

ORIGINAL ARTICLE

臨床現場におけるオンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システムの
実用性に関する後方視的検討

植松慎矢¹・水谷 萌¹・伊藤雅弘¹・高橋祥太¹・藤原直樹¹・
宮里和佳¹・青柳貴之¹・田戸宏樹²・嶋田俊秀²・西坂泰夫¹

A Retrospective Study of the Utility of the Oncomine™ Dx Target Test
in Clinical Practice

Shinya Uematsu¹; Megumi Mizutani¹; Masahiro Ito¹; Shota Takahashi¹; Naoki Fujiwara¹;
Waka Miyazato¹; Takayuki Aoyagi¹; Hiroki Tado²; Toshihide Shimada²; Yasuo Nishizaka¹

¹Department of Respiratory Medicine, ²Department of Pathology, Osaka Red Cross Hospital, Japan.

ABSTRACT — **Objective.** In recent years, many driver gene mutations and their corresponding molecular-targeted drugs have been approved for the treatment of advanced or recurrent non-small cell lung cancer. The Oncomine™ Dx Target Test (ODxTT), a gene panel test using a next-generation sequencer, has been approved for the simultaneous detection of multiple gene mutations. However, its practicality in clinical practice in a general hospital is unclear, so we verified the success rate of the test. **Methods.** We examined the submission rate of the ODxTT, the analysis success rate, and the detection rate of gene mutations in consecutive cases searched for driver gene mutations at our hospital from June 2020 to March 2021. **Results.** Fifty-four (65.1%) out of 83 patients underwent the ODxTT, and we successfully analyzed all tests in 52 patients (96.3%). Two cases with surgical specimens of brain metastases failed the RNA analyses, while the DNA analyses were successful. Among the 54 total tested patients, the ODxTT detected genetic mutations in 25 (46.3%). **Conclusion.** A total of 65.1% of the cases of genetic mutation search could be submitted to the ODxTT. More than 95% of them were successfully analyzed, and about half of them showed genetic mutations, suggesting that the test may be practical for general hospitals.

(JLCC. 2022;62:26-32)

KEY WORDS — Non-small cell lung cancer, Driver gene mutation, Gene panel test, Next-generation sequencer, Oncomine™ Dx Target Test

Corresponding author: Shinya Uematsu.

Received July 13, 2021; accepted September 18, 2021.

要旨 — **目的.** 近年、進行・再発非小細胞肺癌の治療において、多くのドライバー遺伝子変異とそれに対応する分子標的薬が続々と承認されている。多くの遺伝子変異を同時に検出する目的で、次世代シーケンサーを用いた遺伝子パネル検査であるオンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム (ODxTT) が承認されたが、一般市中病院の臨床現場における実用性は明らかでなく、検査成功率に関して検証した。**研究方法.** 2020年6月から2021年3月までに当院でドライバー遺伝子変異を検索した連続症例に関して、ODxTTの提出率、解析成功率、遺伝子変異検出率を検討した。**結果.** 全83症例の

うち ODxTT を提出された症例は 54 例 (65.1%)、54 例のうちすべての解析が成功した症例は 52 例 (96.3%) であった。54 例のうち遺伝子変異を 25 例 (46.3%) に検出した。**結論.** ODxTT は遺伝子変異検索症例の 65.1% で提出可能で、提出症例では 95% 以上で解析が成功し、約半数に遺伝子変異を認めており、一般市中病院でも実用性のある検査である可能性が示唆された。

索引用語 — 非小細胞肺癌、ドライバー遺伝子変異、遺伝子パネル検査、次世代シーケンサー、オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム

