INVITED REVIEW ARTICLE

EGFR-TKI の歴史と新たな展開

須田健一1,2・光冨徹哉1

The History and Current State of EGFR-TKIs

Kenichi Suda^{1,2}; Tetsuva Mitsudomi¹

¹Division of Thoracic Surgery, Department of Surgery, Kindai University Faculty of Medicine, Japan; ²University of Colorado Anschutz Medical Campus, Aurora, USA.

ABSTRACT — Lung cancers with epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutations are a common malignancy in East-Asians, including Japanese. Although there have been recent dramatic developments in cancer immunotherapy, EGFR-mutant lung cancers are reported to be relatively refractory to these immunotherapies. Thus, EGFR tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs) are still the sole key drug for those patients. After the discovery that an EGFR T790M secondary mutation is the most frequent mechanism of acquired resistance, several agents that simultaneously target this mutation are being developed, and osimertinib has already been approved in Japan. In addition, basic and translational research has revealed many mechanisms underlying resistance to EGFR-TKI. In this review, we will summarize the history of EGFR-TKIs and the detailed data for recently developed EGFR-TKIs. In addition, we discuss the possibility of combined therapies using EGFR-TKIs, based on the basic, translational, and clinical findings.

(IILC. 2017:57:69-74)

KEY WORDS — Molecular targeted therapy, Precision medicine, EGFR gene mutation, Acquired resistance, Combination therapies

Corresponding author: Tetsuya Mitsudomi.

要旨 — 上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子変異を有する肺癌は、本邦を含む東アジア人で頻度が高い.ここ数年、肺癌領域でも癌免疫治療の発展とその臨床応用が大きな注目を集めているが、EGFR 変異肺癌には現在の癌免疫治療薬はあまり有効ではないとされている.したがって、EGFR 変異肺癌に対してはこれまで同様、EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 (EGFR-TKIs) を主軸とした治療戦略の構築が重要である. 2005 年の T790M 二次変異の報告以降、T790M 変異を克服し得る EGFR-TKIs も数

多く開発されており(オシメルチニブは本邦でも既に承認済み)、T790M 以外の EGFR-TKI 耐性機序も数多く報告されている。本稿では EGFR-TKI 開発の歴史について振り返りつつ、新規 EGFR-TKIs の基礎・臨床データについて詳述する。また、EGFR-TKI と他薬剤の併用療法の可能性についても、基礎・臨床データをもとに概説する

索引用語 —— 分子標的治療, 精密医療, EGFR 遺伝子変異, 獲得耐性, 併用療法

はじめに

上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子変異を有する非小細胞肺癌 (以下, EGFR 変異肺癌) に対する EGFR-TKIs の有用性は, 既に周知の事実である. 1 EGFR-TKI と殺細

胞性抗癌剤(プラチナ併用化学療法)を比較した複数の 第3相試験の結果に基づき、本邦肺癌診療ガイドライン² でも EGFR-TKI 単剤 (具体的にはゲフィチニブ・エルロ チニブ・アファチニブ)は、EGFR 変異肺癌の一次治療薬 として推奨されている(グレード A). しかし、EGFR-

1近畿大学医学部外科学講座呼吸器外科部門;2コロラド大学アンシュッツ医学キャンパス.

論文責任者:光冨徹哉.

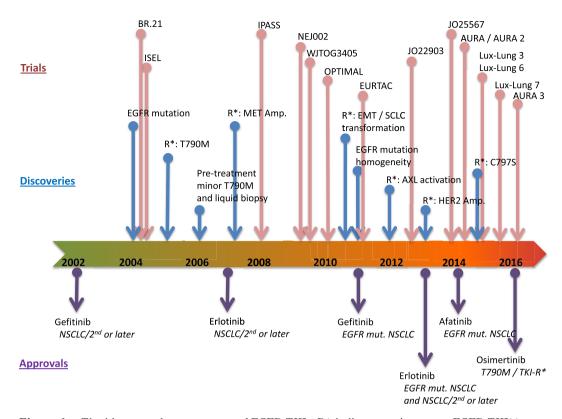


Figure 1. The history and current state of EGFR-TKIs. R* indicates resistance to EGFR-TKI(s).

