内凝固症候群のリスクが高い可能性があります。^{11,12}

検査戦略

蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) は、*ROS1* 融合体検出のゴールドスタンダードであり、ほとんどの検査室ではデュアルカラーブレイクアパートプローブを利用しています (例：*ROS1* デュアルカラーブレイクアパートプローブ [CytoCell]、ZytoLight SPEC *ROS1* デュアルカラーブレイクアパートプローブ [ZytoVision/Zytomed]、または Vysis *ROS1* デュアルカラーブレイクアパート FISH プローブ [Abbott])。原理は、融合ブレイクポイントの 3' (セントロメア) 部分を 1 つの蛍光色素でラベル付けし、5' (テロメア) 部分を別の蛍光色素でラベル付けします。2 つの *ROS1* 再構成パターンの診断が可能です。1 つは古典的なブレイクアパートパターンで、1 つの融合シグナル (ネイティブ *ROS1*) と 2 つ分離 3' シグナルと 5' シグナルを持っています。もう 1 つは、異型と呼ばれるもので、孤立した 3' (緑) シグナルを考慮し、1 つの融合シグナル (ネイティブ *ROS1*) を含み、5' シグナルは含まれません。^{2,13,14} 少なくとも 50 個の腫瘍細胞、理想的には 100 個を分析する必要があり、陽性の閾値は陽性細胞の 15% 以上です。陽性細胞の数が 5～25 個の場合、不明確とみなされ、別の観察者による再分析が必要です。

ROS1 再構成はまれであるため、FISH は時間がかかり、すべての病理検査室で実施されているわけではないため、スクリーニング法として、免疫組織化学 (IHC) を利用できます。¹⁵ 市販されている次の 3 つの抗 *ROS1* 抗体が利用可能です。臨床試験で使用されるクローン D4D6 (Cell Signaling Technology)、クローン SP384 (Roche Tissue Diagnostics、旧 Ventana)、およびクローン 1A1 (Origene)。これらはすべて、FISH および次世代シーケンシング (NGS) と比較して感度は高い (90%～100%) ですが、特

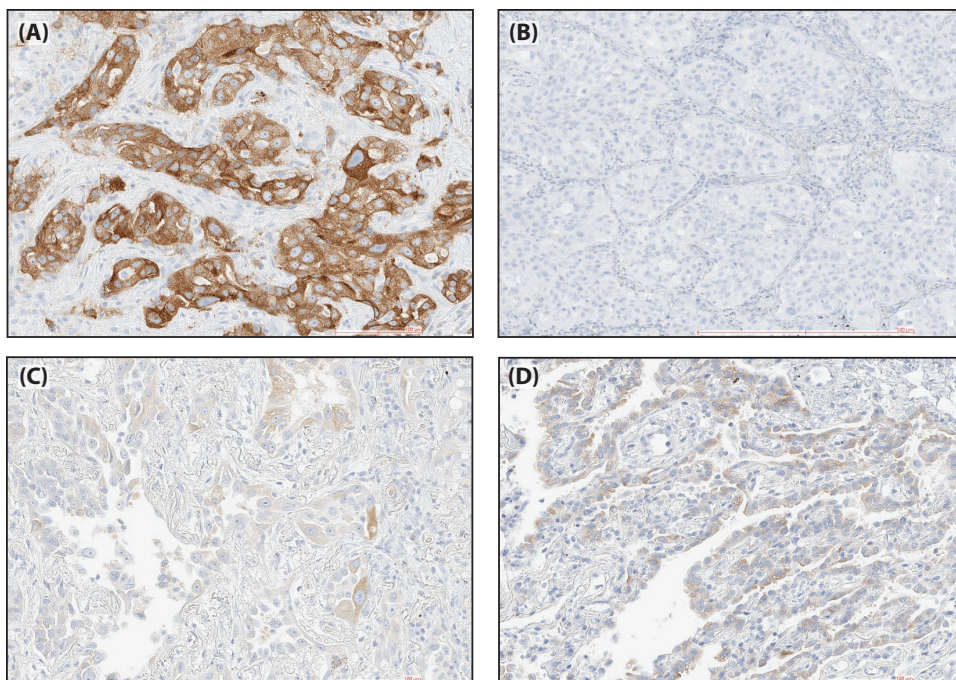


図 9-2. (A) *CD74::ROS1* 融合を有する肺腺癌における ROS1 免疫組織化学 (IHC) (クローン D4D6)、強力でびまん性の細胞質染色。(B) エクソン 21 p.L858R *EGFR* 遺伝子変異を有する肺腺癌における ROS1 IHC (クローン D4D6)、染色なし (C) エクソン 21 p.L858R *EGFR* 遺伝子変異を有する肺腺癌における ROS1 IHC (クローン D4D6)、薄くて局所的な細胞間染色。(D) *KIF5B::RET* 融合を有する肺腺癌における ROS1 IHC (クローン D4D6)、薄くて局所的な細胞間染色。

異度は 70% ~ 90% と低くなっています。IHC 陽性の腫瘍で *ROS1* 再構成を確認するには、FISH 法または他の分子生物学的手法が必要です。² *ROS1* 再構成腫瘍検体や細胞株などの外部陽性コントロールを使用すること、および外部品質コントロールに参加することが強く推奨されます。普遍的に受け入れられているスコアリングシステムはありませんが、びまん性の強い細胞質染色は、斑状染色と比較して、*ROS1* 再構成腫瘍を示す可能性が高くなります。¹⁶ 染色は通常、細胞質で顆粒状ですが、一部のバリエーションでは、ゴルジ体や膜の染色が報告されています (*CD74* および *EZR*)¹⁴ 注目すべきは、正常な II 型肺細胞やマクロファージ、および *EGFR*、*ALK*、または *MET* 駆動性 NSCLC の 3 分の 1 がしばしば染色されることがあります^{13, 17} (図 9-2)。IHC 陽性の腫瘍では *ROS1* 融合の確認が必要で、FISH 法または分子生物学的手法で行うことができます。後者は、多重逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) や NGS が含まれます。¹⁵ イントロン領域の再構成を検出するために設計されたハイブリッド DNA-RNA または RNA ベースの NGS が好まれます。¹⁸ 興味深いことに、包括的なゲノムプロファイリング技術により、循環腫瘍 DNA (ctDNA) 検体の最大 92%、および *ROS1* 融合 13 個のうち 10 個を検出できるようになりました。¹⁹

表 9-1. ROS1 阻害剤（承認済みおよび開発中）

TKI	相（臨床試験）	N	ORR (%)	mPFS (月数)	mOS (月数)
クリゾチニブ	1 および 2 (Profile 1001)	53	72	19	51
	1 および 2 (AcSé)	36	47	6	17
	2 (EUCROSS)	34	70	20	NR
	2 (METROS)	26	65	23	NR
セリチニブ	2	32	62	19	24
エヌトレクチニブ	2 (STARTRK 1/2、ALKA 372)	172	69	18	NR
ロルラチニブ	1 および 2	69	62 ^a	21	NA
			35 ^b	9	NA
カボザンチニブ	2	6	33	NA	NA
タレトレクチニブ	2	40	90 ^c	NA	NA
		21	47 ^d	NA	NA
レボトレクチニブ	2	55	86	30.9	NA
エンサルチニブ	2	59	27	NA	NA
TQ-B3101	2	111	78	15	NA

略語：mOS = median overall survival（全生存期間の中央値）、mPFS = median progression-free survival（無増悪生存期間の中央値、NA = not applicable（非該当）、NR = not reported（報告なし）、ORR = overall response rate（全奏効率）、TKI = tyrosine kinase inhibitor（チロシンキナーゼ阻害剤）。

^a 1次治療。

^b 2次治療以降。

^c クリゾチニブ未経験。

^d クリゾチニブ耐性。

臨床的意義：NSCLC 患者における ROS1 腫瘍の治療

クリゾチニブとエヌトレクチニブは、ROS1 再構成 NSCLC の治療薬として、米国食品医薬品局（FDA）と欧州医薬品庁（EMA）が承認した2つの薬剤ですが²⁰⁻²³、他の薬剤も現在開発中です（表 9-1）。

クリゾチニブは、ALK および ROS1 再構成腫瘍に対して活性があり、転移性の ROS1 再構成 NSCLC を対象とした PROFILE 1001 試験に基づいて承認されたもので、全奏効率（ORR）72%、病勢コントロール率（DCR）90%、奏効期間（DOR）中央値 24.7 カ月、無増悪生存期間（PFS）中央値 19.3 カ月、全生存期間（OS）中央値 51.4 カ月でした。²⁴ 第3相 AcSé 試験では、ORR は 47.2% で、PFS と OS の中央値はそれぞれ 5.5 カ月と 17.2 カ月でした。²⁵ EUCROSS 試験では ORR70%、METROS 試験では ORR65% で、PFS 中央値はそれぞれ 20 カ月と 22.8 カ月でした。^{26, 27} 最も一般的な副作用はすべてグレード 1 と 2 で、視力障害（82%）、下痢（44%）、および吐き気（40%）でした。クリゾチニブは中枢神経系（CNS）への浸透性が低いため、診断時に脳転移があった ROS1 再構成 NSCLC 患者の 36% に加え、最大 47% の患者で脳転移が発症しました。^{9, 28}

セリチニブは ALK および ROS1 再構成腫瘍に対して活性を示し²⁹、第2相試験では、32 例の ROS1 再構成 NSCLC において（ほとんどが 1 次治療（1L））、ORR が 62%、

PFS 中央値が 9.3 カ月を達成しました³⁰ 脳転移を有する 8 人の患者の ORR は 63% でした。毒性プロファイルは、グレード 3 有害事象の 37% で許容範囲でした。

エヌトレクチニブは、NSCLC における ROS1 融合、ALK 融合、および NTRK 融合を標的とします。²³ 第 2 相試験 STARTRK-2 では、ROS1 再構成 NSCLC を有する患者 172 例で、エヌトレクチニブの有効性が確認され^{31, 32}、ORR は 69%、PFS の中央値は 17.7 カ月、1 年 OS の中央値は 81% でした。CNS への浸透により、脳転移を有する患者の ORR は 79.2% でした。最も頻度の高い有害事象は、味覚障害 (41.4%)、疲労 (27.9%)、めまい (25.4%)、および便秘 (23.7%) でした。

ロルラチニブは ALK および ROS1 に対して活性があり、1L 患者の ORR は 62%、PFS の中央値は 21 カ月、脳への ORR は 64% です。³³⁻³⁵ すでにクリゾチニブで治療を受けた患者では、ORR、PFS の中央値、および脳への ORR はそれぞれ 35%、8.5 カ月、および 50% でした。グレード 3 またはグレード 4 の最も一般的な有害事象は、それぞれ患者の 43% および 6% で発生し、最も頻度が高かったのは高コレステロール血症 (65%)、高トリグリセリド血症 (42%)、末梢浮腫 (39%)、および末梢神経障害 (35%) でした。

レポトレクチニブは ROS1、NTRK、または ALK を標的とすることが可能で、CNS 活性があります。前臨床モデルは、脳転移、治療歴のない腫瘍、セリチニブ耐性腫瘍、および 1G2032R 耐性変異を有する腫瘍に対して抗腫瘍活性を示しました。³⁶ 現在、臨床第 1 相および第 2 相試験が進行中です。

エンサルチニブ (X-396) は、ALK に対する有効性が証明されているチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) であり³⁷、ROS1 陽性 NSCLC の第 2 相試験では、ORR が 27% と低い有効性を示しましたが、CNS 活性は患者の 4 分の 3 で見られました。³⁸

耐性機序

オンターゲットの耐性メカニズムには、後天的 ROS1 変異³⁹⁻⁴⁵ が含まれ、G2032R が最も多く、次に D2033N が続き、どちらも Solvent Front 変異です。重要なことは、L2086F はすべての I 型 ROS1 TKI (クリゾチニブ、ロルラチニブ、タレトレクチニブ) に耐性を付与するため、重要な耐性変異として浮上しています。⁴³⁻⁴⁵ 他のまれな獲得耐性変異としては、ゲートキーパー変異の L2026M、G2032K、S1986F/Y、L2000V、および F2004V などがあります。³⁹⁻⁴⁵

ロルラチニブは、K1991E または S1986F 耐性変異に対して有効性がありますが、G2032R 変異に対して^{33, 46}、およびエヌトレクチニブの障害後はより限定的です。⁴⁷ クリゾチニブとロルラチニブの連続使用により、G2032R/L2086F の複合変異がもたらされましたが、幸いなことに、カボザチニブはこれらの複合変異を克服することが期待されています。^{44, 48} MET、VEGFR2、RET、ROS1、および AXL を選択的に標的とし、脳への浸透が優れています。D2033N や G2032R などの耐性変異が存在するにもかかわらず、クリゾチニブ、セリチニブ、およびエヌトレクチニブに対する耐性を克服するために使用できます。^{30, 49, 50} 別の ROS1 阻害剤であるブリガチニブは、L2026M 変異を含むいくつかのクリゾチニブ耐性メカニズムに対して抗腫瘍活性を示していますが⁵¹、G2032R 変異に対しては抗腫瘍活性を示していません。⁵¹⁻⁵³ タレトレクチニ

ブは、耐性 *ROS1* 再構成 NSCLC を標的とする *ROS1* および *NTRK* 阻害剤であり⁴⁸、G2032R、L1951R、S1986F、および L2026M 変異に対しては *in vitro* 活性がありますが、D2033N 変異に対しては活性が低くなっています。

オフターゲットの耐性メカニズムには、*MET* 増幅、*KRAS* 変異、および小細胞肺癌形質転換が含まれます。^{46, 54, 55} 最後に、すべての RTK 融合陽性 NSCLC と同様に、CNS への進行は常に耐性メカニズムであり⁵⁶、CNS 活性を付与し、*ROS1* 再構成 NSCLC に予測される後天的 *ROS1* 変異の多くを克服する *ROS1* TKI が、この状況における治療法の選択肢となるべきです。

最近、ALK、*ROS1*、および *MET* を標的とする新しい低分子 RTK 阻害剤である TQ-B3101 のデータが、欧州肺癌会議 (ELCC) 2022 で発表され、*ROS1* 再構成 NSCLC を有する 111 人の患者において、ORR は 78.4%、DCR は 87.4% を達成することができました。PFS の中央値は 15.6 カ月、DOR の中央値は 20.3 でした。OS の中央値には達しておらず、12 カ月と 24 カ月の OS 率はそれぞれ 98.1% と 88.1% でした。耐性に関するデータはまだ発表されていません。⁵⁷

参考文献

1. Drilon A, Jenkins C, Iyer S, et al. *ROS1*-dependent cancers: biology, diagnostics and therapeutics. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18(1):35-55.
2. Bubendorf L, Büttner R, Al-Dayel F, et al. Testing for *ROS1* in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch*. 2016;469(5):489-503.
3. Davies KD, Doebele RC. Molecular pathways: *ROS1* fusion proteins in cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(15):4040-4045.
4. Cui M, Han Y, Li P, et al. Molecular and clinicopathological characteristics of *ROS1*-rearranged non-small-cell lung cancers identified by next-generation sequencing. *Mol Oncol*. 2020;14(11):2787-2795.
5. Gendarme S, Bylicki O, Chouaid C, Guisier F. *ROS-1* fusions in non-small-cell lung cancer: evidence to date. *Curr Oncol*. 2022;29(2):641-658.
6. Lambros L, Guibourg B, Uguen A. *ROS1*-rearranged non-small cell lung cancers with concomitant oncogenic driver alterations: about some rare therapeutic dilemmas. *Clin Lung Cancer*. 2018;19(1):e73-74.
7. Zhang Q, Wu C, Ding W, et al. Prevalence of *ROS1* fusion in Chinese patients with non-small cell lung cancer. *Thorac Cancer*. 2019;10(1):47-53.
8. Cai W, Li X, Su C, et al. *ROS1* fusions in Chinese patients with non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2013;24(7):1822-1827.
9. Patil T, Smith DE, Bunn PA, et al. The incidence of brain metastases in stage IV *ROS1*-rearranged non-small cell lung cancer and rate of central nervous system progression on crizotinib. *J Thorac Oncol*. 2018;13(11):1717-1726.
10. Park E, Choi YL, Ahn MJ, Han J. Histopathologic characteristics of advanced-stage *ROS1*-rearranged non-small cell lung cancers. *Pathol Res Pract*. 2019;215(7):152441.
11. Zhu VW, Zhao JJ, Gao Y, et al. Thromboembolism in ALK+ and *ROS1*+ NSCLC patients: a systematic review and meta-analysis. *Lung Cancer*. 2021;157:147-155.
12. Woodford R, Lu M, Beydoun N, et al. Disseminated intravascular coagulation complicating diagnosis of *ROS1*-mutant non-small cell lung cancer: a case report and literature review. *Thorac Cancer*. 2021;12(17):2400-2403.
13. Mescam-Mancini L, Lantuéjoul S, Moro-Sibilot D, et al. On the relevance of a testing algorithm for the detection of *ROS1*-rearranged lung adenocarcinomas. *Lung Cancer*. 2014;83(2):168-173.
14. Yoshida A, Tsuta K, Wakai S, et al. Immunohistochemical detection of *ROS1* is useful for identifying *ROS1* rearrangements in lung cancers. *Mod Pathol*. 2014;27(5):711-720.

15. Kalemkerian GP, Narula N, Kennedy EB, et al. Molecular testing guideline for the selection of patients with lung cancer for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology Endorsement of the College of American Pathologists/ International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol*. 2018;36(9):911-919.
16. Fielder T, Butler J, Tierney G, et al. ROS1 rearrangements in lung adenocarcinomas are defined by diffuse strong immunohistochemical expression of ROS1. *Pathology*. 2022;54(4):399-403.
17. Mitiushkina NV, Romanko AA, Preobrazhenskaya EV, et al. Comprehensive evaluation of the test for 5′-/3′-end mRNA unbalanced expression as a screening tool for ALK and ROS1 fusions in lung cancer. *Cancer Med*. 2022;11(17):3226-3237.
18. Paz-Ares L, Gonds A, Saldana D, et al. Genomic testing among patients with newly diagnosed advanced non-small cell lung cancer in the United States: a contemporary clinical practice patterns study. *Lung Cancer*. 2022;167:41-48.
19. Lee JK, Hazar-Rethinam M, Decker B, et al. The pan-tumor landscape of targetable kinase fusions in circulating tumor DNA. *Clin Cancer Res*. 2022;28(4):728-737.
20. FDA approves entrectinib for NTRK solid tumors and ROS-1 NSCLC [news release]. US Food and Drug Administration, August 16, 2019. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-entrectinib-ntrk-solid-tumors-and-ros-1-nsclc>.
21. FDA approves crizotinib capsules [news release]. US Food and Drug Administration, March 11, 2016. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-crizotinib-capsules>.
22. Meeting highlights from the Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) October 19-22, 2015. European Medicines Agency, October 23, 2015. <https://www.ema.europa.eu/en/news/meeting-highlights-committee-medicinal-products-human-use-chmp-19-22-october-2015>.
23. Fan Y, Drilon A, Chiu C-H, et al. Entrectinib in patients with ROS1 fusion-positive (ROS1-fp) NSCLC: updated efficacy and safety analysis. *J Thorac Oncol*. 2022;17(9 suppl):S89-S90.
24. Shaw AT, Ou SHI, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(21):1963-1971.
25. Moro-Sibilot D, Cozic N, Pérol M, et al. Crizotinib in c-MET- or ROS1-positive NSCLC: results of the AcSé phase II trial. *Ann Oncol*. 2019;30(12):1985-1991.
26. Michels S, Massutí B, Schildhaus HU, et al. Safety and efficacy of crizotinib in patients with advanced or metastatic ROS1-rearranged lung cancer (EUCROSS): a European phase II clinical trial. *J Thorac Oncol*. 2019;14(7):1266-1276.
27. Chiari R, Ricciuti B, Landi L, et al. ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer is associated with a high rate of venous thromboembolism: analysis from a phase II, prospective, multicenter, two-arms trial (METROS). *Clin Lung Cancer*. 2020;21(1):15-20.
28. Wu YL, Yang JCH, Kim DW, et al. Phase II study of crizotinib in east Asian patients with ROS1-positive advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36(14):1405-1411.
29. Shaw AT, Kim TM, Crinò L, et al. Ceritinib versus chemotherapy in patients with ALK-rearranged non-small-cell lung cancer previously given chemotherapy and crizotinib (ASCEND-5): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(7):874-886.
30. Drilon A, Somwar R, Wagner JP, et al. A novel crizotinib-resistant solvent-front mutation responsive to cabozantinib therapy in a patient with ROS1-rearranged lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2016;22(10):2351-2358.
31. Drilon A, Siena S, Dziadziuszko R, et al. Entrectinib in ROS1 fusion-positive non-small-cell lung cancer: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol*. 2020;21(2):261-270.
32. Dziadziuszko R, Krebs MG, De Braud F, et al. Updated integrated analysis of the efficacy and safety of entrectinib in locally advanced or metastatic ROS1 fusion-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2021;39(11):1253-1263.
33. Shaw AT, Felip E, Bauer TM, et al. Lorlatinib in non-small-cell lung cancer with ALK or ROS1 rearrangement: an international, multicentre, open-label, single-arm first-in-man phase 1 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(12):1590-1599.
34. Shaw AT, Solomon BJ, Chiari R, et al. Lorlatinib in advanced ROS1-positive non-small-cell lung cancer: a multicentre, open-label, single-arm, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol*. 2019;20(12):1691-1701.
35. Solomon BJ, Besse B, Bauer TM, et al. Lorlatinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: results from a global phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2018;19(12):1654-1667.

36. Yun MR, Kim DH, Kim SY, et al. Repotrectinib exhibits potent antitumor activity in treatment-naïve and solvent-front-mutant ROS1-rearranged non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(13):3287-3295.
37. Horn L, Infante JR, Reckamp KL, et al. Ensartinib (X-396) in ALK-positive non-small cell lung cancer: results from a first-in-human phase I/II, multicenter study. *Clin Cancer Res.* 2018;24(12):2771-2779.
38. Ai X, Wang Q, Cheng Y, et al. Safety but limited efficacy of ensartinib in ROS1-positive NSCLC: a single-arm, multicenter phase 2 study. *J Thorac Oncol.* 2021;16(11):1959-1963.
39. Awad MM, Katayama R, McTigue M, et al. Acquired resistance to crizotinib from a mutation in CD74-ROS1. *N Engl J Med.* 2013;368(25):2395-2401.
40. Gainor JF, Tseng D, Yoda S, et al. Patterns of metastatic spread and mechanisms of resistance to crizotinib in ROS1-positive non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol.* 2017;2017:PO.17.00063.
41. Dagogo-Jack I, Rooney M, Nagy RJ, et al. Molecular analysis of plasma from patients with ROS1-positive NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2019;14(5):816-824.
42. Dimou A, Ou SHI, Doebele RC. Dramatic response to lorlatinib in a patient with CD74-ROS1-positive lung adenocarcinoma with acquired F2004V mutation. *JCO Precis Oncol.* 2019;3:PO.19.00013.
43. Zhang Y, Huang Z, Zeng L, et al. Disease progression patterns and molecular resistance mechanisms to crizotinib of lung adenocarcinoma harboring ROS1 rearrangements. *NPJ Precis Oncol.* 2022;6(1):20.
44. Lin JJ, Choudhury NJ, Yoda S, et al. Spectrum of mechanisms of resistance to crizotinib and lorlatinib in ROS1 fusion-positive lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2021;27(10):2899-2909.
45. Papadopoulos KP, Borazanci E, Shaw AT, et al. U.S. Phase I first-in-human study of taletrectinib (DS-6051b/AB-106), a ROS1/TRK inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2020;26(18):4785-4794.
46. Wu X, Wang Y, Wan S, Zhang J. Investigation on the binding mechanism of lorlatinib with the c-ros oncogene 1 (ROS1) receptor tyrosine kinase via molecular dynamics simulation and binding free energy calculations. *J Biomol Struct Dyn.* 2018;36(12):3106-3113.
47. Facchinetti F, Levy A, Ammari S, et al. Meningeal “Lazarus response” to lorlatinib in a ROS1-positive NSCLC patient progressing to entrectinib. *Cancer Manag Res.* 2021;13:2805-2810.
48. Li W, Yang N, Ma H-W, et al. The efficacy and safety of taletrectinib in patients with TKI-naïve or crizotinib-pretreated ROS1-positive non-small cell lung cancer (NSCLC) [abstract 8572]. *J Clin Oncol.* 2022;40(suppl 16):8572. doi:10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.8572.
49. Sun TY, Niu X, Chakraborty A, Neal JW, Wakelee HA. Lengthy progression-free survival and intracranial activity of cabozantinib in patients with crizotinib and ceritinib-resistant ROS1-positive non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(2):e21-24.
50. Katayama R, Kobayashi Y, Friboulet L, et al. Cabozantinib overcomes crizotinib resistance in ROS1 fusion-positive cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21(1):166-174.
51. Zhang S, Anjum R, Squillace R, et al. The potent ALK inhibitor brigatinib (AP26113) overcomes mechanisms of resistance to first- and second-generation ALK inhibitors in preclinical models. *Clin Cancer Res.* 2016;22(22):5527-5538.
52. Hegde A, Hong DS, Behrang A, et al. Activity of brigatinib in crizotinib and ceritinib-resistant ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *JCO Precis Oncol.* 2019;3:PO.18.000267.
53. Camidge DR, Kim DW, Tiseo M, et al. Exploratory analysis of brigatinib activity in patients with anaplastic lymphoma kinase-positive non-small-cell lung cancer and brain metastases in two clinical trials. *J Clin Oncol.* 2018;36(26):2693-2701.
54. McCoach CE, Le AT, Gowan K, et al. Resistance mechanisms to targeted therapies in ROS1+ and ALK+ non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2018;24(14):3334-3347.
55. Lin JJ, Langenbucher A, Gupta P, et al. Small cell transformation of ROS1 fusion-positive lung cancer resistant to ROS1 inhibition. *NPJ Precis Oncol.* 2020;4:21.
56. Ou SHI, Zhu VW. CNS metastasis in ROS1+ NSCLC: an urgent call to action, to understand, and to overcome. *Lung Cancer.* 2019;130:201-207.
57. Lu S, Pan H, Wu L, et al. The efficacy and safety of TQ-B3101 monotherapy in the first-line treatment in patients with ROS1-positive non-small cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2022;33(suppl 2):S27-S70. doi:10.1016/annonc/annonc856.

執筆者：By Paul Hofman、Anja C. Roden、Jin-Haeng Chung、David Planchard

遺伝子の構造、シグナル伝達、および機能

v-Raf マウス肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ B (*BRAF* : *V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B*) 遺伝子は、RTK-RAS-RAF-MEK-ERK 成長因子シグナル伝達経路 (RAS/MAPK シグナル伝達) の構成要素であるセリン / スレオニンキナーゼの RAF ファミリのメンバーである BRAF キナーゼをコードします。¹ BRAF キナーゼは、EGFR の活性化後の細胞内シグナル伝達における重要なステップです。BRAF は、7 番染色体の長腕 (7q) にコードされている 95 kDa のセリン / スレオニンキナーゼタンパク質です。全般的に、BRAF は細胞の増殖、分裂、死滅を制御する中心的な役割を果たしています。正常組織では、シグナルがカスケードの次のポイントに移動すると、BRAF キナーゼは通常、ネガティブフィードバックによってサイレント化されます。*BRAF* 変異は、RAS-RAF-MEK-ERK 経路の活性化をもたらす、制御されない細胞成長や増殖をもたらします。

腫瘍発生における変異の種類と役割 変異

BRAF 変異は、メラノーマ、結腸直腸癌、甲状腺乳頭癌、非小細胞肺癌 (NSCLC) などのさまざまな腫瘍や癌細胞株で 300 近くの異なるものが同定されています。これらの変異の大半は、V600 コドン付近の活性化ループ、または残基 464 ~ 469 のリン酸結合ループで発生し、3 つのクラスに分類されています。² *BRAF* 変異のクラスは、次の主要な側面に基づいて報告されます：(1) キナーゼ活性、(2) 二量体の状態、および (3) RAS 依存性。

クラス I *BRAF* 変異は、単量体の状態においてもキナーゼ活性が高いため、RAS 非依存性で見なされます。エクソン 15 のコドン 600 の点突然変異 (*BRAF* V600) はこのクラスに属し、バリンが、グルタミン酸 (V600E)、リジン (V600K)、アスパラギン酸 (V600D)、メチオニン (V600M)、ロイシン (V600L)、アルギニン (V600R) などの他のアミノ酸に置換されます。クラス I 変異は、マイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPK) 経路の構成的活性化を促進し、*BRAF* キナーゼの強力な活性化を引き起こします。これらのタイプの変異は通常、*BRAF* および MAPK キナーゼ (MEK) 阻害剤に対して高い感受性があります。

クラス II *BRAF* 変異は、RAS 非依存性を可能にする中程度のキナーゼ活性によって特徴付けられますが、完全に活性であるためにはホモ二量体を形成する必要があります。*K601*、*L597*、*G464*、および *G469* 変異を含むクラス II 変異は、活性化セグメントまたは P ループに位置し、RAS 非依存性の二量体としてシグナルを示します。

クラス III *BRAF* 変異はキナーゼ活性が損なわれているため、完全に機能するためには、RAS 活性化と野生型 CRAF ヘテロ二量体の形成が必要になります。これらのクラス III 変異は、P ループ、触媒ループ、または DFG モチーフに存在し、*BRAF* キナーゼ活性が損なわれます。クラス II および III 変異は非 V600 変異です。NSCLC における *BRAF* 変異の約 50% は非 V600 変異です。

***BRAF* 変異 NSCLC における同時変異**

BRAF 変異 NSCLC を有する患者の最大 90% で、遺伝子の同時変異が確認される可能性があります。*TP53*、*STK11*、*KRAS*、*NF1*、およびいくつかのチロシンキナーゼ受容体は、組織標本と無細胞 DNA (cfDNA) の両方で最も頻繁に共変異する遺伝子です。*SMAD4* と *PIK3CA* の変異は *BRAF* V600E と関連しますが、*KEAP1*、*NF1*、*MET*、*RICTOR*、*KRAS*、*MYC*、*STK11*、および *TP53* の変異は、V600E 以外の *BRAF* 変異でより頻繁に発生します。

欠失

BRAF 欠失変異は固形腫瘍で発生する可能性があり、*BRAF* 阻害剤および MEK 阻害剤に対する耐性メカニズムの一種として機能する場合があります。欠失変異は、*BRAF* のキナーゼドメインの α C ヘリックスに隣接して発生し、 α C ヘリックスの活性立体配座を抑制することによってキナーゼ活性が増強されます。

融合

NSCLC を含むさまざまな癌種で、少なくとも 18 の異なる 5' 融合パートナーが発見されています。NSCLC における最も一般的な融合パートナーは、*AGK* です。NSCLC における *BRAF* 融合の発生率は 1% 未満であり、*BRAF* 融合を伴うすべての NSCLC は腺癌です。³ 大半の *BRAF* 融合パターンは、*BRAF* キナーゼドメインにブレークポイントを持つインフレームです。*BRAF* 融合の活性化は、N 末端 CR1 自己抑制ドメインの切断によって生じ、クラス II *BRAF* 変異に類似した *BRAF* 経路の構成的活性化につながります。

増幅

MEK1/2 阻害剤 (MEKi) に対する獲得耐性は、*BRAF* V600E または *KRAS* の増幅によって ERK1/2 シグナル伝達が回復することによって生じます。*BRAF* V600E 増幅と MEKi 耐性は、休業後、可逆的です。*BRAF* V600E 増幅を有する細胞は、細胞増殖と生存、および *in vivo* での腫瘍増殖に最適な ERK1/2 シグナル伝達の正確なレベルを維持するために、MEKi に依存しています。*BRAF* V600E 増幅は、休業後に選択的な不利益をもたらすため、耐性の発生を防ぐには、間欠投与が有効です。

疫学的、臨床的、組織学的特徴

BRAF 変異はヒトの癌の 8% に認められ、主に毛様細胞白血病 (100%)、黒色腫 (40% ~ 50%)、甲状腺癌 (10% ~ 70%、組織学的サブタイプによって異なる)、結腸直腸癌 (10%)、NSCLC (3% ~ 8%) に認められます。

NSCLC では、男性患者の 3.7% および女性患者の 4% で *BRAF* 変異が検出されます。^{4,5} *BRAF* 変異は喫煙歴と関連しており、喫煙経験者または喫煙者の約 4.7%、非喫煙経験者の約 3% で検出されます。*BRAF* 変異は、腺癌の約 4% および非腺癌の 0.6% で検出されるため、腺癌は最も一般的な組織学的パターンを表します。^{4,5} *BRAF* 変異は、ステージ I または II の患者の約 4%、およびステージ III または IV の癌患者の 7.6% で検出されます。*BRAF* V600E 変異は、NSCLC の全 *BRAF* 変異の 54% を占め、女性患者 (男性の *BRAF* 変異例の 38% に対して 71%) およびステージ III または IV (ステージ I-II の *BRAF* 変異例の 48% に対して 57%) で有病率が高くなっています。世界的に、*BRAF* 変異は女性患者との関連性が高いですが、非 V600E 変異は男性患者でより高い頻度で見られます。⁵ *BRAF* 変異 NSCLC を有する大部分の患者は、現在または過去に喫煙歴がありますが、有病率に違いがあります。V600E 変異を有する患者の 20% ~ 30% は非喫煙経験者であり、非 V600E 変異を有するほとんどすべての患者はヘビースモーカーです。⁵

BRAF 変異 NSCLC は、中枢神経系に関与する傾向があります。注目すべきは、クラス I 変異を有する患者における診断時の脳転移の発生率は、クラス II および III と比較して有意に低いことです。NSCLC の *BRAF* 変異における予後的意義は不明です。早期ステージでは、*BRAF* V600E 変異 NSCLC の切除を受けた患者は、野生型変異を有する患者と比較して無病生存率および全生存率 (OS) が短いですが、*BRAF* 変異を有する全患者 (V600E および非 V600E の両方) を野生型集団と比較した場合、そのような差は現れませんでした。転移状態では、*BRAF* 変異と野生型疾患の患者の間で無増悪生存期間と OS に差異は確認されていませんが、プラチナ製剤ベースの化学療法後の臨床転帰については、*BRAF* V600E 変異腫瘍を有する患者は、非 V600E と比較して不良だと報告されています。

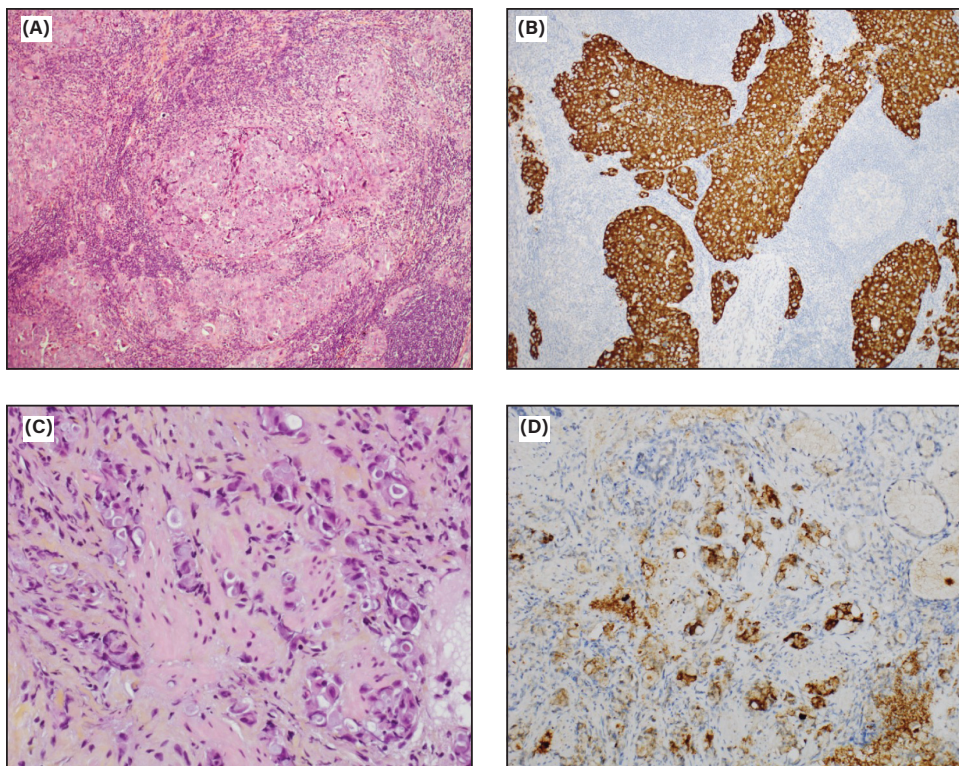


図 10-1. (A および B) 固形腺癌（肺腫瘍切除、x40）。(A) ヘマトキシリン・エオシン（H&E）。(B) 免疫ペルオキシダーゼ（抗 BRAF V600E、VE1 クローン）。(C および D) 浸潤性粘液性腺癌（気管支生検）。(C) H&E。(D) 免疫ペルオキシダーゼ（抗 BRAF V600E、VE1 クローン）。

検査戦略

免疫組織化学法

変異型 BRAF タンパク質の免疫組織化学（IHC）に使用する抗体は、クローン VE1 です（図 10-1）。⁶ IHC の目的は、質的变化（つまり、タンパク質の有無）を同定することです。この検査の制限としては、*BRAF* V600E 変異のみ検査可能で、非 V600E 変異は検査できないことです。⁷⁻⁹ データは限られていますが、VE1 クローンは p.V600E 変異腺癌の 90% ~ 100% を染色する可能性があります。¹⁰ 現在、NSCLC の BRAF p.V600E IHC 検査に使用される標準的な推奨事項またはコンセンサスは作成されていません。

分子検査

BRAF 変異は、対立遺伝子特異的ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）や次世代シーケンシング（NGS）などの DNA シーケンシング法によって同定されます。これらの 2 つの方法は、組織標本において同等の感度、特異性、および一致率を有していますが、複数の発癌性変化を同時に同定できる理由で、NGS が望ましい検査であると広く考えられています。

ポリメラーゼ連鎖反応

最も一般的に使用されるアッセイは、逆転写 (RT) -PCR です。現在、米国食品医薬品局 (FDA) で承認されているコンパニオン診断検査は、Cobas 4800 *BRAF* V600 変異検査 (Roche Diagnostics)、および THxID-*BRAF* キット (Biomérieux) です。*BRAF* 変異状態の検査には、他のラボ開発検査も利用されており、現地の承認状況に応じて、償還目的のために、他の方法による確認検査が必要になる場合もあります。RT-PCR の主な利点は、遺伝子配列決定法と比較して、検査所要時間が迅速、再現性、特異性、感度、および低コストです。ただし、これらの方法の一部は、単にエクソン 15 に位置する *BRAF* V600E 変異のみを対象としています。したがって、NSCLC でも見られるエクソン 11 変異を検出する能力はありません。

次世代シーケンシング

エクソン 11 およびエクソン 15 で発生する可能性のある *BRAF* V600E 変異および非 V600E 変異を評価するには、複数の遺伝子パネルを備えた NGS を使用する必要があります。¹¹ また、新しい希少ドライバー遺伝子がさらに発見されており、単一遺伝子のアプローチより、複数遺伝子検査のニーズが高まっています。NGS のメリットは次のとおりです。

- 必要な腫瘍組織が比較的少ない
- 複数のバイオマーカー検査が容易
- 臨床試験の登録に使用される新しいバイオマーカーが含まれている
- *BRAF* 変異で発生する共変異を検出できる可能性がある

また、一般的に、逐次検査と比較してより経済的です。一方で、NGS はデータ量が多く、NGS レポートの解釈が複雑になる可能性があるため、普遍的に利用できるわけではありません。NGS の検査所要時間は、RT-PCR アッセイや IHC アッセイより長くなります。

リキッドバイオプシーによる *BRAF* 検査

BRAF V600E 変異は、液滴デジタル PCR または RT-PCR による cfDNA で検出可能です。¹² また、*BRAF* V600E および非 V600E 変異も、NGS を使用して循環無細胞 DNA (cfDNA) で検出可能です。組織標本が入手できない場合、cfDNA が *BRAF* 変異を同定するための代替の検体となるかどうかは、データが不足しています。血漿を、腫瘍のホルマリン固定パラフィン包埋検体と一致させると、PCR 法または NGS 法を用いた場合に、*BRAF* 変異の一致率が高くなりました。¹³

臨床的意義

BRAF 変異 NSCLC を有する患者の治療は、主に *BRAF* V600 変異の治療と、*BRAF* 非 V600 変異のケースの治療の 2 つのタイプに分けられます。現在承認されている標的薬は、*BRAF* V600E の構造に合わせて設計されたものですが、一方で、クラス II/III *BRAF* 非 V600E については、臨床試験で新しい治療戦略の探求が続いています。

標的療法

BRAF 変異の同定と、NSCLC における MAPK 経路の関与により、ベムラフェニブやダブラフェニブなどの *BRAF* V600E を中心に、*BRAF* の活性立体配座の ATP 結合ポケットに結合するよう設計された、強力かつ選択的な複数のアデノシン三リン酸 (ATP) 競合型 MAPK 阻害剤が開発されました。¹⁴ 一方で、これらの抗腫瘍活性は効果が高いにもかかわらず、主に下流の MEK/REK 経路が再活性化されることが原因で、やがて *BRAF* 阻害剤に対する耐性が発現します。トラメチニブなどの MEK1/2 阻害剤が加わったことで、治療成績が有意に改善されました (前治療歴のある *BRAF* V600E 変異転移性 NSCLC を有する患者において、全奏効率 [ORR] は 33%、無増悪生存期間中央値 [mPFS] は 5.4 カ月であったのに対し、ダブラフェニブ、またはダブラフェニブとトラメチニブの組み合わせについては、ORR が 68%、mPFS が 10.2 カ月でした)。^{15, 16} 現在のところ、FDA と欧州医薬品庁 (EMA) にて、*BRAF* V600E 変異 NSCLC に対する二重標的療法 (ダブラフェニブとトラメチニブ) が承認されているほか、全米総合がんネットワーク (NCCN) や欧州腫瘍学会 (ESMO) のガイドラインでも推奨されています。¹⁷⁻²¹

免疫療法

BRAF 変異集団における免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) のベネフィットに関するデータはほとんどありません。後ろ向き研究の結果は、概して期待外れです。国際的な IMMUNOTARGET 試験では、*BRAF* 変異疾患を有する患者で転帰が悪いことが明らかになり、ORR は 24%、mPFS は 3.1 カ月でした。²² 別の後ろ向き研究では、ICI に対する ORR は、クラス I 変異腫瘍で 9%、クラス II/III で 26% であり、両グループの治療期間の中央値は 1.9 カ月でした。²³ これらの患者に対する ICI の最適な利用を特定するには、*BRAF* 標的療法あり/なしの条件で、前向き臨床試験が必要です。²³ 結果は *BRAF* 変異 V600E NSCLC を有する患者における標的療法の位置付けを補強するものになります。

化学療法

この集団における化学療法のアウトカムはほとんど知られていません。化学療法の治療を受けた患者の *BRAF* の状態が、PFS や OS に影響を与えることを示す明確な証拠はありません。²⁴

耐性機序

NSCLC の他の標的療法と同様、*BRAF* 経路阻害剤に対する耐性は必然的に発生し、疾患の進行につながります。^{2, 25, 26} *BRAF* 阻害剤に対する根底にある耐性メカニズムは、NSCLC の文脈ではまだ十分に理解されていません。*BRAF* 阻害剤に対する二次耐性を含む主なメカニズムは、MAPK 経路を介した細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK) シグナル伝達の再活性化であり、*BRAF* キナーゼの上流または下流のいずれでも発生する可能性があります。このメカニズムには、MAPK シグナル伝達経路に関与する他の遺伝子の二次変異が伴うことで、*BRAF* に依存しな

いERKシグナル伝達の再活性化を招きます。他の遺伝子には、*NRAS/KRAS* 変異や *MEK1/2* 変異、または *BRAF* スプライスバリエント、および *BRAF* V600E ホモ二量体のレベルを増加させる遺伝子増幅が含まれます。*BRAF* 遺伝子の後天的変異は、耐性メカニズムとしてほとんど報告されていません。バイパス活性化は、標的療法の二次耐性の主な原因です。ホスファターゼおよびテンシンホモログ (*PTEN*) の機能欠損変異は、*BRAF* V600E 腫瘍におけるダブラフェニブとトラメチニブの組み合わせに対する耐性に寄与している可能性があります。

参考文献

1. Poulidakos PI, Sullivan RJ, Yaeger R. Molecular pathways and mechanisms of BRAF in cancer therapy. *Clin Cancer Res.* 2022;28(21):4618-4628. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-2138.
2. Riudavets M, Cascetta P, Planchard D. Targeting BRAF-mutant non-small cell lung cancer: current status and future directions. *Lung Cancer.* 2022;169:102-114. doi:10.1016/j.lungcan.2022.05.014.
3. Kazdal D, Hofman V, Christopoulos P, et al. Fusion-positive non-small cell lung carcinoma: biological principles, clinical practice, and diagnostic implications. *Genes Chromosomes Cancer.* 2022;61(5):244-260. doi:10.1002/gcc.23022.
4. Chen D, Zhang LQ, Huang JF, et al. BRAF mutations in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014;9(6):e101354. doi:10.1371/journal.pone.0101354.
5. Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol.* 2011;29(26):3574-3579. doi:10.1200/JCO.2011.35.9638.
6. Ritterhouse LL, Barletta JA. BRAF V600E mutation-specific antibody: a review. *Semin Diagn Pathol.* 2015;32(5):400-408. doi:10.1053/j.semmp.2015.02.010.
7. Ilie M, Long E, Hofman V, et al. Diagnostic value of immunohistochemistry for the detection of the BRAFV600E mutation in primary lung adenocarcinoma Caucasian patients. *Ann Oncol.* 2013;24(3):742-748. doi:10.1093/annonc/mds534.
8. Hofman V, Benzaquen J, Heeke S, et al. Real-world assessment of the BRAF status in non-squamous cell lung carcinoma using VE1 immunohistochemistry: a single laboratory experience (LPCE, Nice, France). *Lung Cancer.* 2020;145:58-62. doi:10.1016/j.lungcan.2020.04.024.
9. Sasaki H, Shimizu S, Tani Y, et al. Usefulness of immunohistochemistry for the detection of the BRAF V600E mutation in Japanese lung adenocarcinoma. *Lung Cancer.* 2013;82(1):51-54. doi:10.1016/j.lungcan.2013.06.014.
10. Gow CH, Hsieh MS, Lin YT, Liu YN, Shih JY. Validation of immunohistochemistry for the detection of BRAF V600E-mutated lung adenocarcinomas. *Cancers (Basel).* 2019;11(6):866. doi:10.3390/cancers11060866.
11. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol.* 2020;31(11):1491-1505. doi:10.1016/j.annonc.2020.07.014.
12. Iaccarino A, Pisapia P, Pepe F, et al. Liquid biopsy for BRAF mutations testing in non-small cell lung cancer: a retrospective study. *J Clin Pathol.* 2022;75(1):58-60. doi:10.1136/jclinpath-2020-207107.
13. Leighl NB, Page RD, Raymond VM, et al. Clinical utility of comprehensive cell-free DNA analysis to identify genomic biomarkers in patients with newly diagnosed metastatic non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2019;25(15):4691-4700. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0624.
14. Tabbò F, Pisano C, Mazieres J, et al; BOLERO Consortium. How far we have come targeting BRAF-mutant non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancer Treat Rev.* 2022;103:102335. doi:10.1016/j.ctrv.2021.102335.
15. Planchard D, Kim TM, Mazieres J, et al. Dabrafenib in patients with BRAF(V600E)-positive advanced non-small-cell lung cancer: a single-arm, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016A;17(5):642-50. doi:10.1016/S1470-2045(16)00077-2.

16. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAF(V600E)-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(7):984-993. doi:10.1016/S1470-2045(16)30146-2.
17. Johnson BE, Baik CS, Mazieres J, et al. Clinical outcomes with dabrafenib plus trametinib in a clinical trial versus real-world standard of care in patients with BRAF-mutated advanced NSCLC. *JTO Clin Res Rep.* 2022;3(5):100324. doi:10.1016/j.jtocrr.2022.100324.
18. Leonetti A, Facchinetti F, Rossi G, et al. BRAF in non-small cell lung cancer (NSCLC): pickaxing another brick in the wall. *Cancer Treat Rev.* 2018;66:82-94. doi:10.1016/j.ctrv.2018.04.006.
19. Planchard D, Smit EF, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAFV600E-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(10):1307-1316. doi:10.1016/S1470-2045(17)30679-4.
20. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Phase 2 study of dabrafenib plus trametinib in patients with BRAF V600E-mutant metastatic NSCLC: updated 5-year survival rates and genomic analysis. *J Thorac Oncol.* 2022;17(1):103-115. doi:10.1016/j.jtho.2021.08.011.
21. Yan N, Guo S, Zhang H, et al. BRAF-mutated non-small cell lung cancer: current treatment status and future perspective. *Front Oncol.* 2022;12:863043. doi:10.3389/fonc.2022.863043.
22. Mazieres J, Drilon A, Lusque A, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol.* 2019;30(8):1321-1328. doi:10.1093/annonc/mdz167.
23. Murciano-Goroff YR, Pak T, Mondaca S, et al. Immune biomarkers and response to checkpoint inhibition of BRAFV600 and BRAF non-V600 altered lung cancers. *Br J Cancer.* 2022;126(6):889-898. doi:10.1038/s41416-021-01679-1.
24. Couraud S, Barlesi F, Fontaine-Deraluelle C, et al; Biomarkers France Contributors. Clinical outcomes of non-small-cell lung cancer patients with BRAF mutations: results from the French Cooperative Thoracic Intergroup biomarkers France study. *Eur J Cancer.* 2019;116:86-97. doi:10.1016/j.ejca.2019.04.016.
25. Facchinetti F, Lacroix L, Mezquita L, et al. Molecular mechanisms of resistance to BRAF and MEK inhibitors in BRAFV600E non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer.* 2020;132:211-223. doi:10.1016/j.ejca.2020.03.025.
26. Ortiz-Cuaran S, Mezquita L, Swalduz A, et al. Circulating tumor DNA genomics reveal potential mechanisms of resistance to BRAF-targeted therapies in patients with BRAF-mutant metastatic non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(23):6242-6253. doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-1037.

遺伝子の構造と機能

神経栄養因子トロポミオシン受容体キナーゼ (*NTRK*) 遺伝子、*NTRK1* (1q21-22)、*NTRK2* (9q22.1)、*NTRK3* (15q25) は、各 TRKA、TRKB、TRKC をコード化します。これらのタンパク質は受容体型チロシンキナーゼ (RTK) ファミリーに属します。他の RTK と同様に、TRK (以下 TRKA、TRKB、TRKC) は細胞外リガンド結合、膜貫通、細胞内キナーゼのドメインを有します。神経栄養因子リガンド結合と TRK 活性化は、受容体のホモ二量体化や、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK)、ホスホイノシチド 3-キナーゼ (PI3K)、プロテインキナーゼ C (PKC) の経路などの下流のシグナル伝達につながります。^{1,2} TRK 受容体は、細胞増殖、遊走、分化、アポトーシスなどの中枢神経系の発達に関与しています。成体組織での TRK 発現は神経組織と精巣に限定されます。³

腫瘍発生における変異の種類と役割

NTRK 融合が活性化されると、TRK タンパク質の構成的過剰発現が引き起こされ、TRK 阻害剤に対する反応を高度に予測することができます。このような発癌性遺伝子融合では、*NTRK* の C 末端チロシンキナーゼドメインがパートナー遺伝子の 5' 領域と融合し、キメラタンパク質がリガンドに依存することなく下流経路を構成的に活性化します。発癌性 *NTRK* 融合は、TRK タンパク質の強力な過剰発現を引き起こす可能性があります。この発現は免疫組織化学 (IHC) で検出可能です。^{4,5} さまざまな種類の腫瘍で、これまでに 80 種類以上の *NTRK* 融合パートナーが報告されています。個別のパートナーは、腫瘍の種類によって異なります。特に、*ETV6-NTRK3* は、唾液腺(乳

腺相似分泌癌として以前から知られている)の乳腺分泌癌および分泌癌の90%で認められ、診断的および予測的マーカーとして融合を利用することができます。肺癌では、*NTRK1*、*NTRK2*、*NTRK3* 融合パートナーが16個以上確認されています。^{2,4,6-9}

疫学的、臨床的、組織学的特徴

NTRK 融合は非常にまれで、非小細胞肺癌 (NSCLC) で見つかるのはわずか0.1～0.3%です。¹⁰ 3つの*NTRK* 遺伝子における融合の分布状態を知るにはデータがまだ足りませんが、融合はこの3つの遺伝子のいずれかが関与している可能性があります。*NTRK1* と *NTRK3* の融合は、*NTRK2* 融合よりも一般的であると考えられています。⁴ 癌においては、標準的なドライバー変異がない場合に*NTRK* 融合が多く発生します。^{7,11} *NTRK* 融合は、ほとんどが肺腺癌で確認されていますが、扁平上皮癌や肺神経内分泌癌など、他の組織構造でも見つかる場合があります。¹² *NTRK* 融合は、NSCLCの他の *de novo* ドライバーとともに限定的なものと考えられていますが、第3世代EGFR TKIなどのチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) 治療に対する耐性機序として発現する場合があります。¹³ *NTRK* 融合は主に、中高年の非喫煙者または喫煙未経験者において報告されていますが、NSCLC患者でも発生する場合があります。¹²

検査戦略

NTRK 遺伝子融合を検出する手法はいくつかあります。各手法にはメリットと限界があり、アッセイの選択はリソースや臨床的背景に依存します。¹⁴ 一般的に、NSCLCなど、*NTRK* 融合があまり起らない腫瘍での*NTRK* 検査には、包括的な分子プロファイリング (適切な次世代シーケンシング (NGS) パネルを使用した核酸ベースシーケンシング) が推奨される手法です。¹⁴ NGSは、DNAベースよりもRNAベースの方が推奨されます。DNAベースのNGSでは、*NTRK3*の広範なイントロニック領域をカバーできないため、感度が低下します。さらに、RNAベースのNGSでは遺伝子融合が過剰発現するため、純度が低くても許容されます。逆に、RNA品質の不安定さが懸念されます。特に、古くなったアーカイブ資料がそれに該当します。利用可能なRNAベースの手法は他にもあります。たとえば、組織切片で多重にデジタルで色分けされるバーコード技術 (nCounter [NanoString]) があります。^{15,16} 逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) は、このような変異が多い腫瘍タイプで標準的な*ETV6-NTRK3* 融合を検出する目的で主に使用されています。¹⁷

蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) は、遺伝子融合を検出するための確立された手法です。*NTRK* では、*NTRK1*、*NTRK2*、*NTRK3* に対してそれぞれ検査が必要になります。FISHの主な使用目的は、有病率が高い状況 (*NTRK* 遺伝子融合が関与している可能性が高い腫瘍に対してなど)での確認分析になりますが、NSCLCの場合、最初に選択されるものではありません。

多くの非腫瘍組織では野生型TRKの発現があまりないため、*NTRK* 融合が発現する代わりに、PAN-TRKのタンパク質発現がIHCで検出されます。市販のPAN-TRKクローンは、EPR17341 (Abcam) とA7H6R (Cell Signaling Technology) です。

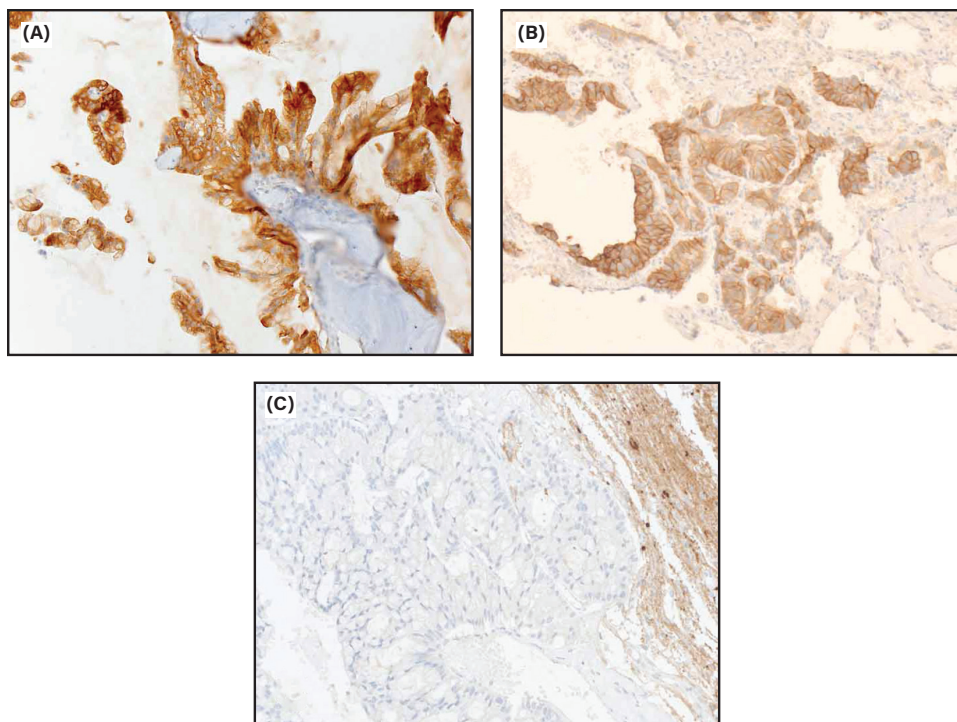


図 11-1. PAN-TRK 抗体 17341 (Ventana [Roche Tissue Diagnostics]) による免疫組織化学 (IHC) の例。(A) TRK 細胞質が強力な状態での肺腺癌の骨転移。CLIP1-NTRK1 融合を確認 (Archer FusionPlex カスタムキット [Diagnóstica Longwood] の RNA ベースの次世代シーケンシング [NGS])。 (B) 明瞭な膜質の TRK 染色での肺腺癌。いくつかの方法 (Archer および Oncomine [ThermoFisher Scientific] の包括的な RNA ベースの NGS、および *NTRK1*、*NTRK2*、*NTRK3* に対する 3 つの FISH プローブを使用した蛍光 in situ ハイブリダイゼーション [FISH]) を用いたが、NTRK 融合は確認されず。(C) 肺腺癌における Pan-TRK IHC 陰性の脳転移 (隣接する神経細胞脳組織を陽性内部染色対照として使用)

Ventana の in vitro diagnostic (IVD) PAN-TRK アッセイも利用できます (Roche Tissue Diagnostics)。IHC は費用対効果が高く、検査所要時間が短く、臨床検査室のワークフローに簡単に統合できます。さらに、IHC では組織切片や細胞診標本の腫瘍細胞が比較的少なくても問題ありません。¹⁸ IHC による TRK 発現では、細胞質、核、膜などのさまざまな強度や細胞内局在性を確認することができ、5' 融合遺伝子パートナーに依存している可能性があります。¹⁴ IHC は、特に NGS が利用できない場合や日常的に実施されていない場合に、有病率の低い腫瘍タイプでのスクリーニングに有益なツールとして利用できます (図 11-1)。

TRK IHC の染色方法、感度、特異度に関する研究はほとんど発表されていません。現在報告されている TRK IHC の *NTRK1* または *NTRK2* 融合に対する感度は、それぞれ 96% と 100% でしたが、*NTRK3* に対しては 55% ~ 79% 程度でした。^{4, 8} NSCLC の場合、TRK IHC の特異度は、1 件の研究で 100% (24 : 24) でした。他には、*NTRK* 融合がない場合の TRK 染色が約 1.8% (11/617) の症例で報告されました。これは推定陽性適中率 10% に相当します。¹⁵ *NTRK* 融合がない場合の TRK 発現の有病率や意義については、さらに研究が必要です。興味深いことに、cBioPortal によると、

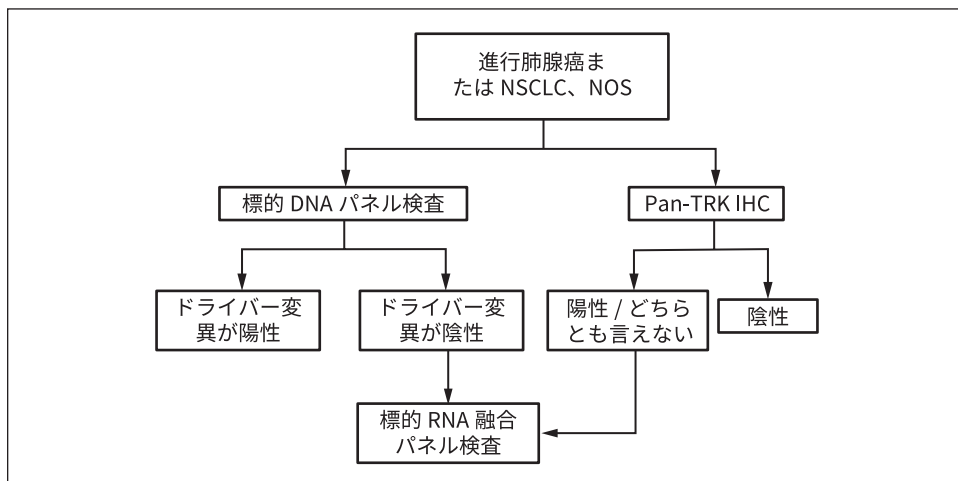


図 11-2. 肺腺癌や NSCLC (NOS) での *NTRK* 遺伝子融合に関する診断検査アルゴリズム (案) 逐次検査に代えて、地域の診療環境や追加費用の負担に応じて、DNA および RNA ベースの NGS 同時検査も選択肢。略語：IHC = immunohistochemistry (免疫組織化学法)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、NSCLC、NOS = non-small cell lung carcinoma (非小細胞肺癌)。ただし、特記がある場合はこの限りではありません。(出典：Koehne de Gonz 氏他²¹)

NSCLC の 3 ~ 4% が *NTRK1* 遺伝子増幅を有しています。¹⁹ このような増幅が NSCLC における TRK の発現を説明できるかどうかは、まだ研究が必要です。注目すべきは、TRK 阻害剤ラロトレクチニブに対する部分奏効が *NTRK* 増幅食道癌で報告されたことです。²⁰

ほとんどの研究では、背景に 1% 以上の腫瘍細胞染色を有するカットオフが使用されています。⁵ しかし、現在のところ、IHC による TRK 陽性の最適な定義については、コンセンサスが得られていません。したがって、IHC による発現は、直交検査 (可能であれば核酸ベース) による確認が必要になります。⁴

図 11-2 では、非扁平上皮 NSCLC における診断検査アルゴリズム (案) を示しています。このアルゴリズムは、欧州臨床腫瘍学会 (ESMO: European Society for Medical Oncology) の推奨¹⁴ およびガイドライン推奨の広範な分子検査に沿ったもので、発癌性突然変異または再配列などの予測変化を確認できます。ほとんどの進行性肺扁平上皮癌では、広範な分子検査はまだ標準的なものではありませんが、*NTRK* などの分子検査は臨床プロファイル (若年患者、非喫煙者、軽喫煙者) に基づいて検討する必要があります。

臨床的意義

TRK 阻害剤は、*NTRK* 融合陽性癌患者に非常に有効です。多くの患者で速やかに奏効が得られ、耐久性のある病勢コントロールを観察できます。すべての *NTRK* 融合陽性癌のラロトレクチニブに対する全奏効率 (ORR) は、患者の年齢や腫瘍タイプに関係なく 75% でした。²² *NTRK* 融合陽性の肺癌では、ORR が 83% で、奏効期間 (DOR) の中央値および無増悪生存期間 (PFS) の中央値に達していません。全生存期間の中央値は約 41 カ月でした。*NTRK* 融合陽性固形腫瘍の患者においては、エヌトレク

チニブ、TRK、ROS1 阻害剤による ORR が 57% でした。²³ NTRK 融合陽性肺癌においては、ORR が 69%、DOR の中央値が未達、PFS の中央値が 15 カ月、全生存期間の中央値が 15 カ月でした。

これらの研究により、腫瘍組織に関係なく、進行性 NTRK 融合陽性固形腫瘍を有するさまざまな年代の患者に対する第一世代 TRK 阻害剤、ラロトレクチニブ、エヌトレクチニブの使用について、米国食品医薬品局 (FDA) および欧州医薬品庁 (EMA) の画期的承認を取得することができました。実際に、NTRK 融合陽性癌に対する TRK 阻害剤の使用を承認または認可している国は、現在のところ世界中で 40 カ国に上ります。

耐性機序

TRK 阻害剤に対する奏効が迅速かつ持続的であるにもかかわらず、残念ながらほとんどの患者において耐性が発現します。オンターゲットにもオフターゲットにも既知の耐性機序があります。オンターゲット耐性では NTRK1/2/3 突然変異が関与し、溶媒フロント、ゲートキーパー、TRK キナーゼドメインの 3 連アミノ酸 (アスパラギン酸 (D)、フェニルアラニン (F)、グリシン (G)) の特徴を有する DFG モチーフなどの異なる領域でアミノ酸置換が生じます。²⁴ このようなオンターゲット突然変異は、セリトレクチニブ、レポトレクチニブ、タレトレクチニブなどの次世代 TRK 阻害剤のターゲットになる可能性があります。² オフターゲットのメカニズムでは、KRAS G12D、BRAF V600E、MEK 突然変異などの後天的な MAPK 経路の変異や増幅、または MET 増幅が関与しています。^{2, 25, 26} NSCLC におけるオフターゲットメカニズムの領域に関するデータについては報告がまだありませんが、併用標的療法 (バイパス耐性に対する第 2 小分子を有する TRK 阻害剤など) では、オフターゲット耐性を有する特定の患者において概念実証アクティビティが実証されています。²⁶

参考文献

1. Cocco E, Scaltriti M, Drilon A. NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(12):731-747.
2. Qin H, Patel MR. The challenge and opportunity of NTRK inhibitors in non-small cell lung cancer. *Int J Mol Sci*. 2022;23(6).
3. Kheder ES, Hong DS. Emerging targeted therapy for tumors with NTRK fusion proteins. *Clin Cancer Res*. 2018;24(23):5807-5814.
4. Solomon JP, Linkov I, Rosado A, et al. NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. *Mod Pathol*. 2020;33(1):38-46.
5. Hechtman JF, Benayed R, Hyman DM, et al. Pan-TRK immunohistochemistry is an efficient and reliable screen for the detection of NTRK fusions. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(11):1547-1551.
6. Zhang L, Liu H, Tian Y, Wang H, Yang X. A novel NCOR2-NTRK1 fusion detected in a patient of lung adenocarcinoma and response to larotrectinib: a case report. *BMC Pulm Med*. 2021;21(1):125.
7. Vaishnavi A, Capelletti M, Le AT, et al. Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer. *Nat Med*. 2013;19(11):1469-1472.
8. Gatalica Z, Xiu J, Swensen J, Vranic S. Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions. *Mod Pathol*. 2019;32(1):147-153.

9. Farago AF, Le LP, Zheng Z, et al. Durable clinical response to entrectinib in NTRK1-rearranged non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2015;10(12):1670-1664.
10. Forsythe A, Zhang W, Phillip Strauss U, et al. A systematic review and meta-analysis of neurotrophic tyrosine receptor kinase gene fusion frequencies in solid tumors. *Ther Adv Med Oncol*. 2020;12:1758835920975613.
11. Rosen EY, Goldman DA, Hechtman JF, et al. TRK fusions are enriched in cancers with uncommon histologies and the absence of canonical driver mutations. *Clin Cancer Res*. 2020;26(7):1624-1632.
12. Farago AF, Taylor MS, Doebele RC, et al. Clinicopathologic features of non-small-cell lung cancer harboring an NTRK gene fusion. *JCO Precis Oncol*. 2018;2018:PO.18.00037.
13. Xia H, Xue X, Ding H, et al. Evidence of NTRK1 fusion as resistance mechanism to EGFR TKI in EGFR+ NSCLC: results from a large-scale survey of NTRK1 fusions in Chinese patients with lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2020;21(3):247-254.
14. Marchio C, Scaltriti M, Ladanyi M, et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect NTRK fusions in daily practice and clinical research. *Ann Oncol*. 2019;30(9):1417-1427.
15. Elfving H, Brostrom E, Moens LN, et al. Evaluation of NTRK immunohistochemistry as a screening method for NTRK gene fusion detection in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2021;151:53-59.
16. Ali G, Bruno R, Savino M, et al. Analysis of fusion genes by NanoString system: a role in lung cytology? *Arch Pathol Lab Med*. 2018;142(4):480-489.
17. Skalova A, Vanecek T, Simpson RH, et al. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands: molecular analysis of 25 ETV6 gene rearranged tumors with lack of detection of classical ETV6-NTRK3 fusion transcript by standard RT-PCR: report of 4 cases harboring ETV6-X gene fusion. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(1):3-13.
18. Matter MS, Chijioko O, Savic S, Bubendorf L. Narrative review of molecular pathways of kinase fusions and diagnostic approaches for their detection in non-small cell lung carcinomas. *Transl Lung Cancer Res*. 2020;9(6):2645-2655.
19. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov*. 2012;2(5):401-404.
20. Hempel D, Wieland T, Solfrank B, et al. Antitumor activity of larotrectinib in esophageal carcinoma with NTRK gene amplification. *Oncologist*. 2020;25(6):e881-e886.
21. Koehne de González A, Mansukhani MM, Fernandes H, Hsiao SJ. Pan-tumor screening for NTRK gene fusions using pan-TRK immunohistochemistry and RNA NGS fusion panel testing. *Cancer Genet*. 2022;262-263:47-52.
22. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children. *N Engl J Med*. 2018;378(8):731-739.
23. Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol*. 2020;21(2):271-282.
24. Russo M, Misale S, Wei G, et al. Acquired resistance to the TRK inhibitor entrectinib in colorectal cancer. *Cancer Discov*. 2016;6(1):36-44.
25. Drilon A, Nagasubramanian R, Blake JF, et al. A next-generation TRK kinase inhibitor overcomes acquired resistance to prior TRK kinase inhibition in patients with TRK fusion-positive solid tumors. *Cancer Discov*. 2017;7(9):963-972.
26. Cocco E, Schram AM, Kulick A, et al. Resistance to TRK inhibition mediated by convergent MAPK pathway activation. *Nat Med*. 2019;25(9):1422-1427.

遺伝子の構造と機能

染色体 10q11.21 の REarranged during Transfection (*RET*) 遺伝子は当初、ヒトリンパ腫の DNA を用いた NIH3T3 線維芽細胞株のトランスフェクションアッセイにより同定されました。その生成物が膜受容体で、細胞外ドメイン (カドヘリン様リピート x4、カルシウム結合部位 x1、システインリッチ部位)、膜貫通ドメイン、細胞内ドメインが含まれています (図 12-1)。後者には、膜近傍部分、チロシンキナーゼ、RET 末端があります。末端は *RET-9* と *RET-51* の 2 つがあり、代替スプライシングによって生成されるもので、2 つの *RET* タンパク質アイソフォームを決定します。RET リガンドにはグリア細胞株由来神経栄養因子 (GDNF) ファミリーがあり、コアセプター GFR α や GDF15 と結合し、それがコレセプター GDNF ファミリー受容体 α 様 (GFRAL) と結合して RET 細胞外ドメインとの三重複合体を形成し、RET 二量化や、チロシンリン酸化および活性化を引き起こします。ダウンストリーム信号変換には、RAS/MAPK、PI3K/AKT/mTOR、JAK/STAT の経路が含まれます。生理学的には、*RET* は腎臓や腸神経系を発達させる役割を担っています。^{1,2}

腫瘍発生における変異の種類と役割

4,800 例以上のさまざまな癌を対象とした大規模研究によると、*RET* の突然変異、融合、増幅は、各腫瘍の 39%、31%、25% で確認されました。³ *RET* の生殖細胞変異は、2A 型および 2B 型の多発性内分泌腫瘍症 (MEN) などの遺伝性疾患や腫瘍の原因となります。突然変異や融合などの体細胞変異は、悪性腫瘍で発生します。⁴

異常な *RET* 活性化をもたらす *RET* の機能獲得変異は、散発性または遺伝性甲状腺髄様癌 (MTC) で発生し、他の癌ではほとんど報告されていません。これらの突然変異による影響は、家族性 MTC および MEN2A の場合は細胞外ドメインのシステインリッチ部分、MEN2B および散発性症例の場合はチロシンキナーゼドメインに及びます。

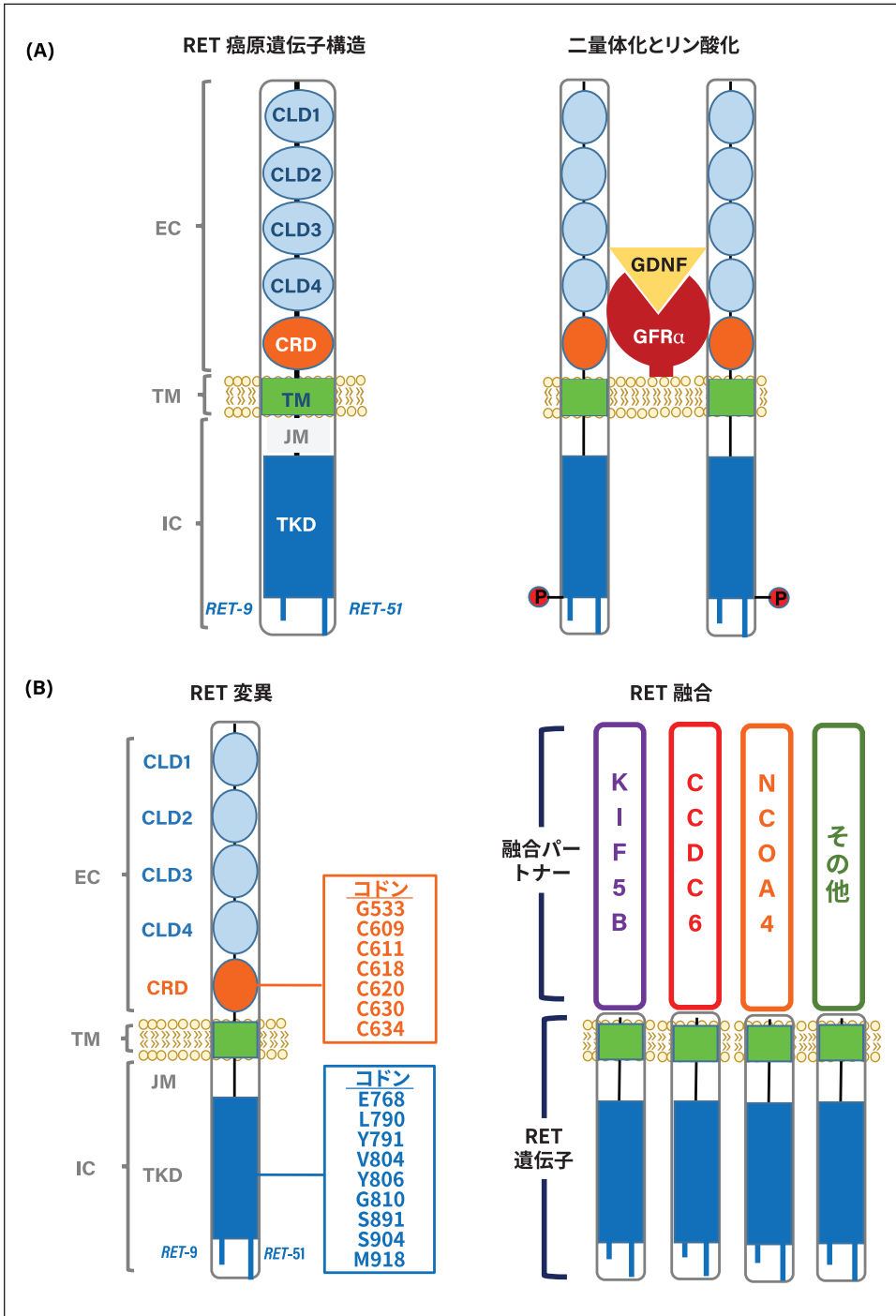


図 12-1. (A) RET 癌遺伝子の構造とリガンド・受容体相互作用。**(B)** 遺伝子変異には、さまざまなパートナーによる突然変異や遺伝子再構成があります。略語: CLD = cadherin-like domain (カドヘリン様ドメイン)、CRD = cysteine-rich domain (システインリッチドメイン)、EC = extracellular portion (細胞外部分)、GDNF = glial cell line-derived neurotrophic factor (グリア細胞株由来神経栄養因子)、GFR α = GDNF factor coreceptor alpha 1 (GDNF 因子のコレセプター α 1)、IC = intracellular portion (細胞内部分)、JM = juxtamembrane segment (膜近傍セグメント)、P = phosphorylation site (リン酸化部位)、TKD = tyrosine kinase domain (チロシンキナーゼドメイン)、TM = transmembrane portion (膜貫通部分)。(出典: Ferrara 氏他、Radonic 氏他^{1,5)})

RET 融合では、染色体内再構成が最も一般的ですが、まれに染色体間再構成を伴うこともあり、その結果、3' 末端の RET キナーゼドメインをコードする領域がさまざまな遺伝子パートナーの 5' 末端領域に融合します。⁴ こうした融合が、構成的に活性なキメラ融合(癌タンパク質)をもたらします。RET 融合は、結腸直腸腺癌、唾液腺癌、卵巣腺癌などのタイプの腫瘍に加えて、甲状腺乳頭癌や非小細胞肺癌 (NSCLC) でも報告されています。肺癌の場合、RET 融合パートナーとして最も一般的なものは、KIF5B (72%)、CCDC6 (23%)、NCOA4 (2%)、EPHA5 (1%)、PICALM (1%) です。⁶ 一方、甲状腺乳頭癌の場合は、CCDC6 と NCOA4 がアップストリームのパートナー遺伝子として一般的です。

中でも特に膵臓癌や乳癌では、RET 増幅の報告がほとんどありません。RET 融合はありませんが、RET タンパク質発現は数多くあります。しかし、均一性はありません。¹¹

疫学的、臨床的、組織学的特徴

RET 融合は、肺腺癌の 1 ~ 2% で同定されています。⁶ RET 融合陽性肺癌の患者は、若年 (60 歳以下) の傾向があり、性別分布は比較的均等です。現在と過去の喫煙者での発症も報告されていますが、ほとんどの患者は喫煙未経験者です。¹² RET 融合の肺腺癌では、治療的放射線被曝との関連性は認められていません。¹³

検査戦略

RET 融合を検出するスクリーニング手法はまだ標準化されていません。免疫組織化学 (IHC)、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR)、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH)、DNA/RNA ベースの次世代シーケンシング (NGS) はすべて、RET 融合を同定する目的で使用されています。注目すべきは、ALK IHC とは対照的に、RET IHC は感度が低く (55 ~ 65%)、特異度はまちまち (40 ~ 85%) であることです。^{11, 13, 14} また、IHC の感度は融合パートナーによっても異なる場合があります。¹¹ そのため、RET 融合または突然変異をスクリーニングする RET IHC は、肺腺癌では現在推奨されていません。¹⁵

RET FISH は、通常では高感度 (100%) ですが、まれに生じる NCOA4-RET 融合では感度が低くなります (66.7%)。¹¹ RET FISH の特異度は 55 ~ 100% の範囲で報告されています。^{13, 14} 肺癌における RET 融合は、さまざまなパートナー遺伝子が関与する可能性があるため、融合プローブよりも分解プローブが推奨されます。RET FISH の検査およびスコアリングのガイドラインは、他の融合遺伝子検出のガイドラインと同様です。腫瘍細胞の 15% 以上が、分裂シグナルまたは単一の 3' シグナルのいずれかを示す場合、アッセイは陽性です。

RT-PCR は特異的ですが、検出は既知の融合に限定されます。NGS ベースの検査では、RET 融合を同定したり、新しい融合パートナーを関与させたり、使用可能な他の標的のマルチプレックス検査を新たに追加したりすることができるメリットがあります。¹⁶ DNA ベースの NGS では、複雑な融合を同定するのに限界がありますが、RNA ベースの NGS では、付加価値を与えることができます。NGS ベースの無細胞 DNA (cfDNA) 検査も RET 融合を検出ことができ、陽性結果は RET 融合の存在を示すものと考えする必要があります。^{17, 18}

NSCLCにおけるRET融合の治療標的

RET融合陽性のNSCLCにおいてRETを標的とする取り組みでは当初、抗RET活性を有するマルチキナーゼ阻害剤（バンデタニブ、カボザンチニブ、レンバチニブなど）の転用が注目されていました。¹⁹⁻²⁴有効性の程度はさまざま報告されましたが、奏効は概して緩やかでした。さらに、血管内皮成長因子受容体2（VEGFR2）などのマルチキナーゼ阻害に関連する毒性により、耐性は限定的でした。

セルペルカチニブ（旧称LOXO-292）とプラルセチニブ（旧称BLU-667）は、発癌性のRET融合および突然変異を強力かつ選択的に標的とするために開発された経口チロシンキナーゼ阻害剤（TKI）です。セルペルカチニブとプラルセチニブは、選択性が一致して、第1相と第2相の試験で良好な安全性プロファイルを示しました。^{25, 26}登録の第1相と第2相のLIBRETTO-001試験において、セルペルカチニブはRET融合陽性の進行性NSCLCで強力な有効性を示し、全奏効率（ORR）は治療未経験患者で85%、プラチナベースの化学療法前治療患者で64%でした。²⁵登録の第1相と第2相のARROW試験では、プラルセチニブは同様に強力な有効性を示し、これらの集団でのORRがそれぞれ70%と61%となりました。²⁶注目すべきは、セルペルカチニブとプラルセチニブはともに脳転移に対して活性を示したことでした。これらの結果に基づいて、セルペルカチニブとプラルセチニブは、RET融合陽性の進行性NSCLCに対する治療薬として、米国食品医薬品局から系統非依存の迅速承認を取得しました。さらに、これらの薬剤は、免疫療法またはプラチナベースの化学療法前治療の適応（セルペルカチニブ）と、系統非依存の適応（プラルセチニブ）において、欧州医薬品庁から条件付きで承認されました。

選択的RET阻害剤に対する耐性機序

その有効性にもかかわらず、RET TKIに対する耐性の発現は、依然として大きな課題です。オンターゲットとオフターゲットのいずれにおいても、耐性機序が確認されています。最初に報告された耐性機序はRET G810 溶媒フロント変異でした。これは、TKI結合による分子中の原子配列の干渉を引き起こすもので、進行後生検の7～11%で確認されています。²⁷⁻³⁰また、RETのヒンジ領域でのY806C/N変異もセルペルカチニブとプラルセチニブに対する耐性を引き起こします。^{30, 31}蓋領域でのL730V/I変異はプラルセチニブ耐性のサンプルで同定されていますが、セルペルカチニブに対する感度は維持されると推定されています。^{28, 32}新しい種類のRET阻害剤が臨床開発中で、オンターゲット耐性に対処できるようになる可能性があります（LOXO-260 [NCT05241834]、TAS0953/HM06 [NCT04683250]、TPX-0046 [NCT04161391]など）。

セルペルカチニブとプラルセチニブに対するオフターゲットの耐性機序も解明されつつあり、これまでのところ、オンターゲット機序と比較して優勢であると考えられています（それぞれ83～90%対10～17%）。²⁸⁻³⁰MET増幅は、セルペルカチニブとプラルセチニブを投与している患者で反復的に同定されています。^{28-30, 33}症例報告から、二重RETやMET阻害が、これらの症例で実行可能な治療アプローチである可能性が示唆されています。³³KRAS増幅または突然変異、BRAF V600E変異、FGFR1増幅、

NTRK3 融合も同定されています。^{28-30, 34} しかし、RET 選択的 TKI に対する耐性機序は、かなりの割合（40～80%）の症例で未だ解明されず、生物学的解明に向けたさらなる研究と、RET TKI 耐性癌に最適な治療戦略の必要性が浮き彫りになっています。

参考文献

1. Ferrara R, Auger N, Auclin E, Besse B. Clinical and translational implications of RET rearrangements in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2018;13(1):27-45.
2. Salvatore D, Santoro M, Schlumberger M. The importance of the RET gene in thyroid cancer and therapeutic implications. *Nat Rev Endocrinol.* 2021;17(5):296-306.
3. Kato S, Subbiah V, Marchlik E, et al. RET aberrations in diverse cancers: next-generation sequencing of 4,871 patients. *Clin Cancer Res.* 2017;23(8):1988-1997.
4. Shi M, Wang W, Zhang J, et al. Identification of RET fusions in a Chinese multicancer retrospective analysis by next-generation sequencing. *Cancer Sci.* 2022;113(1):308-318.
5. Radonic T, Geurts-Giele WRR, Samsom KG, et al. RET fluorescence in situ hybridization analysis is a sensitive but highly unspecific screening method for RET fusions in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2021;16(5):798-806. doi:10.1016/j.jtho.2021.01.1619.
6. Gautschi O, Milia J, Filleron T, et al. Targeting RET in patients with RET-rearranged lung cancers: results from the global, multicenter RET registry. *J Clin Oncol.* 2017;35(13):1403-1410.
7. Li F, Feng Y, Fang R, et al. Identification of RET gene fusion by exon array analyses in “pan-negative” lung cancer from never smokers. *Cell Res.* 2012;22(5):928-931.
8. Cai W, Su C, Li X, et al. KIF5B-RET fusions in Chinese patients with non-small cell lung cancer. *Cancer.* 2013;119(8):1486-1494.
9. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nat Med.* 2012;18(3):378-381.
10. Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nat Med.* 2012;18(3):375-377.
11. Yang SR, Aypar U, Rosen EY, et al. A performance comparison of commonly used assays to detect RET fusions. *Clin Cancer Res.* 2021;27(5):1316-1328.
12. Michels S, Scheel AH, Scheffler M, et al. Clinicopathological characteristics of RET rearranged lung cancer in European patients. *J Thorac Oncol.* 2016;11(1):122-127.
13. Wang R, Hu H, Pan Y, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2012;30(35):4352-4359.
14. Tsuta K, Kohno T, Yoshida A, et al. RET-rearranged non-small-cell lung carcinoma: a clinicopathological and molecular analysis. *Br J Cancer.* 2014;110(6):1571-1578.
15. Belli C, Penault-Llorca F, Ladanyi M, et al. ESMO recommendations on the standard methods to detect RET fusions and mutations in daily practice and clinical research. *Ann Oncol.* 2021;32(3):337-350.
16. Feng J, Li Y, Wei B, et al. Clinicopathologic characteristics and diagnostic methods of RET rearrangement in Chinese non-small cell lung cancer patients. *Transl Lung Cancer Res.* 2022;11(4):617-631.
17. Mack PC, Banks KC, Espenschied CR, et al. Spectrum of driver mutations and clinical impact of circulating tumor DNA analysis in non-small cell lung cancer: analysis of over 8000 cases. *Cancer.* 2020;126(14):3219-3228.
18. Rich TA, Reckamp KL, Chae YK, et al. Analysis of cell-free DNA from 32,989 advanced cancers reveals novel co-occurring activating RET alterations and oncogenic signaling pathway aberrations. *Clin Cancer Res.* 2019;25(19):5832-5842.
19. Drilon A, Hu ZI, Lai GGY, Tan DSW. Targeting RET-driven cancers: lessons from evolving pre-clinical and clinical landscapes. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018;15(3):150.
20. Drilon A, Rekhtman N, Arcila M, et al. Cabozantinib in patients with advanced RET-rearranged non-small-cell lung cancer: an open-label, single-centre, phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(12):1653-1660.
21. Lee SH, Lee JK, Ahn MJ, et al. Vandetanib in pretreated patients with advanced non-small cell lung cancer-harboring RET rearrangement: a phase II clinical trial. *Ann Oncol.* 2017;28(2):292-297.
22. Yoh K, Seto T, Satouchi M, et al. Vandetanib in patients with previously treated RET-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (LURET): an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Respir Med.* 2017;5(1):42-50.

