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

(2025 年 8 月改訂 v2.1.2)

１．編集履歴
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・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・三窪 将史、林 大久生
３．バイオマーカー検査に用いる検体とその取扱い・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・宗 淳一, 畑中 豊
４．バイオマーカー検査の対象となる遺伝子とその異常
　４－１．EGFR・・久山 彰一、三浦 理
　４－２．ALK・・・朝重 耕一
　４－３．ROS1・・國政 啓、宮内 栄作
　４－４．BRAF・・阪本 智宏
　４－５．MET・・横内 浩, 古屋 直樹
　４－６．RET・・阪本 智宏
　４－７．KRAS・・・清水 淳市
　４－８．HER2・・・須田 健一, 畑中 豊
　４－９．NTRK・・・三窪 将史
　４－１０．PD-L1・・・清水 淳市
５．バイオマーカー検査の保険点数について・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・畑中 豊
（付表）各コンパニオン診断法における報告対象バリアント・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・畑中 豊

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

委員長　谷田部 恭

副委員長　豊岡 伸一

委員　荒金 尚子、國政 啓、久山 彰一、阪本 智宏、清水 淳市、須田 健一、善家 義貴、畑中 豊、林 大久生、古屋 直樹、三浦 理、三窪 将史、宮内 栄作、横内 浩

編集、校正

有限会社 エイド出版　（https://aid-syuppan.co.jp/）

1. 編集履歴

2025 年 8 月 Ver 2.1.2

「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」についてのマイナーアップデートを行った（三窪 将史、林 大久生）

2025 年 5 月 Ver 2.1

以下の章をマイナーアップデートおよびすべての章についてエイド出版による統一した編集を行った。

2.マルチプレックス検査 (三窪 将史、林 大久生)、4-1. EGFR (久山 彰一、三浦 理)、4-3. ROS1（國政 啓、宮内 栄作）、4-5. MET（横内 浩, 古屋 直樹）

2024 年 9 月 Ver 2.0

この改訂より統一した様式を用い、一冊の形式としてまとめた。

委員長 豊岡 伸一

副委員長 清水 淳市

各章の担当

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････････････････････････････････枝園 和彦

３．バイオマーカー検査に用いる検体とその取扱い････････････････････････････････宗 淳一, 畑中 豊

４．バイオマーカー検査の対象となる遺伝子とその異常

４－１．EGFR･･枝園 和彦

４－２．ALK･･･朝重 耕一

４－３．ROS1･･松本 慎吾

４－４．BRAF･･阪本 智宏

４－５．MET･･･横内 浩, 谷田部 恭

４－６．RET･･･阪本 智宏

４－７．KRAS･･清水 淳市

４－８．HER2･･須田 健一, 畑中 豊

４－９．NTRK･･三窪 将史

４－１０．PD-L1･･･清水 淳市

５．バイオマーカー検査の保険点数について････････････････････････････････････畑中 豊

（付表）各コンパニオン診断法における報告対象バリアント････････････････････････････････畑中 豊

個別の手引き冊子

肺癌患者における *EGFR* 遺伝子変異検査の手引き

第 1.0 版 2009 年 3 月 6 日

光冨徹哉, 谷田部恭, 萩原弘一, 弦間昭彦, 西尾和人, 秋田弘俊, 中川和彦

第 1.7 版 2009 年 5 月 11 日

第 2.0 版 2014 年 2 月 11 日

光冨徹哉, 萩原弘一, 谷田部恭, 浦本秀隆, 井上彰, 曽田学, 後藤功一, 西尾和人, 秋田弘俊

第 2.1 版 2014 年 4 月 14 日

第 3.0 版 2016 年 11 月 2 日

西野 和美, 西尾 和人, 畑中 豊, 井上 彰, 後藤 功一, 里内美弥子, 曽田 学, 豊岡 伸一, 萩原 弘一, 谷田部 恭, 秋田 弘俊

第 3.05 版 2016 年 12 月 1 日

第 4.0 版 2018 年 11 月 21 日

西野和美, 西尾和人, 畑中 豊, 池田貞勝, 菓子井達彦, 木村英晴, 後藤功一, 阪本智宏, 里内美弥子, 清水淳市, 曽田 学, 蔦 幸治, 豊岡伸一, 松本慎吾, 三窪将史, 谷田部 恭, 横瀬智之, 秋田弘俊

第 4.1 版 2019 年 1 月 30 日

第 4.2 版 2019 年 3 月 6 日

第 4.3 版 2020 年 3 月 31 日

第 5.0 版 2021 年 12 月 16 日

枝園 和彦、西野 和美、西尾 和人、畑中 豊、荒金 尚子、池田 貞勝、井上 彰、大泉 聡史、越智宣昭、高阪 真路、阪本 智宏、里内 美弥子、清水 淳市、角南 久仁子、宗 淳一、蔦 幸治、松本 慎吾、三窪 将史、谷田部 恭、横瀬 智之、後藤 功一、豊岡 伸一

肺癌患者における *ALK* 融合遺伝子検査の手引き

第 1.0 版 2011 年 18 月 11 日 バイオマーカー委員会コメント

光冨 徹哉、谷田部 恭、秋田 弘俊、弦間 昭彦、曽田 学、豊岡 伸一、中川 和彦、西尾 和人、萩原弘一

第 1.1 版 2011 年 10 月 12 日 バイオマーカー委員会承認

第 1.2 版 2011 年 11 月 12 日 理事会で修正の上承認

第 2.0 版 2015 年 16 月 16 日 バイオマーカー委員会コメント

谷田部 恭、里内 美弥子、秋田 弘俊、井上 彰、後藤 功一、曽田 学、豊岡 伸一、西野 和美、萩原弘一、畑中 豊

第 2.1 版 2015 年 17 月 28 日 バイオマーカー委員会承認

第 2.1 版 2015 年 17 月 28 日 理事会承認

第 3.0 版 2019 年 11 月 25 日 バイオマーカー委員会コメント

谷田部 恭、里内 美弥子、荒金 尚子、池田 貞勝、井上 彰、木下 一郎、木村 英晴、後藤功一、阪本 智宏、清水 淳市、蔦 幸治、豊岡 伸一、西尾 和人、西野 和美、畑中 豊、松本 慎吾、三窪 将史、横瀬 智之、秋田 弘俊

第 3.1 版 2019 年 12 月 16 日 バイオマーカー委員会承認

第 3.1 版 2019 年 12 月 28 日 理事会承認

第 4.0 版 2021 年 19 月 11 日 バイオマーカー委員会コメント

越智 宣昭、谷田部 恭、里内 美弥子、荒金 尚子、池田 貞勝、井上 彰、大泉 聡史、阪本 智宏、枝

園 和彦、清水 淳市、角南 久仁子、宗 淳一、蔦 幸治、西尾 和人、西野 和美、畑中 豊、松本慎吾、三窪 将史、横瀬 智之、後藤 功一、豊岡 伸一

肺癌患者における *ROS1* 融合遺伝子検査の手引き

第 1.0 版 2017 年 4 月 6 日

松本慎吾，後藤功一，池田貞勝，菓子井達彦，木村英晴，阪本智宏，里内美弥子，清水淳市，曽田 学，蔦 幸治，豊岡伸一，西尾和人，西野和美，畑中 豊， 三窪将史，谷田部 恭，横瀬智之，秋田弘俊

肺癌患者における PD-L1 検査の手引き

第 1.0 版 2017 年 3 月 27 日

谷田部恭、池田貞勝，菓子井達彦，木村英晴，後藤功一，阪本智宏，里内美弥子，清水淳市，曽田 学，蔦 幸治，豊岡伸一，西尾和人，西野和美，畑中 豊， 三窪将史，松本慎吾，横瀬智之，秋田弘俊

第 2.0 版 2020 年 10 月 27 日

清水淳市，木村英晴，阪本智宏，蔦 幸治，谷田部 恭，荒金尚子，池田貞勝，井上 彰，木下一郎， 後藤功一，里内美弥子，角南久仁子，豊岡伸一，西尾和人，西野和美、畑中 豊，松本慎吾，三窪将史，横瀬智之，秋田弘俊

第 2 版 補遺 2021/02/12

肺癌患者における *BRAF* 遺伝子変異検査の手引き

第 1.0 版 2018 年 4 月 5 日

阪本智宏，松本慎吾，後藤功一，池田貞勝，菓子井達彦，木村英晴，里内美弥子，清水淳市，曽田 学，蔦 幸治，豊岡伸一，西尾和人，西野和美，畑中 豊， 三窪将史，谷田部 恭，横瀬智之，秋田弘俊

肺癌患者における次世代シークエンサーを用いた遺伝子パネル検査の手引き

第 1.0 版 2019 年 12 月 5 日

谷田部 恭，角南久仁子，後藤功一，西尾和人，荒金尚子，池田貞勝，井上 彰，木下一郎，木村英晴，阪本智宏，里内美弥子，清水淳市，蔦 幸治，豊岡伸一，西野和美，畑中 豊，松本慎吾，三窪将史，横瀬智之，秋田弘俊

第 1.1 版 2019 年 12 月 23 日

第 2.0 版 2021 年 10 月 20 日

三窪 将史、谷田部 恭、荒金 尚子、池田 貞勝、井上 彰、大泉 聡史、越智 宣昭、阪本 智宏、里内 美弥子、枝園 和彦、清水 淳市、角南 久仁子、宗 淳一、蔦 幸治、西尾 和人、西野 和美、畑中 豊、松本慎吾、横瀬 智之、後藤 功一、豊岡 伸一

肺癌患者における *RET* 融合遺伝子検査の手引き

第 1.0 版　2022 年 6 月 18 日

阪本智宏，松本慎吾，後藤功一，荒金 尚子、池田 貞勝、井上 彰、大泉 聡史、越智 宣昭、里内美弥子、枝園 和彦、清水 淳市、角南 久仁子、宗 淳一、蔦 幸治、西尾 和人、西野 和美、畑中 豊、三窪 将史、谷田部 恭、横瀬 智之、豊岡 伸一

肺癌患者における PCR を用いたマルチ遺伝子検査の手引き

第 1.0 版　2022 年 10 月 3 日

松本慎吾，阪本智宏，後藤功一，荒金尚子，池田貞勝，井上彰，大泉聡史，越智宣昭，里内美弥子，枝園和彦，清水淳市，角南久仁子，宗淳一，蔦幸治，西尾和人，西野和美，畑中豊，三窪将史，谷田部恭，横瀬智之，豊岡伸一

第 1.1 版　2022 年 11 月 29 日

肺癌患者における *KRAS* 遺伝子 G12C 変異検査の手引き

第 1.0 版　2022 年 10 月 22 日

清水淳市，畑中豊，荒金尚子，池田貞勝，井上彰，大泉聡史，越智宣昭，後藤功一，阪本智宏，里内美弥子，枝園和彦，角南久仁子，宗淳一，蔦幸治，西尾和人，西野和美，松本慎吾，三窪将史，谷田部恭，横瀬智之，豊岡伸一

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

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

（2025 年 8 月改訂版）

目　次

目次

（1）はじめに 2
（2）非小細胞肺癌に対するバイオマーカー検査の流れ 2
1．分子標的治療薬とコンパニオン診断薬（CDx） 2
2．進行・再発非小細胞肺癌におけるマルチ CDx のアルゴリズム 3
（3）マルチコンパニオン診断薬（マルチ CDx）の特徴 4
1．AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル 5
2．NGS を用いたマルチ CDx 6
2-1．オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム（オンコマイン DxTT） 7
2-2．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 7
2-3．次世代シークエンサーを用いた多遺伝子変異検索システム（MINtS） 8
（4）がんゲノムプロファイリング検査（CGP） 8
1．FoundationOneⓇ CDx がんゲノムプロファイル（F1CDx）/ FoundationOneⓇ Liquid CDx がんゲノムプロファイル（F1LiquidCDx） 8
2．OncoGuide™ NCC オンコパネルシステム（NCC オンコパネル） 9
3．その他の CGP 9
（5）おわりに 9
参考文献 10

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

三窪 将史, 林 大久生, 荒金 尚子, 國政 啓, 久山 彰一, 阪本 智宏, 清水 淳市, 須田 健一, 善家 義貴, 畑中 豊, 古屋 直樹, 三浦 理, 横内 浩, 宮内 栄作, 豊岡 伸一, 谷田部 恭

（1）はじめに

非小細胞肺癌（NSCLC）では複数のドライバー遺伝子異常が同定され、各々のドライバー遺伝子を標的とした分子標的治療が高い治療効果を示す[1]。2025 年 8 月現在、表 1 に記載したドライバー遺伝子に対して、分子標的治療薬が承認されている。進行・再発 NSCLC では、初回治療前にこれらのドライバー遺伝子異常の有無および PD-L1 の発現を確認し、その結果に基づいて初回治療または二次治療以降で対応する分子標的治療薬等を選択することが推奨されている[2]。周術期においても、*EGFR* 変異や *ALK* 融合遺伝子の有無および PD-L1 の発現状況に応じて術前・術後補助療法が検討されるようになった。また、表に記した以外のドライバー遺伝子を標的とする治療薬の開発も進んでおり、今後さらに診断すべき遺伝子が増えることが予想される。

従来、NSCLC の遺伝子診断は、個々の遺伝子を 1 つずつ検査する単一（シングルプレックス）遺伝子検査を用いて行われていたが、診断すべき遺伝子数の増加に伴い、複数の遺伝子を同時に検査するマルチプレックス（マルチ）遺伝子検査が主流となった。本項では、NSCLC に対するバイオマーカー検査の流れと、マルチ遺伝子検査について概説する。なお、単一遺伝子検査の詳細については、各遺伝子の手引きに詳細を記載したのでそれぞれ参照されたい。

（2）非小細胞肺癌に対するバイオマーカー検査の流れ

1．分子標的治療薬とコンパニオン診断薬（CDx）

進行・再発 NSCLC においては、様々な分子標的治療薬が承認されているが、各々の分子標的治療薬を使用する際にはコンパニオン診断が必須である。表 1 に、2025 年 8

表 1．非小細胞肺癌に対する分子標的薬とコンパニオン診断薬（2025 年 8 月現在）

遺伝子異常	分子標的治療薬	マルチCDx				CDx機能を有するCGP検査		
		AmoyDx	オンコマイン DxTT	コンパクト パネル	MINtS	F1 CDx	F1 Liquid CDx	Guardant 360
EGFR	ゲフィチニブ	●	●	●	●	●	●	
	エルロチニブ	●	●	●	●	●	●	
	アファチニブ	●	●	●	●	●	●	
	ダコミチニブ		●		●	●		
	オシメルチニブ	●	●	●	●	●	●	
	アミバンタマブ (EGFR Ex20ins)		●					●
	アミバンタマブ +ラゼルチニブ	●	●					
ALK	クリゾチニブ	●	●	●	●	●	●	
	セリチニブ				●	●	●	
	アレクチニブ	●	●	●	●	●	●	
	ブリグチニブ	●	●	●	●	●		
	ロルラチニブ		●		●			
ROS1	クリゾチニブ	●	●	●				
	エヌトレクチニブ	●	●			●	●	
	レポトレクチニブ	●						
BRAF V600E	ダブラフェニブ + トラメチニブ	●	●	●	●			
MET ex14 skipping	カプマチニブ	●	●			●	●	
	テポチニブ	●	●	●				
	グマロンチニブ	●						
RET	セルペルカチニブ	●	●	●				
KRAS G12C	ソトラシブ	●		●				●
HER2	トラスツズマブ デルクステカン		●					●
NTRK1/2/3	エヌトレクチニブ					●	●	
	ラロトレクチニブ					●		

【単一遺伝子検査】

EGFR 遺伝子変異

	コバス（組織・血漿）	therascreen	EGFRリキッド
ゲフィチニブ	●	●	●
エルロチニブ	●	●	●
アファチニブ	●	●	●
ダコミチニブ	●	●	
オシメルチニブ	●		
アミバンタマブ +ラゼルチニブ	●		

ALK 融合遺伝子

	ベンタナ (IHC)	ヒストファイン (IHC)	Vysis (FISH)
クリゾチニブ	●	●	●
セリチニブ	●	●	
アレクチニブ	●	●	●
ブリグチニブ	●	●	●
ロルラチニブ	●	●	

ROS1 融合遺伝子

	AmoyDx ROS1
クリゾチニブ	●
エヌトレクチニブ	●
レポトレクチニブ	

KRAS G12C 変異

	therascreen KRAS
ソトラシブ	●

月現在承認されている分子標的治療薬と、対応するコンパニオン診断薬（CDx）を示す[3]。従来、NSCLC に対するコンパニオン診断は、Polymerase chain reaction（PCR）法、免疫組織化学染色（IHC）法、fluorescence *in situ* hybridization（FISH）法などの単一遺伝子検査を用いて行われていた。そのような状況下で、2019 年 6 月に、次世代シークエンス解析（NGS）法を用いたマルチ CDx として、「オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム（オンコマイン DxTT）」および「FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル（F1CDx）」が保険収載された。2022 年 1 月には、PCR 法を用いたマルチ CDx である「AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル（AmoyDx）」が使用可能となり、さらに、NGS を用いたマルチ CDx として 2023 年 2 月に「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（肺がんコンパクトパネル）」が、2024 年 12 月に「次世代シークエンサーを用いた多遺伝子変異検索システム（MINtS）」が保険収載された。血液検体を用いたマルチ CDx としては、2021 年 8 月に「FoundationOne Liquid CDx がんゲノムプロファイル（F1LiqudCDx）」が保険適用となっている。これらのマルチ CDx については、対応可能な遺伝子やそれに対応する薬剤が今後も更新される可能性があり、最新の承認状況は医薬品医療機器総合機構（PMDA）のホームページ「コンパニオン診断薬等の情報」[3]等にて確認されたい。