TKIs をもってしても EGFR 変異肺癌の根治はほぼ不可能であり、その無増悪生存期間の中央値は 9~13 ヶ月である. EGFR 変異肺癌患者のさらなる予後改善のために、新規 EGFR-TKIs の開発・臨床応用や他剤との併用療法が検討されている.

本稿では、EGFR-TKIs 開発の歴史について振り返りつつ(Figure 1)、各世代の EGFR-TKIs の基礎・臨床データについて詳述する。また、EGFR-TKI と他薬剤の併用療法の可能性についても、基礎・臨床データをもとに概説する。

第1世代 EGFR-TKI 開発の歴史

EGFR-TKIs のひとつであるゲフィチニブは、2002 年7月に世界に先駆けて本邦で承認された肺癌治療薬である。当初より劇的な治療効果を示す患者が存在することは知られていたものの、患者選択を行わなかった第3相試験ではことごとくその有効性を示すことはできなかった。しかし、2004 年に EGFR 遺伝子変異が発見され、EGFR 変異肺癌患者での EGFR-TKI の極めて高い有効性が示唆されたことで、EGFR-TKI の開発状況は一変した。

患者選択を行った最初の第3相試験が、IPASS 試験である、IPASS 試験では、アジア人の非〜軽喫煙者肺腺癌

(EGFR 変異肺癌患者が多く含まれる臨床背景)を対象と して、一次治療薬としてのゲフィチニブとプラチナ併用 化学療法が比較された. EGFR 変異の有無で分けたサブ グループ解析において、EGFR 変異陽性群ではゲフィチ ニブの無増悪生存期間 (progression free survival: PFS) が有意に長く、変異陰性群ではゲフィチニブの PFS は有 意に短いことが示され、EGFR-TKIs の治療効果予測因 子としての EGFR 変異の意義が確立された. また, 2009 年には本邦 EGFR 変異肺癌患者のみを対象としたふた つの第3相試験(WJTOG3405 試験および NEJ002 試験) の結果が報告され、ゲフィチニブが一次治療においてプ ラチナ併用化学療法を大きく上回る PFS をもたらすこ とが示された(EGFR-TKIs の治療効果予測因子として, EGFR fluorescence *in situ* hybridization: FISH 陽性と EGFR 変異陽性のどちらが優れているかという大きな論 争もあったが、本稿では割愛する). このため、2011年に ゲフィチニブの添付文書は改訂され、適応症は「EGFR 遺伝子変異陽性の手術不能又は再発非小細胞肺癌」とな り、EGFR 変異肺癌患者に対しては一次治療薬としても 投与できることとなった.

ふたつめの第1世代 EGFR-TKI が, エルロチニブである. エルロチニブもゲフィチニブと同様, 当初は患者選択なく臨床試験が行われていたが, 患者選択を行わな

かった第3相試験(BR.21 試験)においてもプラセボと比較して全生存における有用性が示されたため、非小細胞肺癌全体を適応症として2007年に本邦でも承認された、このため、肺癌診療ガイドラインにおいても、「EGFR遺伝子変異とALK遺伝子転座陰性もしくは不明の非扁平上皮癌」・「扁平上皮癌」の二次治療以降(PS0~2)において、エルロチニブ単剤の投与を行うことを考慮してもよい(グレードC1)とされている。

一方、EGFR 変異肺癌患者を対象として1次治療としてのエルロチニブをプラチナ併用化学療法と比較した第3相試験もふたつ行われ(OPTIMAL 試験およびEURTAC 試験)、エルロチニブのPFS は殺細胞性抗癌剤のそれを大きく上回った。本邦でも単アームの第2相試験(JO22903 試験)により、EGFR 変異肺癌患者における一次治療としてのエルロチニブの高い有効性が示された。3このため、エルロチニブも2013年には、「EGFR遺伝子変異陽性の切除不能な再発・進行性で、癌化学療法未治療の非小細胞肺癌」に対する効能・効果追加の製造販売承認を得た。

