

日本肺癌学会バイオマーカー委員会編  
肺癌患者におけるバイオマーカー検査の手引き

---

## 4. バイオマーカー検査の対象となる遺伝子とその異常

### 4-6. RET

(2024年4月改訂 v2.0)

#### 目次

(1) RET 遺伝子 .....	2
(2) RET 融合遺伝子陽性肺癌の臨床病理学的特徴 .....	3
(3) RET 融合遺伝子陽性肺癌に対する臨床試験 .....	4
(4) RET 融合遺伝子の診断 .....	5
1. オンコマイン™ Dx Target Test マルチ CDx システム .....	5
2. AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル .....	5
3. その他の方法 .....	5
参考文献 .....	7

#### 日本肺癌学会バイオマーカー委員会

阪本 智宏, 荒金 尚子, 後藤 功一, 里内 美弥子, 枝園 和彦, 須田 健一, 宗 淳一, 朝重 耕一, 畑中 豊, 松本 慎吾, 三窪 将史, 谷田部 恭, 横内 浩, 清水 淳市, 豊岡 伸一

### (1) RET 遺伝子

Rearranged during transfection (*RET*) は 1985 年に発見された癌原遺伝子である<sup>1</sup>。*RET* 遺伝子は膜貫通型の *RET* 受容体型チロシンキナーゼをコードしており、*RET* 遺伝子の胚細胞変異は多発性内分泌腫瘍症 2 型の原因になることや、体細胞における遺伝子融合が甲状腺乳頭癌で見られることが知られている。2012 年 2 月、肺癌においても *RET* 遺伝子に体細胞性の遺伝子融合が認められることが、日米 3 つのグループから同時に報告された。この 3 グループはそれぞれ異なった手法でこの融合遺伝子を発見している。Takeuchi らは、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (fluorescence in situ hybridization: FISH) 法を用いたスクリーニングによって、*KIF5B* あるいは *CCDC6* と融合する *RET* 遺伝子を発見した<sup>2</sup>。一方 Kohno らは、30 例の肺腺癌の全 RNA シークエンス解析を行い 1 例の *KIF5B-RET* を発見し、さらに RT-PCR とサンガーシークエンス法によって 319 例の肺腺癌のうち 6 例で *KIF5B-RET* を同定した<sup>3</sup>。さらに、米国の Foundation Medicine 社が中心となったグループは、一部の癌関連遺伝子を選択的に解析するターゲットシークエンス解析を用いて、*KIF5B-RET* を発見した<sup>4</sup>。融合バリエーションとして最も多い *KIF5B-RET* は 10 番染色体腕間逆位によって生じる。このように、主に coiled-coil ドメインをもつ融

合パートナー遺伝子が *RET* と融合することで、リガンドの結合に依存しない恒常的な二量体化をきたし、キナーゼが活性化される<sup>1-3</sup> (図 1)。また先の Takeuchi らの報告では、*RET* 融合遺伝子を発現させた線維芽細胞をヌードマウスに移植すると腫瘍を形成すること、そして *KIF5B-RET* を導入した Ba/F3 細胞の増殖が *RET* 阻害活性をもつバンデタニブ (vandetanib)、スニチニブ (sunitinib)、ソラフェニブ (sorafenib) によって用量依存性に抑制されることも示された。その後、*CCDC6-RET* を有するヒト由来の肺癌細胞株 LC-2/ad も発見され、この細胞を用いたマウスゼノグラフトモデルでは、バンデタニブ投与によって腫瘍縮小効果も示された<sup>5</sup>。

非小細胞肺癌における *RET* 融合遺伝子の頻度は 1~2% と希少である<sup>6-8</sup>。2013 年から行われている多施設肺癌遺伝子スクリーニングプロジェクト (LC-SCRUM-Asia) においても、非扁平上皮非小細胞肺癌 8678 例を RT-PCR や NGS で解析した結果、*RET* 融合遺伝子は 206 例 (2%) で検出され、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*、*MET* や *KRAS* などのその他のドライバー変異と相互排他性が認められた<sup>8</sup>。*RET* 融合遺伝子は、融合するパートナー遺伝子によって 30 種類以上のバリエーションが報告されている<sup>9</sup> (図 2)。パートナー遺伝子の多くは coiled-coil 領域をコードしており、融合蛋白はこの coiled-coil 領域によって二量体を形成することで、*RET* キナーゼの恒常的活性化をきたすと