2．進行・再発非小細胞肺癌におけるマルチ CDx のアルゴリズム

日本肺癌学会編「肺癌診療ガイドライン」[2]において、Ⅳ期 NSCLC のドライバー遺伝子の診断は、初回治療前に全ての対象遺伝子について優先順位をつけずに行うよう推奨されている。従来、複数遺伝子の診断は単一遺伝子検査を組み合わせて行われていたが、検体や費用、時間を浪費することや、MET、RET、HER2 などでは単一遺伝子検査が存在しないことから、進行・再発 NSCLC における初回治療前の遺伝子診断は、マルチ CDx を用いることが強く推奨される。検体量が少ないなどの理由で、やむを得ずマルチ CDx が行えない場合は、単一遺伝子検査を考慮する。

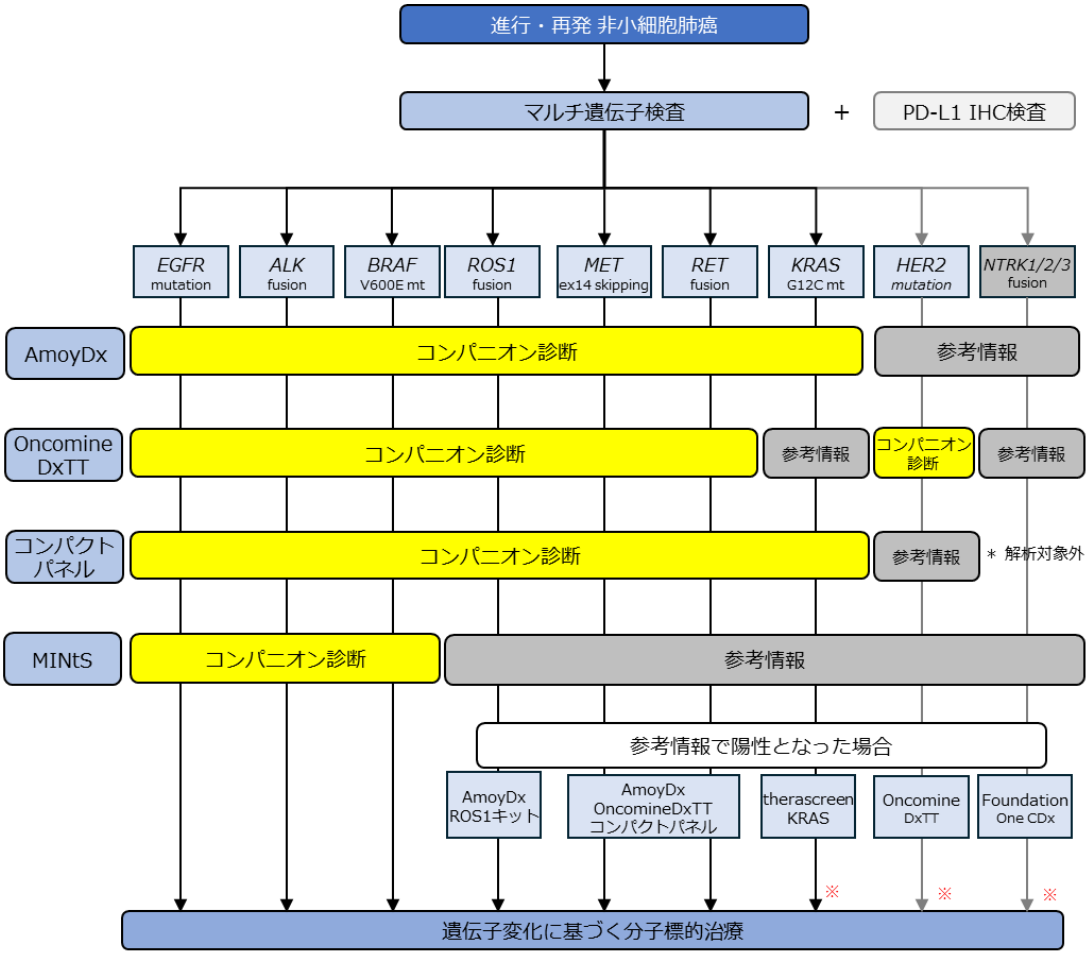


図 1.　進行・再発肺癌に対するマルチ CDx を用いた検査アルゴリズム

図 1 に進行・再発 NSCLC に対するマルチ CDx を用いた検査のアルゴリズムを示す。図に示した通り、進行・再発 NSCLC の初回治療前には、いずれかのマルチ CDx および PD-L1 の IHC 検査を行い、結果に応じて治療方針を決定することが求められる。これらのマルチ CDx を使いこなすためには、肺癌の診断目的に検体採取を行う時点から、遺伝子診断を念頭に置いた検体の採取や管理を行うことが重要である。それぞれの検体の取り扱いについては、「3. バイオマーカー検査に用いる検体とその取扱い」や、日本病理学会から出版されている「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規定」[4] などを参照されたい。

（3）マルチコンパニオン診断薬（マルチ CDx）の特徴

NGS を用いたマルチ CDx として、オンコマイン DxTT と肺がんコンパクトパネル、MINtS の他に、F1CDx、F1LiquidCDx および Guardant360 CDx がん遺伝子パネルが承認されているが、保険診療上、これらの CGP 検査を NSCLC の初回治療前のコンパニオン診断目的に用いることは想定され難いため、本項では AmoyDx とオンコマイン DxTT、肺がんコンパクトパネル、MINtS について記載する（表 2）。表 1 および図 1 に示した通り、それぞれの検査において、コンパニオン診断対象遺伝子・薬剤が異なる点には注意が必要である。PCR 法をベースとした AmoyDx は、NGS 法を用いて行われるオンコマイン DxTT と比較して解析する遺伝子数（参考情報も含む）が少ないが、検体提出から結果返却までの時間（Turn-around time: TAT）が短いことや遺伝子変異の最小検出感度（Limit of detection: LOD）が高いことが特徴である。したがって、組織の腫瘍細胞含有割合が少ないときや診断を急ぐときなどは、AmoyDx が考慮される。一方で、いずれの検査においても組織量が極端に少ない場合は、検査が成功しても結果が偽陰性になる可能性があるため、できるだけ大きな検体を提出することが望ましい。また、*MET* エクソン 14 スキッピングは他のドライバー遺伝子と比較して、扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、肉腫様癌などの非腺癌でも検出される頻度が高いことが知られており [5]、これらの組織型では *MET* 変異の検出が可能なマルチ CDx の使用が推奨される。以下の項において、それぞれのマルチ遺伝子検査に関する詳細を記載する。

表 2． マルチ CDx の特徴

	AmoyDx	オンコマインDxTT	肺がんコンパクトパネル	MINtS
検査原理	リアルタイムPCR法	NGS法 (アンプリコン法)	NGS法 (アンプリコン法)	NGS法 (アンプリコン法)
解析対象遺伝子数 (CDx対象)	11遺伝子 (7遺伝子)	46遺伝子 (7遺伝子)	8遺伝子 (7遺伝子)	11遺伝子 (3遺伝子)
CDx対象遺伝子	EGFR, ALK, ROS1, BRAF, MET, RET, KRAS	EGFR, ALK, ROS1, BRAF, MET, RET, HER2	EGFR, ALK, ROS1, BRAF, MET, RET, KRAS	EGFR, ALK, BRAF
参考情報遺伝子	HER2, NTRK1/2/3	KRAS, NTRK1/2/3 (承認された対象薬剤のない遺伝子) ABL1, AKT1, AR, AXL, CDK4, CTNNB1, DDR2, ERBB3/4, ERG, ESR1, ETV1/4/5, FGFR1/2/3, GNA11, GNAQ, HRAS, IDH1/2, JAK1/2/3, KIT, MAP2K1/2, MTOR, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PPARG, RAF1, SMO	HER2	ROS1, MET, RET, KRAS, HER2, NTRK1/2/3
外注時の検査TAT	4－7日	6－11日	6－12日	11－20日
検査に使用する核酸量	DNA ・3か月以内：67.5ng ・3か月-1年以内：90ng ・1-2年以内：112.5-135ng RNA：120-1200ng (吸光度法)	DNA：10ng RNA：10ng (蛍光法)	DNA：10ng RNA：10ng (DNA:蛍光法, RNA:吸光度法)	DNA：10ng RNA：10ng (蛍光法)
提出する未染標本 (5μm)	FFPE検体：5-10枚 僅少検体：10-20枚 (1.5mm^{2}以下)	手術検体：2枚 生検検体：10枚 僅少検体：15-20枚 (2x2mm以下)	手術検体：2-5枚 生検検体：5-10枚 僅少検体：15-20枚 (2x2mm以下)	FFPE検体：10枚 僅少検体 ：15-20枚 (2x2mm以下)
細胞診検体の扱い	細胞ペレット、セルブロック等	細胞ペレット、セルブロック等	GM管等	核酸保存溶液
腫瘍細胞含有割合	20%以上	30%以上	5%以上	10%以上
遺伝子変異の最小検出感度 (LOD)	1%	4.4－7.49%	0.1－0.54%	1.41－1.55%

※各ホームページ，添付文書等に基づき作成

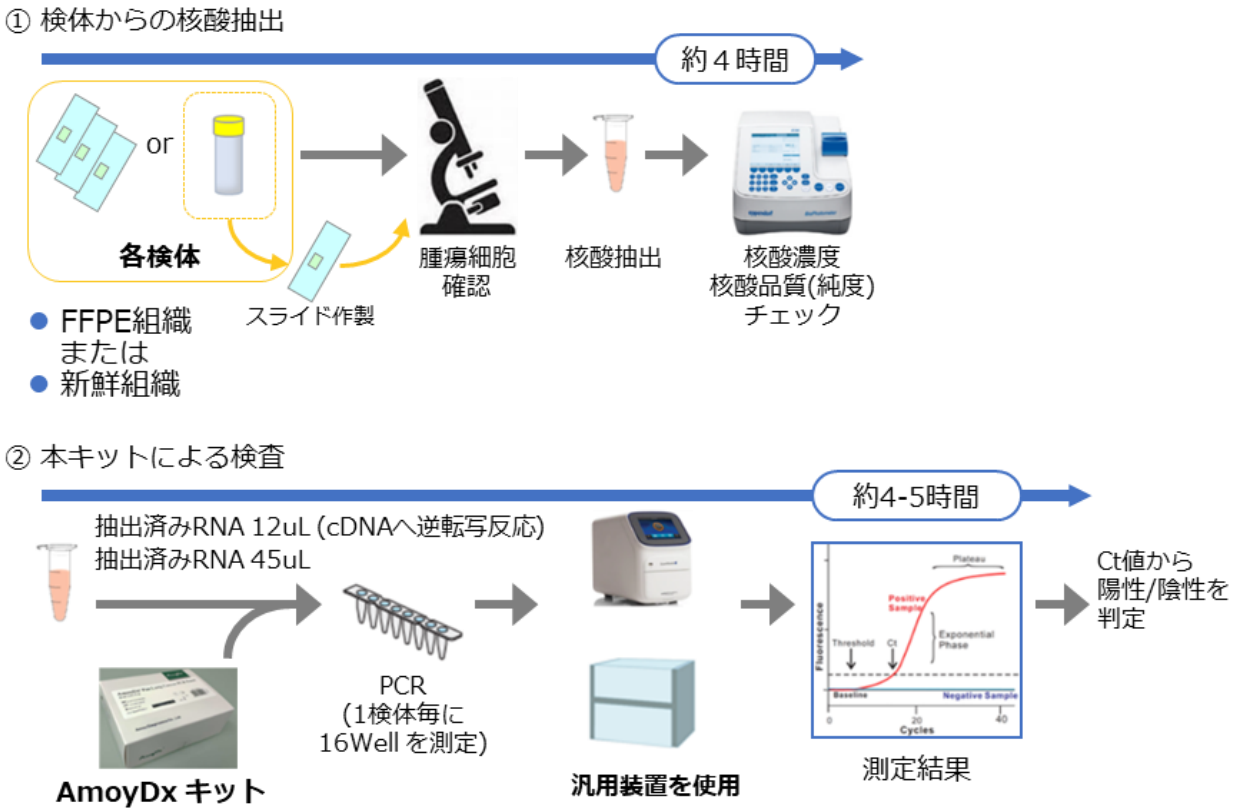
1．AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル

AmoyDx は、腫瘍検体から抽出した核酸（DNA および RNA）を用いて、リアルタイム PCR 法により遺伝子異常を検出する（図 2）。DNA の解析では、解析原理として ARMS（amplification refractory mutation system）法が用いられ、一塩基置換や欠失/挿入などの遺伝子変異を検出する。RNA の解析では、RT-PCR（reverse transcription PCR）法によって融合遺伝子やエクソンスキッピングを検出する。PCR は NGS と比較して簡便であり、TAT が 5 日前後と迅速に検査可能であることが特徴である。また、NGS と比較して検査成功割合が高いと考えられている。LOD は、遺伝子変異の場合、変異アレル 1-5%で、融合遺伝子またはエクソンスキッピングの場合、1 反応あたり 150 コピーとされている [6]。リアルタイム PCR 装置としては、QuantStudio5（Thermo Fisher Scientific 社）、LightCycler480II およびコバス z480（いずれも Roche Diagnostics 社）が承認されており、これらを病院内に設置して自施設で検査することも可能である。

AmoyDx では、DNA と RNA を用いて、11 遺伝子（*EGFR*、*ALK*、*ROS1*、*BRAF*、*MET*、*RET*、*KRAS*、*HER2*、*NTRK1/2/3*）における計 167 バリアントを一度に同時に解析する。DNA を用いた解析では、*EGFR* エクソン 18-21 変異、*BRAF* V600E、*HER2* エクソン 20 変異、*KRAS* コドン 12 および 13 の変異を検出する。RNA を用いた解析では、*ALK*、*ROS1*、*RET*、*NTRK1/2/3* の各融合遺伝子と *MET* エクソン 14 スキッピングを検出する。それぞれの遺伝子異常検出のための判定基準（Ct 値）は添付文書 [6] を参照されたい。また、CDx 対象以外の遺伝子の結果も、担当医の希望があれば参考情報として返却されるが、CDx 対象でないため、これらの情報だけで治療薬を投与することはできない。例えば、AmoyDx で *HER2* 変異が検出されても、現時点ではコンパニオン診断の対象ではないことから、トラスツズマブ デルクステカンを用いて治療するためには、CDx であるオンコマイン DxTT で *HER2* 変異を確認する必要がある。

検査に用いる検体は、腫瘍細胞の存在が確認されたホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織あるいは新鮮凍

図 2.　AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネルによる測定フロー



結組織である。検査に用いる推奨核酸量等を表 2 に示すが、いずれも腫瘍細胞含有割合が 20%以上あることが推奨される。FFPE 組織は厚さ 5μm の切片 5-10 枚を提出する。新鮮凍結組織を用いる場合は、気管支鏡下の生検検体や針生検検体であれば組織片 2-3 個、手術検体であれば 2-3mm 角以上の組織を提出する。抽出された核酸の濃度は吸光度法（NanoDrop）を用いて測定する。

2．NGS を用いたマルチ CDx

NGS を用いたマルチ遺伝子検査としては、マルチ CDx に加え、後述の通り包括的がんゲノムプロファイリング検査（comprehensive genome profile: CGP）が 2019 年に保険適用となっている。NGS を用いた遺伝子解析には、網羅的に遺伝子を解析する全ゲノムシークエンス、全エク