第1世代 EGFR-TKI に対する獲得耐性機序の探索

第1世代 EGFR-TKI の臨床応用は、EGFR 変異肺癌患者の治療成績向上および生存期間の延長をもたらしたと同時に、EGFR-TKI 獲得耐性の克服という新たな課題をつきつけることとなった。EGFR-TKI 獲得耐性に関わる分子機序の探索は世界中で精力的に行われ、①EGFR の二次変異(T790M 変異)、4②MET 遺伝子増幅、③ERBB2 遺伝子増幅、④小細胞肺癌への形質転換、⑤hepatocyte growth factor (HGF) の過剰発現、⑥上皮間葉転換、⑦PIK3CA 変異/PTEN 発現低下などが次々と報告された、5

これらの獲得耐性機序のうち、最も頻度の高いものがT790M二次変異である。高感度法で解析すると、EGFR-TKI 獲得耐性症例の68%にT790Mが存在するとの報告もある。6T790M二次変異による獲得耐性は、第1世代EGFR-TKIと標的分子間の、ATPと比べての相対的な親和性が低下しただけであり、癌細胞のEGFRへの依存性は保たれている(siRNAを用いたEGFRノックダウンには感受性を有している)。このため、T790M変異を有するEGFRとも効率的に結合できるEGFR-TKIsの開発が精力的に進められた。

第2世代 EGFR-TKI の開発・臨床応用

T790M を克服すべくまず開発された薬剤が, 不可逆的 EGFR-TKIs (第2世代 EGFR-TKIs) である. 第2世代 EGFR-TKIs は、ゲフィチニブやエルロチニブが ATP と競合的に EGFR に結合するのに対し、共有結合によっ

て EGFR C797(797 番目のシステイン残基)と不可逆的 に結合することができる薬剤である. これにより, 野生型 EGFR・感受性変異のみの変異 EGFR・T790M 変異 を有する EGFR のいずれとも結合し, その活性化を阻害する(*in vitro* データによると, 結合しやすさはそれぞれ 異なる).

第2世代 EGFR-TKI の中で最初に臨床応用された薬剤が、アファチニブである。もともとは T790M 変異を克服できる薬剤として期待されていたが、第1世代 EGFR-TKI 獲得耐性患者を対象とした Lux-Lung 1 試験によりこの効果は否定された。アファチニブは T790M 変異を有する EGFR よりさらに野生型 EGFR を強く阻害することが、失敗の原因と考えられる。

しかし、1次治療としてアファチニブをプラチナ併用化学療法と比較したふたつの第3相試験(Lux-Lung3 および Lux-Lung6試験)の結果、アファチニブのPFSは化学療法のそれを有意に上回ることが示され、2014年に本邦でもEGFR変異肺癌の治療薬として承認された。また、EGFRエクソン18変異を含む稀なEGFR変異肺癌患者におけるアファチニブの有用性も示された。7さらに前述のふたつの第3相試験の総合解析において、EGFRエクソン19欠失変異を有する患者では、アファチニブ群の全生存期間(overall survival:OS)が化学療法群のそれを有意に上回ることが示された。8一方、L858R変異を有する患者については、有意差はないものの化学療法が上回る傾向が示されている。

アファチニブとゲフィチニブを直接比較した Lux-Lung 7 試験の結果では、9.10 PFS ではアファチニブ群がゲフィチニブ群を有意に上回ったものの、OS データでは両群間に有意差はなかった。この試験は第 2b 相試験であり、またプライマリーエンドポイントが PFS における優越性ではないことも、解釈を困難にしている点である。現時点では EGFR-TKI の選択は、患者の全身状態やEGFR 変異の種類、副作用プロファイルなどを総合的に判断して決定すべきと考えられる。

ふたつめの第2世代 EGFR-TKI がダコミチニブである. 最近, ふたつのランダム化試験の EGFR 変異陽性群 (サブグループ)を統合解析した結果が報告され, ダコミチニブはエルロチニブと同程度の治療効果を有すること, EGFR エクソン 19 欠失変異患者において(アファチニブと同様), より高い治療効果が期待できることが示唆された. 11 しかし, ダコミチニブに臨床応用に値する治療効果があるか否かは, ダコミチニブと第1世代 EGFR-TKI の直接比較(ARCHER 1050 試験など)の結果を待つほかはない.