23. Hida T, Velcheti V, Reckamp KL, et al. A phase 2 study of lenvatinib in patients with RET fusion-positive lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2019;138:124-130.
24. Horiike A, Takeuchi K, Uenami T, et al. Sorafenib treatment for patients with RET fusion-positive non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2016;93:43-46.
25. Drilon A, Oxnard GR, Tan DSW, et al. Efficacy of selpercatinib in RET fusion-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(9):813-824.
26. Gainor JF, Curigliano G, Kim DW, et al. Pralsetinib for RET fusion-positive non-small-cell lung cancer (ARROW): a multi-cohort, open-label, phase 1/2 study. *Lancet Oncol*. 2021;22(7):959-969.
27. Solomon BJ, Tan L, Lin JJ, et al. RET solvent front mutations mediate acquired resistance to selective RET inhibition in RET-driven malignancies. *J Thorac Oncol*. 2020;15(4):541-549.
28. Gainor JF, Curigliano G, Kim DW, et al. OA05.02 Analysis of resistance mechanisms to pralsetinib in patients with RET fusion-positive non-small cell lung cancer (NSCLC) from the ARROW study. *J Thorac Oncol*. 2021;16(S1):S31-S32.
29. Lin JJ, Liu SV, McCoach CE, et al. Mechanisms of resistance to selective RET tyrosine kinase inhibitors in RET fusion-positive non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2020;31(12):1725-1733.
30. Rosen EY, Won HH, Zheng Y, et al. The evolution of RET inhibitor resistance in RET-driven lung and thyroid cancers. *Nat Commun*. 2022;13(1):1450.
31. Subbiah V, Shen T, Terzyan SS, et al. Structural basis of acquired resistance to selpercatinib and pralsetinib mediated by non-gatekeeper RET mutations. *Ann Oncol*. 2021;32(2):261-268.
32. Shen T, Hu X, Liu X, et al. The L730V/I RET roof mutations display different activities toward pralsetinib and selpercatinib. *NPJ Precis Oncol*. 2021;5(1):48.
33. Rosen EY, Johnson ML, Clifford SE, et al. Overcoming MET-dependent resistance to selective RET inhibition in patients with RET fusion-positive lung cancer by combining selpercatinib with crizotinib. *Clin Cancer Res*. 2021;27(1):34-42.
34. Subbiah V, Shen T, Tetzlaff M, et al. Patient-driven discovery and post-clinical validation of NTRK3 fusion as an acquired resistance mechanism to selpercatinib in RET fusion-positive lung cancer. *Ann Oncol*. 2021;32(6):817-819.

執筆者：Lynette M. Sholl、Ibiayi Dagogo-Jack、Soo-Ryum Yang、Yi-Long Wu

遺伝子の構造と機能

MET は、肝細胞成長因子受容体とも呼ばれ、MET タンパク質を対象にしてコードします。MET タンパク質は、内皮細胞と上皮細胞で優勢に発現する成長因子受容体であり、発達、再生、ホメオスタシスにおいて重要な役割を果たします。MET の調節異常は、肺癌を含む多くの癌型で明確に確立された発癌ドライバーです。^{1, 2}MET とそのリガンド (HGF) は、当初は骨肉腫細胞系内で誘導発癌性融合からクローン化されたものであり、その後、形態形成 (肝臓、腎臓、肺内などの管状分枝)、運動性と侵襲 (癌腫)、有糸分裂誘発 (肝細胞再生など) における役割で知られるようになりました。³⁻⁷

MET は、さまざまなドメインによって定義された単一パス膜貫通受容体タンパク質です。これらのドメインとしては、細胞外リガンド結合 (Sema) ドメイン、PSI ドメイン、免疫グロブリン様のプレキシン転写因子ドメイン、膜貫通ドメイン、細胞内の膜近傍ドメイン、チロシンキナーゼドメインです。⁷リガンド (HGF) の結合時に、MET はホモ二量体化します。その結果として、チロシン 1234/1235 (キナーゼドメイン) と 1349/1356 (ドッキングドメイン) のリン酸化が生じて、その後、MAPK と PI3K-mTOR-AKT の経路が下流で活性化されます。⁸重要なこととして、細胞表面における MET タンパク質発現の調節は、E3 ユビキチンリガーゼ (Cbl) によって媒介されます。Cbl は、受容体の膜近傍ドメイン内のリン酸化した Y1003 と結合します。⁹Cbl によって媒介されたユビキチン化によって受容体エンドサイトーシスがトリガーされます¹⁰ (図 13-1)。興味深いことに、MET のエンドソームコンパートメントへの移行は、下流シグナルの全範囲を活性化するために必要であるようです (ERK1/2 および STAT3 経路を含む)。¹¹

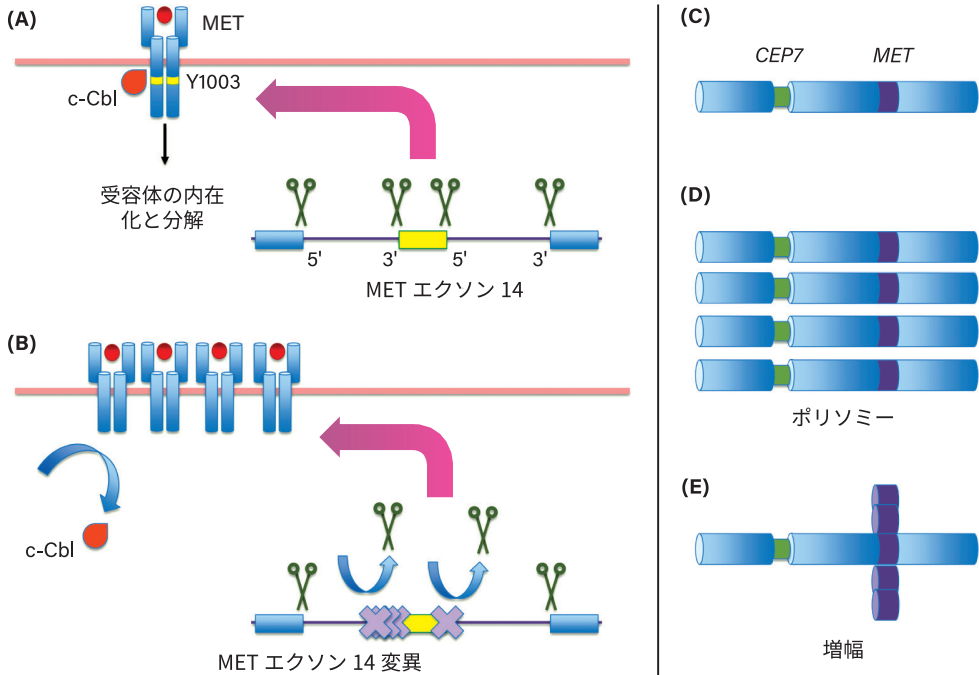


図 13-1. MET 遺伝子活性化の最も一般的なモードの略図。(A) リガンド結合後に、Met 表面発現は通常、Met 膜近傍ドメイン内のコドン 1003 におけるリン酸化チロシンへの Cbl の結合によって下向き調節されます。その結果として、内部移行と分解が生じます。(B) MET エクソン 14 スキッピング変異は、エクソン 14 の側方にあるスプライス領域に優先的に影響を与え、Y1003 が含まれた膜近傍領域の欠失をもたらして、Cbl との相互作用を防止します。代わりにまたは付随的に、(C) MET が相対的にコピー数を増加させ、7 番染色体が (D) ポリソミー（多染色体性）につながる重複を 1 回以上繰り返すか、(E) MET の局所的増幅によって引き起こされる場合もあります。後者は Met の活性化と発癌依存性より強く関連しています。(出典：Drilon 氏他¹²⁾)

腫瘍発生における変異の種類と役割

肺癌内の MET 経路の調節異常は、さまざまな分子メカニズム（遺伝子の変異、増幅、タンパク質過剰発現、融合など）を通じて発生します。¹³ MET では、発癌のいくつかの変異メカニズムが報告されています（これには、乳頭状腎細胞癌におけるキナーゼドメインのホットスポット F1200I、Y1230X、M1250T や、いくつかの腫瘍型における細胞外 Sema ドメイン内の潜在的な差異などが含まれます）。^{14, 15} ただし、NSCLC で優勢なメカニズムは、エクソン 14 の側方にあるスプライス部位の内部または周辺におけるさまざまなミスセンス変異と欠失挿入変異の導入であり、この結果として、「エクソン 14 スキッピング」が発生して、Y1003 における Cbl 結合部位¹⁶ を含む調節膜近傍ドメインが失われます（図 13-2）。表面結合された MET 受容体を介した持続的な発癌性シグナル伝達は、増大した細胞侵襲と転移に関連しています。^{16, 17}

MET 増幅は、新規と後天性という 2 つのサブタイプに主に分類できます。新規 MET 増幅は、NSCLC の 1% ~ 5% に見られ、予後不良と関連しています。^{18, 19} 注目すべきことに、MET 増幅の有病率は、使用された診断検査とカットオフ値に応じて個別の研究ごとに異なります。一部の症例では、エクソン 14 スキッピング変異には、変異アレルの選択的増幅が伴います。これは、癌遺伝子中毒状態を促進する可能性が高い事象です。²⁰⁻²²

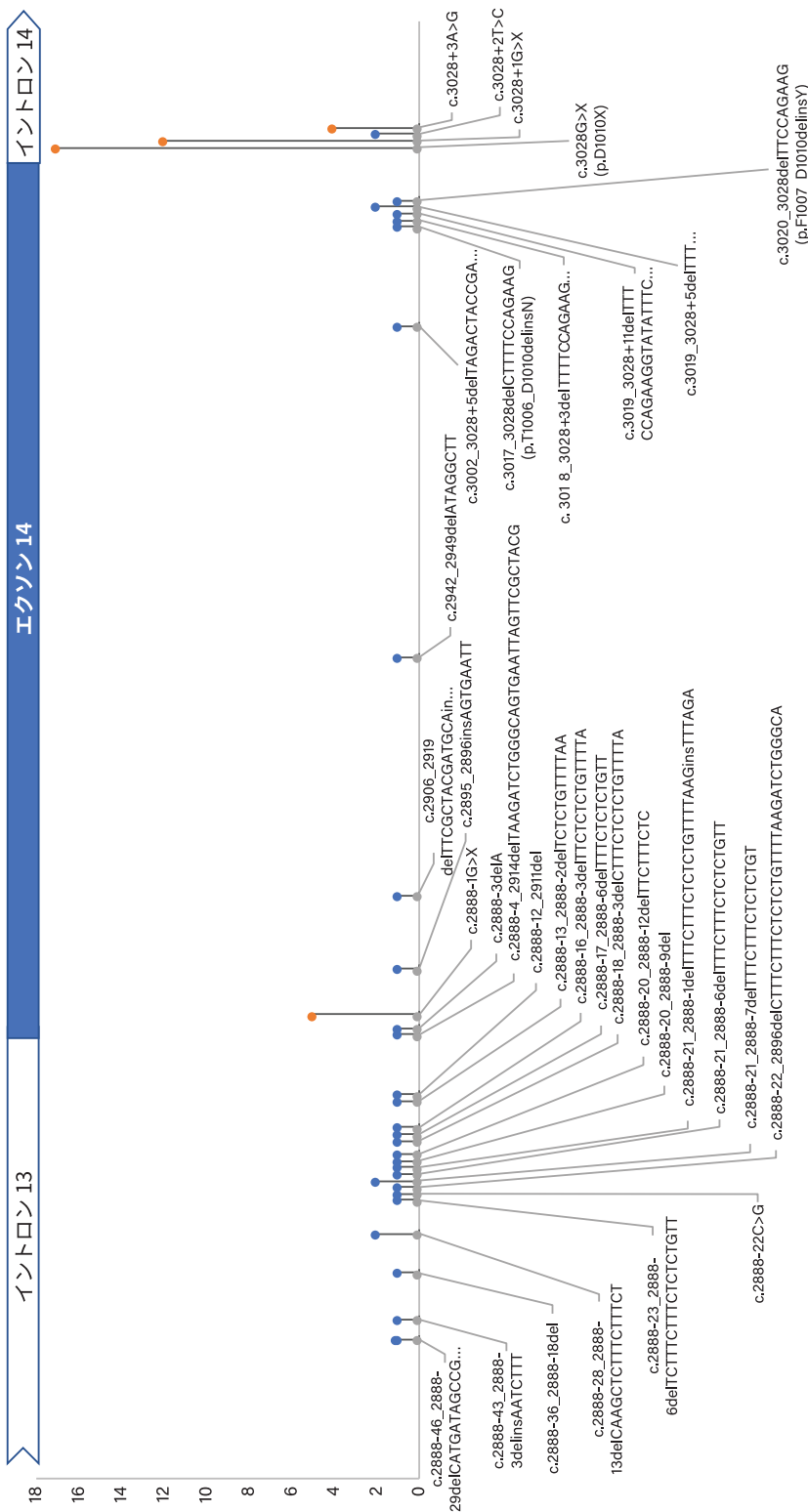


図 13-2. Y1003 の Cbl 結合部位を含む、エクソン 14 スキップピンギおよび膜近傍制御ドメインの消失をもたらす、MET 遺伝子のイントロン 13、エクソン 14、イントロン 14 で検出された変異の多様性を表すロリポッププロット。ホットスポットはオレンジ色のロリポップで示されています。71 例のデータは、2017 年から 2021 年までの Dana Farber Cancer Institute の次世代シーケンシング試験 OncoPanel 検査によるものです。(データは AACR Project Genie から一般公開されています。²³)

まれに、新規野生型 *MET* 増幅が唯一の発癌性ドライバーとして関与していることがあります。より一般的には、*MET* 増幅は、同時発生している分裂促進的ドライバー変化 (*EGFR* 内と *KRAS* 内など) とともに観測されます。²⁴ 後天性 *MET* 増幅は、第 1、第 2、および第 3 世代の *EGFR* TKI の投与によって病状が悪化したときに *EGFR* 変異 NSCLC 患者の 5% ~ 20% で確認され、²⁵⁻²⁷ 現在では、*ALK*、*RET*、*ROS1* を標的とする療法に対する獲得耐性の再発メカニズムとして認識されています。²⁸

MET に関連する遺伝子間融合はまれですが、さまざまな融合パートナーが特定されています。このような融合は、主に NSCLC 以外の腫瘍 (神経膠腫、乳頭状腎細胞癌、甲状腺など) で報告されています。²⁹ NSCLC における *MET* 融合の正確な発生頻度は不明確ですが、最良の推測値では、他の点では癌遺伝子陰性である肺腺癌の 0.5% で発生することが示唆されています。³⁰ *MET* 遺伝子内のブレークポイントはイントロン 14 内で濃縮されるように思われ、融合産物によって、コイルドコイルドメインを含んでいる 5' パートナーが並置されて、無傷の *Met* キナーゼドメインとのホモ二量体形成が促進されます。^{29, 30} *Met* を標的とする療法に対する *MET* 融合の予測的役割に関するエビデンスは、症例報告や小規模なシリーズから得られたものが大部分ですが、これらの戦略が有望であることを示しています。³¹

MET 過剰発現は NSCLC では一般的であり、IHC によって患者の約 20% ~ 48% で検出できます。³²⁻³⁵ ただし、*MET* 過剰発現と *MET* の変化または増幅の間の相関関係は弱く、一部の *MET* エクソン 14 スキッピング変異陽性腫瘍のみで、大きな *MET* タンパク質発現が発生します (図 13-3A-D)。さらに、他の発癌性ドライバー変化の状況で高レベルの発現を観測できます^{21, 36, 37} (図 13-4A、B)。

疫学的、臨床的、組織学的特徴

MET エクソン 14 スキッピング変異は、白人母集団では NSCLC 患者の 3% ~ 4% で発生しますが、中国では、発生率はわずか 0.9% です。³⁸⁻⁴⁰ 他の母集団における限定的な体系的シーケンシングでは、*MET* エクソン 14 変異発生率の信頼できる推定値を得られません。大規模なシーケンシング活動によって、アシュケナジユダヤ人家計の患者における *MET* の変異と増幅を濃縮できる可能性が明らかになりました。⁴¹ *MET* エクソン 14 スキッピング変異は、肺腺癌で最も多く報告されていますが、肺扁平上皮癌でも報告されて歴のない患者で濃縮されている可能性があります。^{42, 43} いくつかの研究では、5% ~ 32% の症例で肺肉腫様癌における明らかな濃縮が確認されています。^{21, 44, 45} *MET* エクソン 14 スキッピング変異を有する患者の年齢の中央値 (70 歳以上) は、他の癌遺伝子誘発性腫瘍を有する患者と比較して高いです。^{21, 23} ほとんどの研究では、*MET* 変異は喫煙状況とは無関係に発生することが示されています。^{23, 41} *MET* エクソン 14 スキッピング変異は通常、他の癌遺伝子ドライバー変異とは相互に排他的ですが、*KRAS* G12X 共変異が約 4% の症例で報告されています。^{21, 23, 38, 46}

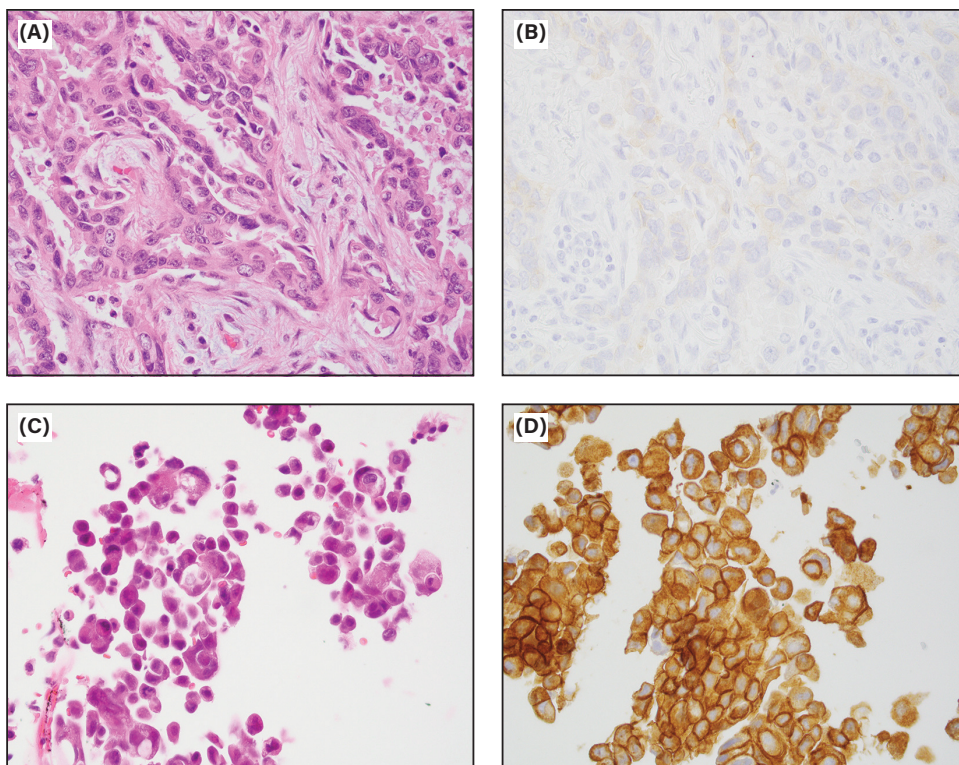


図 13-3. MET エクソン 14 スキップの変化を有し、MET タンパク質の発現レベルが非常に多様な肺腺癌の 2 例（免疫組織化学クローン SP44 [Spring Bioscience]）。(A) 腺房優勢肺腺癌を示す肺切除。(B) 総 MET タンパク質発現がほとんど認められないレベル。(C) 微小乳頭状の特徴を有する低分化肺腺癌の剥離クラスターおよび (D) MET タンパク質の強いびまん性発現を示している肺コア生検。

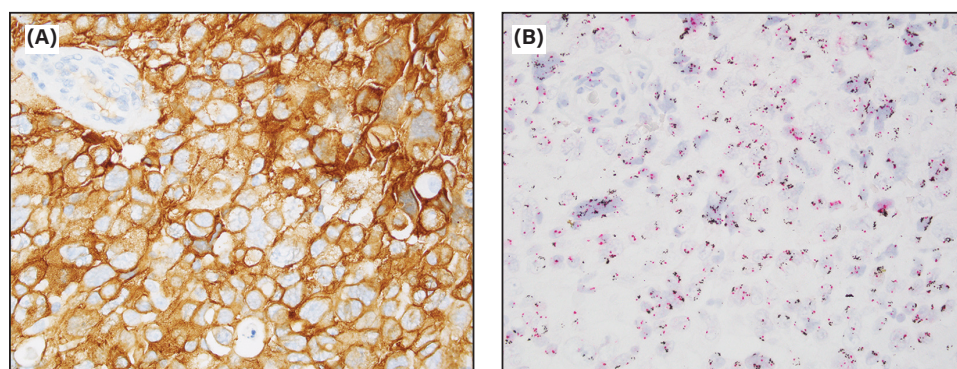


図 13-4. 発色 in situ ハイブリダイゼーションによるシグナルクラスター（均一に染色された領域）の形で強く拡散した MET タンパク質の発現と MET の増幅を示す KRAS 遺伝子変異を有する肺腺癌（黒いシグナル = MET、赤いシグナル = CEN 7）。

検査戦略

活性化 *MET* 変化の多様性を考慮すると、薬物治療の効果が期待できる *MET* バイオマーカーの包括的な評価を行うには、統合的な診断アプローチが必要です。重要なことは、各分析の適性と制限事項を考慮して、さまざまな種類の *MET* 変化（増幅、変異、代替転写、融合など）に幅広く対応する検査戦略を導入することです（表 13-1）。

表 13-1. MET バイオマーカーを検出するための臨床アッセイ

アッセイ	増幅	エクソン 14 スキッピング	遺伝子融合	過剰発現
組織ベースの検査	DNA-NGS FISH	DNA-NGS RNA-NGS RT-PCR	DNA-NGS RNA-NGS FISH RT-PCR	IHC
液体 / 血漿ベースの検査 ^a	ctDNA-NGS	ctDNA-NGS	ctDNA-NGS	N/A

略語：ctDNA = circulating tumor DNA (循環腫瘍 DNA)、FISH = fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)、IHC = immunohistochemistry (免疫組織化学法)、N/A = not applicable (該当なし)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、RT-PCR = reverse transcriptase polymerase chain reaction (逆転写ポリメラーゼ連鎖反応)。

^a ctDNA を用いたリキッドバイオプシー法は、MET の増幅、エクソン 14 のスキッピング、融合体の検出に用いることができますが、コピー数解析や融合体の検出には感度が限られているため、陰性結果は組織で確認する必要があります。

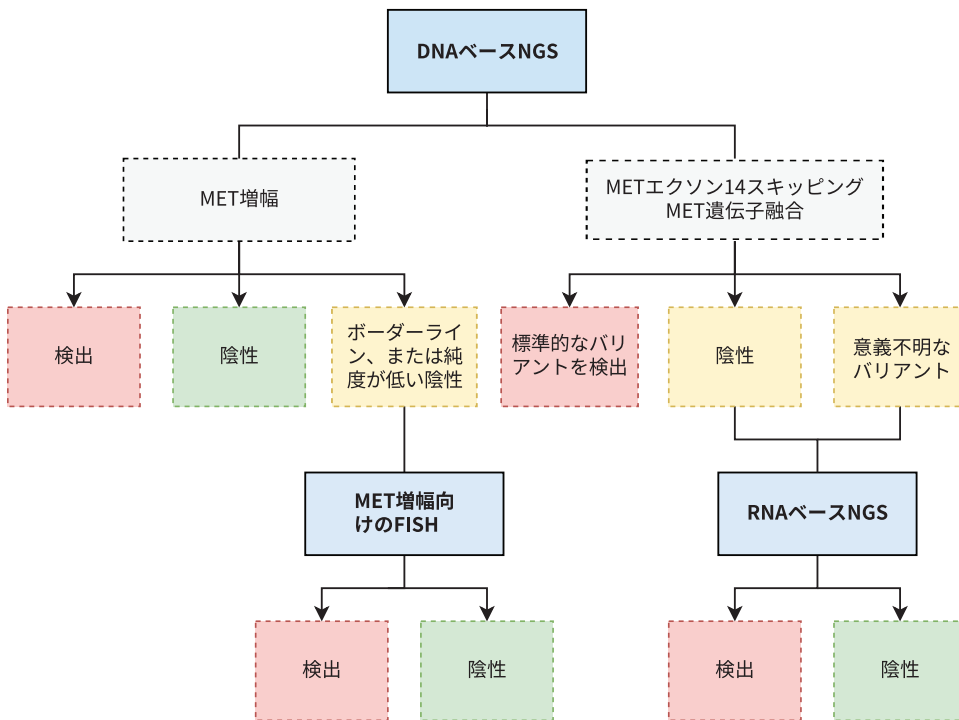


図 13-5. MET バイオマーカーを検出するための可能性のある検査戦略。略語：FISH = fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)。

図 13-5 には、臨床における病原性 MET 変化を検出するための重要な診断概念と検査戦略を示しています。DNA ベースの次世代シーケンシング (NGS) は、NSCLC に対する標準の診断検査として普及しつつあること、および複数タイプの MET 変化を検出できることを考慮して、我々は、MET プロファイリングのための初期スクリーニングアッセイとして DNA ベースの NGS を使用した診断ワークフローとなり得るものを提案しています。

MET 増幅を評価する場合、腫瘍純度が十分であれば、高レベルの増幅と増幅の欠如は、さらなる検査を必要としない信頼性の高い結果を示します。ただし、腫瘍純度が低い症例で境界線増幅が生じているか増幅が欠如している場合は、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) を使用して追加の検査を行うと、より詳細な解析が可能になり、NGS の結果を裏付けるのに役立つことがあります。MET エクソン 14 スキッピングと MET 融合の場合は、標準変異体を検出することで、臨床管理に十分な情報が得られます。ただし、陰性の結果や意義不明の変異は、RNA ベースの検査によってさらに検証する必要があります。あるいは、DNA ベースの解析と RNA ベースの解析を並列実行できる検査手法を使用することで、逐次検査戦略に従う必要性を回避することができます。融合検出用に最適化された RNA ベースの分析によって、DNA ベースの NGS では見逃される潜在性融合を検出して、病原性が不明確な変異体の機能を確認できます。

MET エクソン 14 スキッピングを媒介する要因は、供与体 / 受容体のスプライス部位内の病因性変異と、エクソン 14 が欠如している代替 MET 転写物を生じさせる大きなゲノム欠失です。ほとんどの場合は、エクソン 14 の側方にあるイントロン領域とスプライス部位が十分にカバーされていれば、これらの変化を DNA ベースの NGS で検出できます。⁴⁷ 深部のイントロン領域にスプライスを変化させる潜在的な変異が生じていることを考えると、最適な感受性を実現するために、イントロン 13 と 14 (エクソン 14 に加えて) を完全にカバーすることが必要になる場合があります。^{38, 48} ただし、このことは難しい可能性があります。イントロンはサイズが大きく、反復配列が存在するため、DNA ベースのシーケンスの精度に影響を及ぼす可能性があることが理由です。このような理由やその他の理由から、シーケンシングバイアスや対立遺伝子脱落などの技術的問題のために、アンプリコンベースの NGS よりもハイブリッドキャプチャーベースの NGS が望ましいです。^{49, 50} しかし、ハイブリッドキャプチャーベースの NGS であっても、DNA シーケンシングはエクソン 14 スキップの変化を見逃すことが知られており、スプライシングへの影響が不明確な新規の非標準の変異体を検出する可能性があります。⁵¹

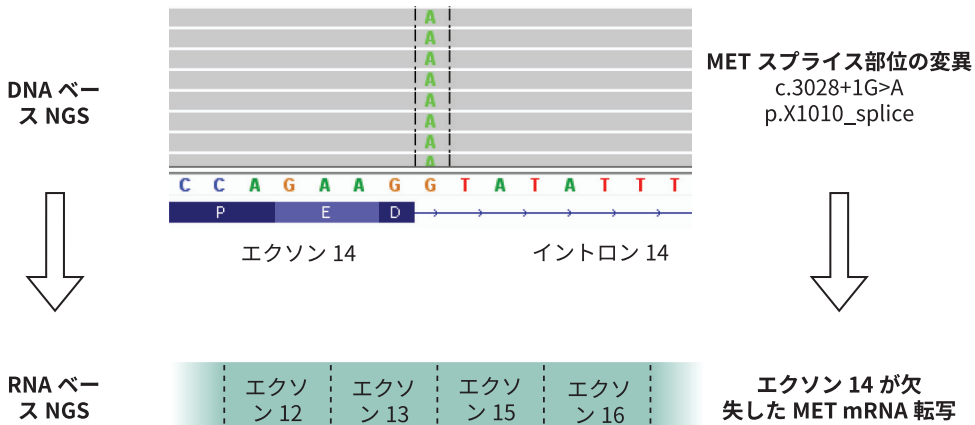


図 13-6. DNA および RNA ベースの次世代シーケンシング (NGS) は、それぞれ RNA 転写産物レベルでスプライスサイト変異およびエクソンスキッピングイベントを検出します。RNA ベースのシーケンシング戦略では、スプライシング異常の直接的なエビデンスが得られるのに対し、DNA レベルでの変異の影響は、スプライス領域内の位置に基づいて推測することしかできません。

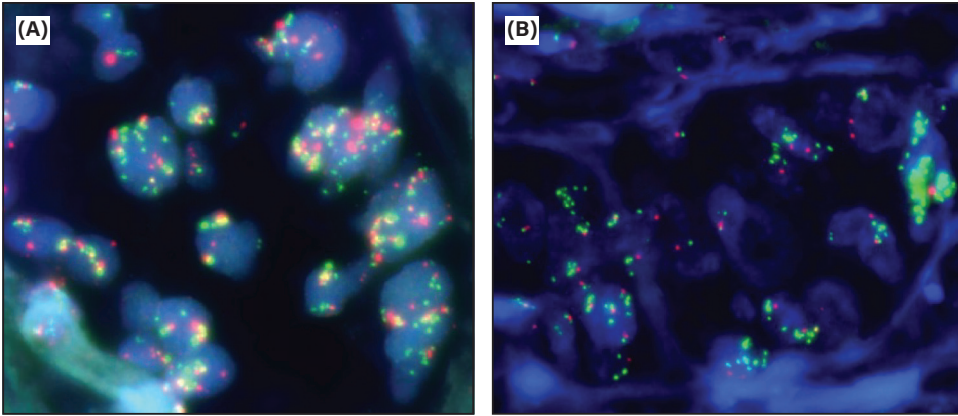


図 13-7. (A) 7 番染色体のポリソミー（多染色体性）を示す *MET*（緑）と CEP7（赤）のシグナルの増加。(B) *MET* 増幅の不均一性。右端の腫瘍細胞は、*MET* の増加と増幅のレベルが異なる他の腫瘍細胞と比較して、高レベルの *MET* コピーを示しています。

対照的に、RNA ベースのシーケンシングと RT-PCR（逆転写ポリメラーゼ連鎖反応）によって、DNA レベルの解析に関するこれらの問題を回避できるとともに、変化したスプライシングの発癌性副産物の有無を直接確認でき、その結果として、より高感受性かつ高機能のアプローチが可能になります⁵²（図 13-6）。したがって、RNA ベースの検査は、DNA ベースの NGS の陰性結果を確認し、非標準のイントロン変異をさらに評価するために重要かもしれません。ただし、低レベルの偽陽性エクソン 14 スキッピングが観測されています。^{53, 54} このため、変異陰性の症例では、RNA レベルのエクソン 14 スキッピング検出に関する低めの検証済み閾値を導入することが重要となる可能性があります。そうすることで、特異性を確保して、これらの知見を DNA シーケンシングデータと関連付けます。

MET 遺伝子増幅は、慣習的に FISH を使用して評価されてきました。これまでに *MET* GCN や *MET* 対 CEP7 比率などのさまざまなスコアリングシステムが提案されており、後者の手法では、増幅と 7 番染色体の多染色体性を見分けることができます。^{55, 56} 治療の指針となる *MET* 増幅に関する標準化された閾値はありませんが、高レベルの *MET* 増幅（*MET*/CEP7 比率が 4～6 以上、GCN が 10 以上という 2 つの条件の一方または両方を満たすもの）は、新規耐性状況と獲得耐性状況における *MET* 阻害に対する奏効を予測できる可能性があることが複数の研究で示されています。⁵⁷⁻⁵⁹

最近では、DNA ベースの NGS が *MET* 増幅のスクリーニングに使用されるようになってきています。^{60, 61} FISH と同様に、*MET* 増幅をコールするための方法論とカットオフ値について合意は得られていません。FISH と比した場合の NGS の利点としては、次の 2 つが挙げられます。1 つ目は、腫瘍切片全体にわたってより包括的なコピー数評価が可能であるため、発生し得る不均一性を克服できることであり、2 つ目は、*MET* 内の追加の変化および薬物治療の効果が期待できる他の遺伝子内の追加の変化を多重解析できることです。ただし、NGS ベースのコピー数解析は、信頼性の高いコピー数コールのための腫瘍純度要件（20% 以下の腫瘍純度）によって制限されます。⁶² 腫瘍量が少ない陰性症例や、NGS によって境界線結果が得られた陰性症例では、追加の FISH 検査が役に立つことがあります。この FISH 検査では、単一細胞レベルでより高分解能の解析が可能になるためです（図 13-7A, B）。

MET 遺伝子融合は、DNA ベースおよび RNA ベースのさまざまな手法を使用して検出できます。ブレイクアパート FISH は、*MET* に関する遺伝子再構成を発見するための迅速かつ低コストの手法です。ただし、この技法では、病原性を確認するために重要な可能性のあるキナーゼドメインの位置、融合パートナー、ブレイクポイントのいずれも明らかになりません。代替の方法として、DNA ベースの NGS を使用して、病原性融合を形成すると予測されている SV（構造変異種）を検出できます。他の遺伝子融合と同様に、*MET* 融合の基盤となっているゲノムブレイクポイントは、主にイントロン内で発生するため、DNA ベースシーケンシングの感受性が制限されます。^{30, 63} さらに、さらに、新規または複雑な融合で重要性が不確かな場合には、特異性が問題になることがあります。一般に、これらの制限は、発癌性融合転写物の有無を直接確認する RNA ベースの手法によって解決できます。RT-PCR では通常、融合パートナーやブレイクポイントに関する知識が必要ですが、RNA ベースの NGS では、これらの要件がなく、新しいパートナーとブレイクポイントを有する融合を検出できます。

多くの研究で、IHC による *MET* タンパク質過剰発現は、*MET* 増幅と *MET* エクソン 14 スキッピングの代用としては不十分であることを示しています。^{34, 37, 64} しかしながら、*MET* エクソン 14 スキッピング変化を有する患者において、*MET* 過剰発現が *MET* 標的療法に対する感受性を予測する可能性があることを示唆する新たなデータも出てきています。⁶⁵ 現在のところ、代替バイオマーカーとしての *MET* IHC の役割はありませんが、活性化 *MET* 変化を有する患者における *MET* 発現の治療的意義は、今後のデータにより発展する可能性があります。

臨床的意義

MET TKI は、結合機序によって 2 つのグループに分けられます。⁵⁰ I 型 *Met* 阻害剤（クリゾチニブ、カプマチニブ、テポチニブ、サボリチニブなど）は、その活性立体配置内で *MET* を標的とします。I 型 TKI の中でも、クリゾチニブは G1163 残基との相互作用に依存する点が特徴的です。その結果として、クリゾチニブは Ia 型阻害剤として指定され、残りの I 型阻害剤（Ib 型薬剤と見なされます）とは区別されています。I 型 *MET* 阻害剤とは対照的に、II 型阻害剤（カボザンチニブ、メレスチニブ、グレサチニブなど）は、その非活性立体配座内で *MET* と結合します。

現在までのところ、*MET* 変化型 NSCLC を対象に *MET* 阻害剤を評価する前向き臨床研究では、主に I 型阻害剤の有効性を検討してきました。これらの研究は、*MET* 増幅または *MET* エクソン 14 スキッピングのいずれかを有する NSCLC 患者における有効性を独自に評価したものです。注目すべきは、*MET* 増幅の定義が標準化されていないため、この遺伝的事象を定義するために使用される基準が臨床研究によって異なっていることです。I 型 *MET* 阻害剤の有効性は（頭蓋内活性を含む）、エクソン 14 スキッピング変化が生じている一部の腫瘍で特に有望視されています。

たとえば、第 1 相と第 2 相の GEOMETRY モノ 1 試験では、カプマチニブによる客観的奏効が前治療患者の 41% で報告され、PFS 中央値は 5.4 カ月でした。⁵⁷ カプマチニブを投与された、治療歴のない NSCLC 患者の全奏効率（ORR）は 68%、PFS 中央値は

12.4 カ月でした。⁵⁷ 第 2 相 VISION 試験では、テポチニブを投与した場合に観測された ORR は 46% で PFS 中央値は 8.5 カ月であり、以前の治療のライン全体にわたって同等の有効性が確認されました。⁶⁶ これら 2 件の試験に基づいて、カプマチニブとテポチニブは、*MET* エクソン 14 スキッピングを有する NSCLC の治療薬として、ラインを問わない国際的な規制当局の承認を取得しました。マルチキナーゼ Ia 型 *MET* TKI であるクリゾチニブもまた、PROFILE 1001 試験における *MET* エクソン 14 陽性の患者 (ORR 32%) または *MET* 増幅型 NSCLC の患者 (ORR 28.9%) のコホートでも、有望な活性を示しました。^{59, 67} PROFILE 1001 試験と GEOMETRY モノ 1 試験のいずれにおいても、*MET* TKI の活性は、高レベルの *MET* 増幅が生じている腫瘍で最も高かったです。⁵⁷ たとえば、カプマチニブの ORR は 12% から 40% に改善し、PFS 中央値は *MET* GCN カットオフが 6~9 コピーから 10 コピー以上に拡大するにつれて 2.7 カ月から 4.1 カ月に増加しました。⁵⁷

MET TKI に加えて、*MET* 抗体や抗体薬物複合体も、*MET* 変異 NSCLC (*MET* 過剰発現が生じている NSCLC を含む) において臨床試験が行われています。これまで、抗 *MET* 抗体は十分な有効性を示してきませんでした。^{68, 69} しかし、現在進行中の試験において、*MET* 過剰発現または *MET* エクソン 14 変異を有する NSCLC 患者において、*MET* 活性を有する治療中の *MET* 抗体薬物複合体および二重特異性抗体が、早期に有望な結果を示しています。⁷⁰

耐性機序

前述のとおり、*MET* TKI は、結合機序に基づいていくつかのグループに分類されます。承認されている 2 種類の *MET* TKI (カプマチニブとテポチニブ) は、受容体のヒンジ領域とキナーゼ活性化ループの Y1230 残基との相互作用に依存する配置で、活性コンフォメーションで受容体に結合します。結合は、活性化ループを安定化させる D1228 残基と K1110 残基が関与する塩橋によって促進されます。D1228 と Y1230 に関する再発性変異は、この塩橋を不安定化するか Y1230 の位置を変化させると予測され、I 型阻害剤 (カプマチニブやクリゾチニブなど) に対する耐性を獲得した患者の臨床検体で同定されています。⁷¹⁻⁷³ これらの変異は I 型阻害剤に交差耐性を付与するため、既存の I 型 *MET* TKI を使用した逐次治療から得られる利点は限られています。^{65, 74}

対照的に、いくつかの前臨床試験と症例報告では、II 型 *MET* TKI (カボザンチニブ、メレスニチブ、グレサチニブ、フォレチニブなど) は活性ループとの相互作用に依存しないため、*MET* D1228/Y1230 変異に対する有効性を保持することが示されています。^{72, 75, 76} これらの一般的な変異に加えて、*MET* G1163R が、クリゾチニブ耐性を有する標本で確認されています。⁷⁷ 溶媒先端の G1163 残基は、クリゾチニブの結合にとって非常に重要ですが、他の *MET* TKI の結合にはそれほど重要ではありません。

後天的なオンターゲット変化に加え、*MET* 非依存的な耐性機序も、*MET* 選択的阻害剤に対する獲得耐性と内因性耐性の両方に寄与しています。⁶⁶ 現在までに報告されているバイパスメカニズムには、MAPK 経路の再活性化と *EGFR/ERBB2/ERBB3* の増幅が含まれます。^{46, 65, 77, 78} 前治療において *MET* エクソン 14 スキッピングを有する NSCLC の少数のサブセットで *KRAS* G12X 変異が同定されたことは、*MET* 標的療法に対する

一次耐性の一形態としての KRAS 活性化を強調しています。⁴⁶ KRAS 変異と増幅は、MET 標的療法に対する二次耐性機序の約 3 分の 1 を占めています。⁷² クリゾチニブ療法を受けて病状が悪化した MET エクソン 14 スキッピング発生患者では、KRAS 増幅と EGFR 増幅の両方が観察されています。興味深いことに、この状況における FISH 研究では、増幅事象が独立した細胞集団で起こっていることを示しており、薬剤耐性細胞の異なる集団間のパラ分泌シグナル伝達の役割を示唆しています。⁷⁹ KRAS 経路の活性化に伴う MET 阻害は、ホスホイノシチド 3 キナーゼ (PI3K) を介した優先的なシグナル伝達を促進するようです。PI3K 経路の変異 (PIK3CA 内と PTEN 内を含む) もまた、MET 標的療法に対する獲得耐性の一般的なメカニズムです。⁸⁰ EGFR 阻害剤または PI3K 阻害剤と MET を組み合わせて使用する併用療法の役割については、現在検討中です。^{80, 81}

参考文献

1. Maroun CR, Rowlands T. The Met receptor tyrosine kinase: a key player in oncogenesis and drug resistance. *Pharmacol Ther.* 2014;142(3):316-338.
2. Graveel CR, Tolbert D, Vande Woude GF. MET: a critical player in tumorigenesis and therapeutic target. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5(7).
3. Peschard P, Park M. From Tpr-Met to Met, tumorigenesis and tubes. *Oncogene.* 2007;26(9):1276-1285.
4. Boccaccio C, Ando M, Tamagnone L, et al. Induction of epithelial tubules by growth factor HGF depends on the STAT pathway. *Nature.* 1998;391(6664):285-288.
5. Ohmichi H, Koshimizu U, Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor (HGF) acts as a mesenchyme-derived morphogenic factor during fetal lung development. *Development.* 1998;125(7):1315-1324.
6. Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor: molecular structure, roles in liver regeneration, and other biological functions. *Crit Rev Oncog.* 1992;3(1-2):27-54.
7. Matsumoto K, Umitsu M, De Silva DM, Roy A, Bottaro DP. Hepatocyte growth factor/MET in cancer progression and biomarker discovery. *Cancer Sci.* 2017;108(3):296-307.
8. Recondo G, Che J, Janne PA, Awad MM. Targeting MET dysregulation in cancer. *Cancer Discov.* 2020;10(7):922-934.
9. Peschard P, Ishiyama N, Lin T, Lipkowitz S, Park M. A conserved DpYR motif in the juxtamembrane domain of the Met receptor family forms an atypical c-Cbl/Cbl-b tyrosine kinase binding domain binding site required for suppression of oncogenic activation. *J Biol Chem.* 2004;279(28):29565-29571.
10. Petrelli A, Gilestro GF, Lanzardo S, et al. The endophilin-CIN85-Cbl complex mediates ligand-dependent downregulation of c-Met. *Nature.* 2002;416(6877):187-190.
11. Barrow-McGee R, Kermorgant S. Met endosomal signalling: in the right place, at the right time. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;49:69-74.
12. Drilon A, Cappuzzo F, Ou S-HI, Camidge R. Targeting MET in lung cancer: will expectations finally be MET? *J Thorac Oncol.* 2016;12(1):15-26. doi:10.1016/j.jtho.2016.10.014.
13. Organ SL, Tsao MS. An overview of the c-MET signaling pathway. *Ther Adv Med Oncol.* 2011;3(1 suppl):S7-S19.
14. Sattler M, Reddy MM, Hasina R, Gangadhar T, Salgia R. The role of the c-Met pathway in lung cancer and the potential for targeted therapy. *Ther Adv Med Oncol.* 2011;3(4):171-184.
15. Lin J, Lyu Y, Li L, et al. Crizotinib inhibits activation of MET pathway caused by MET extracellular SEMA domain duplication. *Lung Cancer.* 2020;147:64-70.
16. Kong-Beltran M, Seshagiri S, Zha J, et al. Somatic mutations lead to an oncogenic deletion of met in lung cancer. *Cancer Res.* 2006;66(1):283-289.