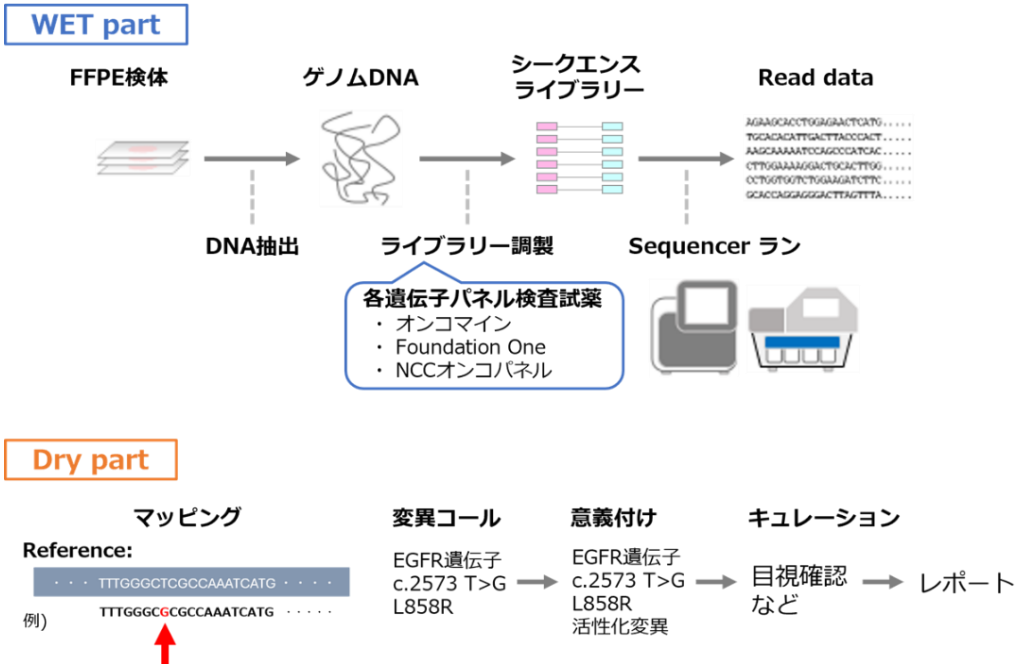


図 3.　ターゲットシークエンスにおける次世代シークエンサーの解析フローの概略

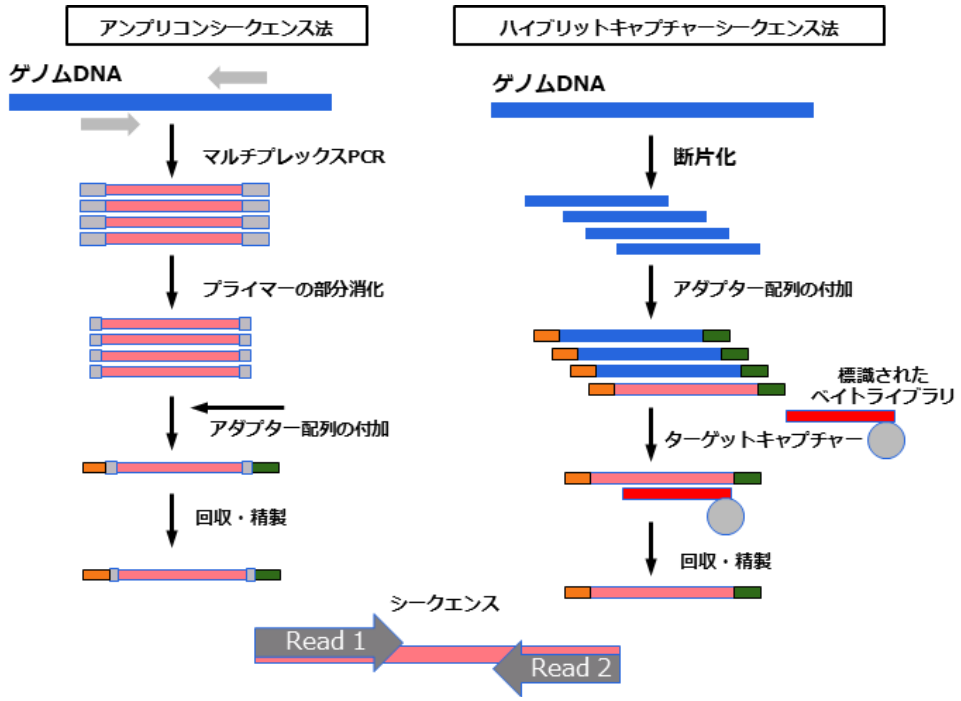


図 4. アンプリコンシークエンスとハイブリットキャプチャーシークエンスの原理
（久保ら，病理と臨床 35, 653 (2017)，一部改変）　文光堂より転載許諾取得済み（2021）

表 3.　アンプリコンシークエンスとハイブリットキャプチャーシークエンスの特徴の比較

特徴	アンプリコンシークエンス法	ハイブリットキャプチャー シークエンス法
代表的なパネル	オンコマイン Target Test マルチCDx システム 肺がんコンパクトパネル MINtS	OncoGuide NCCオンコパネルシステム FoundationOne CDx　がんゲノムプロファイル
特徴	少数で特定の遺伝子の変異ホットスポットなどを手早く簡便にスクリーニングするのに向いている	コピー数の変化や融合遺伝子を含む多くの遺伝子の包括的な情報を得るのに向いている
PCR反応による増幅	あり	なし
必要とされるDNA量	より少ない	より多い
Gene copy number	難しい	得ることができる
情報処理	それほど必要ではない	必要
報告までの時間	より短い	より長い
シークエンスエラー	より多い	より少ない
未知の融合遺伝子	シークエンス不可	シークエンス可能

ソームシークエンスに加え、特定の遺伝子を解析するターゲットシークエンスがある（図 3)。さらにターゲットシークエンスは、アンプリコンシークエンス法 Hot Spot パネル検査と 100 以上の遺伝子を網羅的に解析するキャプチャーシークエンス法に大別される (図 4)[7]。それぞれの特徴について表 3 にまとめた[8]。

以下、NGS を用いたマルチ CDx であるオンコマイン DxTT、肺がんコンパクトパネル、MINtS について記載する。

2-1．オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム（オンコマイン DxTT）

オンコマイン DxTT は、アンプリコンシークエンス法を用いた Hot Spot パネル検査である。腫瘍検体由来 DNA を用いて 46 遺伝子の hot-spot についての変異の有無を解析するとともに、腫瘍検体由来 RNA を用いて 21 遺伝子について融合遺伝子を解析する。これらのうち、表 1 および図 1 に示した遺伝子について CDx として承認されている。オンコマイン DxTT による解析結果の報告範囲は徐々に拡大され、CDx として機能する *EGFR* 変異（エクソン 19 の欠失変異およびエクソン 21 の L858R 変異)、*ALK* 遺伝子融合、*ROS1* 遺伝子融合、*BRAF* V600E 変異に加え、2019 年 10 月の一部変更によって T790M を含む *EGFR* 遺伝子の uncommon mutation が追加された。さらに *EGFR* exon 20 挿入変異、*RET* 融合遺伝子、*HER2* 変異、*MET* エクソン 14 スキッピングについても医薬品適応判定の補助として追加されている（表 1 および図 1)。必要核酸量や LOD 等については表 2 の通りである[9]。

2-2．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

肺がんコンパクトパネルは、NSCLC に特化した NGS 法を用いた CDx で、本邦で開発された。解析する遺伝子を小単位（モジュール）に分けて分割処理し、十分な深度でシーケンス解析することで検出感度を向上させている[10]。解析に必要な DNA および RNA 量は 10 ng 以上とされ、腫瘍含有割合は 5%以上が推奨されている（表 2)[11]。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。細胞診検体を用いる場合は、病理細胞診評価用と検査提出用のペア検体を準備し、病理細胞診評価により悪性細胞を確認した後、確認できたペア検体を提出する。細胞診検体の提出には、GM 管と呼ばれる核酸庇護剤入りの検体採取容器を用いる。肺癌コンパクトパネルは、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（表 1 および図 1)。

2-3．次世代シークエンサーを用いた多遺伝子変異検索システム（MINtS）

MINtS は、細胞診検体を対象としたマルチ遺伝子検査システムとして本邦で開発され、2024 年 12 月に保険収載された。NSCLC に対する分子標的薬が存在する遺伝子のみに解析対象を絞ることで、遺伝子あたりのシーケンス深度を高め、これにより検出感度を向上させている[12]。気管支鏡検査で採取された気管支洗浄液やブラシ擦過液、胸水などの細胞検体が使用可能である。採取した細胞検体を二分し、一方を用いた細胞診検査で悪性細胞の存在を確認し、もう一方の検体を提出する。提出用の細胞検体は遠心分離し、上清を除いた沈査に核酸保存液（RNAlater）を添加して冷蔵保存する[13]。FFPE 検体も提出可能であり、提出検体の腫瘍細胞含有割合は 10%以上であることが推奨されている。未染標本の提出枚数や必要核酸量等は表 2 の通りである。2025 年 4 月現在、3 遺伝子（*EGFR*、*ALK*、*BRAF*）のみが CDx 対象となっており、その他の 8 遺伝子（*ROS1*、*MET*、*RET*、*KRAS*、*HER2*、*NTRK1/2/3*）は参考情報として提供される（表 1 および図 1）。

（4）がんゲノムプロファイリング検査（CGP）

NSCLC の臨床で用いられるマルチ遺伝子検査（遺伝子パネル検査）には、大きく分けて二つの機能がある。一つは、CDx としての分析学的・臨床的妥当性が示されたコンパニオン診断機能、もう一つは特定のバイオマーカーの有無ではなく、検出された遺伝子異常を総合的に判断して治療選択につなげるがんゲノムプロファイリング（CGP）機能である。保険収載されているマルチ遺伝子検査は、どちらか片方または両方の機能を有する。CGP のためのマルチ遺伝子検査（遺伝子パネル検査）としては、2019 年 6 月に F1CDx および「OncoGuide NCC オンコパネルシステム（NCC オンコパネル）」が保険適用となった。その後 2021 年 8 月および 2023 年 7 月には、血漿検体を用いた F1LiquidCDx および「Guardant360 CDx がん遺伝子パネル」が、それぞれ保険適用となった。さらに 2023 年 8 月には「GenMineTOP がんゲノムプロファイリングシステム」についても保険適用となり、検査の選択肢が増えつつある。

NSCLC の臨床検体を用いてマルチ遺伝子検査を行う場合の留意点として、現在の我が国の保険診療の枠組みにおいては、CDx は NSCLC の診断時から使用できるが、CGP は標準治療の終了時（あるいは終了見込み時）の使用に限られる。また後者は、ゲノム異常の包括的理解に基づき治療方針を決定する検査であるため、ゲノム医療やがん薬物療法の専門家による解釈や、遺伝性疾患に対応できる遺伝医療の専門家の関与が必須となる[14]。現在のところ、がんゲノム医療中核拠点病院およびがんゲノム医療拠点病院において、各分野の専門家による検討会（エキスパートパネル）により治療方針の検討を行う必要があり、CGP によるがんゲノム医療の実施は、これらにがんゲノム医療連携病院を加えた施設でのみ可能となっている。一方で、標準治療が終了（あるいは終了見込み）の症例に対して CGP を行った場合に、治療薬に到達できる可能性は 10% 前後との報告もあり[15]、CGP の結果をいかに治療に結び付けていくかが今後の課題と言える。以下に、本邦で使用される代表的な CGP の特徴をそれぞれ記す。

1．FoundationOneⓇ CDx がんゲノムプロファイル（F1CDx）/ FoundationOneⓇ Liquid CDx がんゲノムプロファイル（F1LiquidCDx）

F1CDx はハイブリッドキャプチャーシークエンス法を用いたマルチ遺伝子検査である。F1CDx は腫瘍組織由来 DNA を、F1LiquidCDx は血漿中 ctDNA（circulating tumor DNA:血中循環腫瘍 DNA）を解析対象とする。324 遺伝子を搭載し、309 遺伝子の塩基置換・挿入／欠失変異と遺伝子増幅、36 遺伝子の遺伝子融合に加え、F1CDx ではマイクロサテライト不安定性（MSI）および腫瘍変異負荷（tumor mutation burden: TMB）の測定ができる。F1LiquidCDx については、コピー数変化は薬事承認範囲外となっている点には留意が必要である。F1CDx は、CGP 機能に加えて CDx としての機能を持つ（表 1）。NSCLC 以外の癌腫についても、*NTRK1/2/3* 融合遺伝子を有する固形癌（NSCLC を含む）、*HER2* コピー数異常を有する乳癌や *BRAF* V600E/K 変異陽性の悪性黒色腫、*KRAS/NRAS* 野生型の大腸癌の他、*BRCA1/2* 遺伝子変異陽性の卵巣癌および前立腺癌、*FGFR2* 融合遺伝子を有する胆道癌に対し、それぞれの対象となる医薬品の CDx としての使用が認められている。また、MSI-high を有する結腸・直腸癌および固形癌に対する免疫チェックポイント

阻害薬のCDxとしても承認されている。F1LiquidCDxは、組織検査が困難な症例に対するマルチ遺伝子検査で、F1CDxと同様にがんCGP機能およびCDxとしての機能を有している。表1に示した通り、F1CDxとは対象となる医薬品が異なる点には注意が必要である。

融合遺伝子に関して、*ALK*、*NTRK1*、*NTRK2*遺伝子については融合パートナーが搭載遺伝子以外でも検出可能だが、*NTRK3*遺伝子については*NTRK3*自体の搭載はなくパートナー遺伝子側から検出するため、搭載遺伝子がパートナーであった場合のみ検出可能である。搭載36遺伝子の中ではこれまでに*ETV6-NTRK3*融合が多く報告されている[16-18]。

なお、F1CDxおよびF1LiquidCDxでは、検体はすべて米国FMI社（Foundation Medicine, Inc.）に送付され、DNA抽出からシークエンス、データ解析、バイオインフォマティシャンによるデータ確認と臨床的意義付けされたレポート作成まですべて米国で行われる。F1CDxのレポートは、最初に「Companion Diagnostics (CDx) Associated Findings」というタイトルでコンパニオン診断に関わる遺伝子変異の検出結果と各変異に対する薬剤が記載される。CDxとして用いる場合でも全ての遺伝子についての解析結果も返却されるが、この「Companion Diagnostics (CDx) Associated Findings」に記載された結果のみ診療に使うことが、保険上認められている。それ以外の結果を診療に用いるためには、現状の保険診療制度では、標準治療が終了（見込み）となった時点で、エキスパートパネルでの議論を経る必要がある。

2．OncoGuide™ NCCオンコパネルシステム（NCCオンコパネル）

ハイブリッドキャプチャーシークエンス法を用いたCGP検査で、NSCLCに関してはCDxとしての機能は有しない。2021年2月の変更承認によって、がん関連124遺伝子の塩基置換・挿入／欠失変異と遺伝子増幅、*NTRK3*を加えた13遺伝子の遺伝子融合、TMBおよびMSIが検査可能となった。融合遺伝子はパートナー遺伝子にかかわらず検出可能である。腫瘍組織由来DNAだけでなく、正常コントロールとして非腫瘍細胞（末梢血）由来DNAを用いることで、まれな遺伝子多型も含め完全に除外でき、体細胞遺伝子変異と生殖細胞系列遺伝子変異も区別できるという特徴がある。

DNAライブラリー調整試薬キットと遺伝子異常解析プログラムからなるコンビネーション医療機器で、NextSeq™ 550Dxシステムを用いることで、品質保証において ISO15189 等の第三者認証を受けている検査機関またはがんゲノム医療中核拠点病院で検査実施可能である。

3．その他のCGP

上記以外にも、様々な特徴を有するCGPが承認され使用されるようになった。血液検体を用いて行う「Guardant360 CDx がん遺伝子パネル」では、固形癌患者のctDNAを解析対象とし、74遺伝子について塩基置換や挿入・欠失、遺伝子増幅、融合遺伝子及びMSI-Highを検査可能である。また、肺癌における*KRAS* G12Cおよび*HER2*変異に対してCDx機能を有する（表1）。「GenMineTOP がんゲノムプロファイリングシステム」では、固形癌患者の腫瘍組織検体から抽出したDNAとRNAの他に、同一患者由来の非腫瘍細胞（血液検体）から抽出したDNAを用いて解析を行う。737遺伝子および*TERT*のプロモーター領域の変異等（塩基置換、挿入・欠失、コピー数異常）、TMBスコア、遺伝子融合（455遺伝子）およびエクソンスキッピング（5遺伝子）あるいは遺伝子発現量（27遺伝子）を検出可能である。

（5）おわりに

進行・再発非小細胞肺癌においては、ドライバー遺伝子を標的とする分子標的治療は有効性が高く、長期生存が期待できる薬物治療である。したがって、ドライバー遺伝子陽性例を確実に診断できるかどうかが患者の予後に大きく影響する。診断すべき複数のドライバー遺伝子を、すべて初回治療前に迅速に診断するためには、マルチCDxの使用が強く推奨される。それぞれのマルチCDxの特徴を理解し、臨床経過に応じて適切に検査を選択する必要がある。また、さらなる分子標的治療薬の承認と並行して、コンパニオン診断の対象となる遺伝子が次々と追加承認される見込みである。肺癌診療医は、最新の治療薬および診断薬の情報を確認しながら、診療にあたっていただきたい。

参考文献

1. Wang M, Herbst RS, Boshoff C. Toward personalized treatment approaches for non-small-cell lung cancer. Nat Med. 2021;27(8):1345-1356.

2. 日本肺癌学会. 肺癌診療ガイドライン 2024 年版. 2024 年.

3. 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構ホームページ コンパニオン診断薬等の情報. https://www.pmda.go.jp/review-services/drug-reviews/review-information/cd/0001.html

4. 日本病理学会.「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」https://pathology.or.jp/genome_med/pdf/textbook.pdf

5. 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):1493-502.

6. AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル添付文書 https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/ivdDetail/ResultDataSetPDF/850278_30300EZX00076000_A_01_11

7. 久保ら, 病理と臨床 35, 653 (2017)

8. 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;13:323-358.

9. オンコマイン™ Dx Target Test マルチ CDx システム添付文書. https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/kikiDetail/ResultDataSetPDF/840863_23000BZX00089000_B_01_22

10. Kato K, Okami J, Nakamura H, et al. Analytical performance of a highly sensitive system to detect gene variants using nextgeneration sequencing for lung cancer companion diagnostics. Diagnostics. 2023;13:1476

11. 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 添付文書. https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/kikiDetail/ResultDataSetPDF/471589_30400BZX00263000_1_01_03

12. 萩原 弘一. 肺癌遺伝子変異検査と細胞診検体. 日本内科学会雑誌. 2023;112:84-88

13. MINtS®肺癌マルチ CDx ライブラリー調整試薬キット 添付文書. https://www.info.pmda.go.jp/downfiles/ivd/PDF/170005_30600EZX00033000_A_01_01.pdf

14. 枝園和彦, 豊岡伸一. 外科治療における肺がんゲノム医療の現状と今後. 肺癌. 2022;62:173-179

15. Sunami K, Ichikawa H, Kubo T, et al. Feasibility and utility of a panel testing for 114 cancer-associated genes in a clinical setting: A hospital-based study. Cancer Sci. 2019;110:1480-1490.