目 的

非小細胞肺癌の多くは進行した状態で診断され、予後不良な疾患である。進行・再発非小細胞肺癌の標準治療は薬物療法であるが、2004年にEGFR遺伝子変異進行・再発非小細胞肺癌に対するEGFRチロシンキナーゼ阻害薬 (tyrosine kinase inhibitor : TKI) の有効性が報告されたのを皮切りに、¹ 2012年にはALK融合遺伝子に対する阻害薬が本邦で薬事承認され、² その後もROS1融合遺伝子、BRAF V600E変異、NTRK融合遺伝子、MET exon14 skipping変異に対する分子標的薬が承認されている。³⁻⁶ このように様々なドライバー遺伝子変異に対する分子標的薬が登場したことにより非小細胞肺癌の予後は大きく改善しており、⁷ 肺癌診療ガイドライン2020年版では、進行・再発非小細胞肺癌の治療開始前に、EGFR変異、ALK融合遺伝子、ROS1融合遺伝子、BRAF V600E変異、NTRK融合遺伝子、MET exon14 skipping変異の遺伝子検査およびPD-L1免疫組織化学染色検査を行うことが提案・推奨されている。⁸ 本邦においてこれらの分子標的薬を使用するためには、各々の薬剤に対して承認されたコンパニオン診断薬を用いての検査が必要である。EGFR-TKIに対するコンパニオン診断薬としては、各薬剤に応じてコバス® EGFR変異検出キットv2.0やtherascreen® EGFR変異検出キットが承認されており、ALK-TKIに対してはヒストファイブ ALK iAEP®キットやVysis® ALK Break Apart FISHプローブキットなど、ROS1、BRAF、METに対しても同様に別々のコンパニオン診断薬を用いた検査を行う必要がある。最適な治療方針決定のためにはこれらの遺伝子変異の有無の確認が必要となるが、各々のシングルプレックス検査を行うためには多くの組織量が必要となる。そのため、組織量不足などの理由で、遺伝子変異の頻度が比較的高いEGFR変異、ALK融合遺伝子以外のドライバー遺伝子の検索は行われないう傾向にあることが報告されている。⁹ 2019年6月に、次世代シーケンサー (next-generation sequencer : NGS) を用いて複数の遺伝子を同時に解析するマルチプレックス検査である遺伝子パネル検査が本邦において保険収載され、実地臨床で使用可能となった。特にオンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム (ODxTT) は、DNA・RNA上の46遺伝子の変異を同時に検出する遺伝子パネルで、EGFR変異、ALK融合遺伝子、ROS1融合遺伝子、BRAF V600E変異に対するコンパニオン診断薬の承認を得たことに加えて、医師からの申請があればMET exon14 skipping変異などを含む42の遺伝子変異に関する情報も、研究目的の参考情報として返却される。その42の遺伝子変異の中には、MET exon14 skipping変異以外にも、治療標的として分子標的

薬の開発が進んでいるHER2変異、KRAS G12C変異、RET融合遺伝子なども含まれている。¹⁰ 個別のシングルプレックス検査を多数行うよりも少ない組織量でEGFR変異、ALK融合遺伝子、ROS1融合遺伝子、BRAF V600E変異に対する治療薬のコンパニオン診断を行うことができることに加えて、新規の治療標的となるドライバー遺伝子を検出できることから、ODxTTの実地臨床での有効活用が今後ますます重要になると予想される。

ODxTTは他の遺伝子パネル検査 (FoundationOne® CDx, OncoGuide™ NCC オンコパネル) と異なり、施設基準は設けられておらず、コンパニオン診断目的に実地臨床で施行できる。一方で、ODxTTを実地臨床で行う際にはいくつかの問題点がある。1つ目は腫瘍組織の問題で、多数のシングルプレックス検査を提出する場合よりは組織量が少なく済むものの、各々のシングルプレックス検査よりは組織量が多く必要であり、さらにEGFRなどのPCR検査と異なり、NGS検査では腫瘍含有割合の高い検体が必要となる。¹¹ 2つ目は結果返却までの時間 (turnaround time : TAT) の問題で、EGFRなどのPCR検査やALKの免疫染色などのシングルプレックス検査と比較して、ODxTTではTATが長いことが懸念される。¹² これらの問題点などから、実地臨床でのODxTTの有効性に関しては不明な点が多かったが、ODxTTの承認から1年以上経過し、本邦から複数の報告がされてきている。¹³⁻¹⁵ ODxTTはEGFR、ALKのシングルプレックス検査よりも検査成功率に劣るため、これまでよりも大きなサイズの検体を採取する必要があり、¹³ 組織中の腫瘍含有割合や、腫瘍のサイズがODxTTの検査成功率に影響することが報告されている。^{14,15} しかしながら、これらはすべてががん専門病院からの報告であり、充実した気管支鏡検査などの検査環境や、肺癌病理を専門とする病理医の常在など、ODxTTの施行体制に恵まれた病院からの報告であり、一般市中病院において同様に施行可能であるかは不明である。さらに、ODxTTに提出した検体の解析成功率以外に、ODxTTの対象となる症例のうち実際に検体を提出し解析が成功する症例の割合に関する報告は少ない。¹³