第3世代 EGFR-TKI の開発・臨床応用

T790M 変異を有する EGFR をさらに強力に抑制すべく開発されたのが T790M 特異的 EGFR-TKIs (第 3 世代 EGFR-TKIs) であり、2009 年に Zhou らによって初めて報告された. 12 これらの薬剤は変異型 EGFR や T790M を獲得した変異型 EGFR に対する親和性が高く、野生型 EGFR に対する親和性が低くなるように設計されている

第3世代 EGFR-TKIs の中で最も開発が進んでいる薬剤が、オシメルチニブである。EGFR-TKI 治療後に増悪をきたした T790M 陽性 EGFR 変異肺癌患者を対象とした第3相試験 (AURA 3 試験) において、13 オシメルチニブはプラチナ/ペメトレキセド併用療法をはるかに凌駕する PFS を示し(ハザード比: 0.30)、この患者群における治療薬としての地位を不動のものとした (2016 年に本邦でも承認済みであり、肺癌学会ガイドラインでも推奨度 A)。

一方、オシメルチニブを一次治療薬として用いる試み も進められている. ふたつの phase 1 試験においてオシ メルチニブを一次治療として投与された患者データの解 析では、極めて長い PFS (160 mg 群で 19.3 ヶ月、80 mg 群で未到達)が報告されており、14 現在進行中の第3相 試験(FLAURA 試験)の結果が待たれる。オシメルチニ ブを一次治療で用いるのと、第1または第2世代 EGFR-TKI 治療後に (T790M 陽性となった場合に) オシメルチ ニブを用いるのとで、どちらが長い OS が得られるのか に注目が集まっている。オシメルチニブと競合して開発 が進められていた第3世代 EGFR-TKI であるロシレチ ニブはすべての開発計画が中止となったものの.15 現在 もオシメルチニブ以外にも多数の第3世代 EGFR-TKIs が開発中である(ASP8273, EGF816, PF-06747775, avitinib など). これらの薬剤が臨床応用されるか否かは、オ シメルチニブを超える有用性が示せるかどうかにかかっ ている.

第4世代?EGFR-TKI について

第 3 世代 EGFR-TKI (オシメルチニブおよびロシレチニブ) に対する獲得耐性の出現もほぼ必発であることが明らかとなっている. 主な獲得耐性機序のひとつとして、さらなる EGFR 変異 (C797S 変異) が報告されており、 16 T790M 変異と C797S 変異の両者があっても EGFR キナーゼ活性を阻害できる EGFR-TKI の開発も始まっている. 17 C797S 変異は、第 2 世代 EGFR-TKI であるアファチニブに対する耐性機序としても報告されているが、T790M 変異がなく C797S 変異のみがある場合は、第 1 世代 EGFR-TKI が有効であると考えられている. 18

EGFR-TKI と化学療法の併用療法の可能性

EGFR-TKI そのものの発展のみならず、EGFR-TKI を主軸とした併用療法により EGFR 変異肺癌患者の予後を改善する試みもなされている。併用療法のひとつとして、EGFR-TKI と殺細胞性抗癌剤との併用が挙げられる。殺細胞性抗癌剤は、EGFR-TKI 耐性機序の有無に関わらず癌細胞を攻撃すると考えられており、EGFR-TKI 治療により EGFR-TKI 耐性機序を有する細胞が選択的に増殖するのを"回避"できる可能性がある(EGFR-TKI 単剤療法の耐性獲得後に EGFR-TKI と化学療法剤を併用する試みが有用でないことは、IMPRESS 試験で示された19)。

本邦 EGFR 変異肺癌患者を対象とした第2相試験は既に結果が報告されており、PFS や OS はこれまでの EGFR-TKI 単剤を用いた第3相試験のそれを上回り、想定外の重篤な副作用は認めなかった. ^{20,21} しかしこれらの EGFR-TKI と化学療法剤の併用療法が標準治療となるためには、EGFR-TKI 単剤との比較試験(NEJ009 試験および JCOG1404/WJOG8214L 試験など)で OS における優越性を示す必要がある.