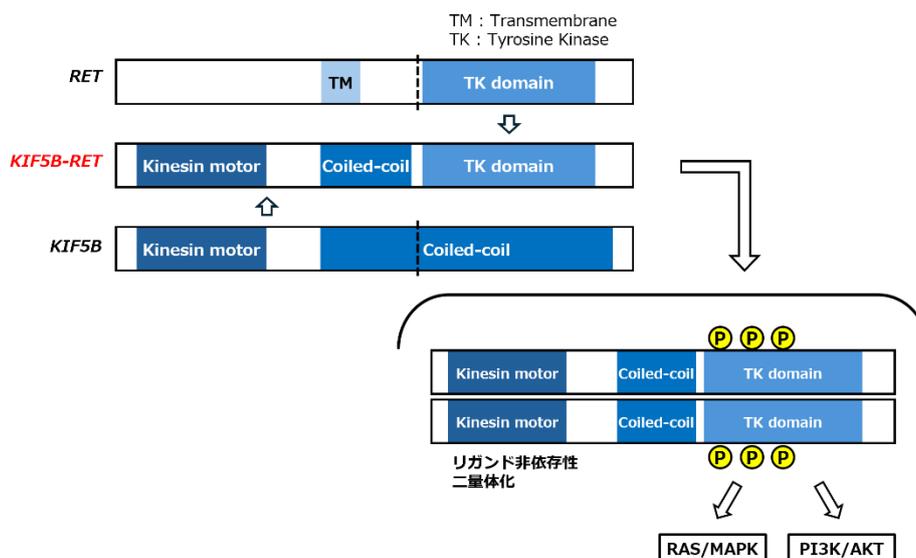


図 1. *RET* 融合遺伝子とその活性化メカニズム

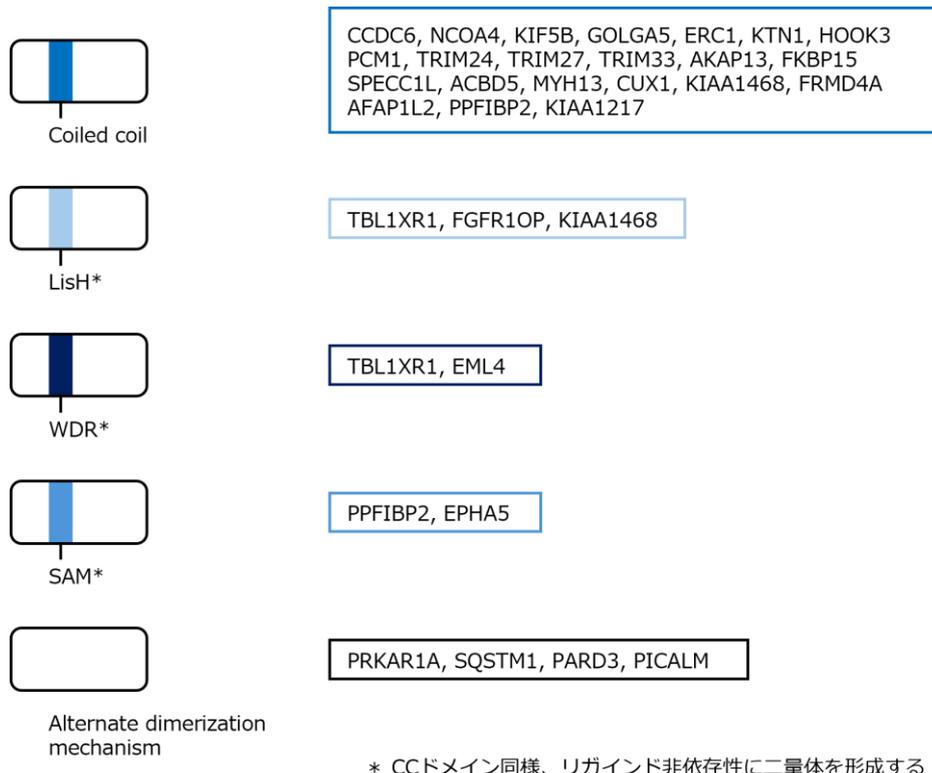


図2. RETの融合パートナー遺伝子

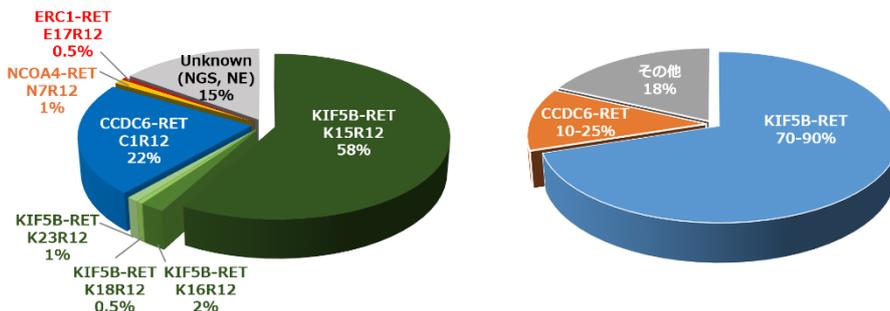


図3. 非小細胞肺癌におけるRETの融合パートナー遺伝子とその頻度  
 左：LC-SCRUM-Asiaのデータより (RET肺癌 206例)  
 右：Liらの報告より(Cancer Treat Rev. 2019;81:101911.)

考えられている。非小細胞肺癌で検出されるRET融合遺伝子のバリエーションの多くはKIF5B-RETとCCDC6-RETであり、この2つで約80%を占める。その他、頻度は低いがNCOA4-RETやERC1-RETなども検出される<sup>8,10</sup> (図3)。

**(2) RET融合遺伝子陽性肺癌の臨床病理学的特徴**

Linらが行った非小細胞肺癌患者のメタ解析において、RET融合遺伝子は腺癌で1.4% (57/3,980例)、非腺癌で0.3% (4/1,278例)と腺癌に多い (オッズ比 3.59,

p=0.004) こと、また女性、若年者、非喫煙者が多いことが報告されている<sup>11</sup>。これらの臨床病理学的特徴は、EGFR遺伝子変異、ALK融合遺伝子、あるいはROS1融合遺伝子を有する肺癌と類似している。また、LC-SCRUM-AsiaでRET融合遺伝子が検出された206例の日本人において、年齢中央値63歳 (29-87歳)、腺癌が97% (199/206例)、女性が59% (122/206例)、非喫煙者が60% (124/206例)と、日本人においても同様の傾向がある可能性が示唆される。