本研究では、一般市中病院である当院の実地臨床におけるODxTTの解析成功率に関して検証した。ドライバー遺伝子変異の検索を要する進行・再発非小細胞肺癌症例のうち、実際にODxTTでの解析が成功した症例の割合を明らかにし、実地臨床でのODxTTの有効性を検討した。

研究方法

本研究は、当院においてODxTTの検査依頼が可能と

Table 1. Characteristics of All Patients and Patients Analyzed with the ODxTT

Characteristics	All patients	Analyzed with ODxTT
	n = 83	n = 54
Age (median, range)	72 (36-90)	72 (51-88)
Sex (male/female)	54/29	39/15
Smoking status (never/ex-current)	16/67	8/46
Stage (I-II/III/IV/recurrent)	2/21/44/16	2/14/24/14
Pathology (Ad/Sq/other)	47/21/15	28/13/13
Sample type		
Surgical resection	23	22
CNB	8	2
TBB	23	14
EBUS-GS	19	13
EBUS-TBNA	6	3
Pleural effusion	4	0

ODxTT, Oncomine™ Dx Target Test; Ad, adenocarcinoma; Sq, squamous; CNB, core needle biopsy; TBB, transbronchial biopsy; EBUS-GS, endobronchial ultrasonography with a guide sheath; EBUS-TBNA, endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration.

なった。2020年6月から2021年3月までに進行・再発非小細胞肺癌と診断し、ドライバー遺伝子変異を検索した連続症例を対象とする、単施設後ろ向きコホート研究である。

病理診断のための検体採取方法は、手術（肺、リンパ節）、エコー・CTガイド下針生検（画像ガイド下針生検）、通常鉗子による経気管支生検（transbronchial biopsy: TBB）、ガイドシースを用いた気管支腔内超音波断層法（endobronchial ultrasonography with a guide sheath: EBUS-GS）によるTBB、超音波気管支鏡ガイド下針生検（endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: EBUS-TBNA）、その他（胸水細胞診検体）であった。手術以外での検体採取は、画像ガイド下針生検は18ゲージ（gauge: G）針を用いて2回、TBBは2.0 mm 鉗子を用いて5回、EBUS-GSは1.5 mm 鉗子を用いて10回、EBUS-TBNAは21 Gまたは22 G 針を用いて3回を目安に行った。

生検・細胞診検体は病理医が評価し、他院採取検体も当院で再評価した。非小細胞肺癌と診断された症例では、担当医から病理医へ追加評価の依頼を行い、パラフィン包埋ホルマリン固定（formalin-fixed paraffin-embedded: FFPE）標本を事前検討しODxTTに提出可能と判断されれば、解析する46遺伝子の情報を研究目的で利用することについても患者に説明し、同意を得た上で提出した。FFPE標本は5 μmの厚さで作成し、「腫瘍細胞2000個以上、腫瘍細胞含有率30%以上」を満たすように、15枚を目安に10～20枚の範囲で提出した。腫瘍細胞含有率が低いFFPE検体は、日本肺癌学会作成の手引きを参考に、腫瘍部分をマーキングして提出し、過去検