16. Pinto A, Nose V, Rojas C, et al. Searching for mammary analogue [corrected] secretory carcinoma of salivary gland among its mimics. Mod Pathol 2014;27:30-37.

17. Schram AM, Chang MT, Jonsson P, et al. Fusions in solid tumours: diagnostic strategies, targeted therapy, and acquired resistance. Nature reviews Clinical oncology 2017;14:735-748.

18. Skalova A, Vanecek T, Majewska H, et al. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands with high-grade transformation: report of 3 cases with the ETV6-NTRK3 gene fusion and analysis of TP53, beta-catenin, EGFR, and CCND1 genes. Am J Surg Pathol 2014;38:23-33.

2024 年 4 月改訂 ・ 2024 年 7 月改訂 ・ 2024 年 9 月改訂・ 2025 年 4 月改訂・ 2025 年 8 月改訂 (赤字記載部分)

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

３．バイオマーカー検査に用いる検体とその取扱い

（2024 年 4 月改訂 v2.0）

目　次

（１）ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織に関する注意事項.....2
１．手術検体取扱いにおける注意事項（術中からホルマリン固定まで）.....2
２．生検検体取扱いにおける注意事項（採取からホルマリン固定まで）.....2
３．パラフィン包埋後の取扱いについて.....4
（２）新鮮凍結組織検体の取扱いに関する注意事項.....4
（３）細胞検体の取扱いに関する注意事項.....4
（４）血漿検体の取扱いに関する注意事項.....5
（５）遺伝子パネル検査を行う際の検体取り扱い上の注意点.....5
１．腫瘍細胞含有割合.....5
２．標本組織量.....8
（６）検査精度の確保.....10
参考文献.....11
付表　検査対象となる検体*.....12

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

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

進行期非小細胞肺癌症例において，コンパニオン診断を目的としたバイオマーカー検査の実施が不可欠となっており，近年その範囲は周術期まで拡大している[1]．使用する検体種は，組織，細胞，血漿検体の３つに大別されるが，主として組織検体，特にマルチプレックスコンパニオン診断（マルチ検査）やがんゲノムプロファイリング検査といった遺伝子パネル検査では，ホルマリン固定パラフィン包埋（Formalin fixed and paraffin-embedded；FFPE）組織検体が用いられている[2]．最近の患者還元型の臨床研究において，全エクソームシークエンス解析や全トランスクリプト―ム・シークエンス解析では FFPE 組織検体が，全ゲノムシークエンス解析では新鮮凍結組織検体が，それぞれ用いられるようになっており，これらを視野に入れた組織検体の取り扱いも日常診療上重要になりつつある．細胞検体については，セルブロックは FFPE 組織検体に準じ運用されている．一方，未固定検体もしくはアルコール固定検体は単一遺伝子を対象としたコンパニオン診断（シングル検査）では比較的よく用いられてきたものの，マルチ検査が主流となってからは，その使用は減少していた．しかし細胞検体での使用を念頭に開発されたディープシークエンシングによる高感度なマルチ検査システムの臨床導入により，2023 年より徐々に使用が増加しつつある．ここではバイオマーカー検査に用いる検体とその取扱いに関する基本的事項について記す（章末の付表も参照されたい）．

（１）ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織に関する注意事項

１．手術検体取扱いにおける注意事項（術中からホルマリン固定まで）

手術検体では，固定前プロセスの煩雑さなどから，一般に，生検検体に比べて，核酸品質や単位体積・面積あたりの核酸収量が低くなる場合が多いといわれる．手術中の切除組織と交通する脈管，特に栄養する動脈の結紮が開始点とされ，体外に摘出されるまで時間は「温虚血時間（warm ischemia time）」と呼ばれ，“低酸素をはじめとするストレス応答開始”に加えて，“酵素活性が保たれる体温下にある”ことから，組織試料の質に大きな影響を与えるとされる．次に，体外に摘出された組織が，凍結またはホルマリンなどで固定されるまでの間は，「冷虚血時間（cold ischemia time）」と呼ばれ，ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程[3]では，ゲノム解析結果に影響が少ない摘出後の管理法として，摘出後は速やかに冷蔵庫など 4℃下で保管し，遅くとも 3 時間以内に固定を行うことが望ましいとしている[4]．また，手術により切除された組織においては，摘出後 30 分以上室温で保持することは極力回避することが推奨されている．慣習として，手術終了時に家族の目前で腫瘍に割を入れて術後説明を行う場合があるが，ゲノム診療や感染症対策などを考えると，これらの術後標準操作手順（standard operating procedure；SOP）はいち早く“正しいゲノム診断”を重視した SOP に見直す時期に来ているといえる．手術検体に割を入れる際は，“最大割面をずらして割を入れる”，“胸膜変化を有する部分，特に，最も胸膜が嵌入した部分は避けて割を入れる”，“ホルマリン注入時の漏れを少なくするため，必要最小限の割にする”，などの注意が必要である[5]．

ホルマリン固定液は，10%中性緩衝ホルマリンを用い，サンプル量の 10 倍で固定することが推奨されている．固定推奨時間は，6～48 時間（72 時間まで許容）であり，一般的なホルマリンの浸透速度は 1mm/時間程度であることを考慮して，必要時切り出しまでに十分な固定が行える程度の厚みまで固定前に適切に入割すること[3]，気道（脈管）からホルマリン液をシリンジなどで十分に注入することが推奨される．ホルマリン固定による核酸品質への影響として，核酸の断片化や核酸塩基の化学修飾が知られ，特に「C>T 置換〔シトシン（C）の加水分解に伴う脱アミノ化によりウラシル（U）に置換し，PCR 増幅反応によってチミン（T）が生成すること〕」が報告されている[6,7]．なお手術による切除組織の取り扱いや固定方法については肺癌取扱い規約第 8 版補訂版を参照されたい[8]．

２．生検検体取扱いにおける注意事項（採取からホルマリン固定まで）

病変の局在・大きさや，施設で実施可能な手技に応じて，超音波内視鏡下穿刺吸引法（EUS-FNA），肝・骨生検，外科的生検などの適当な検体採取方法を選択する必要がある．

気管支内視鏡検査では特に検体が微小であり，様々な工夫が必要である．末梢肺結節に対する腫瘍生検では，仮想気管支鏡画像やナビゲーションの併用は病変への確実な到達を容易にし，気管支腔内超音波断層法（EBUS）にガイドシース法（EBUS-GS 法）もしくは細径気管支鏡（EBUS-UT 法）を併用することで再現性が高まり，数多くの検体の採取が可能になる．ただし同一部位で生検を重ねると，後半になるにつれて出血によるアーチファクトが発生する可能性を考慮する必要があり，採取部位を少しずつ変更するなどの工夫をする．一度の生検で大きな検体を採取するために，可能であれば大型の生検鉗子やガイドシースキットを用いる．関与気管支が腫瘍辺縁にしか到達しないような病変では，末梢での経気道的針穿刺後に鉗子生検を行うことでより腫瘍細胞割合の高い検体が採取される．また，経気道的生検方法のクライオバイオプシーでは，大きな検体が採取可能で，DNA・RNA 量は鉗子生検の約３倍で，NGS 解析成功割合は有意に高いとの報告がある[9]．

超音波ガイド下経気管支針生検（EBUS-TBNA）では，19～25G 穿刺針が使用可能で，22G 針で NGS 解析が十分に可能であったとする報告がある[10]．腫瘍細胞含有割合の低下を回避するためには，エラストグラフィを含めた超音波所見による穿刺部位の決定（図 1A），slow pull 法（図 1B）や迅速細胞診（ROSE 法）の併用が有効である[11]．

胸水貯留例においては，胸水細胞診検体やセルブロックが確定診断やその後の遺伝子検査に提出されていることが多かったが，腫瘍細胞割合は低いことに注意が必要である．胸腔鏡下に壁側胸膜を生検することで質の高い検体が多く採取可能で，局所麻酔下に安全に施行できるので，可能であれば考慮してもよい．

(本項目については，国立がん研究センター東病院　呼吸器内科の桐田圭輔先生の協力を得た)

生検検体では，周囲環境により検体全体が即座に影響を受ける可能性があるため，採取後は，速やかに固定液に浸漬 し固定をすることが推奨されている．固定液は，サンプル量の 10 倍量の 10%中性緩衝ホルマリン液を用い，固定時間を 6～48 時間以内にすることが推奨されている[3]．

なお，各種生検検体の特徴や取扱いの留意点については，章末の付表ならびに肺癌診療ガイドライン 2023 年版[1]を，ホルマリン固定後からパラフィン包埋における注意事項については，ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程[3]をご

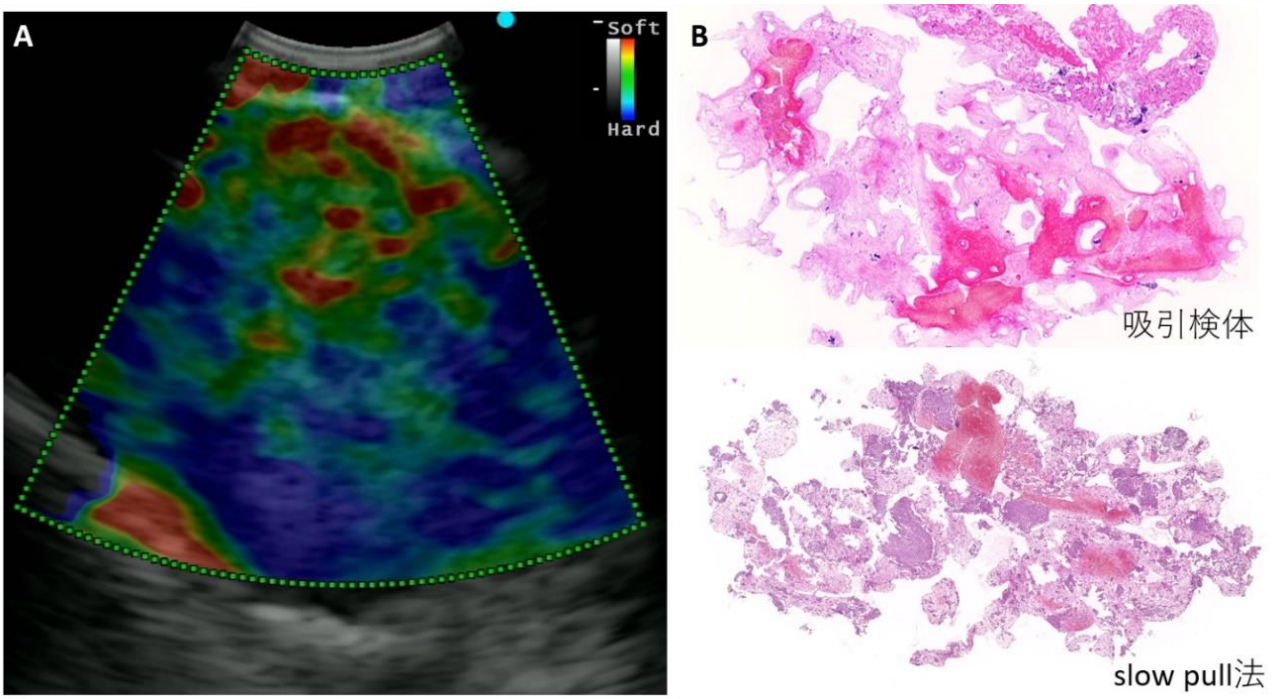


図 1.　生検採取の注意点
A. エラストグラフィではリンパ節内での硬さが評価可能であり，硬い部位（青）から穿刺を行うことで良質な検体が採取できる．
B. EBUS-TBNA 検体での吸引検体（上段）と slow pull 法（下段）の比較．吸引検体では血液の混入が多く，腫瘍細胞が十分採取されていない．

参考いただきたい.

3．パラフィン包埋後の取扱いについて

パラフィン包埋後の検体（FFPE ブロック）の保管は，室温でよいが，多湿を避け冷暗所が推奨されている．ただ，ゲノム診断を目的として作製された FFPE ブロックは，冷蔵下の保存が望ましいとの意見もある [12]．経年により FFPE ブロックは劣化するが，その次世代シークエンス（NGS）検査に対する影響は，使用する遺伝子パネルで異なるが，作製後 3 年以内の使用が望ましいとされる [3,13]．

FFPE ブロックを薄切した組織切片は，スライドガラスにマウントさせて提出する．各バイオマーカー検査において規定されている必要枚数の未染色標本を作製し， そのうちの 1 枚を HE 染色し腫瘍細胞の存在を確認することが推奨される．特に微小な生検検体では， 病理診断の後に再薄切した場合には， 腫瘍部分あるいは組織そのものがなくなってしまうことがあるので注意を要する．病理診断時にバイオマーカー検査の実施が予定されている場合は，標本作製前に行うトリミングによるロスを最小限にするために，あらかじめ病理診断用の未染色標本作製時にバイオマーカー検査用標本を余分に作製しておくことも有用である [5]．

検体中の腫瘍細胞の存在状態は様々であるため，病理診断報告書に腫瘍量や腫瘍含有割合を記録しておくことが推奨される．またマクロダイセクションを実施した場合は，その旨と実施後の腫瘍量や腫瘍含有割合を記録することが推奨される．また検査センターへ外注する場合，検査に供した検体の HE 染色標本（マクロダイセクションを行う際に，腫瘍部のマーキングを行った HE 染色標本）は，可能な限り検査後にも再確認できるようにしておくことが望ましい [5]．

（2）新鮮凍結組織検体の取扱いに関する注意事項

新鮮凍結組織検体は，最も高品質の DNA や RNA を抽出可能であるが，同時に DNase や RNase の酵素活性も保持されており，検体の取扱いを迅速に行わなければ，核酸品質を急速に低下させるおそれがあるため，注意を要する．手術室などで割を入れ採取する場合も多いが，腫瘍細胞含有量が不明なため，顕微鏡的に確認する必要がある．周囲の炎症が強い腫瘍，粘液産生が高度な腫瘍，中心部線維化巣が広範な腫瘍では，腫瘍細胞が採取されず偽陰性になることがある．腫瘍細胞を確認する手段としては，「① 凍結腫瘍組織を薄切し，HE 標本を作製し，その標本で腫瘍細胞の存在および占有割合を確認する」「② 採取時に割を入れ，その片割れを凍結組織とし，残りの割面で FFPE 組織標本を作製し確認する」などの方法がある [14]．

（3）細胞検体の取扱いに関する注意事項

細胞検体は，組織の穿刺吸引・擦過などにより採取される非液状検体と，体腔液・洗浄液などの液状検体に大別され，検体採取後は可及的速やかに検体処理を行うことが推奨されている．非液状検体は，塗抹法や液状化検体細胞診（liquid-based cytology: LBC）法で処理され，液状検体は，塗抹法・LBC 法に加えてセルブロック法で処理されることが多い．検体採取エリアと検体処理エリアが離れている場合など，処理に時間を要すならば，検体を氷冷，もしくは冷蔵保管（4℃）することが望ましいとされる（LBC 保存液の場合は，常温保存も可能だが，直射日光を避け，高温・多湿環境を回避する）．

セルブロック以外の液状検体は，採取検体が十分量あれば，ペア検体として 2 つに分けることが推奨される．1 つは，通常の細胞診として用い，形態学的診断に加えて，腫瘍含有量の評価を行う．もう 1 つは，核酸抽出用として保管しておく．保管の際は，遠心分離後に上清を廃棄した細胞成分を－80℃で凍結保存するか，冷蔵で長期間保蔵可能な細胞診検体保存容器（GM 管など）を用いることも可能である．

セルブロック作製では，採取～検体処理（遠心分離・上清廃棄）までできるだけ冷蔵（4℃）保存を行い，可及的速やかにホルマリン固定（10%中性緩衝ホルマリンが推奨）し，6～24 時間程度の固定を行うことが推奨されている [5]．セルブロック作製法は複数知られており，遠心分離細胞収集法と細胞固化法に大別される．前者では遠心管法が，後者ではアルギン酸ナトリウム法が，比較的多くの施設で用いられているが，本邦ではそれぞれ 4～5 種程度

の作製法が用いられていることがこれまでの調査研究で明らかとなっている[5]．セルブロックの包埋やブロック保管については，前述の FFPE 組織の取扱いに関する注意事項と同様である．

なお，一般に NGS パネル検査に必要な DNA 最低量は 10ng である．ただし必要な量は使用する遺伝子パネルや NGS 機器の種類によって異なる[5]．1 つの有核細胞から得られる DNA 収量は 6 pg 程度と見積もられる．NGS パネル検査に必要な DNA 最低量である 10 ng を得る場合には約 2,000 細胞（未染色標本上では腫瘍細胞が豊富なエリアが少なくとも 60～100 ㎟程度）からの抽出が必要とされている[5,15]．

（４）血漿検体の取扱いに関する注意事項

血漿検体は，組織検体と異なり，腫瘍細胞の割合や DNA の質，量に基づいて評価できないため，血液採取，血漿の分離，血漿検体の保管に至るプレアナリシスの段階において適切に扱われた検体を使用するべきである（付表）．血液採取（採血）手技が血液成分に大きな影響を及ぼすため，日本臨床検査標準協議会から出されている「標準採血法ガイドライン」改訂版(GP4-A3) などのガイドラインに基づいた正しい採血法を用いることが重要である．採血管は，血漿用採血管である EDTA 採血管が用いられることが多いが，血漿 CGP 検査では，医療機器認証を受けた指定のセルフリーDNA 抽出用採血管を原則使用する（FoundationOne Liquid がんゲノムプロファイルでは「Roche セルフリーDNA 抽出用採血管」，Guradant360 CDx がん遺伝子パネルでは「Streck 採血管（cell-free DNA BCT)」が採用されている）．特に採血後の検体を長時間室温で放置すると，血球成分の崩壊や DNA の分解の原因につながる[16]．また，血漿成分を分離する際に血球成分が混入すると，有核細胞由来のゲノム DNA が混入するため，腫瘍由来のゲノム DNA が希釈され，偽陰性となる可能性があることは注意しなければならない．通常の EDTA-2K の採血管を使用した場合，血漿の分離は，採血後 6～8 時間以内に行うことが推奨される．血漿分離後の血漿検体は，15～30℃で 1 日間，2～8℃で 3 日間，－25～－15℃で 12 カ月，そして－70℃以下の場合は 12 カ月保管可能である．