17. Wang F, Liu Y, Qiu W, et al. Functional analysis of MET Exon 14 skipping alteration in cancer invasion and metastatic dissemination. *Cancer Res.* 2022;82(7):1365-1379.
18. Schildhaus HU, Schultheis AM, Ruschoff J, et al. MET amplification status in therapy-naive adeno- and squamous cell carcinomas of the lung. *Clin Cancer Res.* 2015;21(4):907-915.
19. Go H, Jeon YK, Park HJ, et al. High MET gene copy number leads to shorter survival in patients with non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2010;5(3):305-313.
20. Awad MM, Oxnard GR, Jackman DM, et al. MET exon 14 mutations in non-small-cell lung cancer are associated with advanced age and stage-dependent MET genomic amplification and c-Met overexpression. *J Clin Oncol.* 2016;34(7):721-730.
21. Lee JK, Madison R, Classon A, et al. Characterization of non-small-cell lung cancers with MET exon 14 skipping alterations detected in tissue or liquid: clinicogenomics and real-world treatment patterns. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:PO.21.00122.
22. Bittoni M, Yang JC, Shih JY, et al. Real-world insights into patients with advanced NSCLC and MET alterations. *Lung Cancer.* 2021;159:96-106.
23. AACR Project Genie: data. American Association for Cancer Research (AACR); 2022. Updated July 22, 2022. <https://www.aacr.org/professionals/research/aacr-project-genie/aacr-project-genie-data/>.
24. Aisner DL, Sholl LM, Berry LD, et al. The impact of smoking and TP53 mutations in lung adenocarcinoma patients with targetable mutations—the Lung Cancer Mutation Consortium (LCMC2). *Clin Cancer Res.* 2018;24(5):1038-1047.
25. Yu HA, Arcila ME, Rekhman N, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin Cancer Res.* 2013;19(8):2240-2247.
26. Oxnard GR, Hu Y, Mileham KF, et al. Assessment of resistance mechanisms and clinical implications in patients with EGFR T790M-positive lung cancer and acquired resistance to osimertinib. *JAMA Oncol.* 2018;4(11):1527-1534.
27. Schoenfeld AJ, Chan JM, Rizvi H, et al. Tissue-based molecular and histological landscape of acquired resistance to osimertinib given initially or at relapse in patients with EGFR-mutant lung cancers. *J Clin Oncol.* 2019;37(15 suppl):9028-9028.
28. Coleman N, Hong L, Zhang J, et al. Beyond epidermal growth factor receptor: MET amplification as a general resistance driver to targeted therapy in oncogene-driven non-small-cell lung cancer. *ESMO Open.* 2021;6(6):100319.
29. Stransky N, Cerami E, Schalm S, Kim JL, Lengauer C. The landscape of kinase fusions in cancer. *Nat Commun.* 2014;5:4846.
30. Plenker D, Bertrand M, de Langen AJ, et al. Structural alterations of MET trigger response to MET kinase inhibition in lung adenocarcinoma patients. *Clin Cancer Res.* 2018;24(6):1337-1343.
31. Liu LF, Deng JY, Lizaso A, Lin J, Sun S. Effective response to crizotinib of concurrent KIF5B-MET and MET-CDR2-rearranged non-small cell lung cancer: a case report. *World J Clin Cases.* 2022;10(8):2529-2536.
32. Li A, Gao HF, Wu YL. Targeting the MET pathway for potential treatment of NSCLC. *Expert Opin Ther Targets.* 2015;19(5):663-674.
33. Park S, Koh J, Kim DW, et al. MET amplification, protein expression, and mutations in pulmonary adenocarcinoma. *Lung Cancer.* 2015;90(3):381-387.
34. Mignard X, Ruppert AM, Antoine M, et al. c-MET overexpression as a poor predictor of MET amplifications or exon 14 mutations in lung sarcomatoid carcinomas. *J Thorac Oncol.* 2018;13(12):1962-1967.
35. Li A, Niu FY, Han JF, et al. Predictive and prognostic value of de novo MET expression in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2015;90(3):375-380.
36. Baldacci S, Figeac M, Antoine M, et al. High MET overexpression does not predict the presence of MET exon 14 splice mutations in NSCLC: results from the IFCT PREDICT.amm study. *J Thorac Oncol.* 2020;15(1):120-124.
37. Guo R, Berry LD, Aisner DL, et al. MET IHC is a poor screen for MET amplification or MET exon 14 mutations in lung adenocarcinomas: data from a tri-institutional cohort of the Lung Cancer Mutation Consortium. *J Thorac Oncol.* 2019.
38. Schrock AB, Frampton GM, Suh J, et al. Characterization of 298 patients with lung cancer harboring MET exon 14 skipping alterations. *J Thorac Oncol.* 2016;11(9):1493-1502.
39. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature.* 2014;511(7511):543-550.

40. Liu SY, Gou LY, Li AN, et al. The unique characteristics of MET exon 14 mutation in Chinese patients with NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2016;11(9):1503-1510.
41. Adib E, Nassar AH, Abou Alaiwi S, et al. Variation in targetable genomic alterations in non-small cell lung cancer by genetic ancestry, sex, smoking history, and histology. *Genome Med.* 2022;14(1):39.
42. Sands JM, Nguyen T, Shivdasani P, et al. Next-generation sequencing informs diagnosis and identifies unexpected therapeutic targets in lung squamous cell carcinomas. *Lung Cancer.* 2020;140:35-41.
43. Lam VK, Tran HT, Banks KC, et al. Targeted tissue and cell-free tumor DNA sequencing of advanced lung squamous-cell carcinoma reveals clinically significant prevalence of actionable alterations. *Clin Lung Cancer.* 2019;20(1):30-36.e33.
44. Liu X, Jia Y, Stoopler MB, et al. Next-generation sequencing of pulmonary sarcomatoid carcinoma reveals high frequency of actionable MET gene mutations. *J Clin Oncol.* 2016;34(8):794-802.
45. Fujino T, Suda K, Sakai K, et al. Intra-tumor and inter-tumor heterogeneity in MET Exon 14 skipping mutations and co-mutations in pulmonary pleomorphic carcinomas. *Clin Lung Cancer.* 2022;23(3):e185-e195.
46. Suzawa K, Offin M, Lu D, et al. Activation of KRAS mediates resistance to targeted therapy in MET exon 14-mutant non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2019;25(4):1248-1260.
47. Pruis MA, Geurts-Giele WRR, von der Thüsen JH, et al. Highly accurate DNA-based detection and treatment results of MET exon 14 skipping mutations in lung cancer. *Lung Cancer.* 2020;140:46-54.
48. Frampton GM, Ali SM, Rosenzweig M, et al. Activation of MET via diverse exon 14 splicing alterations occurs in multiple tumor types and confers clinical sensitivity to MET inhibitors. *Cancer Discov.* 2015;5(8):850-859.
49. Poirot B, Doucet L, Benhenda S, et al. MET exon 14 alterations and new resistance mutations to tyrosine kinase inhibitors: risk of inadequate detection with current amplicon-based NGS panels. *J Thorac Oncol.* 2017;12(10):1582-1587.
50. Guo R, Luo J, Chang J, et al. MET-dependent solid tumours—molecular diagnosis and targeted therapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2020;17(9):569-587.
51. Benayed R, Offin M, Mullaney K, et al. High yield of RNA sequencing for targetable kinase fusions in lung adenocarcinomas with no mitogenic driver alteration detected by DNA sequencing and low tumor mutation burden. *Clin Cancer Res.* 2019;25(15):4712-4722.
52. Davies KD, Lomboy A, Lawrence CA, et al. DNA-based versus RNA-based detection of MET exon 14 skipping events in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(4):737-741.
53. Nosi V, Luca A, Milan M, et al. MET exon 14 skipping: a case study for the detection of genetic variants in cancer driver genes by deep learning. *Int J Mol Sci.* 2021;22(8).
54. Manthei DM, Kleyman-Smith Y, Brown NA, Betz BL. Improved detection of MET exon 14 skipping mutations in lung adenocarcinoma with combined DNA/RNA testing and refined analysis methods [abstract ST009]. *J Mol Diagn.* 2019;19(30391-5):S1525-S1578.
55. Noonan SA, Berry L, Lu X, et al. Identifying the appropriate FISH criteria for defining MET copy number-driven lung adenocarcinoma through oncogene overlap analysis. *J Thorac Oncol.* 2016;11(8):1293-1304.
56. Cappuzzo F, Marchetti A, Skokan M, et al. Increased MET gene copy number negatively affects survival of surgically resected non-small-cell lung cancer patients. *J Clin Oncol.* 2009;27(10):1667-1674.
57. Wolf J, Seto T, Han JY, et al. Capmatinib in MET exon 14-mutated or MET-amplified non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2020;383(10):944-957.
58. Wu YL, Zhang L, Kim DW, et al. Phase Ib/II study of capmatinib (INC280) plus gefitinib after failure of epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitor therapy in patients with EGFR-mutated, MET factor-dysregulated non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(31):3101-3109.
59. Camidge DR, Otterson GA, Clark JW, et al. Crizotinib in patients with MET-amplified NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2021;16(6):1017-1029.
60. Peng LX, Jie GL, Li AN, et al. MET amplification identified by next-generation sequencing and its clinical relevance for MET inhibitors. *Exp Hematol Oncol.* 2021;10(1):52.
61. Schmitt C, Schulz AA, Winkelmann R, Smith K, Wild PJ, Demes M. Comparison of MET gene amplification analysis by next-generation sequencing and fluorescence in situ hybridization. *Oncotarget.* 2021;12(22):2273-2282.

62. Solomon JP, Yang SR, Choudhury NJ, et al. Bioinformatically-expanded next-generation sequencing analysis optimizes identification of therapeutically relevant MET copy number alterations in >50,000 tumors. *Clin Cancer Res.* 2022.
63. Pan Y, Zhang Y, Ye T, et al. Detection of novel NRG1, EGFR, and MET fusions in lung adenocarcinomas in the Chinese population. *J Thorac Oncol.* 2019;14(11):2003-2008.
64. Bubendorf L, Dafni U, Schobel M, et al. Prevalence and clinical association of MET gene overexpression and amplification in patients with NSCLC: results from the European Thoracic Oncology Platform (ETOP) Lungscape project. *Lung Cancer.* 2017;111:143-149.
65. Guo R, Offin M, Brannon AR, et al. MET exon 14-altered lung cancers and MET inhibitor resistance. *Clin Cancer Res.* 2021;27(3):799-806.
66. Paik PK, Felip E, Veillon R, et al. Tepotinib in non-small-cell lung cancer with MET exon 14 skipping mutations. *N Engl J Med.* 2020;383(10):931-943.
67. Drilon A, Clark JW, Weiss J, et al. Antitumor activity of crizotinib in lung cancers harboring a MET exon 14 alteration. *Nat Med.* 2020;26(1):47-51.
68. Wakelee H, Zvirbulė Z, De Braud F, et al. Efficacy and safety of onartuzumab in combination with first-line bevacizumab- or pemetrexed-based chemotherapy regimens in advanced non-squamous non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer.* 2017;18(1):50-59.
69. Hirsch FR, Govindan R, Zvirbulė Z, et al. Efficacy and safety results from a phase II, placebo-controlled study of onartuzumab plus first-line platinum-doublet chemotherapy for advanced squamous cell non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer.* 2017;18(1):43-49.
70. Camidge DR, Bar J, Horinouchi H, et al. Telisotuzumab vedotin (Teliso-V) monotherapy in patients (pts) with previously treated c-Met-overexpressing (OE) advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol.* 2022;40(16 suppl):9016-9016.
71. Villaruz LC, Socinski MA, Abberbock S, et al. Clinicopathologic features and outcomes of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations in the Lung Cancer Mutation Consortium. *Cancer.* 2015;121(3):448-456.
72. Recondo G, Bahcall M, Spurr LE, et al. Molecular mechanisms of acquired resistance to MET tyrosine kinase inhibitors in patients with MET exon 14-mutant NSCLC. *Clin Cancer Res.* 2020;26(11):2615-2625.
73. Heist RS, Sequist LV, Borger D, et al. Acquired resistance to crizotinib in NSCLC with MET exon 14 skipping. *J Thorac Oncol.* 2016;11(8):1242-1245.
74. Rotow JK, Gui P, Wu W, et al. Co-occurring alterations in the RAS-MAPK pathway limit response to MET inhibitor treatment in MET exon 14 skipping mutation-positive lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(2):439-449.
75. Fujino T, Suda K, Koga T, et al. Foretinib can overcome common on-target resistance mutations after capmatinib/tepotinib treatment in NSCLCs with MET exon 14 skipping mutation. *J Hematol Oncol.* 2022;15(1):79.
76. Bahcall M, Sim T, Paweletz CP, et al. Acquired METD1228V mutation and resistance to MET inhibition in lung cancer. *Cancer Discov.* 2016;6(12):1334-1341.
77. Dagogo-Jack I, Moonsamy P, Gainor JF, et al. A phase 2 study of capmatinib in patients with MET-altered lung cancer previously treated with a MET inhibitor. *J Thorac Oncol.* 2021;16(5):850-859.
78. Yoda S, Lin JJ, Lawrence MS, et al. Sequential ALK inhibitors can select for lorlatinib-resistant compound ALK mutations in ALK-positive lung cancer. *Cancer Discov.* 2018;8(6):714-729.
79. Bahcall M, Awad MM, Sholl LM, et al. Amplification of wild-type KRAS imparts resistance to crizotinib in MET exon 14 mutant non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2018;24(23):5963-5976.
80. Jamme P, Fernandes M, Copin MC, et al. Alterations in the PI3K pathway drive resistance to MET inhibitors in NSCLC harboring MET exon 14 skipping mutations. *J Thorac Oncol.* 2020;15(5):741-751.
81. Krebs M, Spira AI, Cho BC, et al. Amivantamab in patients with NSCLC with MET exon 14 skipping mutation: updated results from the CHRYSALIS study. *J Clin Oncol.* 2022;40(16 suppl):9008-9008.

遺伝子の構造と機能

RAS (rat sarcoma viral oncogene homolog) は膜結合タンパク質をコードしており、当初 Harvey 氏¹と Kristen 氏²により、細胞の増殖、分化、生存に関するレトロウイルス癌遺伝子として報告されました。³RAS は低分子量 GTP 分解酵素 (GTPase) と呼ばれるタンパク質の一群に属し、すべての哺乳類細胞で発現しています。^{4,5}RAS 遺伝子ファミリーは、対応するアイソフォームをコードする 3 つのメンバー (HRAS、NRAS、KRAS) で構成されています。⁵しかし、特に KRAS (Kristen rat sarcoma viral oncogene) アイソフォームは、癌における RAS 変異の約 75% ~ 80% を占めます。次いで NRAS (12%)、そして不規則に HRAS (3%) となっています。^{6,7} RAS タンパク質は、次の 3 つの主要素で構成されています。

1. G ドメインは、RAS アイソフォーム間で高度に保存されており、スイッチ 1 と 2 のループを含んでいます。このドメインは、GTP-GDP 交換を担当しています。
2. C 末端ドメインは、超可変領域と呼ばれ、RAS アイソフォーム間の大きな差異を示します。
3. C 末端 CaaX ボックスは、翻訳後修飾を促進します。⁸⁻¹¹

RAS タンパク質は分子スイッチとして働き、活性 GTP 結合状態と非活性 GDP 結合状態の間を循環します。^{8,12}RAS タンパク質の活性型への変換は GEF によって促進されるのに対して、GAP は、RAS-GTPase と GTP の加水分解を活性化することで RAS を不活性状態に維持する役割を担っています。^{8,12}KRAS が変異すると、RAS タンパク質は GTP 結合活性型にロックされて、続いて、この活性型によって下流シグナル伝達経路 (RAF-MEK-ERK 経路や PI3K-AKT-mTOR 経路など) が構成的に活性化されて、悪性形質をもたらされます^{8,12} (図 14-1)。

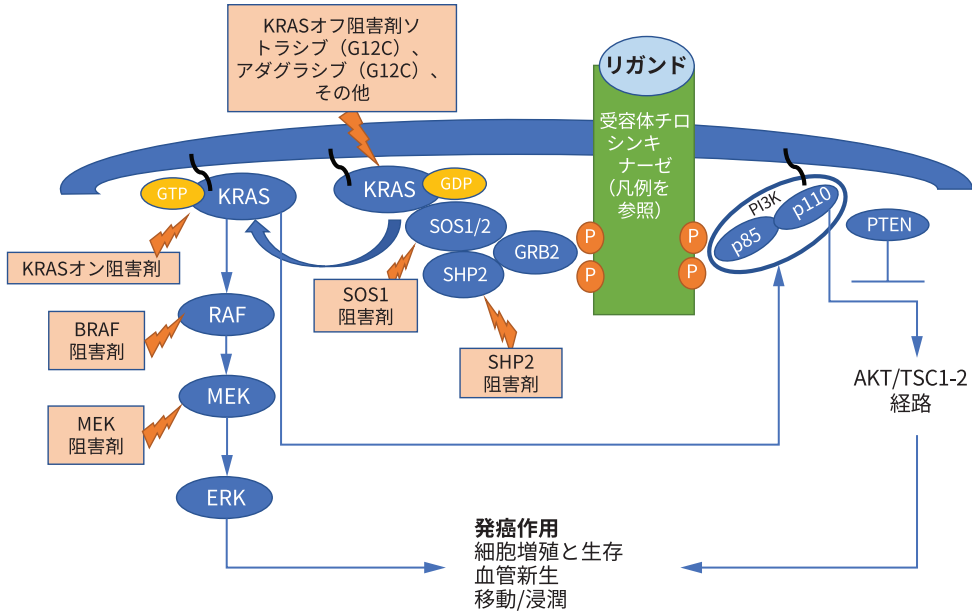


図 14-1. 細胞膜に結合した KRAS タンパク質と他のタンパク質およびシグナル伝達経路との関係の一部を図式化したもの。(注：膜 RTK の一般的表現は例示のみを目的としています。) ホモ二量体とヘテロ二量体を形成できる多くのリガンドと RTK (EGFR/HER ファミリーなど) が存在します (関連する章を参照)。野生型 KRAS を GTP 結合状態に活性化することで、RAF/MEK/ERK 経路および PI3K/AKT/TSC1-2 経路の下流シグナル伝達を促進できます。この活性化は、GEF (主なものは SOS1) と関連タンパク質 (GRB2 や SHP2 など) によって媒介されます。KRAS 内の変異は、GTP の加水分解および GAP との相互作用の両方を低下させます (図には示されていません)。これらの変化によって KRAS タンパク質は活性化された状態に維持され、発癌を促進します。この複雑な経路内のいくつかのポイントは、治療のために利用されています (本文を参照)。この状況で最も臨床的に進んでいるのは、ソトラシブやアダグラシブなどの薬剤です。これらの薬剤は、KRAS を GDP 結合非活性状態に維持する機能を有しています。^{3,13} 略語：PTEN = phosphatase and tensin homolog (ホスファターゼ - テンシンホモログ)。(出典：Punekar 氏他¹³)

腫瘍発生における変異の種類と役割 (変異、融合、増幅、タンパク質発現)

KRAS は、癌において最も頻繁に変異する癌遺伝子です。¹⁴ 同様に、KRAS 内の活性化変異は、早期肺腺癌と進行肺腺癌の両方で最も発生率の高い発癌性ドライバーであり、腫瘍の約 25% ~ 32% で発生しています。^{15,16} ほとんどの KRAS 点変異の多くは、エクソン 2 と 3 で発生し、主にコドン G12、G13、Q61 に影響を与えます。⁶ 肺癌では、G12C (アミノ酸グリシンからシステインへの変異) が最も多く (41%)、G12V と G12D はそれぞれ KRAS 変異の 21% と 17% を占めています¹⁷ (図 14-2)。KRAS 変異の生物学的意義と臨床的意義は、肺癌における変異サブタイプによって異なります。たとえば、G12C と G12D は、それぞれ RATGDS-Ral-FLIP 経路と PI3K-ACT-mTOR 経路への結合親和性が高いです。¹⁸ 加えて、KRAS G12C 変異は、KRAS G12D 変異よりも高い ERK1/2 リン酸化が示されました。¹⁹

薬物治療の効果が期待できる他の肺腺癌ドライバー変異で見られるように、KRAS 変異は通常、他の癌遺伝子ドライバー (EGFR、ALK、ROS によって誘発される腫瘍など) と共存することはありません。KRAS 変異と EGFR 変異は一般に、肺癌では相

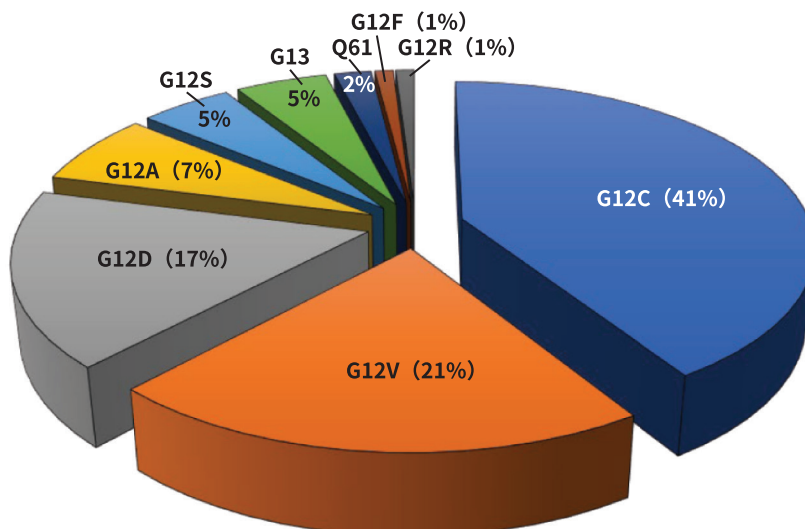


図 14-2. 肺腺癌における主な KRAS 変異の有病率

互排的に発生しますが、^{17, 20} いくつかの事例報告では、肺癌患者において KRAS 変異と EGFR 変異が同時発生するエビデンスが示されています。²¹⁻²³ KRAS 変異は、ALK TKI に対する耐性のメカニズムに関連する ALK 転座発生肺癌で主に報告されています。²⁴ KRAS G12C などの KRAS 変異は、限局性²⁵ と転移性²⁶ の治療歴のない SCLC において、MET 増幅と併発する頻度が高くなっています。ERBB2 増幅 ($P = 0.002$) と ERBB4 変異 ($P = 0.025$) は、KRAS G12C のない腫瘍と比較して、KRAS G12C 変異腫瘍でより頻繁に認められました。^{3, 26}

NSCLC では、対立遺伝子の不均衡やコピー数の増加などの KRAS コピー数の変化も報告されています。^{27, 28} KRAS 増幅は、EGFR TKI に対する耐性のメカニズムであることも示されています。²⁸ KRAS 遺伝子における変異の併発は、KRAS 変異を有する腫瘍の約 3.4%、KRAS 変異の 8% で観察されるように一般的です。KRAS G12C に関連する最も頻度の高い併発変異は、KRAS G12F と G12V でした。²⁹ この研究では、共起する変異の存在により、特定の G12C 阻害剤に対する耐性が増加しました。KRAS 変異を有する腫瘍の約半数、特に喫煙者に発生する腫瘍では、他のいくつかの変異、いわゆる共変異も認められることがあり、これらは生物学的意義を有する可能性があります。^{3, 26}

最新のデータでは、併発する遺伝子変化が生物学的進化、臨床転帰、治療に対する奏効に大きな影響を与えることが示されています。^{15, 30-34} 大規模なシーケンシング研究では、肺腺癌における主要な KRAS 共変異のセンサスが確立されています。¹⁵ TP53 内 (40% 以下)、STK11 内 (セリン/トレオニンキナーゼ 11、20%)、KEAPI (Kelch 様 ECH 結合タンパク質 1、13% ~ 24%) 内の同時発生変異が、最も発生頻度が高いです。^{26, 30} これら 3 つのサブセットは、異なる生物学的特性と治療感受性に関連しており、¹⁵ 腫瘍微小環境だけでなく、内在性の RAS シグナル伝達経路を介して作用する可能性があります。特に、KRAS/TP53 変異 NSCLC は炎症マーカーと免疫チェックポ

イントエフェクター分子のレベルの上昇を示し、*KRAS/KEAP1* は PD-L1 を含む免疫マーカーのレベルの低下を示しました。¹⁵

下流のエフェクターを通じて腫瘍形成を促進することに加え、変異体 *KRAS* 細胞は腫瘍微小環境と相互作用することが判明しています。結腸直腸癌では、*KRAS* 変異は主要組織適合性クラス 1 分子の発現のダウンレギュレーションを媒介し、その結果、腫瘍抗原のプライミングと T 細胞への提示が阻害されます。^{3, 35}

同様に、*KRAS* 変異は、変異は NSCLC における PD-L1 の高発現と関連しており、T 細胞の疲弊に寄与しています。^{36, 37} 注目すべきことに、PD-L1 TPS が 50% 以上の範囲は、*KRAS* 野生型腫瘍の患者の 20% ~ 26% に比べ、*KRAS* G12C の患者では 34% ~ 41% と報告されています。^{38, 39} *KRAS* 変異を有する NSCLC 細胞株では、PD-L1 の異所性発現は *KRAS* の下流の MAPK 経路と STAT3 経路によって調節されることが判明しています。^{3, 40}

疫学的、臨床的、組織学的な特性

KRAS 変異の分布は通常、癌種特異的であり、その頻度は、NSCLC、特に腺癌の組織型を除いて、さまざまな癌種において世界的に比較的安定しています。⁷ NSCLC における *KRAS* 有病率の地域差は世界中で観察されており、最も発生率が高いのはヨーロッパ、次いで北米、そして発生率が最も低いのは東アジア地域とインドです。^{6, 7} これは *EGFR* の有病率とは対照的で、遺伝学や環境の影響を示唆しており、現在研究が進んでいます。⁷ 同様に、*KRAS* G12C 変異は、アジア人患者よりも黒人や白人患者でより頻度が高いことが報告されています ($P < 0.001$)。一方、NSCLC では、*KRAS* 変異は組織学的な腺癌でより頻度が高く (32%)、^{6, 25, 41} 厳密な病理学的評価を行った場合、扁平上皮癌では非常にまれであることが報告されています (1% 以下)。^{39, 42, 43}

腺癌では、浸潤性粘液癌で *KRAS* 変異の頻度が高いことが報告されています (61% ~ 71%)。^{44, 45} NSCLC における *KRAS* 変異はしばしば喫煙歴と関連しており (すなわち、非喫煙者では 7% であるのに対し、元喫煙者では 32%、現喫煙者では 37% です⁴⁶)、NSCLC における変異型の分布は喫煙者と非喫煙者と異なります。³⁹ 喫煙者集団によく見られる *KRAS* G12C の場合 (*KRAS* 変異の 41%)、C から A への転移に関連するシグニチャー 4 (喫煙に関連するシグニチャー) に関連しています。⁴⁷ さらに、*KRAS* G12C 変異は、他の *KRAS* 変異^{25, 42} や *KRAS* 野生型と比べて、女性 (43%、 $P = 0.007$) および若年患者 (年齢中央値 63 歳、 $P = 0.0092$) に頻度が高いようです。G12D 変異は *KRAS* 変異の 56% で、ほとんどが喫煙歴のない人にみられます。⁴¹ いくつかの相反する結果にもかかわらず、^{38, 45, 46} NSCLC における *KRAS* 変異は予後不良と関連しているようです。⁴⁷⁻⁴⁹ G12C 変異を有する NSCLC の患者は、他の *KRAS* 変異を有する症例や *KRAS* 野生型の症例と比較して、予後が不良であることが報告されています。²⁵ さらに、*KRAS* G12C 陽性の患者は、*KRAS* 野生型患者に比べ、診断時の転移率が高いです (94% vs 88%)。³⁸

検査戦略

肺癌における G12C 変異を含む KRAS 変異の検出は、腫瘍組織、細胞標本（細胞診）、および血液やその他の体液（胸水、脳脊髄液など）から抽出した cfDNA から抽出した DNA から容易に行うことができます。KRAS 変異はコドン（12、13、61）のホットスポットに存在し、PCR ベースと NGS 手法の両方によってプローブされた遺伝子パネルを使って容易にカバーすることができます。⁴⁸⁻⁵¹ 適切な核酸投入量（10 ~ 100 ng の DNA、5% ~ 15% の腫瘍含量）で使用した場合、PCR ベースまたは NGS のいずれかの異なる商用プラットフォームのほとんどは、非 NGS アッセイと比較した場合、NGS がわずかに優れた性能を示すようですが、全体的に優れた精度と高いレベルの一致を示しました。⁵²⁻⁵⁷ いくつかのガイドラインで推奨されているように、腫瘍組織診断には NGS パネルが望ましい手法です。cfDNA は、組織標本が使い果たされた場合、腫瘍が生検にアクセスできない場合、または腫瘍や DNA の収量が適切な分子検査に十分でない場合に、代替の補完的アプローチとして使用することができます。⁵¹ 分子解析は、KRAS G12C 阻害剤などの KRAS 標的治療法から出現する、ゲノムに関連した耐性機序を同定するために使用される可能性があります。

臨床的意義

徹底的な前臨床研究と臨床研究が実施されたにもかかわらず、KRAS 変異は長い間、創薬困難（undruggable）な標的と考えられてきました。しかし最近、AMG510（ソトラシブ）や MRTX849（アダグラシブ）など、共有結合型の KRAS G12C 阻害剤が KRAS G12C 変異腫瘍用に開発されました。⁵⁸⁻⁶⁰ G12C を標的とするこれらの薬剤の作用は、KRAS G12C が非活性 GDP 状態にあるときに、シスチン 12 とスイッチ 2 結合ポケット領域に共有結合することに依存しています。⁶¹ いくつかの研究から、KRAS G12C 阻害剤は、ヌクレオチド交換因子に対する KRAS の感受性を低下させることにより、KRAS を非活性 GDP 結合状態に捕捉すること^{62, 63}、および KRAS G12C 阻害の有効性にはインタクトな GTPase 活性が必要であることが示されています。^{62, 63} 注目すべきは、CodeBreaK100 臨床試験で KRAS G12C 変異を有する進行 NSCLC 患者にソトラシブが有益な効果を示したこと⁶⁴ で、2021 年 5 月、FDA は、少なくとも 1 回の前治療歴のある KRAS G12C 陽性 NSCLC 患者にソトラシブを承認しました。

逆に、KRAS G12C 阻害剤では持続的な奏効は得られず、ソトラシブによる治療を受けた NSCLC 患者の無増悪生存期間（PFS）中央値は 6.8 カ月でした。⁶⁴ 第 3 相 CodeBreaK 200 試験では、プラチナ製剤ベースの化学療法とチェックポイント阻害剤による前治療後に進行した KRAS G12C 変異 NSCLC 患者において、ソトラシブはドセタキセルと比較して PFS を改善し（HR：0.66、95% CI、0.51 ~ 0.86、 $P = 0.002$ ）、安全性プロファイルも良好で全奏効率（ORR：28.1% vs 13.2%）も高いことが示されました。⁶⁵ しかし、全生存期間（OS）については両群間に差は認められませんでした。本試験では OS に関する検出力が付与されておらず、クロスオーバーが認められていました（34% の患者に影響）。

アダグラシブは、不可逆的かつ選択的な KRAS G12C 阻害剤としては 2 番目の臨床試験であり、臨床的有効性 (ORR, 42.9%; PFS, 6.5 カ月) を示し、単群臨床試験において新たな安全性シグナルを示さなかったことから⁶⁶2022 年 12 月に、少なくとも 1 つの前治療歴のある KRAS G12C 変異のある局所進行性または転移性 NSCLC を対象に、FDA が承認した試験で承認されました。^{67, 68} 現在、これらの KRAS G12C 阻害剤の従来療法に対する有効性を評価する第 3 相試験や、他の治療法 (免疫療法、化学療法など) との併用による相乗効果を求める他の初期臨床試験がいくつか進行中です。興味深いことに、G12C 変異を含む KRAS 変異を有する患者において、STK11 変異および KEAP1 変異が免疫チェックポイント阻害⁶⁹ および化学療法⁷⁰ に対する臨床転帰を悪化させることが示されています。⁷⁰

耐性機序

ソトラシブまたはアダグラシブについて得られた ORR は、NSCLC における EGFR と ALK の阻害によって得られた ORR と比べて著しく低く、^{71, 72}KRAS G12C 阻害剤に対する内在性耐性機序の存在を示唆しています。現在も調査中ですが、RAS-MAPK などの RAS シグナル伝達経路の適応的フィードバック再活性化など、両阻害薬に対するいくつかの内在性耐性機序が報告されています。⁷³ 後天的な耐性機序に関しては、実験室モデルを用いたり、治療患者の腫瘍標本を用いたりした結果、主に 3 つの機序が示唆されています。

1. オンターゲット機序：他の KRAS 活性化変異の (すなわち、ソトラシブ、G13D、R68M、A59S、アダグラシブ、Q99L、Y96D、R68S0) の検出に代表される^{24, 74-76}
2. バイパス機序：MET (遺伝子増幅を含む) と HGF、⁷⁷IGFR-1、FGFR-1 関連の機序⁶⁸ を介した、受容体チロシンキナーゼおよび RAS 下流シグナル伝達経路の活性化を含む
3. 上皮間葉転換の特性の獲得と系統可塑性：それぞれ、E-カドヘリンの下向き調節とビメンチンの上向き調節、⁶⁸ および腺癌から組織学的な扁平上皮癌⁷⁶ への変化に関する初期レポートが含まれる

参考文献

1. Harvey JJ. An unidentified virus which causes the rapid production of tumours in mice. *Nature*. 1964;204:1104-1105.
2. Kirsten WH, Mayer LA. Morphologic responses to a murine erythroblastosis virus. *J Natl Cancer Inst*. 1967;39(2):311-335.
3. Désage A-L, Léonce C, Swalduz A, Ortiz-Cuaran S. Targeting KRAS mutant in non-small cell lung cancer: novel insights into therapeutic strategies. *Front Oncol*. 2022;12:796832. doi:10.3389/fonc.2022.796832.
4. Simanshu DK, Nissley DV, McCormick F. RAS proteins and their regulators in human disease. *Cell*. 2017;170(1):17-33.
5. Malumbres M, Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(6):459-465.
6. Prior IA, Hood FE, Hartley JL. The frequency of Ras mutations in cancer. *Cancer Res*. 2020;80(14):2969-2974.
7. Timar J, Kashofer K. Molecular epidemiology and diagnostics of KRAS mutations in human cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2020;39(4):1029-1038.

8. Vigil D, Cherfils J, Rossman KL, Der CJ. Ras superfamily GEFs and GAPs: validated and tractable targets for cancer therapy? *Nat Rev Cancer*. 2010;10(12):842-857.
9. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*. 2000;103(2):211-225.
10. Gale NW, Kaplan S, Lowenstein EJ, Schlessinger J, Bar-Sagi D. Grb2 mediates the EGF-dependent activation of guanine nucleotide exchange on Ras. *Nature*. 1993;363(6424):88-92.
11. Vetter IR, Wittinghofer A. The guanine nucleotide-binding switch in three dimensions. *Science*. 2001;294(5545):1299-1304.
12. Cherfils J, Zeghouf M. Regulation of small GTPases by GEFs, GAPs, and GDIs. *Physiol Rev*. 2013;93(1):269-309.
13. Punekar SR, Velcheti V, Neel BG, Wong KK. The current state of the art and future trends in RAS-targeted cancer therapies. *Nat Rev Clin Oncol*. 2022;19(10):637-655. doi:10.1038/s41571-022-00671-9.
14. Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(1):11-22.
15. Skoulidis F, Byers LA, Diao L, et al. Co-occurring genomic alterations define major subsets of KRAS-mutant lung adenocarcinoma with distinct biology, immune profiles, and therapeutic vulnerabilities. *Cancer Discov*. 2015;5(8):860-877.
16. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-550.
17. Soh J, Toyooka S, Matsuo K, et al. Ethnicity affects EGFR and KRAS gene alterations of lung adenocarcinoma. *Oncol Lett*. 2015;10(3):1775-1782.
18. Ihle NT, Byers LA, Kim ES, et al. Effect of KRAS oncogene substitutions on protein behavior: implications for signaling and clinical outcome. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(3):228-239.
19. Li S, Liu S, Deng J, et al. Assessing therapeutic efficacy of MEK inhibition in a KRAS(G12C)-driven mouse model of lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2018;24(19):4854-4864.
20. Pao W, Miller VA. Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell lung cancer: current knowledge and future directions. *J Clin Oncol*. 2005;23(11):2556-2568.
21. Gainor JF, Varghese AM, Ou SH, et al. ALK rearrangements are mutually exclusive with mutations in EGFR or KRAS: an analysis of 1,683 patients with non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(15):4273-4281.
22. Choughule A, Sharma R, Trivedi V, et al. Coexistence of KRAS mutation with mutant but not wild-type EGFR predicts response to tyrosine-kinase inhibitors in human lung cancer. *Br J Cancer*. 2014;111(11):2203-2204.
23. Ortiz-Cuaran S, Scheffler M, Plenker D, et al. Heterogeneous mechanisms of primary and acquired resistance to third-generation EGFR inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2016;22(19):4837-4847.
24. Camidge DR, Doebele RC. Treating ALK-positive lung cancer—early successes and future challenges. *Nat Rev Clin Oncol*. 2012;9(5):268-277.
25. Finn SP, Addeo A, Dafni U, et al. Prognostic impact of KRAS G12C mutation in patients with NSCLC: results from the European Thoracic Oncology Platform Lungscape Project. *J Thorac Oncol*. 2021;16(6):990-1002.
26. Scheffler M, Ihle MA, Hein R, et al. K-ras mutation subtypes in NSCLC and associated co-occurring mutations in other oncogenic pathways. *J Thorac Oncol*. 2019;14(4):606-616.
27. Soh J, Okumura N, Lockwood WW, et al. Oncogene mutations, copy number gains and mutant allele specific imbalance (MASI) frequently occur together in tumor cells. *PLoS One*. 2009;4(10):e7464.
28. Nakatani K, Yamaoka T, Ohba M, et al. KRAS and EGFR amplifications mediate resistance to rociletinib and osimertinib in acquired afatinib-resistant NSCLC harboring exon 19 deletion/T790M in EGFR. *Mol Cancer Ther*. 2019;18(1):112-126.
29. Vlacova T, Chakraborty A, Sherwood J, et al. Concomitant KRAS mutations attenuate sensitivity of non-small cell lung cancer cells to KRAS G12C inhibition. *Sci Rep*. 2022;12(1):2699.
30. Arbour KC, Jordan E, Kim HR, et al. Effects of co-occurring genomic alterations on outcomes in patients with KRAS-mutant non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2018;24(2):334-340.
31. Kitajima S, Ivanova E, Guo S, et al. Suppression of STING associated with LKB1 loss in KRAS-driven lung cancer. *Cancer Discov*. 2019;9(1):34-45.