体は基本的に3年以内に作成されたFFPE検体を用いた。¹² 株式会社エスアールエルにODxTT検査の施行を委託し、保険診療の範囲内で行った。

ドライバー遺伝子変異検索を行った症例を「遺伝子変異検索症例」、ODxTTの提出を検討した症例を「ODxTT対象症例」、実際に検体を提出した症例を「ODxTT提出症例」、解析がすべて成功した症例を「ODxTT解析成功症例」と定義した。

本研究の主要評価項目は「ODxTT解析成功率」=「ODxTT解析成功症例数/ODxTT提出症例数」とし、その他に「ODxTT提出率」=「ODxTT提出症例数/遺伝子変異検索症例数」、検体採取方法別の解析成功率、検出した遺伝子変異の組織型別の内訳、TAT（オーダーから結果返却までの日数）などの評価も行った。

本研究は大阪赤十字病院倫理審査委員会承認され（J-0254）、匿名化データを用いた後ろ向き観察研究のため、インフォームドコンセントの取得は不要であった。

結 果

遺伝子変異検索症例は83例で、患者背景はTable 1に示す通りであった。検体採取方法は、手術: 23例、画像ガイド下針生検: 8例、TBB: 23例、EBUS-GS: 19例、EBUS-TBNA: 6例、胸水細胞診: 4例であった。そのうち過去検体は10例で、検体採取方法は手術: 8例、EBUS-GS: 2例であった。

83例のうち、臨床上的理由（治療を急ぐ: 9例、担当医判断: 7例、ODxTT供給停止中: 4例、細胞診検体のみ: 4例）がなく、ODxTT対象症例であったものは59例であった。59例の検体採取方法は、手術: 22例、画像

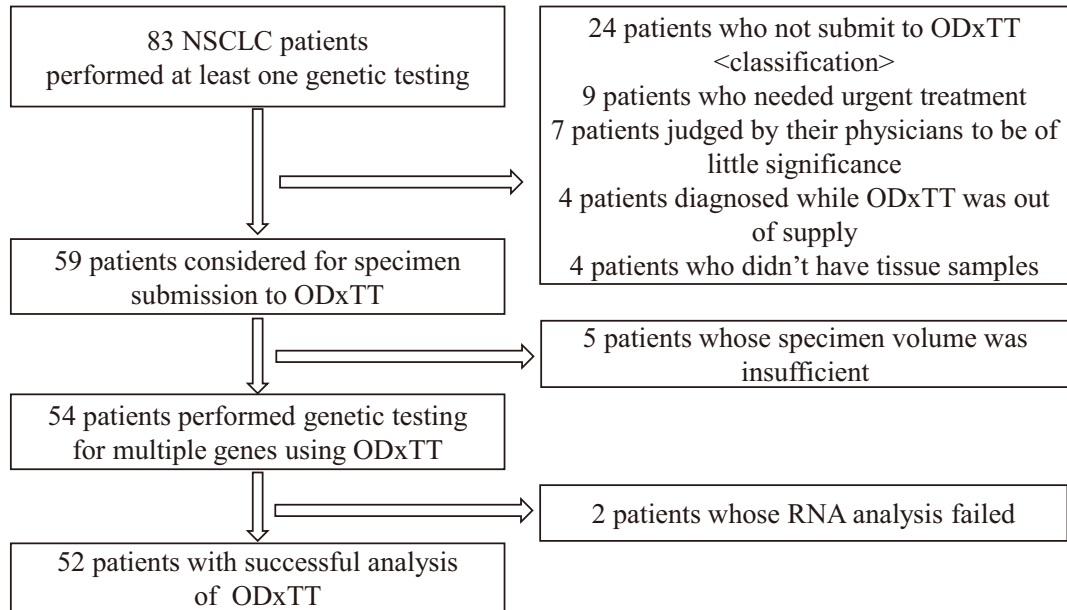


Figure 1. Consort diagram for the Oncomine™ DX Target Test. NSCLC, non-small cell carcinoma; ODxTT, Oncomine™ DX Target Test.