近年の癌免疫療法に対する大きな関心を背景に、 EGFR-TKIs と免疫治療薬との併用療法についても数多 くの臨床試験が組まれているが、現時点では議論可能な データは報告されていない。

耐性機序を標的とした併用療法の可能性

一方、主に EGFR 変異肺癌細胞株を用いた基礎的検討 より、EGFR-TKI 単剤治療時に癌細胞が生き残る分子機 序も徐々に明らかとなっている.22 これらの機序は.① 治療前よりごくわずかに存在する耐性細胞. ②可逆的な 薬剤寛容状態. ③癌細胞周囲の微小環境. に大別される. ①の代表例が、EGFR-TKI 治療前よりごくわずかな割合 で存在する T790M 陽性細胞の存在である。治療前の本 邦 EGFR 変異肺癌検体 373 例を超高感度法で解析した 最近の報告によると、79.9%で T790M 変異が検出され た.23 これらの EGFR-TKI 治療前からごくわずかな割 合で存在する T790M 陽性細胞が、T790M による獲得耐 性が高頻度で起こること(~50%), および上述したオシ メルチニブー次治療の高い治療効果の理由のひとつと考 えられる. 一方, T790M のような耐性機序を有さない癌 細胞であっても、EGFR-TKI 曝露時に他の増殖・生存シ グナルの活性化により細胞死を免れることが、細胞株レ ベルの検討で知られている(②). これらの増殖・生存シ グナルとして、IGF-1R、NF-κB、STAT3、Wnt/betacatenin, Hippo-YAP シグナルなどが報告されている. ③ 微小環境の役割としては、癌細胞周囲の線維芽細胞から

の生存シグナル (HGF や Hedgehog シグナル) や癌周囲の poor vascularization などが挙げられる. 実際, 癌周囲の poor vascularization を改善すると考えられているベバシズマブとエルロチニブの併用療法は、本邦で行われた第2相試験により, 24 EGFR-TKI 単剤療法をはるかに上回る PFS が示されている.

癌細胞と同様、高い可塑性を有する HIV ウイルスや HCV ウイルス、結核菌の治療においては、初回治療より 複数の作用機序の異なる薬剤を組み合わせる (upfront polytherapy) ことにより、良好な治療成績が報告されている. EGFR 変異肺癌においても、上述した TKI 耐性に 関わる因子を抑制する薬剤と EGFR-TKI を初回治療で 併用する試みが EGFR 変異肺癌の有望な治療戦略のひとつとなると考えられるが、どの因子がより重要なのかなど、今後明らかとすべき課題は多い.

おわりに

EGFR-TKIs は、EGFR 変異肺癌細胞の増殖・生存の根幹を攻撃する画期的な治療薬である。しかし癌の heterogeneity や癌細胞の可塑性により、EGFR-TKI の承認より 15 年が経とうとしている現在でも、EGFR 変異肺癌の根治は未だ不可能である。今後、さらなる EGFR-TKIs の開発や併用療法の開発・臨床応用により、EGFR 変異肺癌患者のさらなる予後改善が期待されている。

本論文内容に関連する著者の利益相反:光冨徹哉 [講演料など]アストラゼネカ(株), [寄付金]ベーリンガーインゲルハイムジャパン(株)

REFERENCES

- Hirsch FR, Suda K, Wiens J, Bunn PA Jr. New and emerging targeted treatments in advanced non-smallcell lung cancer. *Lancet*. 2016;388:1012-1024.
- 2. EBM の手法による肺癌診療ガイドライン 2016 年版 悪性胸膜中皮腫・胸腺腫瘍含む. 第4版. 金原出版; 2016.
- Goto K, Nishio M, Yamamoto N, Chikamori K, Hida T, Maemondo M, et al. A prospective, phase II, open-label study (JO22903) of first-line erlotinib in Japanese patients with epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC). Lung Cancer. 2013;82:109-114.
- Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T, Jänne PA, Kocher O, Meyerson M, et al. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. N Engl J Med. 2005; 352:786-792.
- Suda K, Mizuuchi H, Maehara Y, Mitsudomi T. Acquired resistance mechanisms to tyrosine kinase inhibitors in lung cancer with activating epidermal growth factor receptor mutation--diversity, ductility, and destiny. *Cancer Metastasis Rev.* 2012;31:807-814.
- 6. Arcila ME, Oxnard GR, Nafa K, Riely GJ, Solomon SB,