（５）遺伝子パネル検査を行う際の検体取り扱い上の注意点

遺伝子パネル検査に用いられる検体はいずれも FFPE 標本が推奨されている．新鮮凍結組織や凍結細胞診検体からの解析も可能であるが，腫瘍細胞含有割合を評価することが必要である[3]．FFPE 標本であれば，手術切除標本，生検検体，セルブロック検体を用いることが可能であるが，解析に適しているかどうかについては腫瘍細胞含有割合および標本組織量によって決定される（日本肺癌学会．肺癌診療ガイドライン 2023 年版:CQ16 の表１～２参照）[1]．

１．腫瘍細胞含有割合

次世代シークエンサー（NGS）等の臨床導入を契機に，より重要性が高まった評価項目であり，解析対象となる組織における有核細胞のうち，腫瘍細胞の核が占める割合を意味する．ダイセクションを行って提出組織の一部を解析に用いる場合は，ダイセクションする領域における有核腫

図 2.　腫瘍細胞含有割合の違いによる変異アリル頻度の違い

瘍細胞割合となる. この腫瘍細胞含有割合が重要になる理由としては, 図 2 に示すように, 腫瘍細胞含有割合が低いと得られるシークエンスデータにおける変異アリル頻度が低くなるためである. 変異の検出はシークエンスされるリード数と関連し, シークエンスエラーなどで発生する偽陽性と区別するため, カットオフ値は統計学的に安全域を設けて設定されている（図 3）. そのため，規定以下の腫瘍細胞量以下であった場合は, 変異アリル頻度がカットオフ値より低くなる場合があり，偽陰性を示す場合もある. 公表されている最小検出限界(Limit of Detection ; LOD)をもとに考えると，オンコマイン DxTT では，EGFR 変異 L858R は 10.6%, Ex19Del は 8.8%の腫瘍細胞含有割合がないと検出できず，BRAF V600E 変異は 12.8%以上の腫瘍細胞含有割合が必要となる.

腫瘍細胞含有割合は, 腫瘍細胞を正確に同定することができる病理診断医の評価が必須となる. しかしながら，遺伝子パネル検査では厳密に求められる指標であり, 腫瘍細胞占有率（面積での割合）と混同される場合もあることから注意が必要である（図 4）.

また, 病理診断医の評価は，これまでの経験をもとに判断されることが多く, その場合過剰評価する傾向があることが知られている [17-19]. その 1 つの原因として，具体的にどのように計測すべきについての詳細な説明に乏しいことが挙げられ, その方法についての解説を受けることで改善することが報告されている [19]. 代表的な例を以下（図 5-8）に提示したので参照されたい.

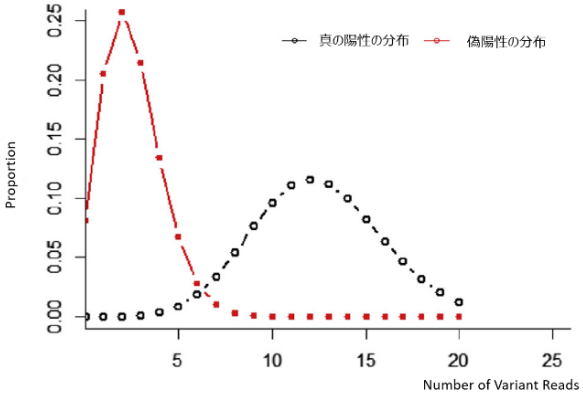


図 3. シークエンスエラー1%とした場合の偽陽性の 2 項分布および腫瘍細胞 10%で 250 リードシークエンスした場合の真の陽性についての 2 項分布. 低い変異アリル頻度の場合, 真の陽性と偽陽性とが重なるところがある.（J Mol Diagn 2017;19:341-365 より引用）
Reproduced with permission from Elsevier (2021)

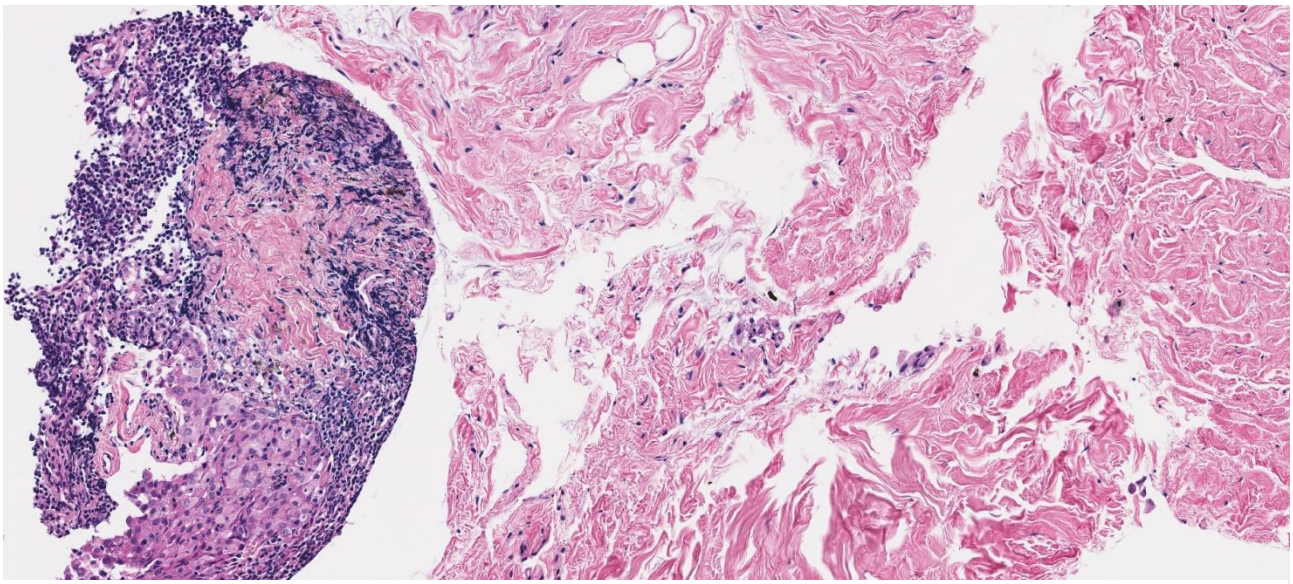


図 4. 肺扁平上皮癌リンパ節転移巣の針生検組織の例. 面積としては線維性結合組織が 70%を占めているが，左断片（リンパ球浸潤と腫瘍細胞からなる）に対し，線維性結合織の有核細胞数は無視できるほど少ない. また，リンパ球は小さな面積しかもたないため，単位面積としては，腫瘍細胞 1 つあたり 3~7 つのリンパ球が占めることになる. 遺伝子パネル検査では DNA での比較となるため，占有面積ではなく，有核細胞比率で考える必要がある（この写真では有核腫瘍細胞含有割合は 15%となる）.

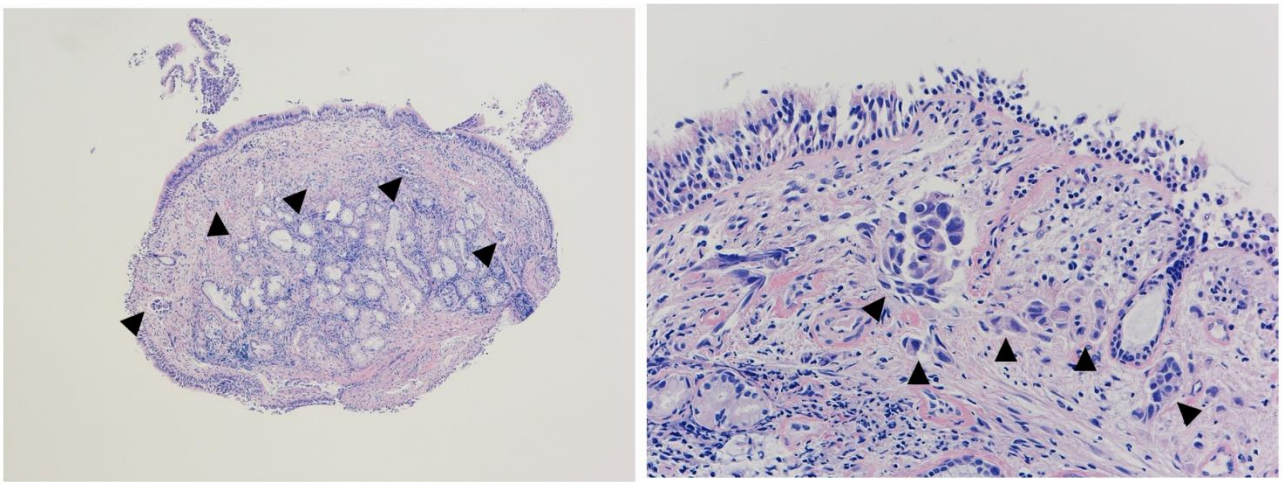


図 5.　*TBLB* 生検組織の例．主としてリンパ管内に存在する腫瘍細胞を▲で示した．このような場合においても診断としては腺癌とされるため，腫瘍細胞含有割合の確認は重要である．

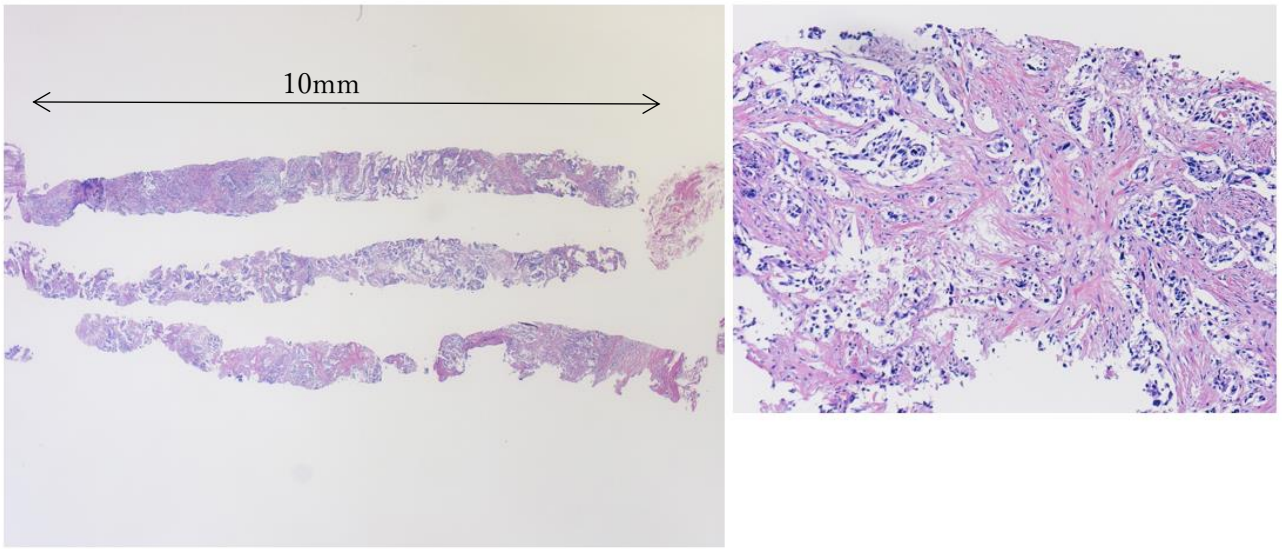


図 6.　肺腫瘍針生検組織の例．ほぼ均一に右拡大像のように腫瘍細胞が分布している．おおむね 30%程度の腫瘍細胞含有割合である．また，組織量としても 10mm x 1mm x 3 本=30mm^2 となり，5mm 厚未染標本 10 枚で，オンコマイン DxTT, NCC オンコパネル，F1CDx のいずれに対しても解析に適した検体といえる．

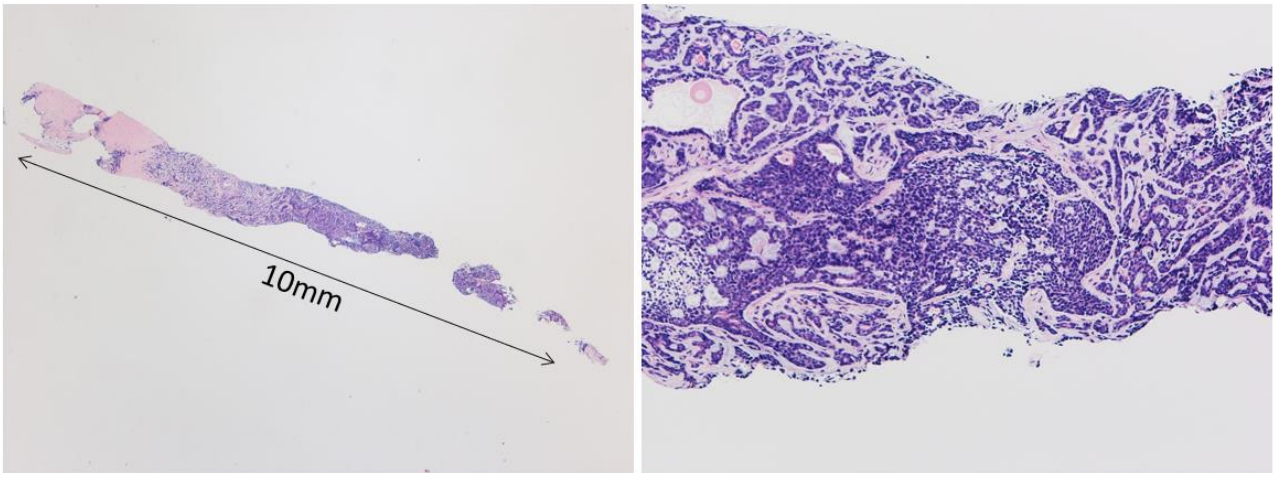


図 7.　肺腫瘍針生検組織の例．唾液腺腺様嚢胞癌の転移．10mm 大の針生検組織であり，太さ 1mm と考えると 10mm^2 の面積を有することになる．間質成分には有核細胞が少ないため，ほぼ右図の腫瘍組織からなっており，腫瘍細胞含有割合は 70%と評価される．このような例では，5μm 厚未染 10 枚でオンコマイン DxTT, NCC オンコパネルは解析可能であるが，F1CDx の場合は基準である 1mm^3 の組織量を満たすため，20 枚の未染標本が必要となる．

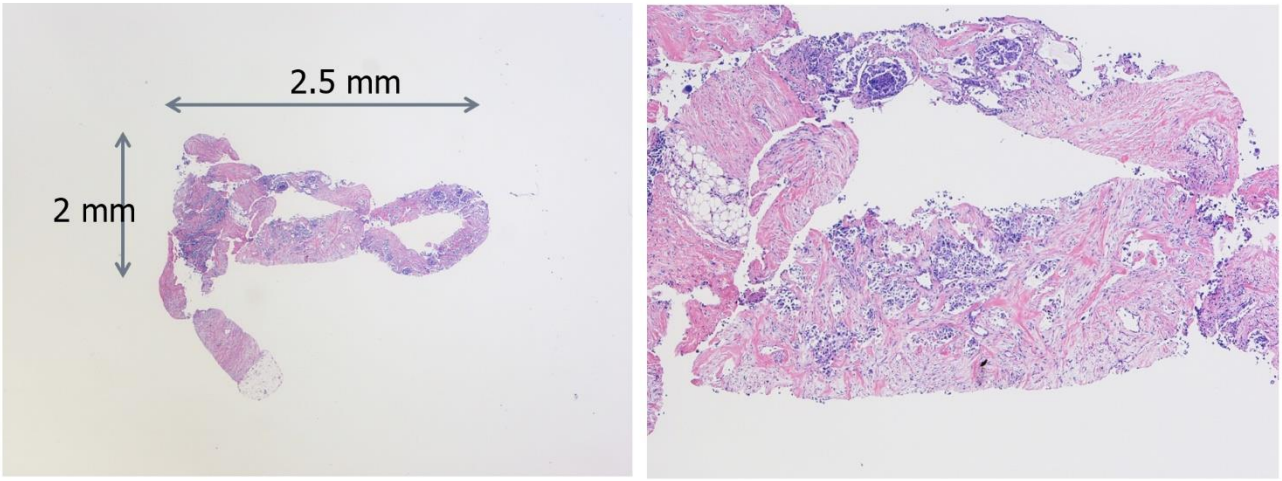


図 8.　肺腫瘍針生検組織の例．組織量としては 5mm^2 であるが，腫瘍細胞含有割合は 15%であり，オンコマイン DxTT, NCC オンコパネル, F1CDx いずれも解析に適さない．単一遺伝子検査が推奨されるが，30%以上の腫瘍細胞含有割合が求められる ROS1 AmoyDx 融合遺伝子キットにおいても不適切検体となり，ROS1 のコンパニオン診断においてもこの検体は不可能と評価される．