ガイド下針生検：2例，TBB：16例，EBUS-GS：14例，EBUS-TBNA：5例であった。そのうちODxTTに提出するには検体量不足と判断した症例は，TBB：2例，EBUS-GS：1例，EBUS-TBNA：2例であり，検体採取方法別にみた検体量が十分であった症例の割合は，手術：100%，画像ガイド下針生検：100%，TBB：87.5%，EBUS-GS：92.9%，EBUS-TBNA：60%であった。

ODxTT対象症例の59例のうち，検体量不足の5例を除いた54例がODxTT提出症例であり，そのうちODxTT解析成功症例は52例であった。ODxTTの解析が不成功であった2例はともに脳転移病変の手術検体で，DNA解析は成功したものの，RNAの質不良のため解析不能であった。過去検体の保存期間の中央値は548(251～1331)日で，1例のみ保存期間が3年を超えていたが解析可能であった。

ODxTT提出率は65.1%で，主要評価項目であるODxTT解析成功率は96.3%，解析成功に至るコンソートダイアグラムはFigure 1に示す通りであった。検体採取方法別のODxTT解析成功率は，手術検体で90.9%(20/22例)であったが，それ以外の画像ガイド下針生検，TBB，EBUS-GS，EBUS-TBNAでは100%であった。ODxTTの解析不成功の2例もDNAの解析は成功しており，ODxTTに提出した54例のうち，遺伝子変異を検出した症例は25例で，検出率は46.3%であった。組織型別の遺伝子変異検出率は，腺癌：57.1%(28例中16例)，扁平上皮癌：30.8%(13例中4例)，その他の組織型：38.5%(13例中5例)で，遺伝子変異の内訳はFigure 2

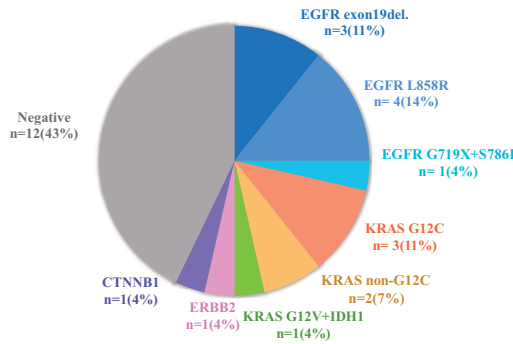
に示す通りであった。ODxTTのTATの中央値は12.5(8～18)日であった。

考 察

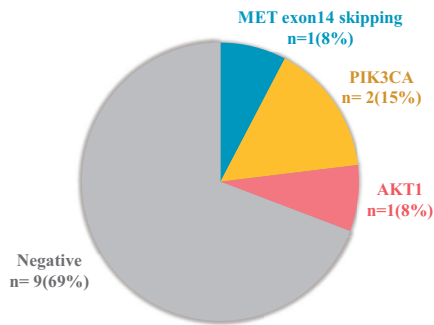
本研究では，一般市中病院の実地臨床におけるODxTTの解析成功率を検証した。遺伝子変異検索が必要な進行・再発非小細胞肺癌症例において，事前に病理部で検体提出基準を満たすか検討することで，ODxTT解析成功率が95%を超えることを示した。さらにODxTTで解析を行うことで，EGFR/ALK/ROS1/BRAF以外の遺伝子も含めて，約半数の症例で何らかの遺伝子変異を検出することが示された。

遺伝子変異が必要な症例(83例)のうち，最終的にODxTTの解析が成功した症例(52例)の割合は62.7%と既報と同様に低かったが¹³，実地臨床においてODxTTの提出ができなかった理由の詳細を検討した研究は少なく，本研究の結果からその理由を検討することで，今後のODxTTの有効活用に向けての改善点を明らかにすることが期待される。本研究では，ODxTT不提出の症例(29例)のうち，治療を急ぐためにODxTTのTATが待てない症例，ODxTTが供給停止中であった症例，胸水細胞診検体しか採取できない症例といった，臨床現場の工夫では改善しがたい症例が17例と多く含まれていた。それらの症例を除いた12例のうち，重喫煙歴のある扁平上皮癌の症例などの遺伝子変異の検出が期待しがたい症例や，間質性肺炎を合併した症例などの遺伝子変異を検出しても分子標的薬を投与しづらい症例であ