またOffinらは、26例のRET肺癌において58% (15/26

例)でPD-L1 TPS $\geq$ 50%と高発現であったこと、その一方でTumor Mutation Burden (TMB)はRET融合遺伝子のない肺癌と比べて低値であったこと(1.75 mut/Mb vs 5.27mut/Mb,  $p < 0.0001$ )を報告している。さらに、免疫チェックポイント阻害薬(ICI)を投与された16例のRET肺癌において無増悪生存期間は3.4カ月(95%CI: 2.1-5.6カ月)であり、PD-L1高発現群や高TMB群においても高い治療効果はみられなかったと報告されている<sup>12</sup>。またYohらは、9例の日本人RET肺癌において67%(6/9例)でPD-L1 TPS $\geq$ 50%と高発現であったことを報告しており<sup>13</sup>、日本人においても同様の傾向がある可能性が示唆される。

### (3) RET融合遺伝子陽性肺癌に対する臨床試験

RET肺癌に対する治療開発は、まずバンデタニブ、カボザチニブ、アレクチニブ、レンバチニブ、ソラフェニブといったRET阻害活性を有するマルチキナーゼ阻害薬の臨床試験が行われてきたが、その効果は限定的であり<sup>14-18</sup>(表1)、薬剤承認までには至らなかった。マルチキナーゼ阻害薬では、他の標的遺伝子も同時に阻害するため、関連する毒性によりRET阻害効果が得られる十分量まで薬剤を増量するのが困難であったことがその主な原因と考えられている。