2．標本組織量

それぞれの検査法によって必要とされる組織量が異なる．また，手術切除標本，生検検体，セルブロック検体など検体によって腫瘍サイズが大きく異なっており，実際に未染標本何枚を提出すべきかは腫瘍含有割合ともあわせて症例ごとに判断する必要がある．一部の例を以下（図 9-11）に示したので参照されたい．

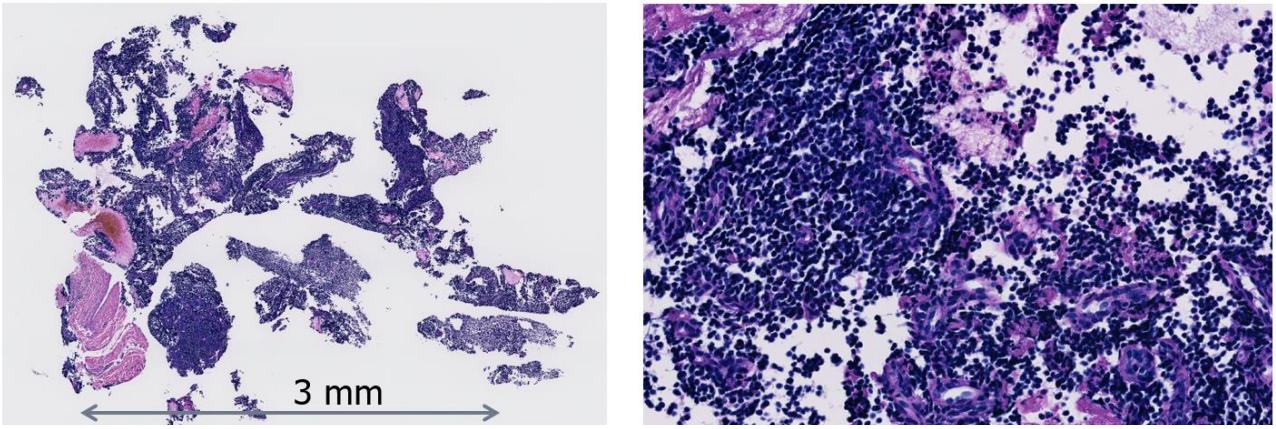


図 9.　軟部転移巣針生検組織の例．3mm 大の小さな組織であり，6mm^2 大のサイズしかないが，80%の腫瘍細胞含有割合で腫瘍細胞が密に集簇している．そのため，1,288ng の DNA が抽出され，いずれの遺伝子パネル検査も施行可能である．

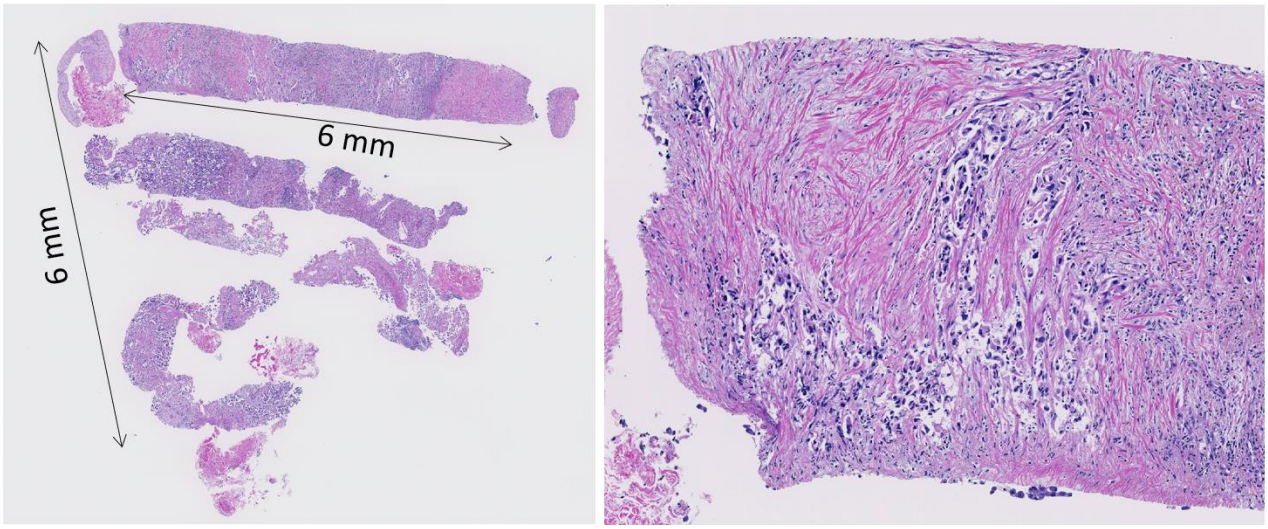


図 10.　肺腫瘍針生検組織の例．組織量としては 20mm^2 程度，腫瘍細胞含有割合は 30%であり，オンコマイン DxTT，NCC オンコパネル，F1CDx いずれも解析可能である．しかしながら，腫瘍細胞に変性傾向がみられ，DNA としては 10.3ng しか抽出されず，解析に足りる DNA が得られなかった．

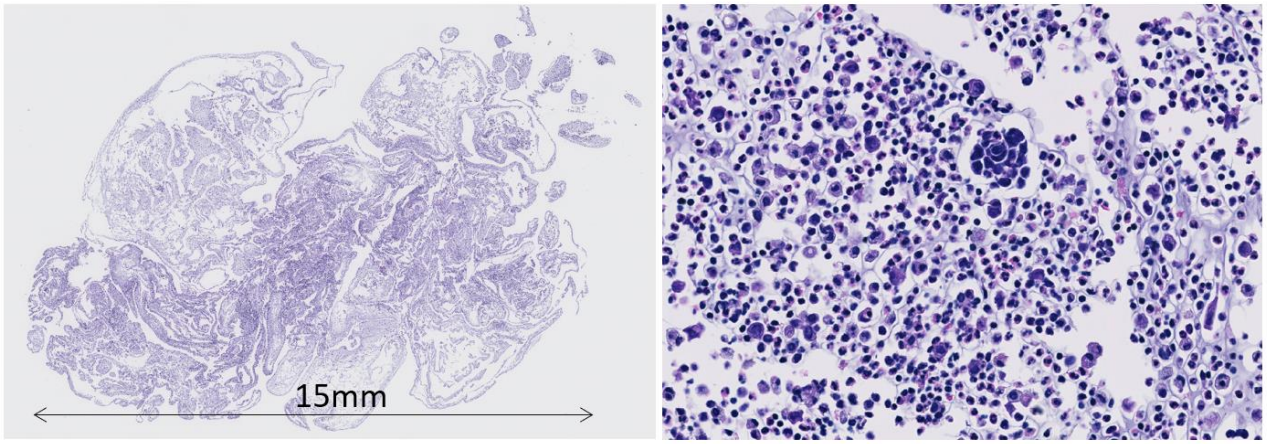


図 11.　小細胞癌の悪性胸水に対してのセルブロックの例．細胞量としては十分にあり，DNA も 408.5ng 抽出されたが，腫瘍細胞含有割合は 1%以下であり，パネル検査には適さない．胸水ではしばしば多数の炎症細胞やマクロファージが混在し，マイクロダイセクションもできないことから，適切な腫瘍細胞含有割合を得るのが難しい．

（6）検査精度の確保

医療法等の一部を改正する法律の一部の規定が，平成 30 年 12 月 1 日に施行され，医療機関，衛生検査所等における遺伝子関連・染色体検査の精度の確保が医療法の枠組みに組み入れられた．これに伴い，この確保のために設けるべき以下の基準として示された．

1) 遺伝子関連検査・染色体検査の責任者の配置

2) 内部精度管理の実施，適切な研修の実施義務

3) 外部精度管理調査の受検

これに加え，検査施設の第三者認定を取得することを当面，勧奨することになった．第三者認定としては，国際規格である ISO15189 や米国病理学会（College of American Pathologists；CAP）の臨床検査室認定プログラム(Laboratory Accreditation Program；LAP）などが知られている．また，がんゲノム医療中核拠点病院等の指定要件では，がんゲノム医療中核拠点病院・拠点病院の診療機能として第三者認定を受けた臨床検査室，病理検査室を有することとされていることを受け，本邦においては，ISO15189 認定を取得する施設が増加しており，2023 年 10 月時点で，肺癌バイオマーカー検査で最も多く供される FFPE 組織検体を取り扱う病理検査室で認定を取得している医療機関は全国で約 200 施設にまで拡がっている．これら多くの施設では「病理組織標本作製」に係る項目の認定を取得しているが，院内においてバイオマーカー検査，体細胞遺伝子検査を実施する場合は，上記に加え「遺伝子関連検査･染色体検査」に係る項目の認定取得が求められる．

参考文献

1. 日本肺癌学会. 肺癌診療ガイドライン 2023 年版. 2023.

2. 畑中 豊., 菊地 順子. , 畑中 佳奈子. がんゲノム診療における組織・細胞・血漿検体の取扱いと使い分け. 肺癌. 2022;62(Suppl):5.

3. 日本病理学会. ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程. 2018.
Hatanaka Y, Kuwata T, Morii E, Kanai Y, Ichikawa H, Kubo T, et al. The Japanese Society of Pathology Practical Guidelines on the handling of pathological tissue samples for cancer genomic medicine. Pathol Int. 2021; 71(11): 725-740.

4. Hammond M. E., Hayes D. F., Dowsett M., Allred D. C., Hagerty K. L., Badve S., 他. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. J Clin Oncol. 2010;28:2784-2795.

5. 日本臨床細胞学会. がんゲノム診療における細胞検体の取扱い指針　第 1.0 版. 2021.
Morii E, Hatanaka Y, Motoi N, Kawahara A, Hamakawa S, Kuwata T, et al. Guidelines for Handling of Cytological Specimens in Cancer Genomic Medicine. Pathobiology. 2023; 90(5): 289-311.

6. Williams C., Pontén F., Moberg C., Söderkvist P., Uhlén M., Pontén J., 他. A high frequency of sequence alterations is due to formalin fixation of archival specimens. Am J Pathol. 1999;155:1467-1471.

7. Do H., Dobrovic A. Sequence artifacts in DNA from formalin-fixed tissues: causes and strategies for minimization. Clin Chem. 2015;61:64-71.

8. 日本肺癌学会. 臨床･病理 肺癌取扱い規約 第 8 版補訂版. 2021.

9. Udagawa Hibiki, Kirita Keisuke, Naito Tomoyuki, Nomura Shogo, Ishibashi Masayuki, Matsuzawa Reiko, 他. Feasibility and utility of transbronchial cryobiopsy in precision medicine for lung cancer: Prospective single-arm study. Cancer Science. 2020;111:2488-2498.

10. Dooms Christophe, Vander Borght Sara, Yserbyt Jonas, Testelmans Dries, Wauters Els, Nackaerts Kristiaan, 他 . A Randomized Clinical Trial of Flex 19G Needles versus 22G Needles for Endobronchial Ultrasonography in Suspected Lung Cancer. Respiration. 2018;96:275-282.

11. He X., Wu Y., Wang H., Yu G., Xu B., Jia N., 他. Slow-pull capillary technique versus suction technique in endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for diagnosing diseases involving hilar and mediastinal lymph node enlargement. Ther Adv Respir Dis. 2020;14:1753466620907037.

12. von Ahlfen Silke, Missel Andreas, Bendrat Klaus, Schlumpberger Martin. Determinants of RNA Quality from FFPE Samples. PLOS ONE. 2007;2:e1261.

13. Jennings L. J., Arcila M. E., Corless C., Kamel-Reid S., Lubin I. M., Pfeifer J., 他 . 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.

14. 日本病理学会. ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程. 2014.
Kanai Y, Nishihara H, Miyagi Y, Tsuruyama T, Taguchi K, Katoh H, et al. The Japanese Society of Pathology Guidelines on the handling of pathological tissue samples for genomic research: Standard operating procedures based on empirical analyses. Pathol Int. 2018; 68(2): 63-90.

15. Chen H., Luthra R., Goswami R. S., Singh R. R., Roy-Chowdhuri S. Analysis of Pre-Analytic Factors Affecting the Success of Clinical Next-Generation Sequencing of Solid Organ Malignancies. Cancers (Basel). 2015;7:1699-1715.

16. Merker Jason D., Oxnard Geoffrey R., Compton Carolyn, Diehn Maximilian, Hurley Patricia, Lazar Alexander J., 他 . Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. Journal of Clinical Oncology. 2018;36:1631-1641.

17. Smits Alexander J. J., Kummer J. Alain, de Bruin Peter C., Bol Mijke, van den Tweel Jan G., Seldenrijk Kees A., 他. The estimation of tumor cell percentage for molecular testing by pathologists is not accurate. Modern Pathology. 2014;27:168-174.

18. Viray H., Li K., Long T. A., Vasalos P., Bridge J. A., Jennings L. J., 他. A prospective, multi-institutional diagnostic trial to determine pathologist accuracy in estimation of percentage of malignant cells. Arch Pathol Lab Med. 2013;137:1545-1549.

19. Mikubo M., Seto K., Kitamura A., Nakaguro M., Hattori Y., Maeda N., 他. Calculating the Tumor Nuclei Content for Comprehensive Cancer Panel Testing. J Thorac Oncol. 2020;15:130-137.

**付表　検査対象となる検体*

検体種	検体説明
組織検体	【ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織検体】 薄切した組織切片はスライドガラスにマウントさせて提出する．各バイオマーカー検査において規定されている必要枚数の未染色標本を作製し，そのうちの 1枚を HE 染色し腫瘍細胞の存在を確認することが推奨される．特に微小な生検検体では，病理診断の後に再薄切した場合には，腫瘍部分あるいは組織そのものがなくなってしまうことがあるので注意を要する．病理診断時にバイオマーカー検査の実施が予定されている場合は，あらかじめ病理診断用の未染色標本作製時にバイオマーカー検査用標本を余分に作製しておくことも有用である． 検体中の腫瘍細胞の存在状態は様々であるため，病理診断報告書に腫瘍量や腫瘍含有割合を記録しておくことが推奨される．またマクロダイセクションを実施した場合は，その旨と実施後の腫瘍量や腫瘍含有割合を記録することが推奨される．また検査センターへ外注する場合，検査に供した検体の HE 染色標本（マクロダイセクションを行う際に，腫瘍部のマーキングを行った HE 染色標本）は，可能な限り検査後にも再確認できるようにしておくことが望ましい．ホルマリン固定には，10%中性緩衝ホルマリン液が標準的に用いられており，固定時間は 6～48 時間が推奨されている．[1, 2] ※各種生検材料の取扱い [1] ✓病変の局在・大きさや，施設で実施可能な手技に応じて，適当な検体採取方法を選択する必要があり，肝・骨生検や超音波内視鏡下穿刺吸引法（EUS-FNA），外科的生検を考慮する場合は，他科との連携が重要である．気管支内視鏡検査では特に検体が微小であり，様々な工夫が必要である． ✓末梢肺結節に対する腫瘍生検では，仮想気管支鏡画像やナビゲーションの併用は病変への確実な到達を容易にし，気管支腔内超音波断層法（EBUS）にガイドシース法（EBUS-GS法）もしくは細径気管支鏡（EBUS-UT 法）を併用することで再現性が高まり，数多くの検体の採取が可能になる．ただし同一部位で生検を重ねると，後半になるにつれて出血によるアーチファクトが発生する可能性を考慮する必要があり，採取部位を少しずつ変更するなどの工夫をする．一度の生検で大きな検体を採取するために，可能であれば大型の生検鉗子やガイドシースキットを用いる．関与気管支が腫瘍辺縁にしか到達しないような病変では，末梢での経気道的針穿刺後に鉗子生検を行うことでより腫瘍細胞割合の高い検体が採取される． ✓近年国内承認された経気道的生検方法のクライオバイオプシーでは，大きな検体が採取可能で，採取組織から得られた DNA・RNA 量は鉗子生検の約 3 倍であった． ✓超音波ガイド下経気管支針生検（EBUS-TBNA）では，19～25G 穿刺針が使用可能で，22G 針で NGS 解析が十分に可能であったとする報告がある．腫瘍細胞含有率の低下を回避するためには，エラストグラフィを含めた超音波所見による穿刺部位の決定，slow pull 法や迅速細胞診（ROSE 法）の併用が有効である． ✓胸水貯留例では，胸水検体やセルブロック検体が，バイオマーカー検査に提出されていることが多いが，腫瘍細胞割合は低く，注意が必要である．胸腔鏡下に壁側胸膜を生検することで質の高い検体が多く採取可能で，局所麻酔下に安全に施行できるので，可能であれば考慮してもよい．
	【新鮮凍結組織検体】 最も高品質の DNA や RNA を抽出可能であるが，同時に DNase や RNase の酵素活性も保持されており，検体の取扱いを迅速に行わなければ，核酸品質を急速に低下させるおそれがあるため，注意を要する．手術室などで割を入れ採取する場合も多いが，腫瘍細胞含有量を顕微鏡的に確認する必要がある．周囲の炎症が強い腫瘍，粘液産生が高度な腫瘍，中心部線維化巣が広範な腫瘍では，腫瘍細胞が採取されず偽陰性になることがある．腫瘍細胞を確認する手段としては以下の方法がある：① 凍結腫瘍組織を薄切し，HE 標本を作製し，その標本で腫瘍細胞の存在および占有割合を確認する．② 採取時に割を入れ，その片割れを凍結組織とし，残りの割面で FFPE 組織標本を作製し確認する．[3]