(A) Adenocarcinoma (n=28)



(B) Squamous cell carcinoma (n=13)



(C) Others (n=13)

NOS (n=6), LCNEC (n=2), adenosquamous (n=1), large cell carcinoma (n=1), favor adeno (n=2), favor squamous (n=1)

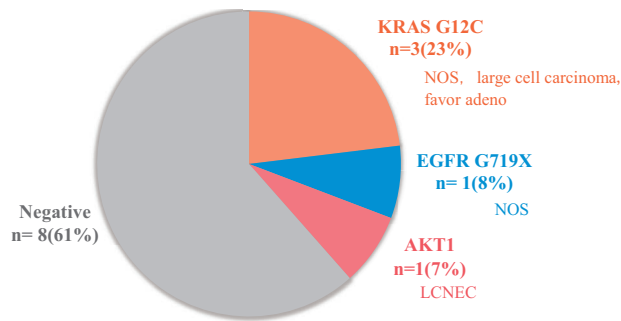


Figure 2. Details of genetic mutations detected by the Oncomine™ DX Target Test by tissue type. ODxTT, Oncomine™ DX Target Test; NOS, not otherwise specified; LCNEC, large cell neuroendocrine carcinoma.

ると担当医が判断した症例が7例あったが、BRAF 変異や MET exon14 skipping 変異など、喫煙や組織型に関わらず発現を認める遺伝子変異もあり、非小細胞肺癌では

患者背景や組織型に関わらず、ODxTT の提出を検討することを啓蒙する必要があるかもしれない。^{16,17} また、検体量不足のため ODxTT を提出できなかった

症例が5例あり、手術および画像ガイド下針生検では全例で ODxTT の提出基準に足る検体量であった一方で、TBB, EBUS-GS, EBUS-TBNA では検体量が不足し ODxTT に提出できない症例があった。TBB, EBUS-GS, EBUS-TBNA といった気管支鏡検査で採取する小さな生検検体に関しては、1 mm² 以上の腫瘍表面積を満たす検体や、¹⁴ 4 mm² 以上の腫瘍サイズかつ 20% 以上の腫瘍細胞割合を満たす検体で NGS の解析成功率が高くなるという報告があるが、¹⁵ これらは ODxTT 提出前の病理での検討で判明する内容であり、気管支鏡検査時点では不明である。TBB, EBUS-GS に関しては NGS に最適な検体採取回数に関する報告はほとんどないが、当院では「TBB: 2.0 mm 鉗子で 5 回, EBUS-GS: 1.5 mm 鉗子で 10 回」という生検回数の目安を設けることで、検体提出率は TBB: 87.5%, EBUS-GS: 92.9% で、提出検体の解析成功率はともに 100% という高い結果を得ることができた。TBB で検体量不足であった 2 例はともに検体中の壊死部分が多いため腫瘍量が少なく、EBUS-GS で検体量不足であった 1 例は、気管支鏡でのアプローチが難しく、採取した組織自体が少量であった。肺内病変に対する TBB, EBUS-GS に関してさらに検体提出率を高める方法としては、近年ではクライオバイオプシーの有用性が報告されているが、¹⁸ 現時点では限られた施設でしか使用できないデバイスである。特別なデバイスのない多くの施設で、肺内病変から ODxTT の解析成功に足る検体を提出するためには、上記基準を参考に症例に応じて検体採取回数をさらに増やすことや、事前に PET 検査を行い FDG 集積の強い部位を確認して組織採取を行うなどの工夫が考えられる。さらには肺内病変以外に FDG 集積が強い部位があれば他科と連携を行って検体採取を依頼するなどの工夫も考えられる。EBUS-TBNA での検体では、提出した検体の解析成功率は 100% であったが、ODxTT に提出できた症例は 60% と低い結果であった。