32. Romero R, Sayin VI, Davidson SM, et al. Keap1 loss promotes Kras-driven lung cancer and results in dependence on glutaminolysis. *Nat Med.* 2017;23(11):1362-1368.
33. Wang X, Min S, Liu H, et al. Nf1 loss promotes Kras-driven lung adenocarcinoma and results in Psat1-mediated glutamate dependence. *EMBO Mol Med.* 2019;11(6).
34. Skoulidis F, Goldberg ME, Greenawalt DM, et al. *STK11/LKB1* mutations and PD-1 inhibitor resistance in *KRAS*-mutant lung adenocarcinoma. *Cancer Discov.* 2018 Jul;8(7):822-835. doi:10.1158/2159-8290.
35. Miura Y, Sunaga N. Role of immunotherapy for oncogene-driven non-small cell lung cancer. *Cancers (Basel).* 2018;10(8):245.
36. Chen N, Fang W, Lin Z, et al. *KRAS* mutation-induced upregulation of PD-L1 mediates immune escape in human lung adenocarcinoma. *Cancer Immunol Immunother.* 2017;66(9):1175-1187.
37. Li D, Zhu X, Wang H, Li N. Association between PD-L1 expression and driven gene status in NSCLC: a meta-analysis. *Eur J Surg Oncol.* 2017;43(7):1372-1379.
38. Sebastian M, Eberhardt WEE, Hoffknecht P, et al. *KRAS* G12C-mutated advanced non-small cell lung cancer: a real-world cohort from the German prospective, observational, nation-wide CRISP registry (AIO-TRK-0315). *Lung Cancer.* 2021;154:51-61.
39. Judd J, Abdel Karim N, Khan H, et al. Characterization of *KRAS* mutation subtypes in non-small cell lung cancer. *Mol Cancer Ther.* 2021;20(12):2577-2584.
40. Sumimoto H, Takano A, Teramoto K, Daigo Y. RAS-mitogen-activated protein kinase signal is required for enhanced PD-L1 expression in human lung cancers. *PLoS One.* 2016;11(11):e0166626.
41. Dogan S, Shen R, Ang DC, et al. Molecular epidemiology of EGFR and *KRAS* mutations in 3,026 lung adenocarcinomas: higher susceptibility of women to smoking-related *KRAS*-mutant cancers. *Clin Cancer Res.* 2012;18(22):6169-6177.
42. Acker F, Stratmann J, Aspacher L, et al. *KRAS* mutations in squamous cell carcinomas of the lung. *Front Oncol.* 2021;11:788084.
43. Rekhtman N, Paik PK, Arcila ME, et al. Clarifying the spectrum of driver oncogene mutations in biomarker-verified squamous carcinoma of lung: lack of EGFR/*KRAS* and presence of PIK3CA/*AKT1* mutations. *Clin Cancer Res.* 2012;18(4):1167-1176.
44. Hwang DH, Sholl LM, Rojas-Rudilla V, et al. *KRAS* and *NKX2-1* mutations in invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. *J Thorac Oncol.* 2016;11(4):496-503.
45. Kadota K, Yeh YC, D'Angelo SP, et al. Associations between mutations and histologic patterns of mucin in lung adenocarcinoma: invasive mucinous pattern and extracellular mucin are associated with *KRAS* mutation. *Am J Surg Pathol.* 2014;38(8):1118-1127.
46. Wood K, Hensing T, Malik R, Salgia R. Prognostic and predictive value in *KRAS* in non-small-cell lung cancer: a review. *JAMA Oncol.* 2016;2(6):805-812.
47. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature.* 2013;500(7463):415-421.
48. Kalemkerian GP, Narula N, Kennedy EB, et al. Molecular testing guideline for the selection of patients with lung cancer for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol.* 2018;36(9):911-919.
49. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol.* 2013;8(7):823-859.
50. Singh N, Temin S, Baker S Jr, et al. Therapy for stage IV non-small-cell lung cancer without driver alterations: ASCO living guideline. *J Clin Oncol.* 2022;40(28):3323-3343.
51. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn.* 2018;20(2):129-159.
52. Gao J, Wu H, Wang L, et al. Validation of targeted next-generation sequencing for *RAS* mutation detection in FFPE colorectal cancer tissues: comparison with Sanger sequencing and ARMS-scorpion real-time PCR. *BMJ Open.* 2016;6(1):e009532.

53. Gao J, Wu H, Shi X, et al. Comparison of next-generation sequencing, quantitative PCR, and Sanger sequencing for mutation profiling of EGFR, KRAS, PIK3CA and BRAF in clinical lung tumors. *Clin Lab*. 2016;62(4):689-696.
54. Cainap C, Balacescu O, Cainap SS, Pop LA. Next generation sequencing technology in lung cancer diagnosis. *Biology (Basel)*. 2021;10(9):864.
55. Hinrichs JW, van Bloklant WT, Moons MJ, et al. Comparison of next-generation sequencing and mutation-specific platforms in clinical practice. *Am J Clin Pathol*. 2015;143(4):573-578.
56. Merker JD, Devereaux K, Iafrate AJ, et al. Proficiency testing of standardized samples shows very high interlaboratory agreement for clinical next-generation sequencing-based oncology assays. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(4):463-471.
57. Surrey LF, Oakley FD, Merker JD, et al. Next-generation sequencing (NGS) methods show superior or equivalent performance to non-NGS methods on BRAF, EGFR, and KRAS proficiency testing samples. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143(8):980-984.
58. Canon J, Rex K, Saiki AY, et al. The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity. *Nature*. 2019;575(7781):217-223.
59. Hallin J, Engstrom LD, Hargis L, et al. The KRAS(G12C) inhibitor MRTX849 provides insight toward therapeutic susceptibility of KRAS-mutant cancers in mouse models and patients. *Cancer Discov*. 2020;10(1):54-71.
60. Janes MR, Zhang J, Li LS, et al. Targeting KRAS mutant cancers with a covalent G12C-specific inhibitor. *Cell*. 2018;172(3):578-589e17.
61. Santos E, Martin-Zanca D, Reddy EP, et al. Malignant activation of a K-ras oncogene in lung carcinoma but not in normal tissue of the same patient. *Science*. 1984;223(4637):661-664.
62. Lito P, Solomon M, Li LS, Hansen R, Rosen N. Allele-specific inhibitors inactivate mutant KRAS G12C by a trapping mechanism. *Science*. 2016;351(6273):604-608.
63. Patricelli MP, Janes MR, Li LS, et al. Selective inhibition of oncogenic KRAS output with small molecules targeting the inactive state. *Cancer Discov*. 2016;6(3):316-329.
64. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, et al. Sotorasib for lung cancers with KRAS p.G12C mutation. *N Engl J Med*. 2021;384(25):2371-2381.
65. Johnson M, De Langen J, Waterhouse D, et al., editors. Sotorasib versus docetaxel for previously treated non-small cell lung cancer with KRAS G12C mutation: CodeBreak 200 phase III study [abstract LBA10]. *Ann Oncol*. 2022;33(suppl 7):S808-S869.
66. Janne PA, Riely GJ, Gadgeel SM, et al. Adagrasib in non-small-cell lung cancer harboring a KRAS(G12C) mutation. *N Engl J Med*. 2022;387(2):120-131.
67. Konen JM, Rodriguez BL, Padhye A, et al. Dual inhibition of MEK and AXL targets tumor cell heterogeneity and prevents resistant outgrowth mediated by the epithelial-to-mesenchymal transition in NSCLC. *Cancer Res*. 2021;81(5):1398-1412.
68. Adachi Y, Ito K, Hayashi Y, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is a cause of both intrinsic and acquired resistance to KRAS G12C inhibitor in KRAS G12C-mutant non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2020;26(22):5962-5973.
69. Ricciuti B, Arbour KC, Lin JJ, et al. Diminished efficacy of programmed death-(ligand)1 inhibition in STK11- and KEAP1-mutant lung adenocarcinoma is affected by KRAS mutation status. *J Thorac Oncol*. 2022;17(3):399-410.
70. Cooper AJ, Muzikansky A, Lennerz J, et al. Clinicopathologic characteristics and outcomes for patients with KRAS G12D-mutant NSCLC. *JTO Clin Res Rep*. 2022;3(9):100390.
71. Soria JC, Ramalingam SS. Osimertinib in EGFR mutation-positive advanced NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;378(13):1262-1263.
72. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus crizotinib in untreated ALK-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2017;377(9):829-838.
73. Ryan MB, Fece de la Cruz F, Phat S, et al. Vertical pathway inhibition overcomes adaptive feedback resistance to KRAS(G12C) inhibition. *Clin Cancer Res*. 2020;26(7):1633-43.
74. Koga T, Suda K, Fujino T, et al. KRAS secondary mutations that confer acquired resistance to KRAS G12C inhibitors, sotorasib and adagrasib, and overcoming strategies: insights from in vitro experiments. *J Thorac Oncol*. 2021;16(8):1321-1332.
75. Tanaka N, Lin JJ, Li C, et al. Clinical acquired resistance to KRAS(G12C) inhibition through a novel KRAS switch-II pocket mutation and polyclonal alterations converging on RAS-MAPK reactivation. *Cancer Discov*. 2021;11(8):1913-1922.

76. Awad MM, Liu S, Rybkin II, et al. Acquired resistance to KRAS^{G12C} inhibition in cancer. *N Engl J Med.* 2021;384(25):2382-2393.
77. Suzuki S, Yonesaka K, Teramura T, et al. KRAS inhibitor resistance in MET-amplified KRAS (G12C) non-small cell lung cancer induced by RAS- and non-RAS-mediated cell signaling mechanisms. *Clin Cancer Res.* 2021;27(20):5697-5707.

HER2

執筆者：Maria E. Arcila、Federico Cappuzzo、
Sabina Berezowska、Yasushi Goto

15

遺伝子の構造と機能

HER2/ERBB2 は、ERBB ファミリーの受容体チロシンキナーゼで、細胞の増殖 / 生存 / 分化 / 遊走の制御に関与しています。^{1, 2}17 番染色体 (17q11.2-q12) 長腕上の *ERBB2* 遺伝子 (*v-erb-b2* トリ赤芽球性白血病ウイルス癌遺伝子ホモログ 2) によってコードされるこのタンパク質は、触媒的な細胞内ドメインと細胞外の推定リガンド結合領域の両方において、同ファミリーの他の全メンバーと広範な構造的相同性を共有しています (図 15-1 と 15-2)。ただし、他のメンバーとは対照的に、HER2 は同定された直接的なリガンドを持たず、その代わりに他の全ての ERBB ファミリー受容体にとって好ましい二量体形成パートナーとして機能しています。³⁻⁵EGFR (HER1)、HER3、HER4 の細胞外ドメインにリガンドが結合すると、触媒的に活性化されたホモおよびヘテロ二量体が形成され、細胞増殖シグナル伝達を促進するいくつかの下流経路が活性化されます。ヘテロ二量体の優れた能力が観察されることに加え、HER2 はまた、内在化および分解されにくく、活性化されたキナーゼ活性およびシグナル伝達をより長く付与します。

腫瘍発生における変異の種類と役割

NSCLC では、タンパク質過剰発現、遺伝子増幅、変異による *HER2* 遺伝子の調節異常がよく報告されています。⁶⁻⁸ 他の固形腫瘍とは対照的に、NSCLC における *HER2* の生物学的性質はより複雑であるように思われ、いくつかの変異の明確な役割は不明なままです。発癌性 *HER2* 変化の一般的な結果は、制御不能な細胞増殖につながる受容体の過剰活性化です。変異は、主にエクソン 20 内の細胞内ドメインで発生し、A775_G776insYVMA が最も一般的な変異体です。その他にも細胞内、膜貫通、細胞外ドメインにわたっていくつかの変異が同定されており (図 15-1、表 15-1)、^{9, 10} 頻度ははるかに低いものの、その多くは意義不明の変異として分類されています。

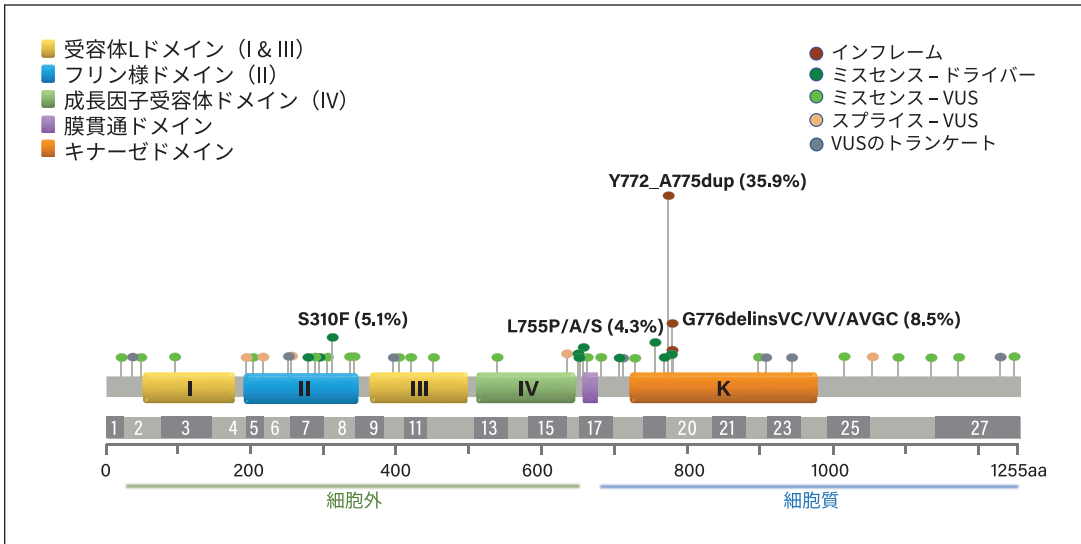


図 15-1. この図では、*HER2* (*ERBB2*) の構造、ドメインの分布、NSCLC における最も一般的な体細胞変異の有病率を示した模式図。タンパク質の細胞外、膜貫通、細胞質成分をコードする構造ドメインを示しています。*HER2* タンパク質は 185kDa で、1255 アミノ酸 (aa) からなり、27 エキソンによってコードされています。細胞外リガンド結合ドメイン (aa 1-652)、膜貫通ドメイン (aa 653-675)、細胞内ドメイン (aa 676-1255) は、同じファミリーのメンバーと構造的に大きな相同性を有しています。非扁平上皮 NSCLC における最も一般的な *HER2* 変異の有病率と位置は、cBioPortal から公開されているデータに基づいて表示されています。¹¹ 最も一般的な変異は、エクソン 20 内の挿入です。Y772_A775 重複 (別称 A775_G776insYVMA) が最も多く、次いでコドン G776 における挿入です。エクソン 8、17、19 内のミスセンス変異は、2% ~ 5% の頻度で見られます。これらの領域外のみれな変異は、主に VUS として分類されます。

疫学的、臨床的、組織学的特徴

HER2 の増幅および過剰発現の発生率は、研究によって大きく異なります。増幅は、NSCLC 症例の 2% ~ 22% で確認されている一方、過剰発現は 2.4% ~ 38% の範囲で報告されています。¹²⁻¹⁵ このようなばらつきは、評価方法、国や地域、臨床的・病理学的な設定によって影響される可能性があり、さらなる調査が必要です。他の悪性腫瘍、特に乳癌や胃癌、GEJ 癌では、遺伝子の増幅と細胞膜上のタンパク質の過剰発現が高い相関を示すのとは対照的に、肺癌ではこの相関は低いです。一部の研究では有意な関連性が報告されていますが、¹⁶⁻¹⁸ 他の研究では、それらは関連性のない事象として報告されています。^{15, 19, 20} 同様に、いくつかの研究では、*HER2* 遺伝子変異と増幅との間に負の相関があることが示されており、^{15, 21} 増幅と同時の変異を示す報告はわずかな割合に過ぎません。²²⁻²⁴ 全体として、このような一致性の低さは、各変異がそれぞれ異なる臨床病理学的サブセットを表している可能性を示唆しています。

HER2 増幅は、治療歴のない NSCLC 症例の約 2% ~ 3% において de novo の変化として同定されるか、¹⁵ あるいは第 1 世代 EGFR TKI に対する耐性機序として同定され、最大 13% の患者に認められます。²⁵ 全体的に見ると、*HER2* 増幅または *HER2* 発現のある患者では、de novo の場合、臨床病理学的な特徴は認められず、^{16, 19, 22, 26} 抵抗性の場合、元々の感作性ドライバーに依存します。

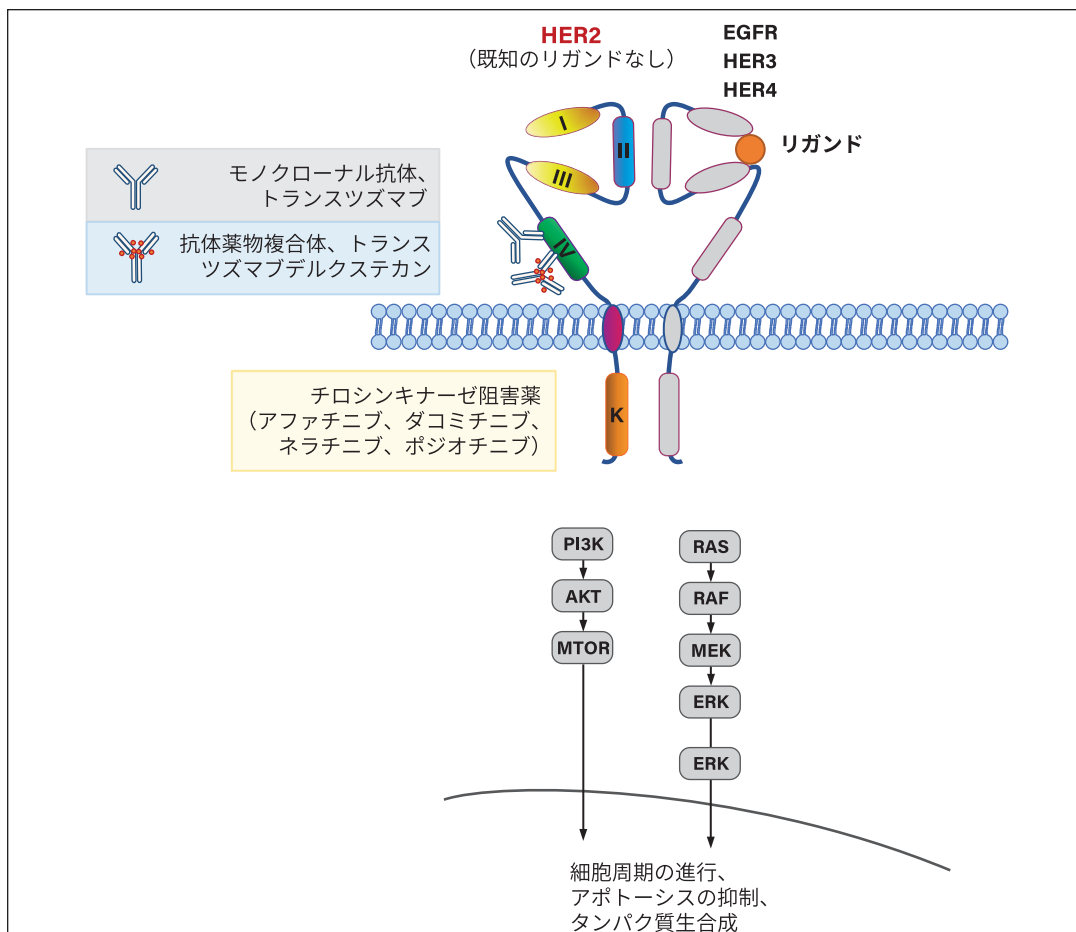


図 15-2. HER2 の構造、シグナル伝達、治療標的。HER2 は同じファミリーの他の受容体とホモ二量体またはヘテロ二量体を形成することにより活性化されます。二量体化の結果、細胞内ドメインの特定のチロシン残基がリン酸化され、その結果、Ras/Raf/ ミトジェン活性化プロテインキナーゼ、ホスホイノシチド 3 キナーゼ /Akt などの経路が活性化されます。HER2 を阻害するための次のようなさまざまな標的戦略が登場しています。(1) トラスツズマブ(ドメイン IV に結合)のような単一の細胞外ドメインに結合する単一エピトープのモノクローナル抗体、(2) トラスツズマブデルクスステカンのような抗体薬物複合体、(3) HER2 の細胞内チロシンキナーゼドメインに結合するように設計されたアフアチニブ、ダコミチニブ、ネラチニブ、ポジオチニブのような低分子阻害剤。

表 15-1. HER2 (ERBB2) 内の一般的な変異のリスト

位置	種類	変異
エクソン 8	SNV	p.S310F
Exon19	SNV 挿入欠失	p.D769H, p.D769N, p.D769Y, p.I767M/F, p.L755A/M/P/S/W p.L755_E757delinsS, p.L755_T759delLRENT
エクソン 20	SNV 挿入欠失	p.I767M, p.G776C, p.G776S, p.G776V, p.V777L, p.V777M p.T798I p.A775_G776insV, p.A775_G776insYVMA (p.Y772_A775dup), p.A775_G776insTVMA (p.Y772_V773VMAT), p.G776_V777insL, p.G776_V777insVC, p.G776_V777insVGC (p.G778_S779CVG), p.G776>LC, p.G776delinsVC (p.G776>VC), p.G778dup (p.V777_G778insG), p.G778_P780dup (p.P780_Y781GSP, V777_G778insGSP), p.G778_S779insCPG (p.V777_G778insGCP), p.G778_S779insLPS, p.S779_P780insVGS, p.V777_G778insCG

略語：indel = insertion and/or deletion (挿入欠失)、SNV = single nucleotide variant (一塩基変異)

HER2 変異は、NSCLC 全症例の 2% 未満で検出されており、主に腺癌の組織型、非喫煙または喫煙歴のない状態、および女性の性別と関連しています。*HER2* 変異腫瘍を有する患者はしばしば脳転移を発症し、症例の最大 47% で報告されています。²⁷ 変異は、他のドライバー分子変化と相互に排他的であり、*HER2* の増幅または過剰発現とは一般的に関連しません。^{21, 28, 29} *HER2* 変異と PD-L1 発現 (TPS \geq 1%) を同時に有する患者の割合は、他の癌遺伝子中毒腫瘍と比較して低く、高レベルの発現 (TPS \geq 50%) を示す症例は 20% 以下です。³⁰ *HER2* 増幅とは対照的に、*HER2* 変異または *HER2* 過剰発現は、標的療法に対する獲得耐性とは関連していません。

検査戦略

HER2 変異を評価する方法は、変異の種類によって異なり、さまざまな PCR ベースおよびシーケンシング技法 (NGS および非 NGS)、IHC、FISH が含まれます。^{25, 31-35} IHC と FISH の解釈に関する現在の推奨基準とともに、方法論の要約を表 15-2 に示します。³⁶

表 15-2. *HER2* (*ERBB2*) 遺伝子変異の検出法と臨床的意義のまとめ

遺伝子変化	変異	増幅	過剰発現
説明	点変異 挿入	異常に多い <i>HER2</i> (<i>ERBB2</i>) 遺伝子コピー数	腫瘍細胞表面上のタンパク質受容体の異常に高い発現
検査手法	シーケンシング： ・ サンガー ・ NGS (優先) その他： ・ 断片解析 ・ ARMS-PCR ・ dPCR	FISH：NSCLC 関連の臨床試験における優先的な推奨検査手法 FISH による <i>HER2</i> 増幅基準 ^a ・ <i>HER2</i> 対 <i>CEP17</i> の比率が 2.0 以上、または <i>HER2</i> シグナルがクラスター状に連結していること： <i>HER2</i> 増幅陽性 ・ <i>HER2</i> 対 <i>CEP17</i> の比率が 2.0 未満： <i>HER2</i> コピー数が 6.0 より多い： <i>HER2</i> 増幅陽性 ・ <i>HER2</i> コピー数が 4.0 より少ない： <i>HER2</i> 増幅陰性 ・ <i>HER2</i> コピー数が 4.0 より多いが 6.0 より少ない：増幅状態判定不能 その他の手法：qPCR、NGS ・ 現在の臨床では、NSCLC における <i>HER2</i> 増幅の検出には NGS が一般的に用いられています ・ 解釈の基準はまだ策定されていません	IHC は標準的な方法であり、乳癌と同様にスコア化することができます。しかし、 <i>HER2</i> IHC は現在、NSCLC の臨床では適応とされていません
臨床的意義	発癌性ドライバー、他のドライバーとの相互排他性 <i>HER2</i> (<i>ERBB2</i>) 変異進行 NSCLC のセカンドライン治療としてトラスツマブデルクス テカンが FDA 承認	発癌性ドライバー - de novo または二次的な耐性機序 治療への影響は調査中	乳癌とは異なり、増幅と発現は独立しており、NSCLC における <i>HER2</i> 発現の評価に関する臨床的意義は現在のところありません

略語：ARMS-PCR = amplification refractory mutations system-polymerase chain reaction (増幅抵抗性突然変異系 - ポリメラーゼ連鎖反応)、CEP17 = chromosome 17 centromere (17 番染色体セントロメア)、dPCR = digital PCR (デジタル PCR)、FDA = US Food and Drug Administration (米国食品医薬品局)、FISH = fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)、*HER2* = human epidermal growth factor receptor 2 (ヒト上皮成長因子受容体 2)、IHC = immunohistochemistry (免疫組織化学法)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、NSCLC = non-small cell lung carcinoma (非小細胞肺癌)、qPCR = quantitative PCR (定量的 PCR)。

^a *HER2* FISH のカットオフ値は NSCLC では厳密には確立されていません。乳癌の基準が適応されています。

HER2 検査のテンプレートは腫瘍組織が望ましいです。ただし、組織が入手不能であるか少なすぎる場合は、無細胞 DNA が使用されることがあり³⁵⁻³⁷、十分に高い ctDNA がある場合には、変異や増幅の検出は可能ですが、HER2 発現の評価はできません。

臨床的意義

HER2 変異の予後への影響については、利用可能なデータがまだ乏しく、矛盾しているため、全体として依然として議論の余地があります。いくつかの研究では予後不良の傾向が観察されており^{29, 38}、一方、非選択 NSCLC 集団と比較した場合、変異症例に対する緩徐な転帰の可能性があると報告している研究もあります。²⁸ サブセットに層別化した場合、あまり一般的でない HER2 変化と比較して A775_G776insYVMA に関連する生存率の悪化を同定した最近の研究で報告されたように、特定の変異が予後に影響を及ぼす可能性があります。³⁹ 全体として、HER2 変異型腫瘍は、他の癌遺伝子中毒 NSCLC に一般的に有効な薬剤であるペメトレキセド⁴⁰ に対する感受性が低いようです。免疫療法に対する感受性に関して得られるデータは、ほとんどが後向き（レトロスペクティブ）なものですが、HER2 変異型腫瘍は、チェックポイント阻害剤に対する感受性が低いことも示唆しており、これは EGFR 変異または ALK 再構成 NSCLC における所見と同様です。^{41, 42}

HER2 変異型腫瘍を有する患者において、いくつかの標的治療薬が有効性を示しています。3つの主要な治療戦略が出現しました。TKI、モノクローナル抗体、ADC (図 15-2)。HER2 TKI (アファチニブ、ダコミチニブ、ネラチニブ、ポジオチニブなど) は、一定の毒性を示しながらも、わずかな活性を示しています。^{13, 43, 44} より有望な結果は、トラスツズマブなどのモノクローナル抗体と化学療法との併用で観察されており、後向き調査においてのみ顕著な活性を示しました。^{31, 45} 最近では、トラスツズマブデルクス テカン (HER2 ADC) が、前治療歴のある HER2 変異 NSCLC 患者³² において持続的な抗癌活性を示すことが示され、HER2 変異 NSCLC の治療薬として初めて FDA から承認されました。HER2 IHC の発現や増幅の状態にかかわらず、ほとんどの患者で有効性が認められました。^{46, 47}

特筆すべきは、特定の変異型に対する標的治療レジメンの有効性の差は、活発に研究されている分野ですが、まだほとんど定義されていないことです。HER2 変異 A775_G776insYVMA を有する腫瘍は、これまでの研究で HER2 標的 TKI 療法に対する奏効性が最も低いことが指摘されています。^{48, 49} これとは対照的に、最近、単施設のリアルワールドの後向きコホートにおいて、トラスツズマブベースの治療法を使用した場合、一般的でない変異と比較して、この変異の方が全生存期間が長く、奏効が良好であることが報告されました。³⁹

耐性機序

これまで、HER2 増幅は、EGFR TKI のバイパス耐性機序の一つと考えられており、治療後に進行した患者の 13% で検出されています。²⁵ 現在のところ、増幅がどの程度耐性をもたらすかについては不明確なままです。研究結果には賛否両論があり、中には HER2 増幅腫瘍において EGFR TKI の奏効がさらに良好であったという報告もあります。⁵⁰

標的療法による治療を受けた de novo HER2 陽性の NSCLC では、二次的耐性機序のエビデンスは現在のところ乏しいです。HER2 阻害剤ポジオチニブに対する獲得耐性を調査したある in vitro 研究では、獲得耐性の潜在的な機序として、薬剤の共有結合部位における二次的な *HER2* 変異 C805S が同定され、HSP90 阻害剤が治療戦略の可能性を示しています。⁵¹

一部の変異を除き、ほとんどの *HER2* エクソン 20 挿入型は、利用可能な汎 HER TKI に対して一次耐性を示しています。耐性のメカニズムはほとんど解明されていませんが、キナーゼドメインに影響を及ぼす挿入部のコンフォメーションランドスケープが、TKI に対する親和性や感受性にさまざまな影響を及ぼすことが、構造解析や分子動力学解析から示唆されています。⁴⁹ たとえば、A775_G776insYVMA 変異は、他の変異と比較して、ATP 結合部位が低分子 TKI にアクセスしにくくなる高い立体配座剛性をもたらします。

参考文献

1. Moasser MM. The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene*. 2007;26(45):6469-6487. doi:10.1038/sj.onc.1210477
2. Akiyama T, Sudo C, Ogawara H, Toyoshima K, Yamamoto T. The product of the human *c-erbB-2* gene: a 185-kilodalton glycoprotein with tyrosine kinase activity. *Science*. 1986;232(4758):1644-1646. doi:10.1126/science.3012781
3. Pinkas-Kramarski R, Soussan L, Waterman H, et al. Diversification of Neu differentiation factor and epidermal growth factor signaling by combinatorial receptor interactions. *Embo J*. 1996;15(10):2452-2467.
4. Tzahar E, Waterman H, Chen X, et al. A hierarchical network of interreceptor interactions determines signal transduction by Neu differentiation factor/neuregulin and epidermal growth factor. *Mol Cell Biol*. 1996;16(10):5276-5287. doi:10.1128/mcb.16.10.5276
5. Klapper LN, Glathe S, Vaisman N, et al. The ErbB-2/HER2 oncoprotein of human carcinomas may function solely as a shared coreceptor for multiple stroma-derived growth factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(9):4995-5000. doi:10.1073/pnas.96.9.4995
6. Shimamura T, Ji H, Minami Y, et al. Non-small-cell lung cancer and Ba/F3 transformed cells harboring the ERBB2 G776insV_G/C mutation are sensitive to the dual-specific epidermal growth factor receptor and ERBB2 inhibitor HKI-272. *Cancer Res*. 2006;66(13):6487-6491. doi:10.1158/0008-5472.Can-06-0971
7. Perera SA, Li D, Shimamura T, et al. HER2YVMA drives rapid development of adenocarcinoma lung tumors in mice that are sensitive to BIBW2992 and rapamycin combination therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(2):474-479. doi:10.1073/pnas.0808930106
8. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature*. 2014;511(7511):543-550. doi:10.1038/nature13385
9. Gao J, Aksoy BA, Dogrusoz U, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci Signal*. 2013;6(269):pl1. doi:10.1126/scisignal.2004088
10. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data. *Cancer Discov*. 2012;2(5):401-404. doi:10.1158/2159-8290.Cd-12-0095
11. Most common *HER2* mutations in non-squamous NSCLC, prevalence and location data. cBioPortal for Cancer Genomics;2022. <https://www.cbioportal.org/>.
12. Cappuzzo F, Gregorc V, Rossi E, et al. Gefitinib in pretreated non-small-cell lung cancer (NSCLC): analysis of efficacy and correlation with HER2 and epidermal growth factor receptor expression in locally advanced or metastatic NSCLC. *J Clin Oncol*. 2003;21(14):2658-2663. doi:10.1200/jco.2003.01.039
13. Hyman DM, Piha-Paul SA, Won H, et al. HER kinase inhibition in patients with HER2- and HER3-mutant cancers. *Nature*. 2018;554(7691):189-194. doi:10.1038/nature25475

14. Kim EK, Kim KA, Lee CY, Shim HS. The frequency and clinical impact of HER2 alterations in lung adenocarcinoma. *PLoS One*. 2017;12(2):e0171280. doi:10.1371/journal.pone.0171280
15. Li BT, Ross DS, Aisner DL, et al. HER2 amplification and HER2 mutation are distinct molecular targets in lung cancers. *J Thorac Oncol*. 2016;11(3):414-419. doi:10.1016/j.jtho.2015.10.025
16. Heinmöller P, Gross C, Beyser K, et al. HER2 status in non-small cell lung cancer: results from patient screening for enrollment to a phase II study of herceptin. *Clin Cancer Res*. 2003;9(14):5238-5243.
17. Cox G, Vyberg M, Melgaard B, et al. Herceptest: HER2 expression and gene amplification in non-small cell lung cancer. *Int J Cancer*. 2001;92(4):480-483. doi:10.1002/ijc.1214
18. Tan D, Deeb G, Wang J, et al. HER-2/neu protein expression and gene alteration in stage I-IIIa non-small-cell lung cancer: a study of 140 cases using a combination of high throughput tissue microarray, immunohistochemistry, and fluorescent in situ hybridization. *Diagn Mol Pathol*. 2003;12(4):201-211. doi:10.1097/00019606-200312000-00004
19. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Franklin WA, et al. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and protein expression in non-small cell lung carcinomas. *Br J Cancer*. 2002;86(9):1449-1456. doi:10.1038/sj.bjc.6600286
20. Nakamura H, Saji H, Ogata A, et al. Correlation between encoded protein overexpression and copy number of the HER2 gene with survival in non-small cell lung cancer. *Int J Cancer*. 2003;103(1):61-66. doi:10.1002/ijc.10795
21. Arcila ME, Chaft JE, Nafa K, et al. Prevalence, clinicopathologic associations, and molecular spectrum of ERBB2 (HER2) tyrosine kinase mutations in lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res*. 2012;18(18):4910-4918. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-0912
22. Yoshizawa A, Sumiyoshi S, Sonobe M, et al. HER2 status in lung adenocarcinoma: a comparison of immunohistochemistry, fluorescence in situ hybridization (FISH), dual-ISH, and gene mutations. *Lung Cancer*. 2014;85(3):373-378. doi:10.1016/j.lungcan.2014.06.007
23. Suzuki M, Shiraiishi K, Yoshida A, et al. HER2 gene mutations in non-small cell lung carcinomas: concurrence with Her2 gene amplification and Her2 protein expression and phosphorylation. *Lung Cancer*. 2015;87(1):14-22. doi:10.1016/j.lungcan.2014.10.014.
24. Meert AP, Martin B, Verdebout JM, et al. Is there a relationship between c-erbB-1 and c-erbB-2 amplification and protein overexpression in NSCLC? *Lung Cancer*. 2005;47(3):325-336. doi:10.1016/j.lungcan.2004.07.047.
25. Yu HA, Arcila ME, Rekhtman N, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin Cancer Res*. 2013;19(8):2240-2247. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-2246.
26. Pellegrini C, Falleni M, Marchetti A, et al. HER-2/Neu alterations in non-small cell lung cancer: a comprehensive evaluation by real time reverse transcription-PCR, fluorescence in situ hybridization, and immunohistochemistry. *Clin Cancer Res*. 2003;9(10, pt 1):3645-3652.
27. Offin M, Feldman D, Ni A, et al. Frequency and outcomes of brain metastases in patients with HER2-mutant lung cancers. *Cancer*. 2019;125(24):4380-4387. doi:10.1002/cncr.32461.
28. Mazières J, Peters S, Lepage B, et al. Lung cancer that harbors an HER2 mutation: Epidemiologic characteristics and therapeutic perspectives. *J Clin Oncol*. 2013;31(16):1997-2003. doi:10.1200/JCO.2012.45.6095.
29. Pillai RN, Behera M, Berry LD, et al. HER2 mutations in lung adenocarcinomas: a report from the Lung Cancer Mutation Consortium. *Cancer*. 2017;123(21):4099-4105. doi:10.1002/cncr.30869.
30. Negrao MV, Skoulidis F, Montesion M, et al. Oncogene-specific differences in tumor mutational burden, PD-L1 expression, and outcomes from immunotherapy in non-small cell lung cancer. *J Immunother Cancer*. 2021;9(8):e002891. doi:10.1136/jitc-2021-002891.
31. Mazieres J, Barlesi F, Filleron T, et al. Lung cancer patients with HER2 mutations treated with chemotherapy and HER2-targeted drugs: results from the European EUHER2 cohort. *Ann Oncol*. 2016;27(2):281-286. doi:10.1093/annonc/mdv573.
32. Li BT, Smit EF, Goto Y, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2022;386(3):241-251. doi:10.1056/NEJMoa2112431.
33. Ignatius Ou SH, Madison R, Robichaux JP, et al. Characterization of 648 non-small cell lung cancer (NSCLC) cases with 28 unique HER2 exon 20 insertions [abstract]. *J Clin Oncol*. 2019;37(15 suppl):9063. doi:10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.9063.

34. Yang S, Wang Y, Zhao C, et al. Exon 20 YVMA insertion is associated with high incidence of brain metastasis and inferior outcome of chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients with HER2 kinase domain mutations. *Transl Lung Cancer Res.* 2021;10(2):753-765. doi:10.21037/tlcr-20-559.
35. Lee J, Franovic A, Shiotsu Y, et al. Detection of *ERBB2* (HER2) gene amplification events in cell-free DNA and response to anti-HER2 agents in a large Asian cancer patient cohort. *Front Oncol.* 2019;9:212. doi:10.3389/fonc.2019.00212.
36. Ren S, Wang J, Ying J, et al. Consensus for HER2 alterations testing in non-small-cell lung cancer. *ESMO Open.* 2022;7(1):100395. doi:10.1016/j.esmoop.2022.100395.
37. Li BT, Janku F, Jung B, et al. Ultra-deep next-generation sequencing of plasma cell-free DNA in patients with advanced lung cancers: results from the Actionable Genome Consortium. *Ann Oncol.* 2019;30(4):597-603. doi:10.1093/annonc/mdz046.
38. Jebbink M, de Langen AJ, Boelens MC, Monkhorst K, Smit EF. The force of HER2—a druggable target in NSCLC? *Cancer Treat Rev.* 2020;86:101996. doi:10.1016/j.ctrv.2020.101996.
39. Waliyan S, Wakelee H, Ramchandran K, et al. Characterization of *ERBB2* (HER2) alterations in metastatic non-small cell lung cancer and comparison of outcomes of different trastuzumab-based regimens. *Clin Lung Cancer.* 2022;23(6):498-509. doi:10.1016/j.clcc.2022.05.015.
40. Wang Y, Zhang S, Wu F, et al. Outcomes of pemetrexed-based chemotherapies in HER2-mutant lung cancers. *BMC Cancer.* 2018;18(1):326. doi:10.1186/s12885-018-4277-x.
41. Guisier F, Dubos-Arvis C, Vinas F, et al. Efficacy and safety of Anti-PD-1 immunotherapy in patients with advanced NSCLC with BRAF, HER2, or MET mutations or RET translocation: GFPC 01-2018. *J Thorac Oncol.* 2020;15(4):628-636. doi:10.1016/j.jtho.2019.12.129.
42. Mazieres J, Drilon A, Lusque A, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol.* 2019;30(8):1321-1328. doi:10.1093/annonc/mdz167.
43. Dziadziuszko R, Smit EF, Dafni U, et al. Afatinib in NSCLC with HER2 mutations: results of the prospective, open-label phase II NICHE trial of European Thoracic Oncology Platform (ETOP). *J Thorac Oncol.* 2019;14(6):1086-1094. doi:10.1016/j.jtho.2019.02.017.
44. Elamin YY, Robichaux JP, Carter BW, et al. Poziotinib for patients with HER2 exon 20 mutant non-small-cell lung cancer: results from a phase II trial. *J Clin Oncol.* 2022;40(7):702-709. doi:10.1200/JCO.21.01113.
45. Cappuzzo F, Bemis L, Varella-Garcia M. HER2 mutation and response to trastuzumab therapy in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2006;354(24):2619-2621. doi:10.1056/NEJMc060020.
46. Li BT, Smit EF, Goto Y, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2022;386(3):241-251. doi:10.1056/NEJMoa2112431.
47. Smit EF, Felip E, Uprety D, et al. Trastuzumab deruxtecan in patients (pts) with HER2-overexpressing (HER2-OE) metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC): results from the DESTINY-Lung01 trial. *Ann Oncol.* 2022; 33(suppl 7):S448-S554. doi:10.1016/annonc/annonc1064.
48. Robichaux JP, Elamin YY, Tan Z, et al. Mechanisms and clinical activity of an EGFR and HER2 exon 20-selective kinase inhibitor in non-small cell lung cancer. *Nat Med.* 2018;24(5):638-646. doi:10.1038/s41591-018-0007-9.
49. Zhao S, Fang W, Pan H, et al. Conformational landscapes of HER2 exon 20 insertions explain their sensitivity to kinase inhibitors in lung adenocarcinoma. Article. *J Thorac Oncol.* 2020;15(6):962-972. doi:10.1016/j.jtho.2020.01.020.
50. Zhao J, Xia Y. Targeting HER2 alterations in non-small-cell lung cancer: a comprehensive review. *JCO Precis Oncol.* 2020;4:411-425. doi:10.1200/PO.19.00333.
51. Koga T, Kobayashi Y, Tomizawa K, et al. Activity of a novel HER2 inhibitor, poziotinib, for HER2 exon 20 mutations in lung cancer and mechanism of acquired resistance: an in vitro study. *Lung Cancer.* 2018;126:72-79. doi:10.1016/j.lungcan.2018.10.019.51.