細胞検体	【体腔液細胞検体】 胸水などの体腔液細胞検体は，腫瘍細胞含有割合が低い場合があり，細胞診標本上での確認が必須である．後述のセルブロック検体およびその HE 標本の作製も考慮されたい．
	【擦過細胞および穿刺吸引細胞検体】 当該検体では適切に腫瘍から採取されれば腫瘍細胞に富んだ検体を採取することができることが報告されている．これら検体については塗抹標本（スメア標本）からの核酸抽出が可能であるが，腫瘍細胞含有含有割合の確認が必須である．
	【その他細胞検体】 気管支洗浄液（BAL）などの検体では，正常細胞が混入することが多く，腫瘍細胞に富んだ検体を採取することが比較的困難な検体であり，通常感度のバイオマーカー検査法での使用はあまり推奨されない．
	【セルブロック検体 (FFPE 細胞検体)】 胸水などの細胞検体からのセルブロックの検査使用の重要性が増している．セルブロックでの保管により，FFPE 組織検体同様，CDx や鑑別診断などを目的とした IHC 法や FISH 法による解析が，繰り返し可能となる．また腫瘍細胞の含有割合の確認も容易となる．セルブロック作製法は複数知られており，遠心分離細胞収集法と細胞固化法に大別される．本邦ではそれぞれ 4～5 種程度の作製法が用いられていることがこれまでの調査研究で明らかとなっている [4]．前者では遠心管法が，後者ではアルギン酸ナトリウム法が，比較的多くの施設で用いられている [4].
血漿検体	血漿検体は，組織検体と異なり，腫瘍細胞の割合や DNA の質，量に基づいて評価できないため，血液採取，血漿の分離，血漿検体の保管に至るプレアナリシスの段階において適切に扱われた検体を使用するべきである [5]. 特に採血後の検体を長時間室温で放置すると，血球成分の崩壊や DNA の分解の原因につながる．また，血漿成分を分離する際に血球成分が混入すると，有核細胞由来のゲノム DNA が原因で，偽陰性となる可能性があることは注意しなければならない．通常のEDTA-2Kの採血管を使用した場合，血漿の分離は，採血後8時間以内安定である．血漿分離後の血漿検体は，15～30℃で 1 日間，2～8℃で 3 日間，－25～－15℃で 12 カ月，そして－70℃以下の場合は 12 カ月保管可能である．血漿 CGP 検査では，医療機器認証を受けた指定のセルフリー DNA 抽出用採血管を原則使用する（FoundationOne Liquid がんゲノムプロファイルでは「Roche セルフリー DNA 抽出用採血管」，Guradant360 CDx がん遺伝子パネルでは「Streck採血管（cell-free DNA BCT）」が採用されている）．

1.	日本肺癌学会「肺癌患者における次世代シークエンサーを用いた遺伝子パネル検査の手引き（第 2.0 版）」 Yatabe Y, Sunami K, Goto K et al., Multiplex gene panel testing for lung cancer patients. Pathol Int. 2020;70(12):921 931.
2.	日本病理学会「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」 Hatanaka Y, Kuwata T, Morii E et al., The Japanese Society of Pathology Practical Guidelines on the handling of pathological tissue samples for cancer genomic medicine. Pathol Int. 2021;71(11):725 740.
3.	日本病理学会「ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程」 Kanai Y, Nishihara H, Miyagi Y et al., The Japanese Society of Pathology Guidelines on the handling of pathological tissue samples for genomic research: Standard operating procedures based on empirical analyses. Pathol Int. 2018;68(2):63 90.
4.	日本臨床細胞学会「がんゲノム診療における細胞検体の取扱い指針（初版）」
5.	ASCO/CAPジョイントレビュー: Merker JD, Oxnard GR, Compton C et al., Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. J Clin Oncol. 2018 1;36(16):1631 1641.

*本表は，日本肺癌学会ホームページ「肺癌バイオマーカー各種検査の手引き 各種検査の手引き」「3. バイオマーカー検査に用いる検体とその取扱い 」から転載

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

4-1. EGFR

（2025 年 4 月改訂 v.2.1）

目　次

（1）EGFR 分子とその遺伝子異常 4
1．はじめに 4
2．EGFR によるシグナル伝達 4
3．*EGFR* 遺伝子変異 5
（2）*EGFR* 変異陽性肺癌に対する治療 6
1．EGFR 低分子チロシンキナーゼ阻害薬 6
2．*EGFR* 遺伝子変異と EGFR-TKI 感受性 7
2-1．*EGFR* 活性型遺伝子変異（common mutation）：エクソン 19 欠失変異（Del 19）と L858R 変異 7
2-2．*EGFR* エクソン 20 挿入変異 7
2-3．稀な *EGFR* 遺伝子変異（uncommon mutation） 7
3．EGFR Common 遺伝子変異陽性 NSCLC に対する治療 8
3-1．初回治療における EGFR-TKI vs. 化学療法の臨床試験 9
3-2．EGFR-TKI vs. EGFR-TKI の臨床試験 9
3-3．EGFR-TKI と他の薬剤の併用療法 10
3-4．周術期における EGFR-TKI 11
3-5．放射線化学療法後における EGFR-TKI 11
4．*EGFR* エクソン 20 挿入変異に対する治療 12
4-1．アミバンタマブ 12
5．*EGFR* Uncommon 遺伝子変異陽性に対する治療 12
5-1．第一世代 EGFR-TKI（ゲフィチニブ，エルロチニブ） 12
5-2．アファチニブ 12
5-3．オシメルチニブ 12
5-4．ラゼルチニブ+アミバンタマブ 13
6．*EGFR* 遺伝子野生型における EGFR-TKI 13

（3）EGFR-TKI に対する獲得耐性..... 13
1．獲得耐性メカニズム 13
2．獲得耐性への治療戦略 14
2-1．第三世代 EGFR-TKI 登場以前および T790M 変異陰性あるいは不明症例に対して 14
2-2．第三世代 EGFR-TKI 14
2-3．オシメルチニブ.....15
2-4．オシメルチニブの CNS 転移に対する効果 15
2-5．オシメルチニブに対する耐性機序.....16
2-6．ラゼルチニブ.....16
2-7．免疫チェックポイント阻害剤およびその他の新規治療薬.....17
（4）EGFR-TKI 治療とその他の効果予測因子 17
1．リガンドレベルの変化 17
2．EGFR 遺伝子増幅 18
3．他の HER ファミリー 18
4．その他の遺伝子変化と TKI 感受性..... 18
（5）*EGFR* 変異の診断 18
1．*EGFR* 遺伝子変異検査の対象患者..... 18
2．*EGFR* 遺伝子変異検査に用いる検査法 19
2-1．組織検査 21
2-1-1．EGFR-TKI 投与前の初回組織検査 21
2-1-2．EGFR-TKI 治療耐性後の T790M 変異検査 21
2-2．血漿検査（リキッドバイオプシー検査） 22
2-2-1．EGFR-TKI 投与前の初回リキッドバイオプシー検査 23
2-2-2．EGFR-TKI 治療耐性後の二次的 T790M 変異検査..... 24
3．対象となる検体とその適正性について 25
3-1．組織・細胞検体.....25
3-1-1．FFPE 組織検体..... 25
3-1-2．FFPE 細胞検体（セルブロック検体） 25
3-1-3．細胞検体 26
3-1-4．新鮮凍結検体 26
3-2．血漿検体 26
4．EGFR 遺伝子変異のコンパニオン診断薬（CDx）の横断的使用に関する指針..... 26
4-1．背景 26
4-2．*EGFR* 遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌に対する CDx と対象医薬品の現状.....27
4-3．*EGFR* 遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌に対する医薬品横断的 CDx の提案.....27
4-4．横断的 CDx における注意点.....28

4-4-1．検出対象となる遺伝子変異の違いについて 28
4-4-2．最小検出感度について 28
4-4-3．不一致例について 28
4-5．重要な基本的注意事項のまとめ 29
5．薬事承認および保険診療の観点からみた本検査のあり方 29
5-1．T790M 血漿検査の検査回数について 29
5-2．同一月中の T790M 血漿検査・組織検査の実施について 29
6．おわりに 30
参考文献 31

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

久山 彰一，三浦 理，荒金 尚子，國政 啓，阪本 智宏，清水 淳市，須田 健一 ，善家 義貴，畑中 豊，林 大久生，古屋 直樹，三窪 将史，宮内 栄作，横内 浩，豊岡伸一，谷田部 恭

（1）EGFR 分子とその遺伝子異常

1．はじめに

上皮成長因子受容体（EGFR）特異的なチロシンキナーゼ阻害薬（TKI）であるゲフィチニブ（イレッサ®）が，世界に先駆けて本邦で手術不能または再発の非小細胞肺癌（NSCLC）に対して 2002 年 7 月に承認され，化学療法の不応例にもしばしば劇的な臨床症状および画像上の改善をもたらした．2004 年に *EGFR* 遺伝子変異（以下 *EGFR* 変異）を有する NSCLC においてゲフィチニブの感受性が高いことが発見され，これを機に EGFR-TKI の研究はおおいに加速することとなった [1,2]．2007 年にはエルロチニブ（タルセバ®）が，2014 年には第二世代の EGFR-TKI であるアファチニブ（ジオトリフ®）が承認された．一方で，EGFR-TKI は EGFR 変異陽性 NSCLC に優れた抗腫瘍効果を示すものの，その後治療抵抗性（耐性）となり，EGFR-TKI 耐性例の約半数に T790M 変異を認めることが明らかとなった [3,4]．2016 年には，「EGFR-TKI に抵抗性の *EGFR* T790M 変異陽性の手術不能又は再発非小細胞肺癌」に対し，オシメルチニブ（タグリッソ®）が承認された．これに伴い，EGFR-TKI 耐性時の再生検や，耐性時の T790M 変異および初回診断時 *EGFR* 変異の血漿検査の承認など様々な変化が起きた．オシメルチニブについては，2018 年に *EGFR* 変異陽性 NSCLC に対する一次治療に，2022 年には *EGFR* 変異陽性 NSCLC に対する術後補助療法として適応拡大が承認された．また，2019 年にはダコミチニブ（ビジンプロ®）が承認されている．

この手引きは，肺癌診療に携わる医療従事者のために 2009 年に作成され，以降の急速な進歩にあわせ日本肺癌学会バイオマーカー委員会によって版改訂を重ねてきた．

2．EGFR によるシグナル伝達

EGFR は HER ファミリーと呼ばれる 4 つのレセプター分子族の一員で，EGFR/HER1/erbB1，HER2/neu/erbB2，HER3/erbB3，HER4/erbB4 の 4 つの分子からなる．HER ファミリーの増殖因子（リガンド）は 11 種知られているが，EGFR に特異的に結合するグループ〔EGF，TGFα，amphiregulin (AR)〕，EGFR と HER4 に結合するグルー

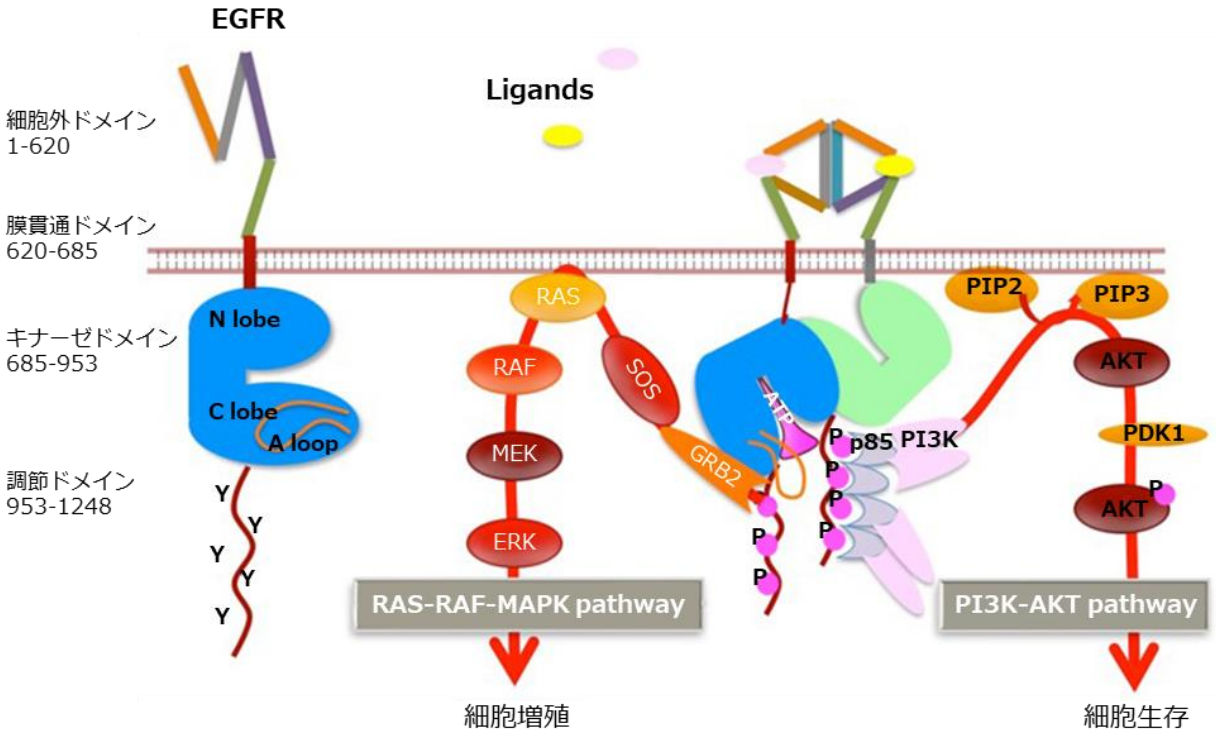


図 1． EGFR 経路
上皮増殖因子受容体（EGFR）は細胞膜を貫通する受容体タンパク質である．チロシンキナーゼは N lobe と C lobe よりなり 2 つの lobe の間の cleft に ATP が結合する．EGFR-TKI はこの部において ATP と競合阻害する．受容体に増殖因子（リガンド）が結合すると，図に示すような非対称的な二量体（ダイマー）形成が起こり，ATP のリン酸が調節ドメインのチロシン残基に移される．このリン酸化チロシンに種々のタンパク質が結合していき次々と下流のタンパク質が活性化されていく．特に重要なのが図に示した RAS-RAF-MAPK 経路と PI3K-AKT 経路である．
Reproduced with permission from [10] © Wiley (2016).

プ〔betacellulin (BTC), heparin-binding EGF (HB-EGF), epiregulin〕, HER3, HER4 に結合するグループ〔neuregulin (NRG) (heregulin)〕の３つに大別できる. HER2 には対応するリガンドがないが, 常にリガンドが結合して活性化した状態に類似の構造をとっており, 後述するダイマーの相手として選ばれやすい. 一方, HER3 はアミノ酸の置換によってチロシンキナーゼ活性を失っているが, Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) の調節サブユニットである p85 の結合部位を多く有しており, ダイマーの相手として特に細胞生存に関わるシグナル伝達に重要である [5,6].

リガンドが細胞外ドメインに結合すると, 同一分子間でホモダイマーを形成したり, 他の HER ファミリー分子とヘテロダイマーを形成したりする. この場合 EGFR や HER4 どうしのホモダイマーの活性は低く, ヘテロダイマー, 特に HER2 とのヘテロダイマーの活性が高い. この細胞内ドメインのチロシンキナーゼはお互いのチロシン残基をリン酸化して活性化される. するとそのリン酸化部位に特異的に種々のアダプタータンパク (PLCγ, aCBL, GRB2, SHC, p85 など) が結合し, さらに下流の RAS-MAPK 経路, PI3K-AKT 経路, STAT 経路などに伝えられる. そして, 増殖やアポトーシスの回避, 血管新生, 転移など, 癌細胞にとって重要な表現型に寄与すると考えられている [5,6]. EGFR の過剰発現は肺癌を含む種々の腫瘍で高頻度に認められ [7-9], 予後にも関連するため, 標的分子として注目されることとなった（図１）.

３. *EGFR* 遺伝子変異

2002 年 7 月に本邦で初めて承認された EGFR-TKI であるゲフィチニブは, NSCLC に対して優れた抗腫瘍効果を示すが, その抗腫瘍効果の詳細な機序について当初不明であった. 2004 年に, EGFR チロシンキナーゼドメインの変異がゲフィチニブの奏効率が高い NSCLC に多くみられることが報告され, *in vitro* でもゲフィチニブの感受性との関連が証明された [1,2]. 肺癌における *EGFR* 変異のほとんど (93%) が, 細胞内のチロシンキナーゼドメインの中でもエクソン 18-21 の領域に集中している. 特に頻度が高いものは, エクソン 19 のコドン 746-750 の 5 つのアミノ酸 (ELREA) を中心とする部位の欠失変異（Del 19）とエクソン 21 のコドン 858 においてロイシンからアルギニンに変化する (L858R) 点突然変異である (図２) [10]. Del 19 には欠失アミノ酸の個数や, アミノ酸置換を伴うものなど非常に多くのバリエーションがあるが, E746-A750 の単純欠失が最も多く, L747-E753 欠失に S が挿入されたもの, L747-E751 欠失, L747-E750 欠失に P が挿入されたものなどが続く. その他, エクソン 18 のコドン 719 の点突然変異 (G719X : アミノ酸が A, C, S の場合があり, まとめて X と表す), E709X, エクソン 20 の挿入変異, S768I, エクソン 21 の L861Q などの稀な遺伝子変異 (uncommon mutation) が認められる. これらの *EGFR* 変異型のうち, 機能的に EGF や TGFαなどのリガンドの刺激がない場合でも下流の増殖シグナル経路にリン酸化シグナルを送り続けるタイプは, 活性型変異と呼ばれる.