当院では EBUS-TBNA では 21 G または 22 G 針を用いて 3 回を目安に生検を行っていたが、十分な NGS 解析を行うためには 4~6 回の生検が必要という報告もあり、¹⁹ 穿刺回数を増やすことで検体提出率を向上させられる可能性がある。

上記のように ODxTT 対象症例の 59 例のうち、ODxTT 提出症例が 54 例と約 1 割の症例で検体量不足であった一方で、ODxTT 解析成功率は 96.3% と高く、検体を提出したほとんどの症例で解析が成功していた。採取検体のホルマリン固定時間の厳密化、ODxTT オーダー前の呼吸器内科医と病理部での検体適正に関する事前検討、検体の腫瘍含有割合や腫瘍量を上げるために切片数を増やすなどの病理部での工夫により、高い解析成功率が得られたと考えられる。^{12,20} さらに画像ガイド下

針生検だけでなく、気管支鏡検体 (TBB, EBUS-GS, EBUS-TBNA) でも解析成功率が 100% であり、微小検体であっても病理部で検体を事前に評価して提出することで高い解析成功率となることが示された。一方で手術検体の解析成功率は 9 割程度であり、解析不成功の 2 症例はともに脳転移病変の手術検体で、両方とも RNA のみ解析不能であった。うち 1 例は他院手術検体で詳細は不明であるが、残りの 1 例は当院の手術検体で、検体摘出からホルマリン固定までの時間が、「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」で推奨されている 3 時間を超えており、RNA の量・質不良に影響を与えたと推測された。²⁰ ODxTT に提出が予想される症例は、手術検体の取扱いに関して担当医と外科医で協議することで、NGS 解析に適した検体とすることができるであろう。

最終的に ODxTT に提出した症例の遺伝子変異検出率は 46.3% であり、組織型別では腺癌で半数以上と最も割合が高いものの、扁平上皮癌やその他の組織型でも 3 割以上の割合で検出された。腺癌以外の組織型でも、扁平上皮癌で MET exon14 skipping 変異、大細胞癌で KRAS G12C 変異、not otherwise specified (NOS) で KRAS G12C 変異や EGFR 変異といった、現時点や近い将来に治療標的となる分子標的薬が登場する遺伝子変異も検出しており、^{6,21} 組織型に関わらず ODxTT を提出することで、治療機会を逸することがないようにしたい。また実地臨床での TAT の中央値は既報とほぼ同様で、コバス® EGFR 変異検出キット v2.0 やヒストファイン ALK iAEP®キットといった EGFR や ALK のコンパニオン診断検査よりも TAT が長い。¹³ しかし、各ドライバー遺伝子変異に対する分子標的薬が次々と開発されている現状において、ODxTT を行わずに EGFR, ALK のシングルプレックス検査のみでの治療方針の決定は、頻度は稀でも分子標的治療が可能な症例に対する治療機会を逸することにつながる。本研究においても、遺伝子変異検索症例の 83 例のうち、治療を急ぐため ODxTT の TAT が待たずにシングルプレックス検査で遺伝子変異検索を行った症例が約 1 割に存在しており、このような症例の割合を少なくするためには、臨床医としては初診時から ODxTT の提出を念頭に迅速に検査を進めることが求められる。

本研究の限界としては、単施設の後ろ向き研究で、検体採取方法や病理での組織の評価方法が画一化されていないことが挙げられるが、これらをマニュアル化することにより、今後 ODxTT を広く多くの施設で普及させられる可能性がある。

結 語

「腫瘍細胞 2000 個以上、腫瘍細胞含有率 30% 以上」を

満たす検体を提出すれば、ODxTT解析成功率は96.3%であることが判明し、一般市中病院であっても、ODxTTを活用することで遺伝子変異に基づく最適な治療選択に寄与できる可能性が示された。検体採取方法を工夫することで、さらにODxTTへの検体提出率を高められる可能性がある。