遺伝子の構造と機能

NRG1 遺伝子は、8番染色体上に位置し、長さは約 1.4 Mb で、ヒト遺伝子の中で最も大きいものの一つです。¹ この遺伝子には大きなイントロン領域があり、遺伝子のわずか 0.3% だけがタンパク質(ニューレグリン 1)をコードします。このタンパク質は、ErbB ファミリーの受容体と相互作用するニューレグリンファミリーの 4 つのタンパク質のうちの 1 つを代表しています。¹ *NRG1* タンパク質は、選択的スプライシングの結果、31 種類以上のアイソフォームで生成されます。しかし、すべてのアイソフォームは EGF 様ドメインを共有しており、ErbB3 (HER3)、そしてあまり一般的ではありませんが、ErbB4 (HER4) と結合し活性化することができます。²⁻⁴ リガンドが結合すると、ErbB3 受容体は ErbB2 (HER2) とホモ二量体またはヘテロ二量体を形成し、PIK3-AKT および MAPK 経路の活性化につながります。^{5,6} さまざまな *NRG1* アイソフォームは、胚形成期に必須であり、グリア細胞、神経細胞、心筋細胞の増殖、分化、生存において中心的な役割を果たしています。¹

腫瘍発生における変異の種類と役割

NRG1 が関与するドライバー変化は融合という形で起こります。*NRG1* 融合には多くの異なるパートナー遺伝子が関与する可能性があり、*CD74* が最も一般的なパートナー遺伝子であり、症例の約 30% を占めています。⁷⁻⁹ *NRG1* の構成遺伝子は EGF 様ドメインを持ち、EGF 様ドメインは ErbB3 のリガンドとして機能し、パートナー遺伝子は通常、膜貫通ドメインを持ち、キメラタンパク質を細胞膜につなぎとめます。⁷ キメラタンパク質は EGF 様ドメインを保持しているため、同じ細胞または隣接する細胞上の ErbB3 と相互作用することができ、下流の経路の活性化につながります。⁷

表 16-1. 検査戦略

分析の種類	利点	欠点
FISH ¹⁰	ほとんどの検査室で利用可能 短い所要時間 (2 ~ 3 日)	単一遺伝子アッセイ 膨大な作業時間 解釈に専門知識が必要 融合パートナーに関する情報が得られない
標的型 DNA ベース NGS ^{7,9}	多重遺伝子アッセイにより、他のドライバーに関する情報が得られる	カバレッジの低さ / 欠如により <i>NRG1</i> 融合に対する感度が低い
標的型 RNA ベース NGS ^{7,9}	最高感度 多重遺伝子アッセイにより、他のドライバーに関する情報が得られる	十分な RNA 品質が必要 (古いサンプルは RNA の劣化により最適ではない)

略語：FISH = fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)。

疫学的、臨床的、組織学的な特性

NRG1 融合は複数の腫瘍型に低頻度で見られ、固形癌における全発現率は 0.2% です。⁹ NSCLC では、*NRG1* 融合体の発生率は 0.3% です。⁹ *NRG1* 融合は主に軽喫煙者または非喫煙者、および IMA (旧称：粘液性細気管支肺胞上皮癌) の組織型を有する腫瘍で発生します。^{8, 11-13} IMA のうち、*NRG1* 融合は 7% の頻度で発生し、*KRAS* 変異や他の発癌性ドライバーとは相互に排他的です。*KRAS* 野生型 IMA では、*NRG1*/*NRG1* 融合頻度は 17% ~ 25% です。^{11, 13}

IMA の中でも、*NRG1* 融合は、*KRAS* 変異を有する IMA と比較して、遠隔転移率が高く、生存率が悪いなど、より侵襲的な組織学のおよび臨床的特徴と関連しています。¹³

まれですが、*NRG1* 融合は、膵臓腺癌、胆嚢癌、腎細胞癌、卵巣癌、乳癌、膀胱癌、膀胱肉腫など、他のさまざまなタイプの固形癌でも発生し、これらの腫瘍における *NRG1* 融合の発生率は 0.1% ~ 0.5% です。⁹ 肺腺癌と同様に、膵臓腺癌における *NRG1* 融合は *KRAS* 変異と相互に排他的であるため、*KRAS* 野生型腫瘍において非常に濃厚です。¹⁴

表 16-1 に *NRG1* 腫瘍の検査戦略の概要を示します。

臨床的意義

NSCLC における *NRG1* 融合体の存在は、標準治療に対する予後不良と関連しています。100 症例以上の *NRG1* 融合遺伝子陽性 NSCLC を対象とした eNRGy1 Global Multicenter Registry では、プラチナ製剤二剤併用化学療法に対する奏効率はわずか 13% で、PFS 中央値は 5.8 カ月でした。¹² 化学免疫療法による PFS 中央値はさらに短く、わずか 3.3 カ月でした。しかし、*NRG1* 融合タンパク質によって引き起こされる HER2/HER3 経路を標的とする新たな治療選択肢があります。汎 ErbB キナーゼ阻害剤であるアフチニブは、後ろ向き eNRGy1 レジストリで 25% の奏効率 (RR) を示し、明らかな有効性を示しています。¹² 複数の症例報告やシリーズでも、*NRG1* 融合遺伝子陽性の腫瘍でアフチニブが奏効したことが示されており¹⁵⁻¹⁷、現在前向き研究が進行中です。HER2-HER3 二重特異性抗体ゼノクツズマブは、*NRG1* 融合陽性腫瘍で早期から有効性を示し、NSCLC と膵臓癌の両方で奏効を示しました。¹⁸ 現在進行中の第 2 相 eNRGy1

治験では、初回 RR が 34% (n = 79)、奏効期間中央値が 9.1 カ月であったと報告されています。¹⁸ HER3 モノクローナル抗体であるセリバンツマブは、NRG1 融合陽性の腫瘍を対象に試験中であり、RR が 33% (n = 12) であったと報告されています。¹⁹ ゼノクツズマブとセリバンツマブはいずれも、FDA よりファストトラック指定を受けています。

耐性機序

これまでの治験薬に対する獲得耐性あるいは本態性の耐性についてはほとんどわかっておらず、現在も積極的に研究されている分野です。

参考文献

1. Falls DL. Neuregulins: functions, forms, and signaling strategies. *Exp Cell Res*. 2003;284(1):14-30.
2. Meyer D Yamaai T, Garratt A, et al. Isoform-specific expression and function of neuregulin. *Development*. 1997;124(18):3575-3586.
3. Steinhorsdottir V, Stefansson H, Ghosh S, et al. Multiple novel transcription initiation sites for NRG1. *Gene*. 2004;342(1):97-105.
4. Tan W, Wang Y, Gold B, et al. Molecular cloning of a brain-specific, developmentally regulated neuregulin 1 (NRG1) isoform and identification of a functional promoter variant associated with schizophrenia. *J Biol Chem*. 2007;282(33):24343-24351.
5. Kim HG, Lee CK, Cho SM, et al. Neuregulin 1 up-regulates the expression of nicotinic acetylcholine receptors through the ErbB2/ErbB3-PI3K-MAPK signaling cascade in adult autonomic ganglion neurons. *J Neurochem*. 2013;124(4):502-513.
6. Tzahar E, Levkowitz G, Karunakaran D, et al. ErbB-3 and ErbB-4 function as the respective low and high affinity receptors of all Neu differentiation factor/heregulin isoforms. *J Biol Chem*. 1994;269(40):25226-25233.
7. Drilon A, Somwar R, Mangatt BP, et al. Response to ERBB3-directed targeted therapy in NRG1-rearranged cancers. *Cancer Discov*. 2018;8(6):686-695.
8. Fernandez-Cuesta L, Plenker D, Osada H, et al. CD74-NRG1 fusions in lung adenocarcinoma. *Cancer Discov*. 2014;4(4):415-422.
9. Jonna S, Feldman RA, Swensen J, et al. Detection of NRG1 gene fusions in solid tumors. *Clin Cancer Res*. 2019;25(16):4966-4972.
10. Duruisseaux M, McLeer-Florin A, Antoine M, et al. NRG1 fusion in a French cohort of invasive mucinous lung adenocarcinoma. *Cancer Med*. 2016;5(12):3579-3585.
11. Chang JC, Offin M, Falcon C, et al. Comprehensive molecular and clinicopathologic analysis of 200 pulmonary invasive mucinous adenocarcinomas identifies distinct characteristics of molecular subtypes. *Clin Cancer Res*. 2021;27(14):4066-4076.
12. Drilon A, Duruisseaux M, Han JY, et al. Clinicopathologic features and response to therapy of NRG1 fusion-driven lung cancers: the eNRGy1 Global Multicenter Registry. *J Clin Oncol*. 2021;39(25):2791-2802.
13. Nakaoku T, Tsuta K, Ichikawa H, et al. Druggable oncogene fusions in invasive mucinous lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2014;20(12):3087-3093.
14. Jones MR, Williamson LM, Topham JT, et al. NRG1 gene fusions are recurrent, clinically actionable gene rearrangements in KRAS wild-type pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2019;25(15):4674-4681.
15. Cadranel J, Liu SV, Duruisseaux M, et al. Therapeutic potential of afatinib in NRG1 fusion-driven solid tumors: a case series. *Oncologist*. 2021;26(1):7-16.
16. Cheema PK, Doherty M, Tsao MS. A case of invasive mucinous pulmonary adenocarcinoma with a CD74-NRG1 fusion protein targeted with afatinib. *J Thorac Oncol*. 2017;12(12):e200-e202.
17. Wu X, Zhang D, Shi M, et al. Successful targeting of the NRG1 fusion reveals durable response to afatinib in lung adenocarcinoma: a case report. *Ann Transl Med*. 2021;9(19):1507.
18. Schram AM, Goto K, Kim D-W, et al. Efficacy and safety of zenocutuzumab, a HER2 x HER3 bispecific antibody, across advanced NRG1 fusion (NRG1+) cancers. *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):105.
19. Carrizosa DR, Burkard ME, Elamin YY, et al. CRESTONE: initial efficacy and safety of seribantumab in solid tumors harboring NRG1 fusions. *J Clin Oncol*. 2022;40(16 suppl):3006.

新しい標的と技術

執筆者：Kurt A. Schalper、David M. Hwang

17

肺癌患者を治療するための新たな治療手段は、分子腫瘍特性を以下のような、さまざまな方法で活用した幅広い戦略から構成されています。

- 抗体薬物複合体（ADC）を用いて、腫瘍細胞と非腫瘍細胞におけるタンパク質の発現の差を利用し、細胞傷害性薬剤を直接的かつ局所的に濃縮する方法
- 低分子を用いて、癌細胞に存在する癌原性作用を有する変異タンパク質や重要な代謝過程に関与する変異タンパク質（たとえば、KRAS [非 G12C]、PIK3CA、STK11、KEAP1）を標的とする方法
- 共刺激性 T 細胞受容体または制御酵素を調節する免疫刺激療法の提供、良好な治療指標を有する改変型炎症性サイトカインの使用、腫瘍特異的新抗原を標的とするワクチン、または、改変型キメラ抗原受容体（CAR）T 細胞を用いた特異的表面タンパク質を発現する腫瘍細胞の選択的認識および排除

これらから、ADC は複数の腫瘍型（肺癌など）において顕著な臨床活性を示し、新たなバイオマーカー検査や診断アプローチの潜在的な必要性をもたらしています。加えて、高感度、単一細胞分解能、空間的背景の保持で多数の変化を同時に調べることを可能にする新しい分子解析プラットフォームは、患者選択とモニタリングのための新規バイオマーカーを発見・開発するツールの選択肢を広げています。

抗体薬物複合体

ADC は次の 3 つの基本要素で構成されています。(1) 腫瘍細胞では過剰発現しているが、正常細胞では発現が制限されているか、あるいは存在しない抗原を標的とするヒト化モノクローナル抗体、(2) 細胞傷害性薬剤ペイロード、(3) 細胞傷害性薬剤を抗体に結合する共有結合性リンカー¹⁻⁴ (図 17-1)。現在、肺癌を対象に臨床開発中の ADC の標的には、HER2、HER3、MET、TROP2、

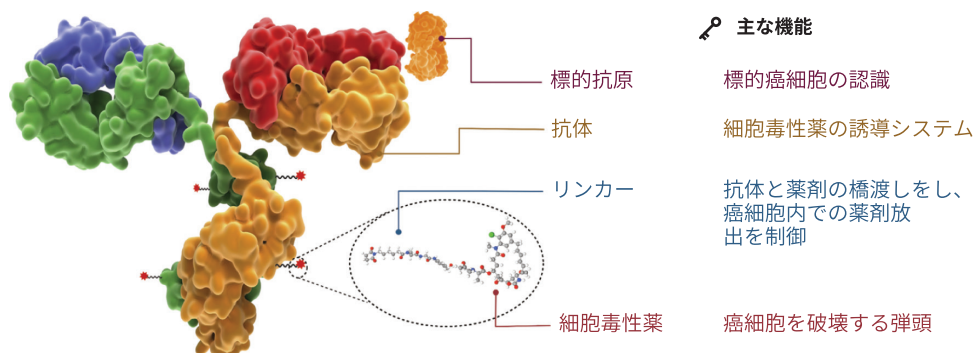


図 17-1. ADC の構造と特徴 (出典: Fu 氏他³⁾)

CEACAM5、DLL3、メソセリン、EGFR、PTK7 など、腫瘍細胞に発現する多くのタンパク質が含まれています。ADC の細胞傷害性ペイロード成分は、作用機序に基づき、微小管阻害剤 (エムタンシンのペイロードである DM1 など)、トポイソメラーゼ阻害剤 (デアルクステカンのペイロードである DXd など)、DNA 切断剤 (カリケアマイシン、オゾガマイシンなど) の 3 つのカテゴリーに大別されます。^{2, 4} NSCLC および SCLC に対する治療法として、多くの ADC が活発に研究されています⁴ (図 17-2)。以下に例を示します。

- ヒト上皮成長因子受容体 2 (HER2 または ERBB2) 標的 ADC : アド-トラスツズマブエムタンシンおよびトラスツズマブデルクステカンは、HER2 タンパク質の過剰発現⁵⁻⁷ および / または *HER2* 変異^{5, 8, 9} 腫瘍で研究されており、HER2 タンパク質の過剰発現の有無にかかわらず、*HER2* 変異腫瘍でより高い活性が証明されています。^{8, 9} 2022 年 8 月、FDA は、FDA が承認した検査で検出された活性化 *HER2* (*ERBB2*) 変異を有する切除不能または転移性 NSCLC に対して前治療として全身療法を受けた成人患者に対して、トラスツズマブデルクステカンを早期承認しました。¹⁰ この適応で FDA が承認したコンパニオン診断薬は、組織ベースの検査では Oncomine Dx Target Test (ThermoFisher Scientific 社)、血漿ベースの検査では Guardant360 CDx (Guardant Health 社) です。
- ヒト上皮成長因子受容体 3 (HER3 または ERBB3) 標的 ADC : HER3 は複数の癌種で異常発現を示す一方、主に EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) に対する耐性を獲得した *EGFR* 変異型肺癌において、ADC の標的として注目されています。¹¹ パトリツマブデルクステカンは HER3 標的 ADC であり、HER3 タンパク質の発現量の範囲にわたって、既知および未知の EGFR TKI 耐性機序を有する腫瘍で活性を実証しています。¹² 2021 年 12 月、パトリツマブデルクステカンは、第 3 世代 TKI およびプラチナ製剤による治療中または治療後に病勢進行した転移性または局所進行性の *EGFR* 変異 NSCLC 患者に対する治療薬として、FDA の画期的治療薬指定を受けました。¹³

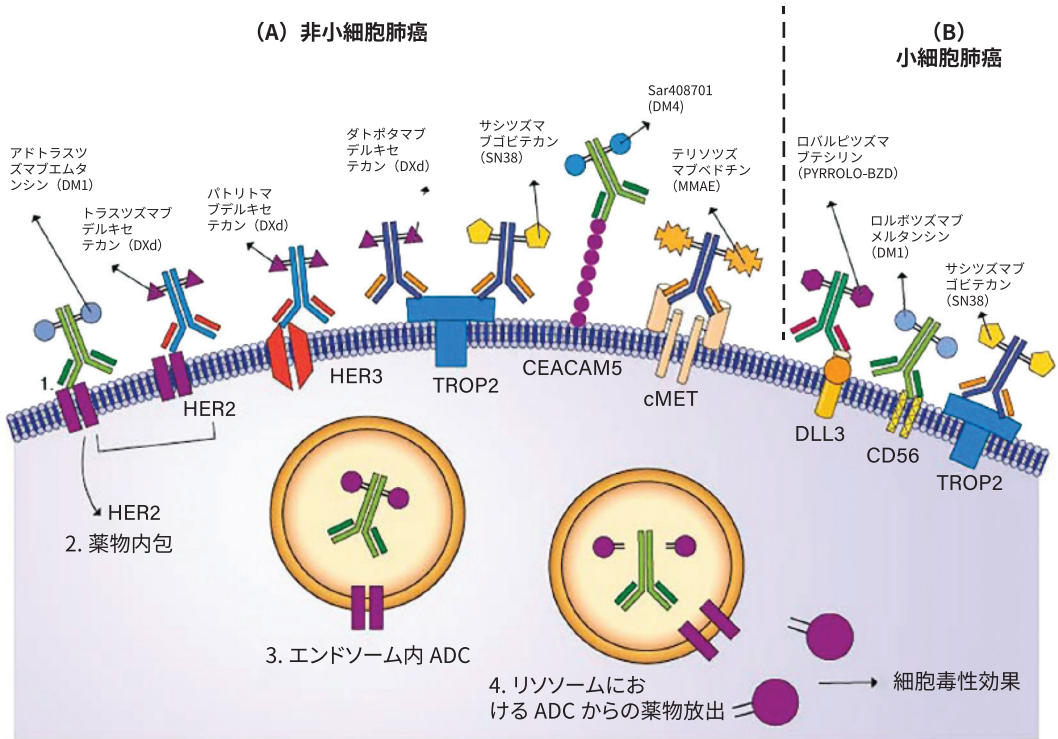


図 17-2. NSCLC と SCLC で研究されているさまざまな ADC のメカニズム (出典: Desai 氏他⁴ © 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.)

- 肝細胞増殖因子受容体 (MET) 標的 ADC : NSCLC におけるさまざまな MET 発癌性ドライバー変化は、本アトラスの他の箇所でも論じられています (第 13 章を参照)。テリソツズマブベドチン単独療法は、IHC¹⁴ により評価された MET 過剰発現腫瘍患者において有望な抗腫瘍活性を示し、MET 過剰発現を示す EGFR 変異 NSCLC を含む多くの状況で積極的な研究が行われています。¹⁵ 2022 年 1 月、テリソツズマブベドチンは、プラチナ製剤による治療中または治療後に病勢が進行した、MET 高発現の進行性 / 転移性 EGFR 野生型非扁平上皮 NSCLC 患者に対する治療薬として、FDA の画期的治療薬指定を受けました。¹⁶
- 絨毛細胞表面抗原 2 (TROP2) 標的 ADC : TROP2 は、肺癌を含む多くの腫瘍で過剰発現している膜貫通型糖タンパク質です。ダトポタマブデルクステカン は TROP2 標的 ADC であり、NSCLC (実用化可能なゲノム変化の有無にかかわらず^{17、18}) において研究中です。サシツズマブゴビテカンも TROP2 標的 ADC のひとつで、NSCLC を対象とした多くの臨床試験が実施されており⁴、また、バスケット試験において SCLC 患者での活性が確認されています。¹⁹
- 癌胎児性抗原関連の細胞接着分子 5 (CEACAM5 : carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 5、または CD66e) 標的 ADC : CEACAM5 は、一部の肺癌で発現が増加している糖タンパク質です。SAR408701 (ツサミタマブラブタンシン) は有望な抗腫瘍活性を示し、CEACAM5 陽性の非扁平上皮 NSCLC を対象とした第 3 相試験で評価中です。²⁰

- NOTCH リガンドデルタ様タンパク質 3 (DLL3 : ligand delta-like protein 3) 標的 ADC : DLL3 はほとんどの SCLC で高発現しています。ロバルピツズマブテシリンは、第 2 相臨床試験において、3 次治療で DLL3 発現 SCLC に対して緩やかな活性を示しましたが²¹、2 次治療ではトポテカンと比較して劣る全生存率を示しました。²² さまざまな SCLC 治療環境におけるロバルピツズマブテシリンおよび他の DLL3 標的 ADC の研究が進行中です。⁴

発癌性変異を標的とする新規薬剤

肺癌で一般的に認められる発癌性変異 (*KRAS* の非 G12C 変異体や *PIK3CA* 変異体など) を効果的に標的とするための複数の取り組みが進行中です (第 14 章を参照)。これらの治療戦略はさまざまな結果を示しており、低分子阻害剤を用いて変異タンパク質を直接標的とする方法や、MEK、AKT、mTOR、SOS1、SHP2 などの下流の活性化シグナルを調節する方法があります。²³⁻²⁵ *STK11* や *KEAP1* など、肺癌で頻繁に共変異を起こし、細胞内代謝の変化や予後の悪化に関連する遺伝子を標的とする研究が進行中です。^{23, 24, 26} 現在までのところ、これらの治療法は調査中であり、臨床使用に関する規制当局の承認は得ていません。

新しい免疫促進療法

固形癌患者を治療するために無数の新しい免疫療法戦略が提案されていますが、現在、LAG3、TIM3、TIGIT、NKG2A、CD73 など、1 つ以上の共刺激性 T 細胞 /NK 細胞受容体または免疫抑制酵素を標的とするモノクローナル抗体が NSCLC 患者で評価されています。²⁷⁻³² 現在、これらの治療法はさまざまな治療環境で試験中であり、臨床使用に関する規制当局の承認は得ていません。

診断の可能性を秘めた新しい分子解析技術

治療法および治療標的の増加とともに、そのような治療標的の発現 / 位置を調べたり、バイオマーカーとなる可能性のある新たなマーカーを同定したりするための新しい分子解析ツールが急速に開発されています。これらの開発には、(1) 多数のマーカーに同時に対応するためのアッセイの多重化能力の拡大、(2) 検出 / 定量限界を向上させるためのマーカー同定の感度の向上、(3) 空間的コンテキストおよび / または単一細胞分解能を維持した高次元分子解析ツールの実装、(4) 突然変異または遺伝子融合事象を予測するための人工知能を用いた腫瘍形態の調査などが含まれます。系統的に情報を抽出し、高次元データを統合するための計算手法の著しい進歩は、結果を解釈するために一般的に必要とされます。

腫瘍サンプルの定量的・空間的分子解析

形態学的背景を保持した固定組織切片における分子マーカーの *in situ* 解析に従来使用されてきたプラットフォームには、DNA 切片またはメッセンジャー RNA (mRNA : messenger RNA) 転写産物の発色性 IHC および *in situ* ハイブリダイゼー

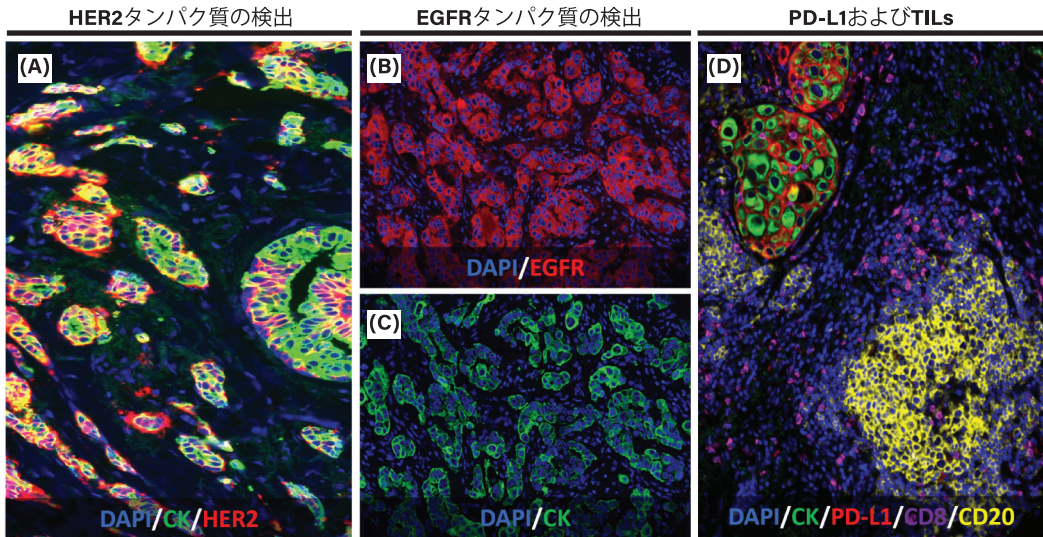


図 17-3. mIF を使用したヒト NSCLC における治療標的と TIL の局在解析。(A) サイトケラチン陽性腫瘍細胞 (CK、緑) における HER2 タンパク質 (赤) の発現と共局在。核は DAPI で染色。(B) 悪性肺腺癌細胞における EGFR タンパク質 (赤) の膜性 / 核周辺パターン染色。(C) サイトケラチン (緑) と DAPI (青) で染色したパネル B と同じ腫瘍と視野。(D) DAPI (青)、サイトケラチン (緑)、PD-L1 (赤)、CD8 (マゼンタ)、CD20+TIL (黄) を同時に染色した低分化肺癌。

ション (ISH または蛍光 ISH [FISH]) があります。デジタルパソロジーの利用拡大により、人工知能のような計算ツールの利用が増加し、組織のセグメンテーションステップを使用して、個々の細胞の列挙とユーザー定義の組織コンパートメントにおけるシグナル強度の測定と組み合わせ、IHC/ISH/FISH 染色を定量化できるようになりました。これらの解析の利点は、定量的な出力、客観的な性質、および半定量的な病理医ベースのシグナルスコアリングと比較して向上した再現性です。IHC 染色スライドからのシグナル評価の自動化は、HER2 や PD-L1 のような治療標的について検討されています。³³⁻³⁷ このようなプラットフォームの主な限界には、実装上の課題、一貫性のある迅速な組織 / 細胞セグメンテーションの達成、連続スコアの最適な報告や規制の枠組みに関する不確実性の存在などがあります。

mIF は、トランスレーショナルリサーチやバイオマーカー同定にますます使用されるようになってきています。この方法は IHC と概念的に似ており、蛍光色素と結合した抗体を用いて組織スライド中のタンパク質や核酸を検出します。しかし、IHC とは異なり、mIF は発光シグナルを生成する方法であるため、感度とダイナミックレンジが向上します。^{38, 39} さらに、mIF シグナルは一般的に特定の蛍光フィルターを搭載したマルチスペクトル顕微鏡を用いて評価されるため、シグナルチャンネルを客観的に分離し、同じアッセイ / パネルに含まれる複数のマーカーを独立して測定することが可能です。

複数の研究が、HER2、PD-L1、EGFR などの治療標的の発現を、追加マーカーの同時共染色によって定義された特定の細胞集団または腫瘍組織コンパートメント内で解析しています⁴⁰⁻⁴² (図 17-3)。TIL など、バイオマーカーとなりうる特定の細胞集団の同定も可能です。^{43, 44} mIF の体系的な臨床使用のための現在

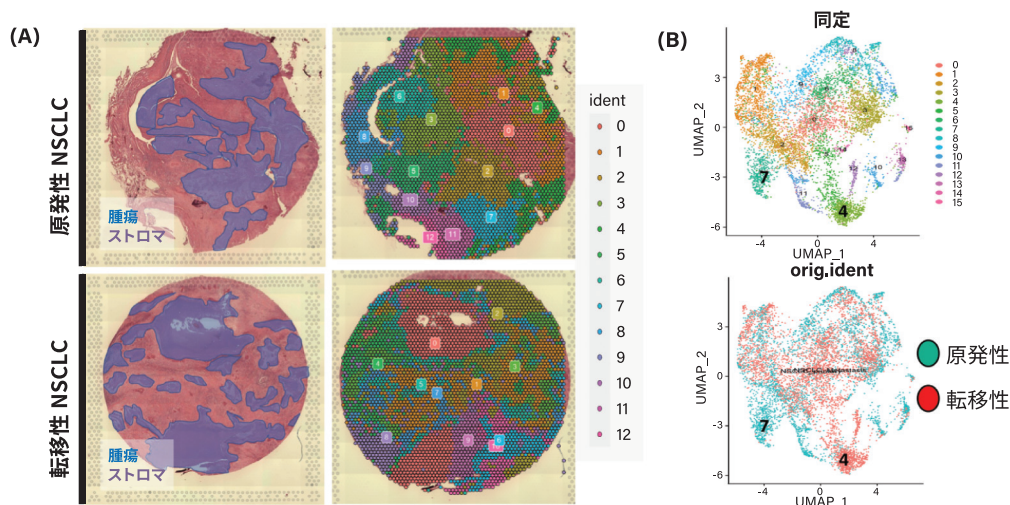


図 17-5. 一対の原発性および転移性 NSCLC の空間トランスクリプトーム解析。(A) ヘマトキシリン・エオジン染色 (左) を用いて形態学的背景を調べ、Visium プラットフォーム (右) を用いて全トランスクリプトーム解析を行った固定肺癌切片。(B) 目的変数なし解析により、個々の多次元空間トランスクリプトームクラスターが同定され、その一部は原発巣 (緑) と転移巣 (赤) で異なって発現。各空間クラスターにおいて、細胞タイプの同一性と生物学的意義を示す特定の mRNA 転写産物およびパスウェイが同定されました。

の課題には、臨床的なシングルプレックス IHC 検査にとどまらない明確なバイオマーカー価値を持つアッセイの同定、臨床検査室における堅牢な自動染色プロトコルの導入、シグナルスコアリングと報告における標準化、さらに臨床使用をサポートする規制の枠組みの利用可能性などがあります。

組織試料の空間的分子イメージングにおけるさらなる発展には、抗体または RNA プローブの金属標識と高エネルギー組織切除⁴⁵⁻⁴⁷ (図 17-4) を用いて多数のタンパク質および / または mRNA 転写物を同時に測定するハイプレックス法の使用、マイクロ流体工学を使用する、または使用しない周期的染色プロトコル⁴⁸⁻⁵⁰、アッセイの多重化能力を高め、染色中の分子干渉を最小化するための分子バーコーディングアプローチの使用などがあります。⁵¹⁻⁵⁷ これらのプラットフォームでは、数十から数百のタンパク質と最大数千の mRNA 転写産物に及ぶ多数のマーカーを同時に検出することができます (図 17-5)。これらのプラットフォームのほとんどは、現在は研究環境で使用されていますが、今後、臨床に近い環境にも徐々に導入されることが予想されます。タンパク質と核酸を空間的な分解能で同時に検出できるこれらのプラットフォームは、腫瘍細胞における治療標的や実用的な分子変化をマッピングし、さらに細胞集団や腫瘍微小環境の特徴を測定する新たな可能性を開きます。このような高次元プラットフォームを導入する上での課題としては、コストが高いこと、スループットが限られていること、検証や標準化が困難であること、複雑なデータ解析には専門的な人材やリソースが必要であることが一般的であることなどが挙げられます。

結論

新たな治療標的やそれを標的とする新たなアプローチは常に出現しています。NGS や IHC といった既存の技術で十分な場合もありますが、新たなマルチプレックスアプローチによって、薬剤の選択に役立つ新たなデータが得られる可能性もあります。データ解析のための洗練されたツールとともに、ますます複雑化する技術は、これまで定義することが不可能であったバイオマーカーを提供するかもしれませんが、タイムリーで費用対効果の高い臨床提供という現実的な意味を常に念頭に置く必要があります。

参考文献

- Pettinato MC. Introduction to antibody-drug conjugates. *Antibodies (Basel)*. 2021;10(4):42.
- Tong JTW, Harris PWR, Brimble MA, Kaviani I. An insight into FDA approved antibody-drug conjugates for cancer therapy. *Molecules*. 2021;26:5847.
- Fu Z, Li S, Han S, Shi C, Zhang Y. Antibody drug conjugate: the “biological missile” for targeted cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7:93.
- Desai A, Abdayem P, Adjei AA, Planchard D. Antibody-drug conjugates: a promising novel therapeutic approach in lung cancer. *Lung Cancer*. 2022;163:96-106.
- Hotta K, Aoe K, Kozuki T, et al. A phase II study of trastuzumab emtansine in HER2-positive non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2018;13: 273-279.
- Peters S, Stahel R, Bubendorf L, et al. Trastuzumab emtansine (T-DM1) in patients with previously treated HER2-overexpressing metastatic non-small cell lung cancer: efficacy, safety, and biomarkers. *Clin Cancer Res*. 2019;25:64-72.
- Nakagawa K, Nagasaka M, Felip E, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-overexpressing metastatic non-small cell lung cancer: interim results of DESTINY-Lung01. *J Thorac Oncol*. 2021;16(3S):S109-110.
- Li BT, Shen R, Buonocore D, et al. Ado-trastuzumab emtansine for patients with HER2-mutant lung cancers: results from a phase II basket trial. *J Clin Oncol*. 2018;36:2532-2537.
- Li BT, Smit EF, Goto Y, et al; DESTINY-Lung01 Trial Investigators. Trastuzumab deruxtecan in HER2-mutant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2022;386:241-251.
- FDA grants accelerated approval to fam-trastuzumab deruxtecan-nxki for HER2-mutant non-small cell lung cancer. US Food and Drug Administration; August 16, 2022. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-fam-trastuzumab-deruxtecan-nxki-her2-mutant-non-small-cell-lung>.
- Mishra R, Patel H, Alanazi S, Yuan L, Garrett JT. HER3 signaling and targeted therapy in cancer. *Oncol Rev*. 2018;12:355.
- Jänne PA, Baik C, Su WC, et al. Efficacy and safety of patritumab deruxtecan (HER3-DXd) in EGFR inhibitor-resistant, EGFR-mutated non-small cell lung cancer. *Cancer Discov*. 2022;12:74-89.
- Tucker N. Patritumab deruxtecan granted FDA breakthrough therapy designation for metastatic or locally advanced EGFR+ NSCLC. Targeted Oncology; December 28, 2021. <https://www.targetedonc.com/view/patritumab-deruxtecan-granted-fda-breakthrough-therapy-designation-for-metastatic-or-locally-advanced-egfr-nsclc>.
- Strickler JH, Weekes CD, Nemunaitis J, et al. First-in-human phase I, dose-escalation and -expansion study of telisotuzumab vedotin, an antibody-drug conjugate targeting c-Met, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol*. 2018;36:3298-3306.
- Camidge DR, Barlesi F, Goldman JW, et al. Phase Ib study of telisotuzumab vedotin in combination with erlotinib in patients with c-Met protein-expressing non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2022;JCO2200739. doi:10.1200/JCO.22.00739.

16. Tucker N. FDA grants breakthrough therapy designation to telisotuzumab vedotin for advanced EGFR wild type nsqNSCLC. Targeted Oncology; January 5, 2022. <https://www.targetedonc.com/view/fda-grants-breakthrough-therapy-designation-to-telisotuzumab-vedotin-for-advanced-egfr-wild-type-nsqnsclc>.
17. Study of DS-1062a in advanced or metastatic non-small cell lung cancer with actionable genomic alterations (TROPION-Lung05). ClinicalTrials.gov identifier: NCT04484142. Updated December 1, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04484142>.
18. Study of DS-1062a versus docetaxel in previously treated advanced or metastatic non-small cell lung cancer with or without actionable genomic alterations (TROPION-LUNG01). ClinicalTrials.gov identifier NCT04656652. Updated November 14, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04656652>.
19. Bardia A, Messersmith WA, Kio EA, et al. Sacituzumab govitecan, a Trop-2-directed antibody-drug conjugate, for patients with epithelial cancer: final safety and efficacy results from the phase I/II IMMU-132-01 basket trial. *Ann Oncol.* 2021;32:746-756.
20. SAR408701 versus docetaxel in previously treated, carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 5 (CEACAM5) positive metastatic non-squamous non-small cell lung cancer patients (CARMEN-LC03). ClinicalTrials.gov identifier: NCT04154956. Updated December 13, 2022. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04154956>.
21. Morgensztern D, Besse B, Greillier L, et al. Efficacy and safety of rovalpituzumab tesirine in third-line and beyond patients with DLL3-expressing, relapsed/refractory small-cell lung cancer: results from the phase II TRINITY study. *Clin Cancer Res.* 2019;25:6958-6966.
22. Blackhall F, Jao K, Greillier L, et al. Efficacy and safety of rovalpituzumab tesirine compared with topotecan as second-line therapy in DLL3-high SCLC: results from the phase 3 TAHOE study. *J Thorac Oncol.* 2021;16:1547-1558.
23. Jacobs F, Cani M, Malapelle U, et al. Targeting KRAS in NSCLC: old failures and new options for “non-G12c” patients. *Cancers (Basel).* 2021;13:6332.
24. Cucurull M, Notario L, Sanchez-Cespedes M, et al. Targeting KRAS in lung cancer beyond KRAS G12C inhibitors: the immune regulatory role of KRAS and novel therapeutic strategies. *Front Oncol.* 2022;11:793121.
25. Tan AC. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Thorac Cancer.* 2020;11(3):511-518.
26. Reck M, Carbone DP, Garassino M, Barlesi F. Targeting KRAS in non-small-cell lung cancer: recent progress and new approaches. *Ann Oncol.* 2021;32:1101-1110.
27. Mamdani H, Matosevic S, Khalid AB, Durm G, Jalal SI. Immunotherapy in lung cancer: current landscape and future directions. *Front Immunol.* 2022;13:823618.
28. Huo JL, Wang YT, Fu WJ, Lu N, Liu ZS. The promising immune checkpoint LAG-3 in cancer immunotherapy: from basic research to clinical application. *Front Immunol.* 2022;13:956090.
29. Acharya N, Sabatos-Peyton C, Anderson AC. Tim-3 finds its place in the cancer immunotherapy landscape. *J Immunother Cancer.* 2020;8:e000911.
30. Chauvin JM, Zarour HM. TIGIT in cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer.* 2020;8:e000957.
31. van Hall T, André P, Horowitz A, et al. Monalizumab: inhibiting the novel immune checkpoint NKG2A. *J Immunother Cancer.* 2019;7:263.
32. Herbst RS, Majem M, Barlesi F, et al. COAST: an open-label, phase II, multidrug platform study of durvalumab alone or in combination with oleclumab or monalizumab in patients with unresectable, stage III non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2022;40:3383-3393.
33. Lara H, Li Z, Abels E, et al. Quantitative image analysis for tissue biomarker use: a white paper from the Digital Pathology Association. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2021;29:479-493.
34. Han Z, Lan J, Wang T, et al. A deep learning quantification algorithm for HER2 scoring of gastric cancer. *Front Neurosci.* 2022;16:877229.
35. Bankhead P, Fernández JA, McArt DG, et al. Integrated tumor identification and automated scoring minimizes pathologist involvement and provides new insights to key biomarkers in breast cancer. *Lab Invest.* 2018;98:15-26.
36. Cheng G, Zhang F, Xing Y, et al. Artificial intelligence-assisted score analysis for predicting the expression of the immunotherapy biomarker PD-L1 in lung cancer. *Front Immunol.* 2022;13:893198.

37. Widmaier M, Wiestler T, Walker J, et al. Comparison of continuous measures across diagnostic PD-L1 assays in non-small cell lung cancer using automated image analysis. *Mod Pathol.* 2020;33:380-390.
38. Rimm DL. What brown cannot do for you. *Nat Biotechnol.* 2006;24:914-916.
39. Carvajal-Hausdorf DE, Schalper KA, Neumeister VM, Rimm DL. Quantitative measurement of cancer tissue biomarkers in the lab and in the clinic. *Lab Invest.* 2015;95:385-396.
40. Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Lab Invest.* 2014;94:107-116.
41. McLaughlin J, Han G, Schalper KA, et al. Quantitative assessment of the heterogeneity of PD-L1 expression in non-small-cell lung cancer. *JAMA Oncol.* 2016;2:46-54.
42. Dimou A, Agarwal S, Anagnostou V, et al. Standardization of epidermal growth factor receptor (EGFR) measurement by quantitative immunofluorescence and impact on antibody-based mutation detection in non-small cell lung cancer. *Am J Pathol.* 2011;179:580-589.
43. Schalper KA, Brown J, Carvajal-Hausdorf D, et al. Objective measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2015;107:dju435.
44. Lopez de Rodas M, Nagineni V, Ravi A, Datar JJ, et al. Role of tumor infiltrating lymphocytes and spatial immune heterogeneity in sensitivity to PD-1 axis blockers in non-small cell lung cancer. *J Immunother Cancer.* 2022;10:e004440.
45. Giesen C, Wang HA, Schapiro D, et al. Highly multiplexed imaging of tumor tissues with subcellular resolution by mass cytometry. *Nat Methods.* 2014;11:417-422.
46. Angelo M, Bendall SC, Finck R, et al. Multiplexed ion beam imaging of human breast tumors. *Nat Med.* 2014;20:436-442.
47. Schulz D, Zanotelli VRT, Fischer JR, et al. Simultaneous multiplexed imaging of mRNA and proteins with subcellular resolution in breast cancer tissue samples by mass cytometry. *Cell Syst.* 2018;6:531.
48. Gerdes MJ, Sevinsky CJ, Sood A, et al. Highly multiplexed single-cell analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded cancer tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110:11982-11987.
49. Lin JR, Izar B, Wang S, et al. Highly multiplexed immunofluorescence imaging of human tissues and tumors using t-CyCIF and conventional optical microscopes. *Elife.* 2018;7:e31657.
50. Migliozi D, Pelz B, Dupouy DG, et al. Microfluidics-assisted multiplexed biomarker detection for in situ mapping of immune cells in tumor sections. *Microsyst Nanoeng.* 2019;5:59.
51. Vasaturo A, Galon J. Multiplexed immunohistochemistry for immune cell phenotyping, quantification and spatial distribution in situ. *Methods Enzymol.* 2020;635:51-66.
52. Van TM, Blank CU. A user's perspective on GeoMx™ digital spatial profiling. *Immuno-oncol Technol.* 2019;1:11-18.
53. Gupta S, Zugazagoitia J, Martinez-Morilla S, Fuhrman K, Rimm DL. Digital quantitative assessment of PD-L1 using digital spatial profiling. *Lab Invest.* 2020;100:1311-1317.
54. Ståhl PL, Salmén F, Vickovic S, et al. Visualization and analysis of gene expression in tissue sections by spatial transcriptomics. *Science.* 2016;353:78-82.
55. Rodriques SG, Stickels RR, Goeva A, et al. Slide-seq: a scalable technology for measuring genome-wide expression at high spatial resolution. *Science.* 2019;363:1463-1467.
56. Liu Y, Yang M, Deng Y, et al. High-spatial-resolution multi-omics sequencing via deterministic barcoding in tissue. *Cell.* 2020;183:1665-1681.e18.
57. Taube JM, Akturk G, Angelo M, et al; Society for Immunotherapy of Cancer (SITC) Pathology Task Force. The Society for Immunotherapy of Cancer statement on best practices for multiplex immunohistochemistry (IHC) and immunofluorescence (IF) staining and validation. *J Immunother Cancer.* 2020;8:e000155.