その後、RETキナーゼに対する選択的阻害薬が相次いで開発され、その中でも最初に行われた臨床試験がRET遺伝子異常を有する固形腫瘍を対象としたセルペルカチニブ単剤療法の国際多施設共同第I-II相バスケッ試験(LIBRETTO-001試験)である。この臨床試験は第I相用量漸増パートと、6つのコホートからなる第II相用量拡大パートで行われ、そのうち、RET融合遺伝子陽性の既治療固形腫瘍を対象としたコホート1と、RET融合遺伝子

陽性の未治療固形腫瘍を対象としたコホート2に、それぞれ105例と39例の非小細胞肺癌が含まれていた。既治療非小細胞肺癌の治療成績は、105例のうち2例で完全奏効(CR)、65例で部分奏効(PR)が得られ、奏効割合は64%(95%CI: 54-73%)、奏効期間中央値は17.5カ月(95%CI: 12.0カ月-未到達[NE])、無増悪生存期間中央値は16.5カ月(95%CI: 13.7カ月-NE)であった。また、未治療例の治療成績は、39例のうち33例でPRが得られ、奏効割合は85%(95%CI: 70-94%)、奏効期間中央値はNE(95%CI: 12.0カ月-NE)、無増悪生存期間中央値はNE(95%CI: 13.8カ月-NE)であった<sup>19</sup>。この結果に基づき、RET融合遺伝子陽性の切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌に対するセルペルカチニブ(レットヴィモ®)の単剤療法が、2020年5月に米国FDAで、2021年9月に本邦で承認された。またその後、未治療のRET融合遺伝子陽性肺癌を対象とした、セルペルカチニブ単剤療法とプラチナ併用化学療法およびペムブロリズマブ併用療法を比較する無作為化国際多施設共同第III相試験(LIBRETTO-431試験)が行われた。無増悪生存期間中央値はセルペルカチニブ群で24.8カ月、対照群で11.2カ月、ハザード比0.482(95%CI: 0.331-0.700,  $p < 0.001$ )であった。奏効割合はセルペルカチニブ群で83.7%、対照群で65.1%、奏効期間中央値はセルペルカチニブ群で24.2カ月(95%CI: 17.9カ月-NE)、対照群で11.5カ月(95%CI: 9.7-23.3カ月)であった<sup>20</sup>。

また、RET選択的阻害薬の臨床試験としては、RET遺伝子異常を有する固形腫瘍を対象としたラルセチニブ単剤療法の国際多施設共同第I-II相バスケッ試験(ARROW試験)も行われた。この臨床試験は第I相用量漸増パートと、9つのコホートからなる第II相用量拡大パートで行われた。RET融合遺伝子陽性肺癌既治療例の治療成績は、87例のうち5例でCR、48例でPRが得られ、

表1. RET融合遺伝子陽性肺癌に対する過去の臨床試験

Agent	Study	Subject	N	ORR(%)	mPFS(months)
Vandetanib	LURET	Treated	19	47(Intention-to-treat) 53(primary analysis)	4.7
Cabozantinib	—	Treated/Untreated	26	28	5.5
Alectinib	ALL-RET	Treated	34	4	3.4
Lenvatinib	—	Treated	25	16	7.3
Sorafenib	—	Treated	3	0	NA

奏効割合は53% (95%CI: 50-71%), 奏効期間中央値はNE (95%CI: 15.2 カ月-NE), 無増悪生存期間中央値は17.1 カ月 (95%CI: 8.3-22.1 カ月) であった。また, 未治療例の治療成績は, 27 例のうち3 例でCR, 16 例でPR が得られ, 奏効割合は70% (95%CI: 50-86%), 奏効期間中央値は9.0 カ月 (95%CI: 6.3 カ月-NE), 無増悪生存期間中央値は9.1 カ月 (95%CI: 6.1-13.0 カ月) であった<sup>21</sup>。この結果に基づき, RET 融合遺伝子陽性肺癌に対するプラルセチニブの単剤療法は, 2020 年9 月に米国FDA で承認された (本邦では未承認)。