本論文内容に関連する著者の利益相反：なし

REFERENCES

1. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004;304:1497-1500.
2. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, Wu YL, Nakagawa K, Mekhail T, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*. 2014;371:2167-2177.
3. Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, Camidge DR, Solomon BJ, Salgia R, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2014;371:1963-1971.
4. Planchard D, Besse B, Groen HJM, Souquet PJ, Quoix E, Baik CS, 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;17:984-993.
5. Farago AF, Le LP, Zheng Z, Muzikansky A, Drilon A, Patel M, et al. Durable Clinical Response to Entrectinib in NTRK1-Rearranged Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2015;10:1670-1674.
6. Paik PK, Felipe E, Veillon R, Sakai H, Cortot AB, Garassino MC, et al. Tepotinib in Non-Small-Cell Lung Cancer with MET Exon 14 Skipping Mutations. *N Engl J Med*. 2020;383:931-943.
7. Takano N, Ariyasu R, Koyama J, Sonoda T, Saiki M, Kawashima Y, et al. Improvement in the survival of patients with stage IV non-small-cell lung cancer: Experience in a single institutional 1995-2017. *Lung Cancer*. 2019;131:69-77.
8. 日本肺癌学会, 編集. 肺癌診療ガイドライン 2020 年版. 金原出版; 2020.
9. Shimizu J, Masago K, Saito H, Nishino K, Kurata T, Itoh Y, et al. Biomarker testing for personalized, first-line therapy in advanced nonsquamous non-small cell lung cancer patients in the real world setting in Japan: a retrospective, multicenter, observational study (the BRAVE study). *Ther Adv Med Oncol*. 2020;12:1758835920904522.
10. König D, Savic Prince S, Rothschild SI. Targeted Therapy in Advanced and Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. An Update on Treatment of the Most Important Actionable Oncogenic Driver Alterations. *Cancers*. 2021;13:804.
11. Jennings LJ, Arcila ME, Corless C, Kamel-Reid S, Lubin IM, Pfeifer J, 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;19:341-365.
12. 日本肺癌学会, 編集. 肺癌患者における次世代シーケンサーを用いた遺伝子パネル検査の手引き. 第 1.1 版. 2019.
13. Ariyasu R, Uchibori K, Ninomiya H, Ogusu S, Tsugitomi R, Manabe R, et al. Feasibility of next-generation sequencing test for patients with advanced NSCLC in clinical practice. *Thorac Cancer*. 2021;12:504-511.
14. Murakami S, Yokose T, Nemoto D, Suzuki M, Usui R, Nakahara Y, et al. Suitability of Bronchoscopic Biopsy Tissue Samples for Next-Generation Sequencing. *Diagnostics*. 2021;11:391.
15. Takeyasu Y, Yoshida T, Motoi N, Teishikata T, Tanaka M, Matsumoto Y, et al. Feasibility of next-generation sequencing (Oncomine™ DX Target Test) for the screening of oncogenic mutations in advanced non-small-cell lung cancer patients. *Jpn J Clin Oncol*. 2021;51:1114-1122.
16. Kinno T, Tsuta K, Shiraishi K, Mizukami T, Suzuki M, Yoshida A, et al. Clinicopathological features of nonsmall cell lung carcinomas with BRAF mutations. *Ann Oncol*. 2014;25:138-142.
17. Awad MM, Oxnard GR, Jackman DM, Savukoski DO, Hall D, Shivdasani P, 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;34:721-730.
18. Tone M, Inomata M, Awano N, Kuse N, Takada K, Minami J, et al. Comparison of adequacy between transbronchial lung cryobiopsy samples and endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration samples for next-generation sequencing analysis. *Thorac Cancer*. 2021;12:251-258.
19. Xie F, Zheng X, Mao X, Zhao R, Ye J, Zhang Y, et al. Next-Generation Sequencing for Genotyping of Endobronchial Ultrasound-Guided Transbronchial Needle Aspiration Samples in Lung Cancer. *Ann Thorac Surg*. 2019;108:219-226.
20. 日本病理学会, 編集. ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程. 2018.
21. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, Price TJ, Falchook GS, Wolf J, et al. Sotorasib for Lung Cancers with KRAS p.G12C Mutation. *N Engl J Med*. 2021;384:2371-2381.