分子検査結果と集学的分子腫瘍委員会の役割

18

執筆者：Paul Hofman、Chien-Feng Li、Andrew G. Nicholson、Shani Shilo

胸部腫瘍学における分子検査は急速に複雑さを増しており、適切な診断や治療法の推奨に結びつけるためには、体系化されたアプローチが必要です。

分子検査結果の報告

分子報告書には、検査した遺伝子名、特定の遺伝子座、エクソン、またはホットスポット、転座を生じて融合遺伝子を生成している遺伝子について分析されたイントロン配列、および関連する場合、腫瘍の突然変異負荷を評価するためにカバーされたゲノム領域、およびマイクロサテライトの不安定性を評価するために検査されたマイクロサテライトの種類を記載する必要があります。¹ 結果の解釈は常に提供されなければなりません。潜在的な臨床的有用性に基づいて分子変異を分類するための3つの尺度は、分子標的を臨床的実行可能性のレベルにランク付けします。

1. Association for Molecular Pathology (AMP：分子病理学会、American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG：米国臨床遺伝・ゲノム学会)、American Society of Clinical Oncology (米国臨床腫瘍学会)、College of American Pathologists (米国臨床病理医協会) による、癌における遺伝子変異の報告に関する共同コンセンサス勧告
2. 分子標的の臨床的有用性に関する European Society for Medical Oncology (欧州臨床腫瘍学会) スケール
3. 4段階の作用可能性と3段階の抵抗性を区別する OncoKB¹⁻³

このデータ規模の拡大は、異なる医療機関、研究機関が共通の基準に基づいて治療方針を明確かつ正確に決定できるようになります。⁴ すべての分子所見は、良性変異や中性変異と病理性変異（診断の一致または不確実）を区別するため、最新の研究成果に

基づいて分類する必要があります。この目的のために、ClinVar、My Cancer Genome、Cosmic、OncoKB など、さまざまなオンラインデータベースを使用できます。^{2, 5-7} 特に、OncoKB は US Food and Drug Administration (米国食品医薬品局) に承認された最初の体細胞変異アーカイブです。⁸ 特に、大規模なパネル検査では、検査の主要目的とは関係のない、医学的意義のある特定のゲノムの変化 (二次所見) が同定されることがあります。ACMG は、表現型、浸透度、および作用性に基づき、臨床ゲノム配列決定において報告すべき二次的遺伝学的所見 (SF) のリストを推奨しています⁹⁻¹² 更新された ACMG SF v3.1 リストに基づき、癌の表現型、心血管の表現型、先天性代謝異常の表現型、および雑多な表現型 (遺伝性 TTR アミロイドーシスなど) に関連する特定の遺伝子を報告する必要があります。¹² したがって、二次所見が確認された被験者は、疾患リスク増加に対する詳細な評価と管理のため、専門家等に紹介するべきです。¹³

集学的分子腫瘍委員会と腫瘍バイオマーカー結果の解釈

集学的分子腫瘍委員会は、集学的チーム (MDT) としても知られ、腫瘍学でさらに効果的な診療の実施に向けて、エビデンスに基づいた組織的アプローチで患者評価会議を実施します。これらの異なる腫瘍委員会には、さまざまな専門家が参加しています。通常、臨床腫瘍医、病理医、胸部外科医、放射線科医、放射線腫瘍医、呼吸器科医、看護師などが胸部腫瘍学の MDT に参加します。同じメンバーが、遺伝子病理医、分子科学者、情報科学の生物学者、腫瘍学の薬剤師などの他の専門家とともに、分子腫瘍委員会 (MTB) にも参加すべきです。最後に、薬剤は臨床試験を通じて入手できるため、研究 / 臨床試験コーディネーターが MTB に参加することもあります。このように、これらの委員会は、さまざまな専門家間で討論、議論、全体的なコミュニケーションを促進する強力なツールであり、精密胸部腫瘍学の発展に向けた大きな促進剤となっています。

MTB は通常、早期肺癌患者や進行肺癌患者の標準治療 (SOC) を決定する会議であるため、¹⁴MTB は一人の判断における脆弱性を減らし、チームと強力なシステムを促進することで、胸部腫瘍学の医療の質を促進する貴重なツールと考えられています。さらに、MTB のメンバーは、患者の遺伝子解析に基づくすべての治療戦略の可能性を特定し、議論します。¹⁵⁻¹⁸ したがって、進行性肺癌患者を臨床試験に参加させる必要がある場合は、MTB に相談できます。^{16, 19}MTB は、肺癌における特定の分子変化だけでなく、患者に関するすべての特徴 (パフォーマンスステータスや併存疾患) を含め、常に集学的な議論に基づいた推奨を提供します。

MTB のメンバーは、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) 検査、アレイ比較ゲノムハイブリダイゼーション、あるいは全ゲノムシーケンシングを含むその他の関連分子検査とともに、次世代シーケンシング (NGS) の結果について話し合います。MTB は通常、困難な症例の患者を扱っており、推奨事項は明確に文書化されるべきで、以下のようなパラメータが含まれることがあります。

- 融合遺伝子などのドライバー変異 / コピー数 / 構造変異
- 治療可能な分子変異

- マイクロサテライトの不安定性
- 腫瘍変異負荷
- 薬剤耐性を示す変異
- 組織切片における蛋白質の発現、特に PD-L1
- MTB の結論と推奨事項
- 想定される臨床試験

検出された変異体の病原性に基づいて治療を検討する必要があります。検出された変異型の病原性に応じて治療法を検討する必要があります。²⁰ 肺癌の場合、その変異体が悪性転化に関与することが知られている場合、その変異体は病原性を有しています。この文脈において、病原性は、5段階のスキーム（病原性、病原性の可能性が高い、臨床的意義が不明または不確実な変異体 [VUS]、良性の可能性が高い、良性）を提案した2015年のACMG/AMPガイドラインの適応版を使用して分類されます。²¹ ただし、病原性の解釈をどのように行うべきかについては、これまで国際間での真のコンセンサスは得られていません。さらに、さまざまな病原性胚細胞変異体を探して報告することが重要です。その中には治療に関連するものもあるからです。²²

プラットフォームによっては、精密腫瘍学主導の癌治療のための知識ベースや共同作業環境を含む、革新的なクラウドベースの仮想MTB技術を使用することができます。²³ また、MTBは、教育機関や大学病院における重要な教育ツールとして利用される可能性もあり、困難な症例の提示によって診察が開始されることもあります。²⁴

集学的分子腫瘍委員会と肺癌患者のケアの質と転帰

MTBは、極めて稀な分子変異や複雑な分子変異を有する患者、臨床で分子標的薬剤が承認されていない変異のある腫瘍を有する患者、使用できる分子標的薬剤に反応しない癌遺伝子中毒の新生物を有する患者、または治療アプローチが認められていないまれな胸部新生物を有する患者など、一部の患者にとって、診断時および腫瘍進行時の両方において極めて重要です。したがって、検査とMTBの両方の所要時間を管理してアウトプットを生成することが重要です。適切な所要時間は、有益な時間枠での標的治療の開始を保証するために必須です。国際的ガイドラインによれば、進行期非扁平上皮非小細胞肺癌の最適な初期治療に必須のバイオマーカー検査は、10営業日以内に完了する必要があります。²⁵

腫瘍が進行した場合、MTBで患者とさらに話し合うことが適切かもしれません。また、追加的な分子検査を実施することも関連性がある可能性があり、場合によってはより大規模な遺伝子パネルを使用することもあります。したがって、データを収集し、十分な情報を得た上で次の治療ステップを決定するために必要な時間と、治療の緊急性とのバランスが必要です。

さらに、胸部腫瘍学における最良プラクティスを促進するMTBの十分な活用は、学術センターの入院患者だけでなく、より広い腫瘍学コミュニティにも利益をもたらすべきです。したがって、バーチャルなグローバルMTBを創設することは、胸部腫瘍学に

において有益かもしれません。²⁶MTBに基づく治療を受ける患者は、単一の医師による選択しかない患者よりも、異なるゲノム変異によく適合しています。^{15, 27}そのため、無増悪生存率（PFS）と全生存率（OS）が大幅に長くなります。^{15, 27}

胸部腫瘍学における集学的分子腫瘍委員会の課題

MTBの議論に基づく肺癌患者治療の組織化が推奨されているにもかかわらず、いくつかの課題がまだ存在しています。すべての肺癌治療サービスがMTBを通じて運営されているわけではありません。これは、十分なリソースがないためかもしれませんし、状況によっては、管理に関する議論をオープンにすることに消極的な場合もあります。この議論にもっと適切なのは、MTBを運営することが可能かどうか、そしてMTBが機能する場合、胸部MDTとどのように相互作用するかということです。MDTに分子データの議論を統合している施設もあれば、別個の会議を組織している施設もあります。後者のシナリオでは、MTBは胸部腫瘍の専門家によるディスカッションであったり、肺癌を含むさまざまな腫瘍症例を検討する一般的なMTBであったりします。

分子検査とMDT/MTB症例評価の両方において、臨床的に重要な所要時間の問題は依然として重要です。多くの患者は、基礎疾患である肺癌の進行により、臨床症状が急速に悪化する危険性があるため、わずかな遅れでも大きな不利益を被る可能性があります。しかし、バイオマーカーによって決定される治療選択肢の数が増えており、また、毒性の増加によってこれらの選択肢の一部が互いに適合しないため、必要な情報がすべて利用可能になるまで待つのは困難です。病気が再発した症例では、生検の繰り返し、NGS解析の繰り返し、臨床試験の検討（通常、生検の繰り返しが必須）の遅れにより、状況はさらに困難になる可能性があります。臨床試験に関しては、複雑な受け入れ基準、長時間のスクリーニング手順、および中央検査室での分析が義務付けられていることも、遅れに拍車をかけている可能性があります。特に、多くの臨床試験、特に企業がスポンサーとなっている臨床試験では、バイオマーカー確認のために、認定された地元の検査室で行われた分析を受け入れるのではなく、中央検査室での検査を義務付けているためです。

広く承認された薬剤の使用、臨床試験または適応外治療へのアクセスのいずれかをサポートする可能性のある患者の分子データがあるにもかかわらず、医療システムによっては、他で入手可能な治療へのアクセスが比較的制限されている場合があります。適切な分子プロファイルを活用できる臨床試験へのアクセスは決して普遍的なものではありません。薬剤へのアクセスは、検査へのアクセスや適切な議論よりも、バイオマーカー主導型治療の提供にとって大きな障害となる可能性があります。MTBは、臨床プロファイルとゲノムプロファイルを統合し、利用可能な臨床試験を検索するのに役立つデジタルツールを開発し、使用する可能性があり、そのような開発は、将来、意思決定を改善するために人工知能を使用することができます。リソースが許す限り、リソースが許す限り、MTBには、I-PREDICT試験で成功したように、薬剤へのアクセスを容易にする人員を含めるべきです。²⁸

現在のところ、分子検査報告や MTB 業務報告に関する国際的なガイドラインがないため、国や機関によってかなりの差異が生じています。²⁹したがって、作用可能性、治療適応、さらには貴重な転帰データの記録という観点から、分子変化の表示と解釈をより適切に標準化するためには、かなりの努力が必要です。

最後に、MTB 勧告はガイドラインに基づく治療の範囲を超える可能性があるため、MTB の運用、推奨事項、その実施に関するレビュー、評価、監査が非常に重要です。症例のレビューと転帰のレジストリを開発することは、この取り組みに役立ち、MTB の教育的価値を強化し、希少な作用性変異を有する肺癌患者のコホートにおける反応パターンの評価に役立つはずでです。最終的に、MTB の推奨は、個々の患者と、研究を通じて今後の肺癌患者の治療、予後の改善につながります。

参考文献

1. Li MM, Datto M, Duncavage EJ, et al. Standards and guidelines for the interpretation and reporting of sequence variants in cancer: a joint consensus recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn.* 2017;19(1):4-23. doi:10.1016/j.jmoldx.2016.10.002.
2. Chakravarty D, Gao J, Phillips SM, et al. OncoKB: a precision oncology knowledge base. *JCO Precis Oncol.* 2017;2017:PO.17.00011. doi:10.1200/PO.17.00011.
3. Mosele F, Remon J, Mateo J, et al. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol.* 2020;31(11):1491-1505. doi:10.1016/j.annonc.2020.07.014.
4. Li X, Warner JL. A review of precision oncology knowledgebases for determining the clinical actionability of genetic variants. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:48. doi:10.3389/fcell.2020.00048.
5. Holt ME, Mittendorf KF, LeNoue-Newton M, et al. My cancer genome: coevolution of precision oncology and a molecular oncology knowledge base. *JCO Clin Cancer Inform.* 2021;5:995-1004. doi:10.1200/CCI.21.00084.
6. Landrum MJ, Chitipiralla S, Brown GR, et al. ClinVar: improvements to accessing data. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(D1):D835-D844. doi:10.1093/nar/gkz972.
7. Tate JG, Bamford S, Jubb HC, et al. COSMIC: the catalogue of somatic mutations in cancer. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(D1):D941-D947. doi:10.1093/nar/gky1015.
8. FDA recognizes Memorial Sloan-Kettering database of molecular tumor marker information. US Food and Drug Administration. November 10, 2021. www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-recognizes-memorial-sloan-kettering-database-molecular-tumor-marker-information.
9. Green RC, Berg JS, Grody WW, et al; American College of Medical Genetics and Genomics. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med.* 2013;15(7):565-574. doi:10.1038/gim.2013.73.
10. Kalia SS, Adelman K, Bale SJ, et al. 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.* 2017;19(2):249-255. doi:10.1038/gim.2016.
11. Miller DT, Lee K, Gordon AS, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2021 update: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2021;23(8):1391-1398. doi:10.1038/s41436-021-01171-4.
12. Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, et al. ACMG SF v3.1 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2022;24(7):1407-1414. doi:10.1016/j.gim.2022.04.006.

13. Katz AE, Nussbaum RL, Solomon BD, et al. Management of secondary genomic findings. *Am J Hum Genet.* 2020;107(1):3-14. doi:10.1016/j.ajhg.2020.05.002.
14. Tan AC, Tan DSW. Targeted therapies for lung cancer patients with oncogenic driver molecular alterations. *J Clin Oncol.* 2022;40(6):611-625. doi:10.1200/JCO.21.01626.
15. Larson KL, Huang B, Weiss HL, et al. Clinical outcomes of molecular tumor boards: a systematic review. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:PO.20.00495. doi:10.1200/PO.20.00495.
16. Rolfo C, Manca P, Salgado R, et al. Multidisciplinary molecular tumour board: a tool to improve clinical practice and selection accrual for clinical trials in patients with cancer. *ESMO Open.* 2018;3(5):e000398. doi:10.1136/esmoopen-2018-000398.
17. Trédan O, Wang Q, Pissaloux D, et al; ProfILER investigators. Molecular screening program to select molecular-based recommended therapies for metastatic cancer patients: analysis from the ProfILER trial. *Ann Oncol.* 2019;30(5):757-765. doi:10.1093/annonc/mdz080.
18. Tuxen IV, Rohrberg KS, Oestrup O, et al. Copenhagen Prospective Personalized Oncology (CoPPO)—clinical utility of using molecular profiling to select patients to phase I trials. *Clin Cancer Res.* 2019 Feb 15;25(4):1239-1247. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-1780.
19. Basse C, Morel C, Alt M, et al. Relevance of a molecular tumour board (MTB) for patients' enrollment in clinical trials: experience of the Institut Curie. *ESMO Open.* 2018;3(3):e000339. doi:10.1136/esmoopen-2018-000339.
20. Andrivon D. Nomenclature for pathogenicity and virulence: the need for precision. *Phytopathology.* 1993;83:889-839.
21. Richards S, Aziz N, Bale S, et al; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. 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.* 2015;17(5):405-424. doi:10.1038/gim.2015.30.
22. Cobain EF, Wu YM, Vats P, et al. Assessment of clinical benefit of integrative genomic profiling in advanced solid tumors. *JAMA Oncol.* 2021;7(4):525-533. doi:10.1001/jamaoncol.2020.7987.
23. Pishvaian MJ, Blais EM, Bender RJ, et al. A virtual molecular tumor board to improve efficiency and scalability of delivering precision oncology to physicians and their patients. *JAMIA Open.* 2019;2(4):505-515. doi:10.1093/jamiaopen/ooz045.
24. Harada S, Arend R, Dai Q, et al. Implementation and utilization of the molecular tumor board to guide precision medicine. *Oncotarget.* 2017;8(34):57845-57854. doi:10.18632/oncotarget.18471.
25. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(3):321-346. doi:10.5858/arpa.2017-0388-CP.
26. Jain NM, Schmalz L, Cann C, et al. Framework for implementing and tracking a molecular tumor board at a National Cancer Institute-designated comprehensive cancer center. *Oncologist.* 2021;26(11):e1962-e1970. doi:10.1002/onco.13936.
27. Kato S, Kim KH, Lim HJ, et al. Real-world data from a molecular tumor board demonstrates improved outcomes with a precision N-of-One strategy. *Nat Commun.* 2020;11(1):4965. doi:10.1038/s41467-020-18613-3.
28. Sicklick JK, Kato S, Okamura R, et al. Molecular profiling of cancer patients enables personalized combination therapy: the I-PREDICT study. *Nat Med.* 2019;25(5):744-750. doi:10.1038/s41591-019-0407-5.
29. Koopman B, Groen HJM, Ligtenberg MJL, et al. Multicenter comparison of molecular tumor boards in The Netherlands: definition, composition, methods, and targeted therapy recommendations. *Oncologist.* 2021;26(8):e1347-e1358. doi:10.1002/onco.13580.

分子バイオマーカー検査アルゴリズム

19

執筆者：Ming-Sound Tsao、Fernando Lopez-Rios、Erik Thunnissen、
Jhanelle E. Gray、Yasushi Yatabe、Teh-Ying Chou、
Justin F. Gainor、Ivy Elkins

肺癌患者に対する治療法として、バイオマーカーを用いた新しい治療法の承認が進むにつれ、肺癌の分子検査アルゴリズムは進化し続けています。本章では、主に腫瘍組織生検または切除標本を用いた検査アルゴリズムに焦点を当てます。液体生検を用いた検査アルゴリズムについては第4章で取り上げます。

予測タンパク質バイオマーカーの免疫組織化学ベースの検査も分子検査の一部として本章に含まれます。必要な目的を達成する可能性のあるアルゴリズムは数多くあります。本章では複数の可能性を示すとともに、地域ニーズに合わせた別バージョンの開発原則も示します。特定の遺伝子に関する検査問題の詳細については、関連する章を参照してください。

肺癌診断における分子検査アルゴリズム

治療指針となる予測バイオマーカー検査は、癌診断が確定してから実施されるべきであり、診断確定に用いるべきではありません。肺癌では、患者の60%から70%が進行期（IIIB-IV）で臨床診断されるため、ほとんどの分子検査が生検検体に対して実施されます。この過程では、限定的な検査であれ、広範な検査であれ、3つの原則があります。

1. スピード - 進行した肺癌患者は急速に悪化する可能性があるため、所要時間が最も重要です。
2. 正確さ - 癌の診断と正しい分子プロファイリングの両面で重要です。
3. 適切な検査 - 薬剤を利用できる標的をすべて網羅する詳細な遺伝子プロファイリング。

このような状況では、2011年に国際肺癌学会（IASLC）の集学的専門家によって導入された、「組織標本は診断のためだけでなく、分子研究に利用可能な組織量を最大化するためにも管理されるべきである」と推奨する病理学的ベストプラクティス（Pathology Best Practice）の考察を病理医が認識することが極めて重要です。¹ この原則はその後、世界保健機関（WHO）の肺癌および胸部癌に関する分類第4版および第5版にも採用されています。^{2,3} この原則に沿って、これまでのIASLCアトラスでは、腫瘍生検のホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）ブロックの最初の切片化のためのアルゴリズム（図19-1）が導入されてきました。^{4,5}

TTF1とp40を使用することで、非小細胞肺癌（NSCLC-NOS）症例の数を5%～10%未満に減らすことができるため（図19-2）、肺癌の病理学的分類に必要な診断マーカーの最小限のセットを実施することも推奨しています。⁶ これに伴い、肺癌の免疫組織化学診断に関するベストプラクティス勧告が発表されています。⁷

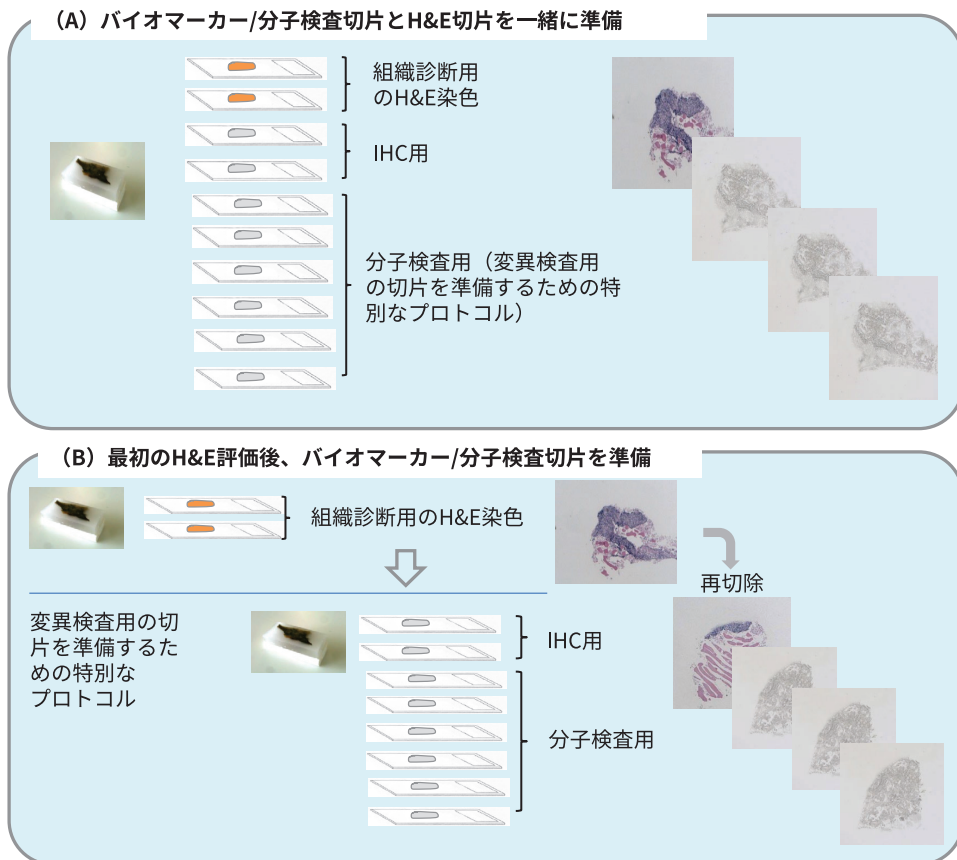


図 19-1. 診断と分子バイオマーカー検査のために組織を最大限に活用する戦略。準備する非染色切片の数は、組織検体の損失と所要時間を削減するための最適な組織使用のために機関/部門戦略によって決定されます。多くの検査室では、クロスコンタミネーションを防ぐため、DNA/RNA抽出用の切片を専用のマイクロームで切断します。略語：H&E = hematoxylin and eosin（ヘマトキシリンエオシン）、IHC = immunohistochemistry（免疫組織化学法）。（出典：Tsao 氏他⁸⁾

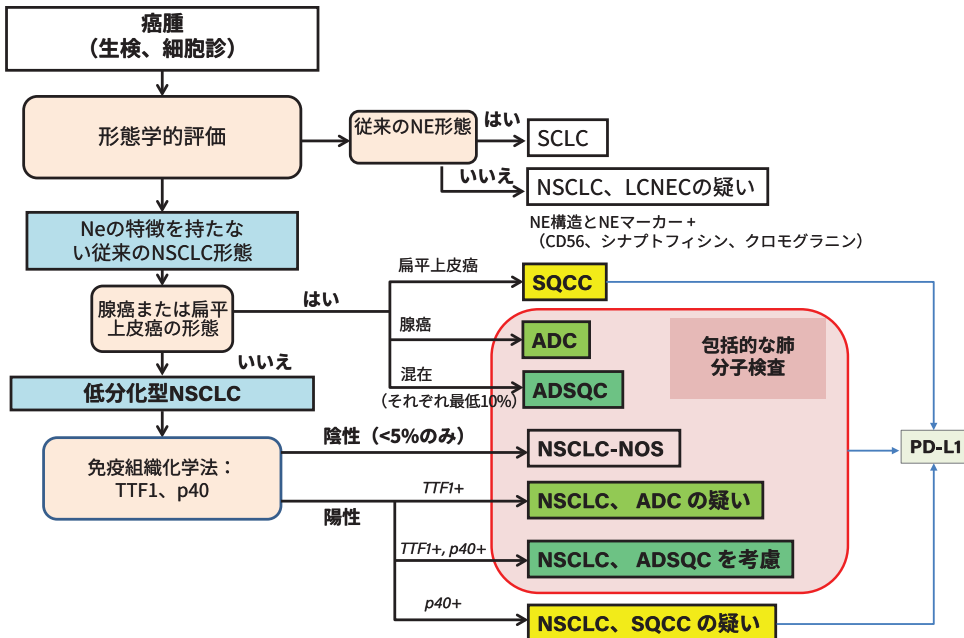


図 19-2. 肺癌における予測分子検査の指針となる診断アルゴリズム。非扁平上皮非小細胞肺癌はすべて、包括的分子検査を受ける必要があります。状況によっては、SQCC および LCNEC も分子検査を考慮すべきです（非喫煙者または非喫煙者の SQCC など）。略語：ADC = adenocarcinoma（腺癌）、ADSQC = adenosquamous carcinoma（腺扁平上皮癌）、LCNEC = large cell neuroendocrine carcinoma（大細胞神経内分泌癌）、NE = neuroendocrine（神経内分泌）、NOS = not otherwise specified（特記事項なし）、NSCLC = non-small cell lung carcinoma（非小細胞肺癌）、SCLC = small cell carcinoma（小細胞癌）、SQCC = squamous cell carcinoma（扁平上皮癌）。（Travis 氏他および WHO 腫瘍分類編集委員会^{2,3}より引用）

進行期非小細胞肺癌における分子検査

最も一般に採用されている検査アルゴリズムは、主に進行期 NSCLC 患者を対象とした現行の「National Comprehensive Cancer Network (NCCN：全米総合がん情報ネットワーク)」、「欧州臨床腫瘍学会 (ESMO)」、「米国臨床病理医協会 (CAP) / IASLC/ 分子病理学会 (AMP)」ガイドラインに基づいています（第 6 章も参照）。図 19-3 は検査ワークフローに関する 2 つの選択肢を図示したもので、オプション A は分子プロファイリングの主要技術としてより包括的な次世代シーケンサー (NGS) パネルアッセイを使用し、オプション B は単一分析項目のポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) ベースのアッセイと免疫組織化学 / 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (IHC/FISH) (ALK、ROS1、RET、NTRK) アッセイの組み合わせを使用します。オプション A の NGS パネルとオプション B の個々のマーカーアッセイの選択は、利用可能な資金調達メカニズム、組織の量、さまざまな検査のための技術 / 分析プラットフォームと専門知識、特定の変異（たとえば、EGFR 変異）の地域集団の有病率、承認されたマーカー選択治療法の数、および必要な納期を含む、複数の地域の考慮事項によってほぼ決定されます。一般に、検査が必要な分子マーカーの数が多い場合（たとえば、米国臨床腫瘍学会 [ASCO]、ESMO、NCCN が現在推奨しているような場合）、オプション A（最初に NGS を行う）は、単一分析項目の検査を組み合わせるよりも効率的で費用対効果に優れています。⁹⁻¹¹

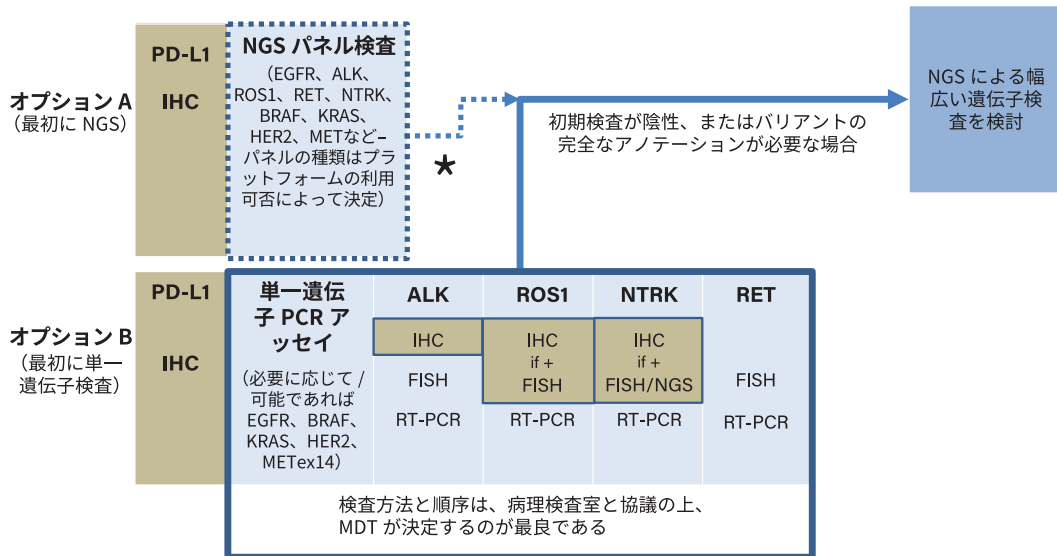


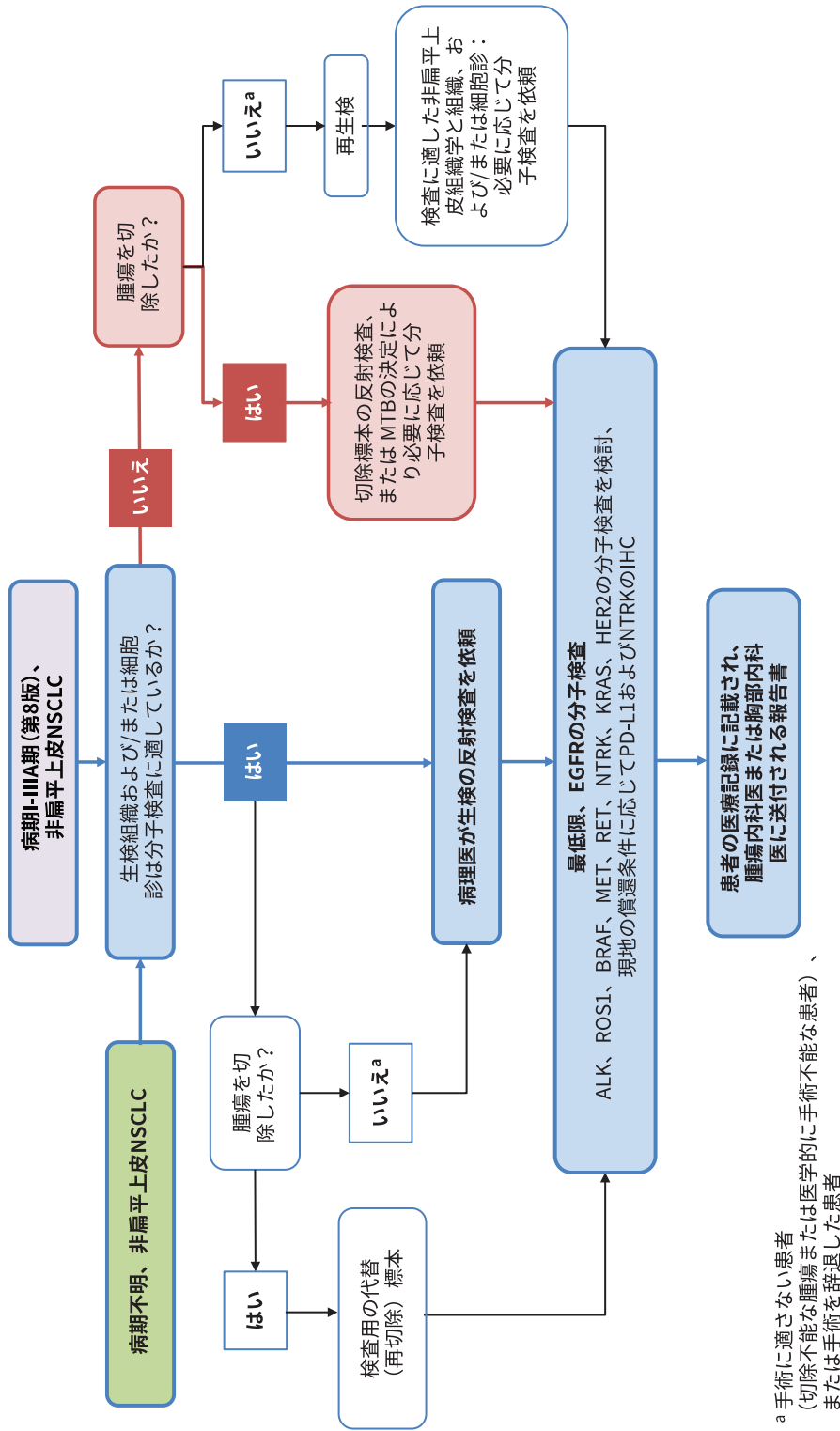
図 19-3. 進行 NSCLC 患者の検査ワークフロー。(オプション A) はじめに NGS と PD-L1 IHC を実施。初めての NGS パネルに含まれる具体的な遺伝子は、利用可能なプラットフォーム / パネルおよび DNA 対 RNA アプローチによって異なります。(第 5 章も参照)。(オプション B) 単一解析検査を開始。単一遺伝子検査の正確な遺伝子、検査選択、検査の順番は、現地リソース、変異を特定できる可能性 (現地の有病率、例: EGFR ([本文参照]), および MDT の選択に依存します。検体内の腫瘍細胞の含有量も最適なアプローチを決定する要因になります。ハイブリッドキャプチャー NGS の感度は、腫瘍含有率 20% までです。液滴デジタル PCR、リアルタイム PCR、一部増幅ベースの NGS など、高感度標的検査の感度は 5% 以下です。*) 第一 NGS パネルに、臨床試験など、治療可能な追加遺伝子 / 変異がない場合、可能であれば 2 つ目の大きな NGS パネルも考慮されます。略語: FISH = fluorescence in situ hybridization (蛍光 in situ ハイブリダイゼーション)、IHC = immunohistochemistry (免疫組織化学法)、MDT = multidisciplinary team (集学的チーム)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、PCR = polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)、RT-PCR = reverse transcription PCR (逆転写 PCR)。

病期不明の反射型および / または早期 NSCLC における分子検査

反射型予測バイオマーカー検査は、診断時にしばしばルーチンで実施されます (第 6 章も参照)。このような状況では、臨床病期に関する情報が不完全であったり、バイオマーカー検査を指示した病理医が知らなかったりする可能性があります。したがって、このアルゴリズムは病期診断的である場合もありますが、切除術を受ける可能性のある早期 (I-IIIa 期) の NSCLC 患者にも適用される可能性があります (図 19-4)。反射検査には、バイオマーカー検査の結果を治療方針の決定^{12, 13}に早期に利用できるようにする利点があり、早期癌の場合、ネオアジュバント免疫療法やアジュバント標的療法の候補となりうる患者を同定できます。それでもなお、周術期のシナリオにおける予測バイオマーカー検査の課題について、集学的チーム全体が認識しておく必要があります。¹⁴

特殊な状況および EGFR 変異有病率の高い国における分子検査

ガイドライン (たとえば、NCCN、ESMO、CAP/IASLC/AMP、ASCO など) は多くの場合、利用可能な最新の臨床的エビデンスに基づいて作成され、医療制度の充実した国に適していますが、NGS による包括的分子検査が実行不可能または



^a 手術に適さない患者 (切除不能な腫瘍または医学的に手術不能な患者)、または手術を辞退した患者

図 19-4. 初回生検で腫瘍の臨床病期が不明な場合、または臨床段階で切除可能早期 (I-IIIA 期) NSCLC を示す場合の検査アルゴリズム。略語: IHC = immunohistochemistry (免疫組織化学法)、MTB = multidisciplinary tumor board (集学的腫瘍委員会)、NSCLC = non-small cell lung carcinoma (非小細胞肺癌)。(出典: Aggarwal 氏他¹⁷⁾)

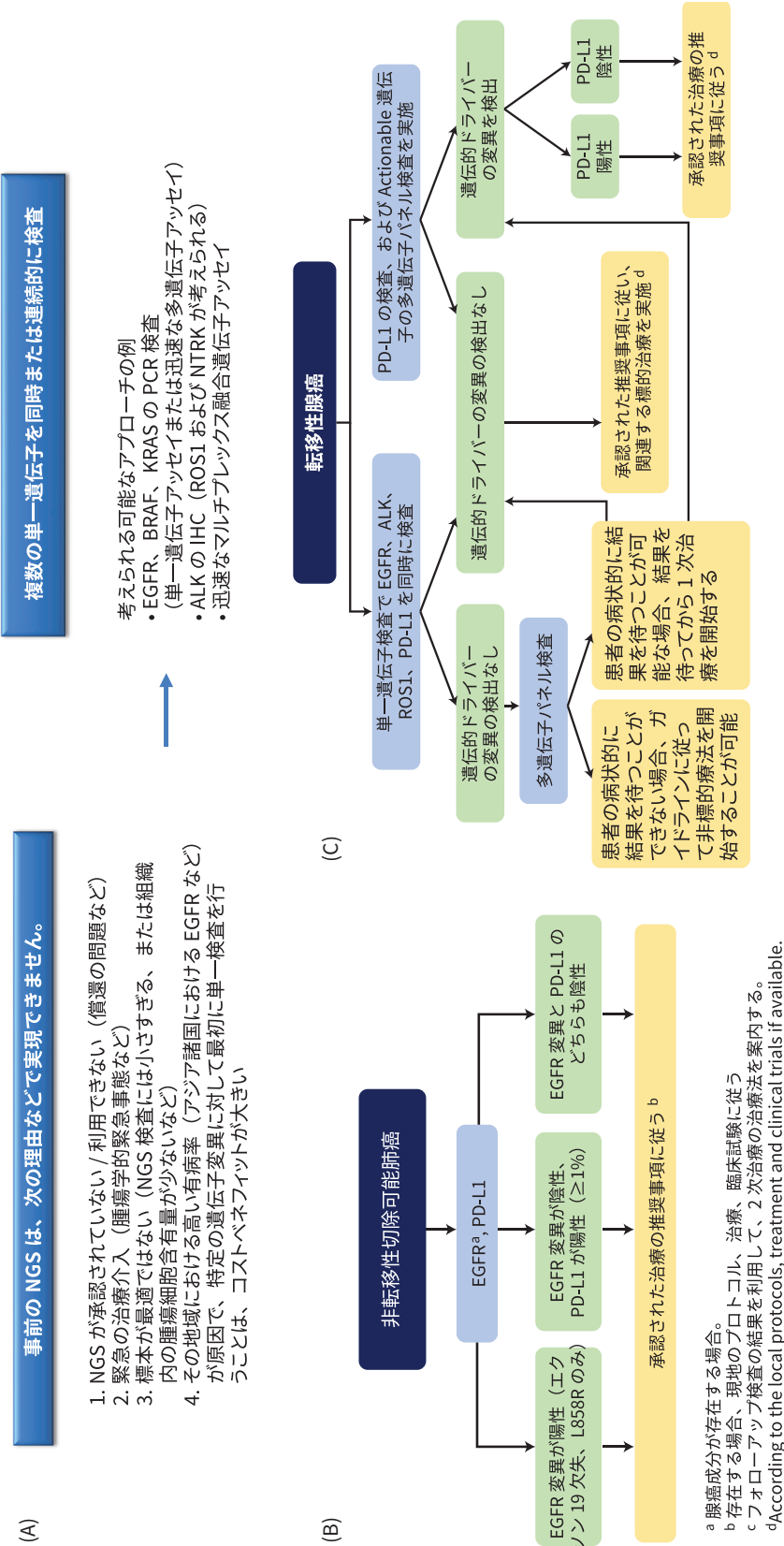


図 19-5. 代替検査アルゴリズムは、罹患患者が利用可能なバイオマーカー主導型治療の検査収量を最大化することに重点を置いています。略語：IHC = immunohistochemistry (免疫組織化学法)、NGS = next-generation sequencing (次世代シーケンシング)、PCR = polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)。(出典：Mitsudomi 氏他¹⁵⁾)

利用できない状況（図 19-5A 参照）も多くあります。そうした状況では、代替の簡略化された、あるいはより実用的な検査アルゴリズムが採用される場合もあります。（図 19-5A）。EGFR 活性化変異が高頻度にみられる地域（例：東アジア諸国）では、EGFR や PD-L1 を優先した検査アルゴリズムの方が費用対効果が高い場合もあります^{15, 16}（図 19-5B、C）。しかし、このような代替検査アルゴリズムの採用は、集学的なコンセンサスに基づいて決定されるべきです。別の新たなコスト削減の方法は、中毒性の癌原性ドライバーの相互排他性に基づくもので、まず DNA-NGS パネルを使用し、これでドライバー変異が同定できなかった場合にのみ、融合遺伝子（および場合によっては MET エクソン 14 スキッピング変異）の RNA-NGS を実施するというものです。しかし、検査の順序の変更は、後のステップでカバーされる標的の同定が遅れることを意味します。

結論

肺癌患者にとってプレジジョンオンコロジー（癌領域の精密医療）が最も最適な利益をもたらすためには、予測バイオマーカー検査が不可欠です。EGFR、ALK、ROS1、RET、NTRK、BRAF、KRAS、MET、HER2、および PD-L1（IHC による）対象の包括的分子検査（NGS の使用など）が望ましいとはいえ、多くの状況がこの完全な検査アルゴリズムの実用性に影響を及ぼす可能性があります。これには、組織の入手可能性、資金、利用可能なプラットフォーム、技術的専門知識、そして特にバイオマーカー主導型治療のための薬剤の入手可能性などが含まれます。一般に、検査アルゴリズムの採用は、これらの要因を考慮した上で、多方面からの意見に基づくことが推奨されます。

参考文献

1. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2011;6(2):244-285. doi:10.1097/JTO.0b013e318206a221.
2. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG. *WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. 4th ed. International Agency for Research on Cancer; 2015.
3. WHO Classification of Tumours Editorial Board. *Thoracic Tumours*. WHO Classification of Tumours. Vol. 5. 5th ed. International Agency for Research on Cancer; 2021.
4. Nicholson AG, Kerr K, Wistuba I, Yatabe Y. Sample acquisition, processing, and general diagnostic procedures. In: Tsao MS, Hirsch FR, Yatabe Y, eds. *IASLC Atlas of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer*. 2nd ed. International Association for the Study of Lung Cancer; 2016.
5. Tsao MS, Kerr KM, Dacic S, Yatabe Y, Hirsch FR, eds. *IASLC Atlas of PD-L1 Immunohistochemistry Testing in Lung Cancer*. International Association for the Study of Lung Cancer; 2017.
6. Loo PS, Thomas SC, Nicolson MC, Fyfe MN, Kerr KM. Subtyping of undifferentiated non-small cell carcinomas in bronchial biopsy specimens. *J Thorac Oncol.* 2010;5(4):442-447. doi:10.1097/JTO.0b013e3181d40fac.
7. Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2019;14(3):377-407. doi:10.1016/j.jtho.2018.12.005.
8. Tsao MS, Nicholson AG, Hirsch FR. Implementation of PD-L1 testing for personalized therapy for lung cancer. In: Tsao MS, Kerr KM, Dacic S, Yatabe Y, Hirsch FR, eds. *IASLC Atlas of PD-L1 Immunohistochemistry Testing in Lung Cancer*. International Association for the Study of Lung Cancer; 2017.