- Zakowski MF, et al. Rebiopsy of lung cancer patients with acquired resistance to EGFR inhibitors and enhanced detection of the T790M mutation using a locked nucleic acid-based assay. *Clin Cancer Res.* 2011;17:1169-
- Yang JC, Sequist LV, Geater SL, Tsai CM, Mok TS, Schuler M, 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;16:830-838.
- Yang JC, Wu YL, Schuler M, Sebastian M, Popat S, Yamamoto N, 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.
- 9. Park K, Tan EH, O'Byrne K, Zhang L, Boyer M, Mok T, 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;17:577-589.
- Paz-Ares L, Tan EH, O'Byrne K, Zhang L, Hirsh V, Boyer M, 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 [Epub ahead of print] doi: 10.1093/annonc/mdw611
- Ramalingam SS, O'Byrne K, Boyer M, Mok T, Janne PA, Zhang H, et al. Dacomitinib versus erlotinib in patients with EGFR-mutated advanced nonsmall-cell lung cancer (NSCLC): pooled subset analyses from two randomized trials. *Ann Oncol.* 2016;27:1363.
- Zhou W, Ercan D, Chen L, Yun CH, Li D, Capelletti M, et al. Novel mutant-selective EGFR kinase inhibitors against EGFR T790M. *Nature*. 2009;462:1070-1074.
- Mok TS, Wu YL, Ahn MJ, Garassino MC, Kim HR, Ramalingam SS, et al. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. N Engl J Med. 2017;376:629-640.
- 14. Ramalingam S, Yang JC, Lee CK, Kurata T, Kim DW, John T, et al. LBA1_PR: Osimertinib as first-line treatment for EGFR mutation-positive advanced NSCLC: updated efficacy and safety results from two Phase I expansion cohorts. *J Thorac Oncol.* 2016;11(Suppl):S152.
- http://www.onclive.com/web-exclusives/clovis-ends-de velopment-of-rociletinib-in-lung-cancer. 2016. Accessed at January 10, 2017.
- Thress KS, Paweletz CP, Felip E, Cho BC, Stetson D, Dougherty B, et al. Acquired EGFR C797S mutation mediates resistance to AZD9291 in non-small cell lung cancer harboring EGFR T790M. *Nat Med.* 2015;21:560-562.
- Jia Y, Yun CH, Park E, Ercan D, Manuia M, Juarez J, et al. Overcoming EGFR(T790M) and EGFR(C797S) resistance with mutant-selective allosteric inhibitors. *Nature*. 2016;534:129-132.
- Ercan D, Choi HG, Yun CH, Capelletti M, Xie T, Eck MJ, et al. EGFR Mutations and Resistance to Irreversible Pyrimidine-Based EGFR Inhibitors. Clin Cancer Res. 2015;

21:3913-3923.

- Soria JC, Wu YL, Nakagawa K, Kim SW, Yang JJ, Ahn MJ, et al. Gefitinib plus chemotherapy versus placebo plus chemotherapy in EGFR-mutation-positive nonsmall-cell lung cancer after progression on first-line gefitinib (IMPRESS): a phase 3 randomised trial. *Lancet Oncol.* 2015;16:990-998.
- Sugawara S, Oizumi S, Minato K, Harada T, Inoue A, Fujita Y, et al. Randomized phase II study of concurrent versus sequential alternating gefitinib and chemotherapy in previously untreated non-small cell lung cancer with sensitive EGFR mutations: NEJ 005 / TCOG 0902. Ann Oncol. 2015;26:888-894.
- 21. Kanda S, Horinouchi H, Fujiwara Y, Nokihara H, Yamamoto N, Sekine I, et al. Cytotoxic chemotherapy may overcome the development of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs) therapy. *Lung Cancer.* 2015;89:287-

293.

- 22. Suda K, Bunn PA Jr, Rivard CJ, Mitsudomi T, Hirsch FR. Primary Double-Strike Therapy for Cancers to Overcome EGFR Kinase Inhibitor Resistance: Proposal from the Bench. *J Thorac Oncol.* 2017;12:27-35.
- 23. Watanabe M, Kawaguchi T, Isa S, Ando M, Tamiya A, Kubo A, et al. Ultra-Sensitive Detection of the Pretreatment EGFR T790M Mutation in Non-Small Cell Lung Cancer Patients with an EGFR-Activating Mutation Using Droplet Digital PCR. Clin Cancer Res. 2015;21:3552-3560.
- 24. Seto T, Kato T, Nishio M, Goto K, Atagi S, Hosomi Y, et al. Erlotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (JO25567): an open-label, randomised, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2014:15:1236-1244.