#### (4) RET 融合遺伝子の診断

##### 1. オンコマイン™ Dx Target Test マルチ CDx システム

オンコマイン DxTT は, NGS を用いた遺伝子パネル検査であり, がん関連 46 遺伝子の標的領域を PCR で増幅してシークエンス解析を行い, 遺伝子異常を検出する。本邦では, 2018 年に BRAF V600E 陽性非小細胞肺癌に対するダブルフェニブ+トラメチニブ併用療法のコンパニオン診断薬として承認され, その後, 2019 年に EGFR 遺伝子変異陽性肺癌, ALK 融合遺伝子陽性肺癌, ROS1 融合遺伝子陽性肺癌に対する各々の分子標的薬のコンパニオン診断薬としても承認された。そして, 2021 年9 月には, RET 融合遺伝子陽性肺癌に対するセルペルカチニブのコンパニオン診断薬としても承認され, 現在, オンコマイン DxTT は 6 つのドライバー遺伝子を同時に診断するマルチ遺伝子検査として承認されている。オンコマイン DxTT で検出可能な RET 融合遺伝子のバリエーションは 44 種類であり, 図 3 で示した非小細胞肺癌で検出されるバリエーションはほとんどカバーされている。

##### 2. AmoyDx®肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル

AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネルは, リアルタイム PCR 法を用いたマルチ遺伝子診断薬であり, 肺癌関連 11 遺伝子の主要な領域を標的に, 遺伝子異常を検出する。本邦では, 2021 年6 月に EGFR, ALK, ROS1, BRAF および MET を標的とする各々の分子標的薬のコンパニオン診断薬として承認された。さらにその後, 2023

年3 月に RET 融合遺伝子陽性肺癌に対するセルペルカチニブのコンパニオン診断薬としても承認された。このキットは, 上記遺伝子に KRAS を加えた 7 つのコンパニオン診断対象ドライバー遺伝子に加え, HER2, NTRK1-3 の解析もできるように設計されている。

### 3. その他の方法

肺がん コンパクトパネル® Dx マルチコンパニオン診断システムは, NGS を用いたマルチ遺伝子診断薬で, 本邦で開発された。FFPE 検体の他に, 細胞診検体についても比較的容易に検査提出が可能となっている。2023 年2 月に4 遺伝子 (EGFR, ALK, ROS1, MET) に, 2024 年2 月には追加で3 遺伝子 (BRAF, KRAS, RET) について保険適用となった。

その他の検査として, 本邦では, 腫瘍組織を用いた遺伝子パネル検査である「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」と「OncoGuide™ NCC オンコパネル システム」, 「GenMineTOP®がんゲノムプロファイリングシステム」が承認されている。また血液検体を用いた遺伝子パネル検査としては「FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル」と「Guardant360™ CDx がん遺伝子パネル」が承認されている。これらはいずれも, 腫瘍組織由来あるいは血漿由来の DNA を用いて合成核酸とのハイブリダイゼーションによって標的領域を濃縮し, シークエンス解析を行う。現時点では, リキッド解析による融合遺伝子の診断精度はまだ低く, 偽陰性と診断される危険性が高いため, 組織を用いた遺伝子検査を優先すべきである。いずれの検査においても, RET 融合遺伝子はコンパニオン診断の対象ではなく, 包括的がんゲノムプロファイル (CGP) 検査の解析対象である。したがって, これらのパネルを用いた CGP 検査で RET 融合遺伝子が検出された場合, RET 阻害薬による治療を行うためには, エキスパートパネルによる推奨が必要となる。なお, NGS を用いた遺伝子パネル検査を実施するにあたっては, 日本臨床腫瘍学会, 日本癌治療学会, 日本癌学会の3 学会から合同で発出している「次世代シークエンサー等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン<sup>22</sup>」や, 肺癌患者におけるバイオマーカー検査の手引き「2.バイオマーカー検査

の流れとマルチプレックス遺伝子検査」,「3.バイオマーカー検査に用いる検体とその取扱い」の項も参照されたい。

また,これまで ALK などの融合遺伝子の診断には FISH 法が簡便で多くの検査室で用いられており, RET 融合遺伝子に対しても甲状腺癌などでの結果が報告されている。特に break apart プローブを用いることで,理論的にはほとんどの RET 再構成が検出できると考えられるが,実際には多くの乖離が報告され,感度は高いものの特異性が