9. Pennell NA, Mutebi A, Zhou ZY, et al. Economic impact of next-generation sequencing versus single-gene testing to detect genomic alterations in metastatic non-small-cell lung cancer using a decision analytic model. *JCO Precis Oncol*. 2019;3:1-9. doi:10.1200/PO.18.00356.
10. Vanderpoel J, Stevens AL, Emond B, et al. Total cost of testing for genomic alterations associated with next-generation sequencing versus polymerase chain reaction testing strategies among patients with metastatic non-small cell lung cancer. *J Med Econ*. 2022;25(1):457-468. doi:10.1080/13696998.2022.2053403.
11. Tan AC, Lai GGY, Tan GS, et al. Utility of incorporating next-generation sequencing (NGS) in an Asian non-small cell lung cancer (NSCLC) population: incremental yield of actionable alterations and cost-effectiveness analysis. *Lung Cancer*. 2020;139:207-215. doi:10.1016/j.lungcan.2019.11.022.
12. Lim C, Tsao MS, Le LW, et al. Biomarker testing and time to treatment decision in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2015;26(7):1415-1421. doi:10.1093/annonc/mdv208.
13. Cheema PK, Menjak IB, Winterton-Perks Z, et al. Impact of reflex EGFR/ALK testing on time to treatment of patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer. *J Oncol Pract*. 2017;13(2):e130-e138. doi:10.1200/JOP.2016.014019.
14. Conde E, Hernandez S, Lopez-Rios F. Rethinking the role of biomarkers for operable non-small cell lung carcinoma: an effective collaboration with artificial intelligence algorithms. *Mod Pathol*. 2022;35(12):1754-1756. doi:10.1038/s41379-022-01167-8.
15. Mitsudomi T, Tan D, Yang JC, et al. Expert consensus recommendations on biomarker testing in metastatic and nonmetastatic NSCLC in Asia. *J Thorac Oncol*. 2022;S1556-0864(22)01905-0. doi:10.1016/j.jtho.2022.10.021.
16. Yang SC, Yeh YC, Chen YL, Chiu CH. Economic analysis of exclusionary EGFR test versus up-front NGS for lung adenocarcinoma in high EGFR mutation prevalence areas. *J Natl Compr Canc Netw*. 2022;20(7):774-782.e4. doi:10.6004/jnccn.2021.7120.
17. Aggarwal C, Bubendorf L, Cooper WA, et al. Molecular testing in stage I-III non-small cell lung cancer: approaches and challenges. *Lung Cancer*. 2021;162:42-53. doi:10.1016/j.lungcan.2021.09.003.

概要と将来の展望

20

執筆者：James Chih-Hsin Yang、Lynette M. Sholl、
Wendy A. Cooper、Daniel SW Tan、Keith M. Kerr

プレシジョンオンコロジー（癌領域の精密医療）において、分子検査はバイオマーカーを活用した標的療法を実施する原動力です。わずか10年の間に、肺癌では単一のマーカー（*EGFR*）を検査する必要性から、少なくとも10個のマーカー（*EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*、*KRAS*、*RET*、*NTRK*、*MET*、*HER2*、*PD-L1*）を検査する必要性へと進歩しました。幸いなことに、分子検査技術も並行して目覚ましい進歩を遂げています。国際肺癌学会（IASLC）の肺癌における予測バイオマーカー検査に関するこれまでのアトラスは、1つまたは2つのマーカー（*ALK*、*ALK/ROS1*、*EGFR*、*PD-L1*）を個別に取り上げてきましたが、個々のマーカーについて個別のアトラスを出版することはもはや現実的ではありません。この特別版は、肺癌における分子検査の最先端の技術と科学を結晶化し、標的療法に役立てようとするものです。

バイオマーカー検査は複雑であり、検体の採取と処理、検査技術、アッセイの開発、実施、臨床的有用性に関する専門知識を有する多くの関係者が関与していることは明らかです。重要なことは、検査戦略が適切であり、その結果から恩恵を受ける患者にとって利用しやすいものでなければならないということです。そのため、各章は意図的に学際的な共著者チームによって構成されています。本アトラスに含まれるいくつかの章は、分子バイオマーカー検査のベストプラクティスに必要な基本的要件を示すものであるため、過去のIASLCアトラスで取り上げられています。これらには、検体の取得、処理、報告、検査結果の解釈に関する分析前の問題、および分析品質保証の要件が含まれます。

今回の改訂では、検査技術に関する章を拡大し、癌における多数のゲノム異常のマルチプレックス検査を行うための現在最先端の分析プラットフォームである次世代シーケンシングを取り上げました。臨床腫瘍学がますます複雑化し、同種の薬剤や世代の異なる薬剤が複数使用できるようになったため、記述されているバイオマーカー検査の背景となる最新の治療法を、扱いやすい遺伝子ごとに記述しました。分子バイオマーカー検査の

提供の複雑さについては、本書の性質に合うよう、かなり単純化されてはいるものの検査ガイドラインやアルゴリズムにおけるグローバルな視点に関する章でも取り上げています。

肺癌の分子病態生物学、ナノテクノロジー、計算、インフォマティクスに関する知識の急速な進歩に伴い、分子検査はその範囲、深さ、広さにおいて拡大し続けることは疑いありません。このような拡大はすでに始まっており、その進展はおそらく急速で指数関数的なものとなるでしょう。将来の課題と可能性について、ここで簡単に説明します。

腫瘍組織におけるゲノム検査の将来

液体生検は現在、標的療法における潜在的な耐性機序を治療進行時に同定するための最初のアプローチとして推奨されていますが、このアプローチを初回診断時のベースライン検査にまで高めようとする努力がなされています。¹⁻³ 液体生検では、特に融合遺伝子や遺伝子コピー数に対するアッセイ感度にまだ若干の限界がありますが、⁴ たたとえば、遺伝子融合を検出するための血漿細胞を含まない RNA やエクソソーム由来の RNA の使用など、さらなる技術の進歩によって克服されるかもしれません。^{5,6}

液体生検が腫瘍組織検査に取って代わる、あるいは冗長な検査となる可能性がある一方で、組織検査と血液検査は補完的なアプローチとして並行して発展していく可能性が高いでしょう。⁷ 腫瘍診断、サブタイピング、免疫組織化学バイオマーカーは基本的な要件です。現在のところ、液体生検は一部のゲノム変異に関する感度と特異性に問題があり、分類的な腫瘍診断と分類はできません。組織検査と液体検査を並行して実施することが可能なのは、費用と資金に問題がない場合に限られます。しかし、これは世界中のほとんどの患者にとって大きな障壁となる可能性が高く、得られたデータの同化とその影響の理解という課題を含め、将来の検査アルゴリズムを開発するためには、さらなる検討が必要となります。

微小残存病変の検出と治療効果のモニタリング

現在、液体生検による微小残存病変 (MRD) の検出と、MRD を用いた病勢進行のモニタリング、患者の予後予測、および治療方針の変更の可能性 (第 4 章「臨床応用」セクション参照) に向けた取り組みが活発に行われています。このアプローチの性格は非侵襲的であるため、その臨床的有用性の評価が加速しています。⁸ MRD 検査のための液体生検の有望性を実現するために取り組むべき基本的な問題には、このような技術の感度と特異性が含まれます。現在の研究では主にゲノム DNA を用いた検査が行われていますが、メチル化 DNA/RNA や環状 RNA を用いた幅広い研究が進行中です。⁹⁻¹¹

肺癌の早期発見

肺癌早期発見のための現在の最先端技術では、低線量スパイラル CT (コンピュータ断層撮影) が使用されていますが、これは依然としてコストが高く、スループットも低く、特異性も最適とは言えません。CT スクリーニングの性能を向上させるためのラジオミクスと人工知能の応用は、主要な研究分野です。¹² 血液中の (エピ) ゲノムマーカーや呼気中の揮発性有機化合物のように、高い感度と特異性を持つ補完的検査が加わ

れば、集団ベースの早期発見プログラムを実施する能力が飛躍的に拡大する可能性があります。^{13, 14} 循環腫瘍 DNA は、肺癌の早期発見プラットフォームとして広範囲に研究されていますが、その感度と特異性は早期腫瘍の検出には最適ではありません。¹⁵ MRD 検出と同様に、メチル化 DNA と環状 RNA を含む新しいマーカーも研究されています。^{16, 17}

機械学習と人工知能

より高度で時間のかかるバイオインフォマティクスを必要とする包括的なゲノム検査が増えるにつれ、臨床ゲノム診断において人工知能や機械学習技術がますます使用されるようになると考えられます。これには、変異呼び出しや分類、ゲノムアノテーション、遺伝子型 - 表現型予測など、ゲノム解析のさまざまなステップが含まれる可能性があります。¹⁸

他の肺癌と胸部癌における検査

特殊な状況を除けば、ゲノムプロファイリングにおける現在の実践は、主に非扁平上皮肺癌、非小細胞肺癌に焦点を当てていますが、扁平上皮癌、小細胞癌、および中皮腫や胸腺腫瘍などの他の胸部悪性腫瘍における予測バイオマーカー検査の影響は、まだ十分に実現されていません。腫瘍の代謝、酸化ストレス応答経路、腫瘍微小環境の細胞性・非細胞性成分などに関与するような、新たな治療上の脆弱性とそれに対応する治療法が同定されれば、これらの治療法が出現する可能性が高くなります。¹⁹⁻²¹

結論

この肺癌における標的療法のための分子検査の IASLC アトラスでは、現在、肺癌の標的治療に関連する個々の遺伝子の概要と、その評価に影響を与える要因（検体採取、アッセイ技術、検査アルゴリズムへのアプローチ、分子検査における世界的な差異など）を説明しました。臨床に関連する分子検査の最新の概要を提供することで、肺癌の医療に携わるさまざまな専門家とその患者にとって価値あるものとなり、肺癌の臨床における更なる進歩の基礎となることを期待します。

参考文献

1. Choudhury Y, Tan MH, Shi JL, et al. Complementing tissue testing with plasma mutation profiling improves therapeutic decision-making for patients with lung cancer. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:758464. doi:10.3389/fmed.2022.758464.
2. Park S, Olsen S, Ku BM, et al. High concordance of actionable genomic alterations identified between circulating tumor DNA-based and tissue-based next-generation sequencing testing in advanced non-small cell lung cancer: the Korean Lung Liquid Versus Invasive Biopsy Program. *Cancer*. 2021;127(16):3019-3028. doi:10.1002/cncr.33571.
3. Li BT, Janku F, Jung B, et al. Ultra-deep next-generation sequencing of plasma cell-free DNA in patients with advanced lung cancers: results from the Actionable Genome Consortium. *Ann Oncol*. 2019;30(4):597-603. doi:10.1093/annonc/mdz046.
4. Song P, Wu LR, Yan YH, et al. Limitations and opportunities of technologies for the analysis of cell-free DNA in cancer diagnostics. *Nat Biomed Eng*. 2022;6(3):232-245. doi:10.1038/s41551-021-00837-3.

5. Kok VC, Yu CC. Cancer-derived exosomes: their role in cancer biology and biomarker development. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:8019-8036. doi:10.2147/IJN.S272378.
6. Larson MH, Pan W, Kim HJ, et al. Author correction: a comprehensive characterization of the cell-free transcriptome reveals tissue- and subtype-specific biomarkers for cancer detection. *Nat Commun*. 2022;13(1):2553. doi:10.1038/s41467-022-30329-0.
7. Rolfo C, Mack P, Scagliotti GV, et al. Liquid biopsy for advanced NSCLC: a consensus statement from the International Association for the Study of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2021;16(10):1647-1662. doi:10.1016/j.jtho.2021.06.017.
8. Chae YK, Oh MS. Detection of minimal residual disease using ctDNA in lung cancer: current evidence and future directions. *J Thorac Oncol*. 2019;14(1):16-24. doi:10.1016/j.jtho.2018.09.022.
9. Constâncio V, Nunes SP, Henrique R, Jerónimo C. DNA methylation-based testing in liquid biopsies as detection and prognostic biomarkers for the four major cancer types. *Cells*. 2020;9(3):624. doi:10.3390/cells9030624.
10. Yin H, Hong H, Yin P, et al. Increased levels of N6-methyladenosine in peripheral blood RNA: a perspective diagnostic biomarker and therapeutic target for non-small cell lung cancer. *Clin Chem Lab Med*. 2022;61(3):473-484. doi:10.1515/cclm-2022-1033.
11. Kristensen LS, Jakobsen T, Hager H, Kjems J. The emerging roles of circRNAs in cancer and oncology. *Nat Rev Clin Oncol*. 2022;19(3):188-206. doi:10.1038/s41571-021-00585-y.
12. Binczyk F, Prazuch W, Bozek P, Polanska J. Radiomics and artificial intelligence in lung cancer screening. *Transl Lung Cancer Res*. 2021;10(2):1186-1199. doi:10.21037/tlcr-20-708.
13. Seijo LM, Peled N, Ajona D, et al. Biomarkers in lung cancer screening: achievements, promises, and challenges. *J Thorac Oncol*. 2019;14(3):343-357. doi:10.1016/j.jtho.2018.11.023.
14. Scheepers MHMC, Al-Difaie Z, Brandts L, et al. Diagnostic performance of electronic noses in cancer diagnoses using exhaled breath: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2022;5(6):e2219372. doi:10.1001/jamanetworkopen.2022.19372.
15. Abbosh C, Birkbak NJ, Swanton C. Early stage NSCLC—challenges to implementing ctDNA-based screening and MRD detection. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(9):577-586. doi:10.1038/s41571-018-0058-3.
16. Shen SY, Singhanian R, Fehringer G, et al. Sensitive tumour detection and classification using plasma cell-free DNA methylomes. *Nature*. 2018;563(7732):579-583. doi:10.1038/s41586-018-0703-0.
17. Pedraz-Valdunciel C, Giannoukakos S, Giménez-Capitán A, et al. Multiplex analysis of CircRNAs from plasma extracellular vesicle-enriched samples for the detection of early-stage non-small cell lung cancer. *Pharmaceutics*. 2022;14(10):2034. doi:10.3390/pharmaceutics14102034.
18. Dias R, Torkamani A. Artificial intelligence in clinical and genomic diagnostics. *Genome Med*. 2019;11(1):70. doi:10.1186/s13073-019-0689-8.
19. Lau SCM, Pan Y, Velcheti V, Wong KK. Squamous cell lung cancer: current landscape and future therapeutic options. *Cancer Cell*. 2022;40(11):1279-1293. doi:10.1016/j.ccell.2022.09.018.
20. Hellyer JA, Padda SK, Diehn M, Wakelee HA. Clinical implications of KEAP1-NFE2L2 mutations in NSCLC. *J Thorac Oncol*. 2021;16(3):395-403. doi:10.1016/j.jtho.2020.11.015.
21. Suzuki J, Tsuboi M, Ishii G. Cancer-associated fibroblasts and the tumor microenvironment in non-small cell lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2022;22(2):169-182. doi:10.1080/14737140.2022.2019018.

情報開示：Ahn 博士には開示情報なし。Bazhenova 博士は、ORIC Pharmaceuticals 社から個人的報酬を報告、Turning Point Therapeutics 社から個人的報酬を報告、Novogen 社から個人的報酬を報告、Daiichi Sankyo 社から個人的報酬を報告、Janssen 社から個人的報酬を報告、Merck 社から個人的報酬を報告、BeyondSpring 社から助成金を報告、Regeneron 社から個人的報酬を報告、Boehringer Ingelheim 社から個人的報酬を報告、Novartis 社から個人的報酬を報告、Genentech 社から個人的報酬を報告、Sanofi 社から個人的報酬を報告、Novocure 社から個人的報酬を報告、InterVenn Biosciences 社から個人的報酬を報告、Elevation Oncology 社から個人的報酬を報告、Janssen 社から個人的報酬を報告、Bayer 社から提出済み研究以外の他の個人的報酬を報告。Beasley 博士には開示情報なし。Berezowska 博士は、Roche 社から助成金、Basilea Pharmaceutica 社から助成金、Daiichi Sankyo 社から他の報酬、Eli Lilly 社から提出済み研究以外の他の報酬を報告。Bubendorf 博士は、AstraZeneca 社から個人的報酬、Bayer 社から個人的報酬、Eli Lilly 社から個人的報酬、Merck 社から個人的報酬、Bristol Myers Squibb 社から個人的報酬、Amgen 社から個人的報酬、Takeda 社から個人的報酬、Roche 社から助成金、Novartis 社から助成金、Systems Oncology 社から助成金および個人的報酬、Janssen 社から個人的報酬および Thermo Fisher Scientific 社から提出済み研究以外の個人的報酬を報告。Cappuzzo 博士は以下の利益相反を開示：Roche 社、AstraZeneca 社、Bristol Myers Squibb 社、Pfizer 社、Takeda 社、Lilly 社、Bayer 社、Amgen 社、Sanofi 社、PharmaMar 社、Novocure 社、Mirati Therapeutics 社、Galacto 社、OSE Pharma 社、MSD 社から諮問委員会委員または講演に対する報酬を報告。Chang 博士には該当する開示情報なし。Chou 博士には開示情報なし。Chung 博士には開示情報なし。Cooper 博士は、AbbVie 社、Amgen 社、AstraZeneca 社、Bayer 社、Merck 社の諮問委員会に金銭的報酬なしの参加を報告。Dacic 博士は、AstraZeneca 社、Genentech 社、Merck 社、AbbVie 社、Janssen 社、Takeda 社から個人的報酬を報告。Dagogo-Jack 博士には開示情報なし。Donington 博士には該当する開示情報なし。Drilon 博士は、National Institutes of Health/ National Cancer Institute から助成金、Ignity/Genentech/Roche 各社から個人的報酬、Loxo/Bayer/Lilly 各社から個人的報酬、Takeda/Ariad/ Millenium 各社から個人的報酬、Turning Point Therapeutics 社から個人的報酬、AstraZeneca 社から個人的報酬、Pfizer 社から個人的報酬、Blueprint Medicines 社から個人的報酬、Helsinn 社から個人的報酬、BeiGene 社から個人的報酬、BerGenBio 社から個人的報酬、Hengrui Therapeutics 社から個人的報酬、Exelixis 社から個人的報酬、Tyra Biosciences 社から個人的報酬、Verastem 社から個人的報酬、MORE Health 社から個人的報酬、AbbVie 社から個人的報酬、14ner Elevation Oncology 社から個人的報酬、Remedica Ltd. 社から個人的報酬、ArcherDx 社から個人的報酬、Monopteros Therapeutics 社から個人的報酬、Novartis 社から個人的報酬、EMD Serono 社から個人的報酬、Melendi 社から個人的報酬、Liberum 社から個人的報酬、Repare RX 社から個人的報酬、Nuvalent 社から個人的報酬、Merus 社から個人的報酬、Axis Pharma 社から、Chugai Pharmaceutical 社から個人的報酬、EPG Health 社から個人的報酬、Harborside Nexus 社から個人的報酬、RV MORE 社から個人的報酬、Ology 社から個人的報酬、ToucheIME 社から個人的報酬、Janssen 社から個人的報酬、Amgen 社から個人的報酬、Entos Pharmaceuticals 社から個人的報酬、Treeline Bio 社から個人的報酬；Medscape、OnLive、PeerVoice、Physicians Education Resources、Targeted Oncology、Research to Practice、Axis、Peervision Institute、Paradigm Medical Communications、WebMD、MJH Life Sciences、Med Learning、Imedex、Answers in CME、Clinical Care Options、EPG Health、JNCC/Harborside、Liberum、Remedica Ltd 各社から個人的報酬および CME 謝礼、Applied Pharmaceutical Science Inc.、Prelude 両社から個人的報酬、AiCME 社から個人的報酬、i3 Health 社から個人的報酬、Pfizer、Exelixis、GlaxoSmithKline、Teva、Taiho Oncology、PharmaMar 各社から研究機関に対する支払関連研究費、Foundation Medicine 社から研究費、Wolters Kluwer 社から印税、Merck、Puma、Merus、Boehringer Ingelheim 社からその他支援を報告。Elkins 氏は、AstraZeneca、Bayer、Bristol Myers Squibb、Blueprint Medicines、Boehringer Ingelheim、Daiichi Sankyo、Janssen、Merck、Mirati Therapeutics 各社から個人的報酬を報告。Fong 博士は、提出研究以外で Competitive Research Grants 社から助成金、UpToDate 社の査読者、Cochrane Clinical Answers 社の査読者、研究目的の気管支鏡貫通による Olympus 社の支援、および International Lung Screen Trial (ILSTI) 社でコンピュータ支援診断研究向けの MeVis Veolity ソフトウェアライセンス供与を報告。Gainor 博士は、Bristol Myers Squibb 社から個人的報酬等、Merck 社から個人的報酬等、Genentech/Roche 社から個人的報酬等、AstraZeneca 社から個人的報酬等、Blueprint Medicines 社から個人的報酬等、Loxo/Lilly 社から個人的報酬等、Jounce Therapeutics 社から個人的報酬等を報告している、Mirati Therapeutics 社から個人的報酬、Silverback Therapeutics 社から個人的報酬、Sanofi 社から個人的報酬、GlydeBio 社から個人的報酬、Moderna 社から個人的報酬等、Takeda 社から個人的報酬、Regeneron 社から個人的報酬、Curie Therapeutics 社から個人的報酬、Merus 社から個人的報酬および近親者（配偶者）が Ironwood Pharmaceuticals 社の従業員であり株式保有と報告。Gandara 博士には該当する開示情報なし。Gill 博士には該当する開示情報なし。Gogna 博士は、Amgen Medical 社から個人的報酬、提出研究以外に Sirtex Medical 社から個人的報酬を報告。Goto 博士は、AstraZeneca、Pfizer、AbbVie、Eli Lilly、Bristol Myers Squibb、ONO、Novartis、Kyorin、Daiichi Sankyo、Daiichi Sankyo 各社から助成金、Lilly、Chugai Pharmaceutical、Boehringer Ingelheim、ONO、Bristol Myers Squibb、Pfizer、MSD、Novartis、Merck、Thermo Fisher Scientific 各社から謝礼を報告。業務範囲外で AstraZeneca、Chugai Pharmaceutical、Boehringer Ingelheim、Eli Lilly、Taiho Oncology、Pfizer、Novartis、Guardant Health、Illumina、Daiichi Sankyo、Bristol Myers Squibb、MSD 各社のアドバイザーボードへの参加を報告。Gray 博士には該当する開示情報なし。Han 博士には開示情報なし。Henricks 博士は、Benecke、Medtalks、VJ Oncology 各社から個人的報酬、Benecke、Medtalks、VJ Oncology 各社から個人的報酬、AstraZeneca 社から個人的報酬、Janssen 社から個人的報酬、Amgen、Bristol Myers Squibb、Boehringer Ingelheim、Janssen、Lilly、Merck、MSD、Novartis、Pfizer、Roche、Takeda 各社から他の報酬、AstraZeneca、Boehringer Ingelheim、Roche、Takeda、Merck、Pfizer 各社から助成金、AbbVie、AstraZeneca、Blueprint Medicines、Gilead Sciences、GlaxoSmithKline、Merck Serono、Mirati Therapeutics、MSD、Novartis、Roche、Takeda 各社から助成金を報告。Hesketh 博士には開示情報なし。Hirsch 博士は、関連する利益相反はなし、と報告。Hofman 博士には開示情報なし。Hwang 博士は、Merck 社から個人的報酬、GlaxoSmithKline 社から個人的報酬、Pfizer 社から助成金および個人的報酬、AstraZeneca 社から助成金および個人的報酬、Novartis 社から個人的報酬、Eli Lilly 社から個人的報酬、Roche 社から個人的報酬、Amgen 社から個人的報酬、EMD Serono 社から助成金、Bayer 社から個人的報酬、Bristol Myers Squibb 社から提出研究以外に個人的報酬を報告。Itchins 博士は、Merk および Roche 両社から個人的報酬、Pfizer 社、AstraZeneca 社、Takeda、Novartis、Bristol Myers Squibb、MSD、Bayer 各社から謝礼、Pfizer、Takeda、Bayer、MSD、Amgen、Merck、Roche、BeiGene 各社から業務範囲外のアドバイザーボードへの参加を報告。Jain 博士には開示情報なし。Joubert 博士には開示情報なし。Joubert 博士には開示情報なし。Kerr 博士は、MSD 社から個人的報酬、Bristol Myers Squibb 社から個人的報酬、Roche 社から個人的報酬、および提出研究以外で AstraZeneca 社から個人的報酬を報告。Kim 博士は、Alpha Biopharma 社から助成金、Amgen 社から助成金および個人的報酬、AstraZeneca 社から助成金および個人的報酬、BridgeBio 社から助成金および個人的報酬、Boehringer Ingelheim 社から助成金および個人的報酬、Bristol Myers Squibb 社から助成金および個人的報酬、Chong Kun Dang 社から助成金および個人的報酬、Daiichi Sankyo 社から助成金および個人的報酬、GlaxoSmithKline 社から助成金および個人的報酬、Han Mi 社から助成金、Janssen 社から助成金および個人的報酬、Merck 社から助成金および個人的報酬、Merus 社から助成金および個人的報酬、Mirati Therapeutics 社から助成金および個人的報酬、MSD 社から助成金および個人的報酬、Novartis 社から助成金および個人的報酬、ONO Pharmaceutical 社から助成金および個人的報酬、Pfizer 社から助成金および個人的報酬、Roche 社から助成金および個人的報酬、Takeda 社から助成金および個人的報酬、Turning Point Therapeutics 社から助成金および個人的報酬、Xcovery 社から助成金および個人的報酬、Yuhan 社から助成金および個人的報酬、および提出研究以外に innopharma 社から助成金を報告。Lantuejoul 博士は、AbbVie 社、Lilly 社、MSD 社、Janssen 社、Bristol Myers Squibb 社、AstraZeneca 社、Oncologica 社から個人的報酬を報告。Leighl 博士には該当する開示情報なし。Li 博士には開示情報なし。D. Lin 博士には開示情報なし。J. Lin 博士は、Pfizer 社から個人的報酬、Novartis 社から個人的報酬および他、Hengrui Therapeutics 社から個人的報酬および他、Turning Point Therapeutics 社から個人的報酬および他、Neon Therapeutics 社から個人的報酬および他、Relay Therapeutics 社から個人的報酬および他、Genentech/Roche 社から個人的報酬および他、Linnaeus Therapeutics 社から個人的報酬および他、Nuvalent 社から個人的報酬および他、C4 Therapeutics 社から個人的報酬、Mirati Therapeutics 社から個人的報酬、Regeneron 社から個人的報酬、および提出研究以外で Blueprint Medicines 社から個人的報酬。Liu 博士は、Amgen 社から個人的報酬、AstraZeneca 社から個人的報酬、Bayer 社から助成金および個人的報酬、BeiGene 社から個人的報酬、Blueprint Medicines 社から助成金および個人的報酬、Boehringer Ingelheim 社から個人的報酬、Bristol Myers Squibb 社から助成金および個人的報酬、Catalyst Pharmaceuticals 社から個人的報酬、Daiichi Sankyo 社から個人的報酬、Eisai 社から個人的報酬、Elevation Oncology 社から助成金および個人的報酬、Genentech/Roche 社から助成金および個人的報酬、Gilead Sciences 社から助成金および個人的報酬を報告、Guardant Health 社から助成金および個人的報酬、Janssen 社から助成金および個人的報酬、Jazz Pharmaceuticals 社から助成金および個人的報酬、Lilly 社から個人的報酬、Merck/MSD 社から助成金および個人的報酬、Novartis 社から個人的報酬、Regeneron 社から個人的報酬、Sanofi 社から個人的報酬、Takeda 社から個人的報酬、Turning Point Therapeutics 社から助成金および個人的報酬、Alkermes 社から助成金、Merus 社から助成金、

Nuvalent 社から助成金、Pfizer 社から助成金、RAPT 社から助成金、Candel Therapeutics 社から個人的報酬を報告。Lopez-Rios 博士は提出研究以外で、Thermo Fisher Scientific、Roche、Lilly、Pfizer、Takeda、Janssen、MSD、AstraZeneca、Bristol Myers Squibb、Bayer 各社から助成金および個人的報酬を報告。Mezquita 博士は、研究助成金、個人的報酬、非金銭的支援、その他を報告；研究助成/資金提供：Bristol Myers Squibb、Boehringer Ingelheim、Amgen、Stilla、Inivata、AstraZeneca 各社、アドバイザー/コンサルタント：Roche および Takeda 両社、教育活動：Bristol Myers Squibb および Takeda 両社、財団医療：Janssen；旅費/宿泊費/経費：Roche、Takeda、Bristol Myers Squibb、Janssen 各社、提出研究以外、Mino-Kenudson 博士は、AstraZeneca 社から個人的報酬、Sanofi 社から個人的報酬、Bristol Myers Squibb 社から個人的報酬、Janssen Oncology 社から個人的報酬、Elsevier 社から個人的報酬を報告。Nicholson 博士は、Merck 社から個人的報酬、Boehringer Ingelheim 社から個人的報酬、Pfizer 社から助成金および個人的報酬、Novartis 社から個人的報酬、AstraZeneca 社から個人的報酬、Bristol Myers Squibb 社から個人的報酬、Roche 社から個人的報酬、AstraZeneca 社から個人的報酬、AbbVie 社から個人的報酬、Oncologica 社から個人的報酬、UpToDate 社から個人的報酬、欧州臨床腫瘍学会から個人的報酬、Liberum 社から個人的報酬、Takeda UK 社から個人的報酬、および Sanofi 社から個人的報酬を報告。Ou 博士は、提出研究以外で、Turning Point Therapeutics 社から他、Elevation Oncology 社から個人的報酬および他、Pfizer 社から個人的報酬、Johnson & Johnson/Janssen 社から個人的報酬、Lilly 社から個人的報酬、および BeiGene 社から個人的報酬を報告。Papotti 博士は、Eli Lilly 社から個人的報酬、Roche 社から個人的報酬、AstraZeneca 社から個人的報酬、Pfizer 社から提出研究以外での個人的報酬を報告。Plancharth 博士は、AstraZeneca 社から個人的報酬、Bristol Myers Squibb 社から個人的報酬、Celgene 社から個人的報酬、Daiichi Sankyo 社から個人的報酬、Eli Lilly 社から個人的報酬、Merck 社から個人的報酬、Novartis 社から個人的報酬、Pfizer 社から個人的報酬、prIME Oncology 社から個人的報酬、Peer CME 社から個人的報酬、Roche 社から個人的報酬、Samsung 社から個人的報酬、AbbVie 社から個人的報酬、Janssen 社から個人的報酬、GlaxoSmithKline 社から提出研究以外での個人的報酬、および AstraZeneca、AbbVie、Bristol Myers Squibb、Boehringer Ingelheim、GlaxoSmithKline、Eli Lilly、Merck、Novartis、Pfizer、Roche、MedImmune、AstraZeneca、AbbVie-Aventis、Taiho Oncology、Novocure、Daiichi Sankyo、Janssen 各社の臨床試験研究（治験責任医師または共同治験医）を報告。Raez 博士は、Bristol Myers Squibb 社から助成金、AstraZeneca 社から助成金、Genentech 社から助成金、Merck 社から助成金、Amgen 社から助成金、Guardant Health 社から助成金、Natera 社から助成金、提出研究以外での NantHealth 社から個人的報酬助成金を報告。Rekhtman 博士には該当する開示情報なし。Remon 博士は、MSD 社から他の報酬、Boehringer Ingelheim 社から他の報酬、Pfizer 社から他の報酬、OSE Immunotherapeutics 社から個人的報酬と他の報酬、Bristol Myers Squibb 社から他の報酬、AstraZeneca 社から他の報酬、Roche 社から他の報酬、Takeda から他の報酬、Janssen 社から他の報酬を報告。Roden 博士は、UpToDate 社から個人的報酬、Pathology Learning Center 社から個人的報酬を報告。Rolfo 博士は、Boehringer Ingelheim 社から個人的報酬、LUNGEVITY 社から個人的報酬、Amgen 社から個人的報酬、MedSTAR 社から個人的報酬、Janssen Scientific Affairs 社から個人的報酬、MH UVE EVENTS 社から個人的報酬、Guardant Health 社から個人的報酬、Diverse Hub 社から個人的報酬、Regeneron 社から個人的報酬、General Dynamics Information Technology (GDIT) 社から個人的報酬、Bayer 社から個人的報酬、EMD Serono 社から個人的報酬、AstraZeneca 社から個人的報酬、CEA 社から個人的報酬、Roche 社から個人的報酬、COR2ED 社から個人的報酬を報告、BostonGene 社から個人的報酬、Sanofi-Genzyme 社から個人的報酬、Intellisphere 社から個人的報酬、Physicians Education Resource 社から個人的報酬、Daiichi Sankyo Europe GmbH 社から個人的報酬、OnLive 社から個人的報酬、EMD Serono 社から個人的報酬、Mirati Therapeutics 社から個人的報酬、Eisai 社から個人的報酬、Bostan Pharmaceuticals 社から個人的報酬、Novartis 社から個人的報酬、Bristol Myers Squibb 社から個人的報酬、Merck EMD Serono 社から個人的報酬、Ivanta 社から個人的報酬、ArcherDx 社から個人的報酬。Rotow 博士は、AstraZeneca 社から助成金および個人的報酬、Pfizer 社から助成金および個人的報酬、AbbVie 社から助成金および個人的報酬、Gristone Oncology 社から個人的報酬、Lilly 社から個人的報酬、Takeda 社から個人的報酬、Sanofi-Genzyme 社から個人的報酬、Genentech 社から個人的報酬、Guardant Health 社から個人的報酬、Janssen 社から個人的報酬、BioAtla 社から助成金および個人的報酬、RedCloud 社から助成金、Blueprint Medicines 社から助成金、Bicycle Therapeutics 社から助成金を報告。Schalper 博士は、Navigate Biopharma、Tesar/GlaxoSmithKline、Moderna Inc、Takeda、Surface Oncology、Pierre-Fabre Research Institute、Merck、Bristol Myers Squibb、AstraZeneca、Ribon Therapeutics、Eli Lilly、Boehringer Ingelheim、Roche、Akoya Biosciences、Clinica Alemana Santiago、Shattuck Labs、AstraZeneca、EMD Serono、Takeda、Torque/Repertoire Therapeutics、Agenus、Genmab、OnCusp、Parthenon Therapeutics、Bristol Myers Squibb、Roche、CDR-Life、Sensei Therapeutics、Molecular Templates、および Merck 社から個人的報酬、Takeda、Fluidigm、Merck、Bristol Myers Squibb、PeerView、および Forefront 社から個人的報酬、提出研究以外での共同研究を報告。Sequist 博士は、AstraZeneca 社から助成金および個人的報酬、Genentech 社から助成金および個人的報酬、Novartis 社から助成金、Delfi Diagnostics 社から助成金、Janssen 社から個人的報酬、Pfizer 社から個人的報酬を報告。Shilo 氏には開示情報なし。Sholl 博士は、Genentech 社から助成金、Bristol Myers Squibb 社から助成金、AstraZeneca 社から個人的報酬、Genentech 社から他の報酬、Lilly 社から他の報酬、GV20 Therapeutics 社から個人的報酬を報告。Skanderup 博士には開示情報なし。Solomon 博士には開示情報なし。Stone 博士は、AstraZeneca 社、MSD 社、Limbic 社、Bristol Myers Squibb 社から謝礼、AstraZeneca および Pinnacle Healthcare 両社から業務範囲外の個人的報酬を報告。Tan 博士は、Novartis 社から助成金および個人的報酬、Bayer 社から助成金および個人的報酬、Boehringer Ingelheim 社から個人的報酬、AstraZeneca 社から助成金および個人的報酬、Eli Lilly 社から個人的報酬、Loxo 社から個人的報酬、Merck 社から個人的報酬、Pfizer 社から助成金および個人的報酬、Roche 社から個人的報酬、Takeda 社から個人的報酬、GlaxoSmithKline 社から助成金、Merrimack 社から個人的報酬を報告。Thunnissen 博士には開示情報なし。Tsao 博士には開示情報なし。Van Schil 博士は、Bristol Myers Squibb 社から個人的報酬、MSD 社から個人的報酬、AstraZeneca 社から他の報酬、Janssen 社から他の報酬、Roche から提出研究以外で個人的報酬、および次期国際肺癌学会 (IASLC) 会長、ベルギー心臓胸部外科学会 (BACTS) 会計役を報告。Wakelee 博士は、AstraZeneca 社から個人的報酬、Blueprint Medicines 社から個人的報酬、Mirati Therapeutics 社から個人的報酬、Genentech/Roche 社から助成金および非金銭的支援、Merck 社から助成金および非金銭的支援、ACEA Biosciences 社から助成金、Arrys Therapeutics 社から助成金、AstraZeneca/MedImmune 社から助成金、Bristol Myers Squibb 社から助成金、Clovis Oncology 社から助成金、Novartis 社から助成金、Seagen 社から助成金、Xcovery 社から助成金、および Helsinn 社から助成金を報告。Wistuba 博士は、Genentech/Roche 社から助成金および個人的報酬、Bayer 社から助成金および個人的報酬、Bristol Myers Squibb 社から助成金および個人的報酬、AstraZeneca 社から助成金および個人的報酬、Pfizer 社から助成金および個人的報酬、HTG Molecular Diagnostics 社から助成金および個人的報酬、Asuragen 社から個人的報酬、Merck 社から助成金および個人的報酬、GlaxoSmithKline 社から助成金および個人的報酬、Guardant Health 社から助成金および個人的報酬、Flame Biosciences 社から個人的報酬、Novartis 社から助成金および個人的報酬、Sanofi 社から助成金および個人的報酬、Daiichi Sankyo から個人的報酬、Amgen 社から助成金および個人的報酬、Oncocyte 社から個人的報酬、MSD 社から個人的報酬、Platform Health 社から個人的報酬、Adaptive Biotechnologies 社から助成金、Adaptimmune 社から助成金、EMD Serono 社から助成金、Takeda 社から助成金、Karus 社から助成金、Johnson & Johnson 社から助成金、4D Pharma 社から助成金、Iovance 社から助成金、Akoya Biosciences 社から助成金、Janssen 社から個人的報酬、Regeneron 社から個人的報酬、Merus 社から個人的報酬を報告。Wu 博士は、AstraZeneca 社から助成金、個人的報酬、他の報酬、BeiGene 社から助成金、個人的報酬、他の報酬、Boehringer Ingelheim 社から助成金、個人的報酬、他の報酬、Bristol Myers Squibb 社から助成金、個人的報酬、Hengrui Therapeutics 社から助成金、Roche 社から助成金、個人的報酬、他の報酬、Novartis 社から助成金、他の報酬、Takeda 社から他の報酬、Eli Lilly 社から個人的報酬、MSD 社から個人的報酬、Pfizer 社から個人的報酬、Sanofi から提出研究以外に個人的報酬を報告。J. Yang 博士は、Amgen 社から個人的報酬等、AstraZeneca 社から助成金、個人的報酬等、Bayer 社から個人的報酬等、Boehringer Ingelheim 社から個人的報酬等、Bristol Myers Squibb 社から個人的報酬等、Daiichi Sankyo から個人的報酬等、Eli Lilly 社から個人的報酬等、Merck KGaA 社（ザルムシュタット市、ドイツ）から個人的報酬等、Merck Sharp & Dohme 社から個人的報酬等、Novartis 社から個人的報酬等、ONO Pharmaceutical 社から個人的報酬等、Pfizer 社から個人的報酬等、Genentech/Roche 社から個人的報酬等、Takeda Oncology 社から他の報酬、Yuhan Pharmaceuticals 社から他の報酬、Johnson & Johnson から他の報酬、Puma Technology 社から他の報酬、Gilead Sciences 社から他の報酬、GlaxoSmithKline 社から個人的報酬等。S-R. Yang 博士は、提出研究以外に PRIME Education、LLC 社から個人的報酬、ArcherDx、Chugai Pharmaceutical、Thermo Fisher Scientific、NEC、Konica Minolta 各社との研究契約、AbbVie から諮問委員会に関する謝礼、Bayer、Eli Lilly、Pfizer、Agilent Dako、ArcherDx、Sysmex、Boehringer Ingelheim、Yansen-Pharma、Roche/Ventana 各社から講演に対する謝礼、Amgen、ONO Pharma、Daiichi Sankyo、Merck biopharma、MSD、Novartis、AstraZeneca、中外製薬、Thermo Fisher Scientific、Takeda 各社から諮問委員会および講演に対する謝礼を報告。Yu 博士は、AstraZeneca、Daiichi Sankyo、Cullinan Oncology、Novartis、Black Diamond、Blueprint Medicines、Janssen、Pfizer、Erasca、Taiho Oncology、AbbVie から、提出研究の範囲外での助成金と個人的報酬を報告。