やや低い<sup>23</sup>。すなわち, break apart FISH では陽性と出ても必ずしも RET 融合遺伝子が存在するとは限らない。また,免疫染色も感度・特異度ともに 80%台と満足な結果を示す検査ともいえない<sup>23</sup>。したがって, FISH, IHC ともに診療および研究においても RET 融合遺伝子の有用な surrogate とは考えにくい。コンパニオン診断テストはいずれも RNA ベースのパネル解析であるが, DNA ベースの F1CDx や NCC オンコパネル, WGS では意義不明の構造異常が検出されることがある点は留意する必要がある。

## 参考文献

1. Takahashi M, Ritz J, Cooper GM. Activation of a novel human transforming gene, ret, by DNA rearrangement. *Cell*. 1985 Sep;42(2):581-8.
2. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nat Med* 2012; 18:378-381
3. Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nat Med* 2012; 18:375-377
4. Lipson D, Capelletti M, Yelensky R, et al. Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies. *Nat Med* 2012; 18:382-384.
5. Suzuki M, Makinoshima H, Matsumoto S, et al. Identification of a lung adenocarcinoma cell line with CCDC6-RET fusion gene and the effect of RET inhibitors in vitro and in vivo. *Cancer Sci* 2013; 104:896-903.
6. 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;30:4352-4359.
7. Tsuta K, Kohno T, Yoshida A, et al. RET-rearranged non-small-cell lung carcinoma: a clinicopathological and molecular analysis. *Br J Cancer* 2014;110:1571-1578.
8. Sunami K, Furuta K, Sasada S, et al. Multiplex Diagnosis of Oncogenic Fusion and MET Exon Skipping by Molecular Counting Using Formalin-Fixed Paraffin Embedded Lung Adenocarcinoma Tissues. *J Thorac Oncol*. 2016;11(2):203-12.
9. Matsumoto S, Ikeda T, Yoh K, et al. Impact of rapid multigene assays with short turnaround time (TAT) on the development of precision medicine for non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 39, 2021 (suppl 15; abstr 9094)
10. Drilon A, Hu ZI, Lai GGY, et al. Targeting RET-driven cancers: lessons from evolving preclinical and clinical landscapes. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018 Mar;15(3):151-167.
11. Lin C, Wang S, Xie W, et al. The RET fusion gene and its correlation with demographic and clinicopathological features of non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Cancer Biol Ther*. 2015; 16: 1019-1028.
12. Offin M, Guo R, Wu SL, et al. Immunophenotype and Response to Immunotherapy of RET-Rearranged Lung Cancers. *JCO Precis Oncol*. 2019; 3: PO.18.00386.
13. Yoh K, Matsumoto S, Furuya N, et al. Comprehensive assessment of PD-L1 expression, tumor mutational burden and oncogenic driver alterations in non-small cell lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Lung Cancer*. 2021 Sep;159:128-134.
14. 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 Jan;5(1):42-50.
15. 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 Dec;17(12):1653-1660.
16. Takeuchi S, Yanagitani N, Seto T, et al. Phase 1/2 study of alectinib in RET-rearranged previously-treated non-small cell lung cancer (ALL-RET). *Transl Lung Cancer Res*. 2021 Jan;10(1):314-325.
17. Hida T, Velcheti V, Reckamp K, et al. A phase 2 study of lenvatinib in patients with RET fusion-positive lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2019 Dec;138:124-130.
18. Horiike A, Takeuchi K, Uenami T, et al. Sorafenib treatment for patients with RET fusion-positive non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2016 Mar;93:43-6.
19. 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 Aug 27;383(9):813-824.
20. Zhou C, Solomon B, Loong HH, et al. First-Line Selpercatinib or Chemotherapy and Pembrolizumab in RET Fusion-Positive NSCLC (LIBRETTO-431). *N Engl J Med*. 2023 Nov; 389:1839-1850
21. 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 Jul;22(7):959-969.
22. 日本臨床腫瘍学会, 日本癌治療学会, 日本癌学会. 次世代シーケンサーを用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイドライン (第 2.1 版) . 2020 年.
23. 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 May;16(5):798-806.