EGFR 変異は東洋人, 女性, 非喫煙者, 腺癌に多くみられる [11,12]. 2013 年のメタアナリシス (mutMap) によると, その頻度はアジア人腺癌の 47.9%, 扁平上皮癌の 4.6%, 西洋人腺癌の 19.2%, 扁平上皮癌の 3.3%, 既-重喫煙者の 8.4-35.9%および非-軽喫煙者の 37.6-62.5%であった [13]. 2015 年にはさらに大規模なメタアナリシスの結果（mutMapII: a grobal *EGFR* mutMap）が報告され, 日本人の腺癌の *EGFR* 変異の頻度は 45% (21-68%) であった [14]. このように, *EGFR* 変異は組織学的には腺癌に多いが, 未分化な腺癌で大細胞癌とも見なされるような症例や腺扁平上皮癌, 小細胞癌（特に腺癌との combined type) などでもしばしば検出される. 腺癌の亜型別にみると TTF-1 やサーファクタントを発現しているような肺癌に頻度が高い (50-65%) [15]. 腺癌 200 例の解析において, *EGFR* 変異陽性腺癌の IASLC/ATS/ERS 分類によるサブタイプでは, acinar predominant (43/77 ; 55.8%) と papillary predominant (26/49 ; 53.1%) が多いと報告されている. また 200 例中 3 例が lepidic predominant で, 全例が *EGFR* 変異陽性であった [16].

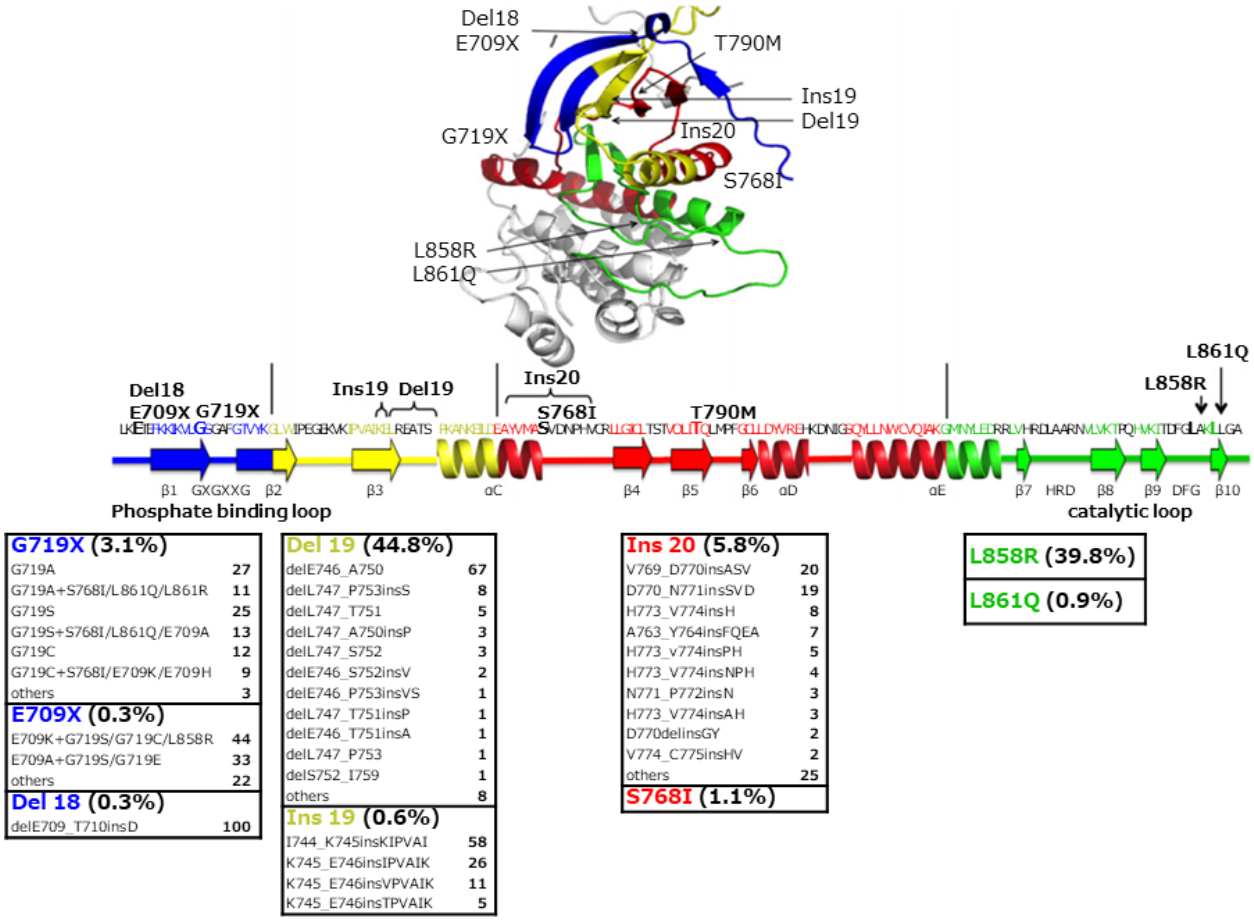


図 2. *EGFR* 遺伝子変異の種類と頻度
最近の大規模な研究の編集による肺癌における上皮増殖因子受容体（EGFR）タンパク質の構造と *EGFR* 遺伝子変異の頻度．代表的な遺伝子変異の各コドンは，EGFR キナーゼドメインのタンパク質配列にマッピングしている．エクソン 18, 19, 20 および 21 のコドンは，それぞれ青色，黄色，赤色と緑色で示している．スパイラル構造は，α-ヘリックスを，太い矢印は，βシートを示している．
Reproduced with permission from [10] © Wiley (2016).

（2）*EGFR* 変異陽性肺癌に対する治療

1．EGFR 低分子チロシンキナーゼ阻害薬

現在本邦で使用されている EGFR-TKI には，第一世代の EGFR 特異的可逆的 TKI であるゲフィチニブおよびエルロチニブと，EGFR/HER2/HER4 を不可逆的に阻害する第二世代のアファチニブおよびダコミチニブ，そして第三世代のオシメルチニブがある．オシメルチニブは，*EGFR* 活性型変異および *EGFR* T790M 変異に対して選択的かつ不可逆的に作用する [17]．

第一および第二世代の EGFR-TKI の副作用としては，皮膚障害，爪囲炎，下痢などが多い [18]．一方で，オシメルチニブは *EGFR* 活性型変異と T790M 変異に対しても作用するが，野生型 *EGFR* への作用は限定的となるよう開発された薬剤であるため，皮膚障害や爪囲炎，下痢は発現しても軽度である [19,20]．EGFR-TKI の重篤な副作用として，薬剤性の間質性肺疾患（Interstitial Lung Disease; ILD）があげられる．EGFR-TKI 関連 ILD に関するメタアナリシスでは，ILD 発現頻度は初回 EGFR-TKI 治療で 1.12%，再投与で 1.13%であった．しかし，日本人コホートでの ILD 発現率は日本人以外と比較して高く，重篤であった〔日本人 vs. 日本人以外：（全グレード）4.77% vs. 0.55%，p<0.001，（高グレード）2.49% vs. 0.37%，p<0.001〕[21]．また，タグリッソ®の使用成績調査の結果から，オシメルチニブの ILD 発現頻度は 6.8%（245 症例/3,578 症例）で，ILD 発現に関する多変量ロジスティック回帰モデル解析結果では「間質性肺疾患の病歴」と「ニボルマブ前治療歴」が有意なリスク因子とされた [22]．一方で，オシメルチニブ治療中の 20 例中 7 例（30%）に一過性無症候性肺陰影（transient asymptomatic pulmonary

opacities；TAPOs）が出現し，治療継続中に改善したとの報告もあり，ILD かどうかの判断は臨床症状も含めて慎重になされるべきである [23].

2．*EGFR* 遺伝子変異と EGFR-TKI 感受性

一般に，*EGFR* 変異が起こると EGFR チロシンキナーゼの ATP 結合部位に構造変化が生じ，リガンドの刺激がなくても恒常的に活性化することで，癌細胞の増殖や生存がこの経路に依存した状態となる（oncogene addiction）．EGFR-TKI は，EGFR チロシンキナーゼ領域において ATP の結合を競合的に阻害し，EGFR の自己リン酸化を抑制する．その結果，下流へのシグナル伝達を遮断し，抗腫瘍効果を示す [24].

2-1．*EGFR* 活性型遺伝子変異（common mutation）：エクソン 19 欠失変異（Del 19）と L858R 変異

EGFR 活性型変異（common mutation）の頻度は，Del 19 が 44.8%（2,573 症例/5,741 症例），L858R 変異が 39.8%（2,283 症例/5,731 症例）と報告されている [10,25-29]. いずれも EGFR-TKI に高い感受性を示すが，変異のサブタイプによって有効性が異なる．*EGFR* 変異を有する進行 NSCLC 患者を対象とした 12 の臨床試験の統合解析において，EGFR-TKI 治療による無増悪生存期間（PFS），全生存期間（OS）および奏効割合（ORR）に関して，Del 19 が L858R 変異に比べ有意に良好であった： PFS〔hazard ratio（HR）=0.69; 95%信頼区間(CI)，0.57-0.82; p<0.001〕，OS（HR=0.61; 95%CI, 0.43－0.86; p=0.005），ORR（odds ratio=2.14; 95%CI, 1.63-2.81; p<0.001）．また，*EGFR* 変異別の臨床的背景との関連については，L858R 変異と比較して Del 19 のほうが有意に若年者に多く，喫煙歴のある割合が高かった [30].

分子構造上，Del 19 は ATP 結合部位のループから 3-8 残基が欠失しており，一方で L858R 変異は ATP 結合部位から離れて存在しているために EGFR-TKI に対する効果が異なると考えられている [31]．Del 19 はα-ヘリックスで残基が欠失した結果，チロシンキナーゼドメインの必須残基の構造変化が起こり，EGFR-TKI に対する感受性が L858R 変異と比べてより高いと考えられる [32]．また L858R 変異は二量体を形成しないと活性化しないが，Del 19 は単体の状態でも下流シグナルが活性化されるという報告 [33] や二量体形成後の自己リン酸化部位が異なり，それに続く下流へのシグナル伝達が異なるという報告もある [34]．これらの，分子生物学的な違いが，EGFR-TKI に対する効果に影響している可能性が考えられる．

2-2．*EGFR* エクソン 20 挿入変異

EGFR エクソン 20 の挿入変異の頻度は *EGFR* 変異の 5.8-12%で [10,35-39]，ORR は第一世代 EGFR-TKI に対し 17%[37,38,40-42]，アファチニブに対して 10%と効果が乏しい [36,44]．一方で，*EGFR* A763_Y764insFQEA は各世代の EGFR-TKI に対する感受性が報告されている [43,45]．近年，エクソン 20 の挿入変異を対象とした薬剤開発が進められている（「4．*EGFR* エクソン 20 挿入変異に対する治療」を参照）[46,47].

2-3．稀な *EGFR* 遺伝子変異（uncommon mutation）

その他の稀な *EGFR* 変異は大きく 3 つのカテゴリに分類される．エクソン 18 の G719X，エクソン 20 の S768I，エクソン 21 の L861X の 3 つの点突然変異は，Uncommon 変異の中でも Major uncommon 変異と呼ばれる．*EGFR* G719X は第一世代 EGFR-TKI に対する ORR が 32%であるのに対し，LUX-Lung 2，3，6 試験の統合解析ではアファチニブに対する ORR は 78%と良好であった [10,44]．S768I および L861Q は，第一世代 EGFR-TKI に対する ORR がそれぞれ 42%および 39%[10]，アファチニブに対する ORR がそれぞれ 100%および 56%であった [44].

2 つ以上の EGFR 遺伝子変異を有する変異は compound 変異と呼ばれる．Common 変異と uncommon 変異の Compound 変異は，治療上は uncommon 変異として取り扱われる．Compound 変異は次世代シークエンサー（NGS）を用いることで，その検出率が上がる可能性が示唆されている．Kohsaka らは，EGFR 遺伝子変異陽性 NSCLC 390 検体を NGS で再度検討すると，既知の遺伝子変異の他に 15.9%で compound 変異を認められることを示した [216]．また，それぞれの主たる変異毎に compound mutation の頻度が異なることも示されている（エクソン 19 欠失 4.7%，エクソン 21

点変異 19.5%，G719X 93.3%，L861Q 36.4%）．エクソン 18 の E709X も比較的多く検出される Uncommon 変異の 1 つであるが，他の遺伝子変異との compound として検出されることが多い変異である．

EGFR の多くの意義不明の変異（variants of unknown significance；VUS）も検出されることがある．形質転換能力および EGFR-TKI に対する感受性の検討において，エクソン 19 内のゲフィチニブおよびエルロチニブ非感受性ミスセンス変異，ならびに L833V，A839T，V851I，A871T および G873E など，EGFR-TKI 耐性に関わる変異が同定されている [49]．また，L858R 変異の 12.8%が compound 変異を有し，ゲフィチニブの初期耐性に関与している可能性が示されている [49]．一方で，L833V に関しては活性化およびゲフィチニブへの感受性に関する報告もある [50,51]．

このほか，分子構造に基づく分類も提案されている [217]．この報告では，エクソン 19 欠失，エクソン 21 点変異のようにほとんどの EGFR-TKI が感受性を示す”Classical-like mutation”と，第三世代 EGFR-TKI が有効な“T790M mutation”, Exon 20 挿入変異に特異的な薬剤が効果を示す”Exon 20 loop insertion mutation”，そして第二世代 EGFR-TKI が有効な“PACC（P-loop α C-helix compressing）mutation”の 4 つのカテゴリーに分類され，それぞれに有効な可能性が高い薬剤が示されている．いままで Major uncommon に分類されてきた L861Q や Exon 20 挿入変異の中でも EGFR-TKI の効果が期待できる A763insFQEA は Classical-like mutation に分類されている．現在，この分類に基づき PACC mutation を対象とした新規薬剤開発も進められており，それぞれの分類の違いを理解しておくことが必要である．

3．*EGFR* Common 遺伝子変異陽性 NSCLC に対する治療

EGFR 変異陽性に限定しない NSCLC に対する EGFR-TKI の第Ⅲ相比較試験では，negative な結果が続いた．まず，EGFR-TKI の標準化学療法への上乗せ効果および延命効果をみた 4 つの臨床試験（TALENT[52]，INTACT1[53]，INTACT2[54]，TRIBUTE[55]）ではいずれも negative な結果であった．次いで，既治療進行 NSCLC に対するゲフィチニブ（ISEL 試験 [56]）あるいはエルロチニブ（BR.21 試験 [57]）と best supportive care の比較試験が行われたが，BR.21 試験のみエルロチニブの延命効果を示した．セカンドライン以降でのドセタキセルとの比較試験において，国内の V15-32 試験はゲフィチニブの非劣性が証明されず [58]，海外での INTEREST 試験ではゲフィチニブのドセタキセルに対する非劣性が証明された [59]．

表 1. *EGFR* 遺伝子変異陽性患者に対するファーストライン EGFR-TKI とプラチナ併用化学療法の比較

Study (n)	レジメン	適格条件	ORR (%)	mPFS (月)	HR (95% CI)	mOS (月)	HR (95% CI)
IPASS (n=261) †	Gefitinib vs. CBDCA/PTX	Ex19/L858R+ Others	71 vs. 47	9.5 vs. 6.3	0.48 (0.36-0.64) *p* <0.0001	21.6 vs. 21.9	1.00 (0.76-1.33) *p* =0.990
First-SIGNAL (n=42) †	Gefitinib vs. CDDP/GEM	Ex19/L858R	85 vs. 38	8.0 vs. 6.3	0.54 (0.27-1.1)	27.2 vs. 25.6	1.04 (0.50-2.2)
NEJ002 (n=228)	Gefitinib vs. CBDCA/PTX	Ex19/L858R +others (6%)	74 vs. 31	10.8 vs. 5.4	0.30 (0.22-0.41) *p* <0.001	27.7 vs. 26.6	0.89 (0.63-1.24) *p* =0.483
WJTOG3405 (n=172)	Gefitinib vs. CDDP/DTX	Ex19/L858R	62 vs. 32	9.6 vs. 6.6	0.56 (0.41-0.77) *p* <0.0001	34.9 vs. 37.3	1.25 (0.88-1.78) *p* =0.207
EURTAC (n=174)	Erlotinib vs. CDDP or CBDCA/DTX or GEM	Ex19/L858R	61 vs. 18	9.7 vs. 5.2	0.37 (0.25-0.54) *p* <0.0001	22.9 vs. 19.6	0.92 (0.63-1.35) *p* = 0.68
OPTIMAL (n=165)	Erlotinib vs. CBDCA/GEM	Ex19/L858R	83 vs. 36	13.7 vs. 4.6	0.16 (0.11-0.26) *p* <0.0001	22.8 vs. 27.2	1.19 (0.83-1.71) *p* =0.2663
ENSURE (n=217)	Erlotinib vs. CDDP/GEM	Ex19/L858R	63 vs. 34	11 vs. 5.6	0.42 (0.27-0.66) *p* =0.0001	26.3 vs. 25.5	0.91 (0.63-1.31) *p* =0.607
LUX-lung 3 (n=345)	Afatinib vs. CDDP/PEM	Ex19/L858R+ Others (11%)	56 vs. 23 (61 vs. 22)*	11.1 vs. 6.9 (13.6 vs. 6.9)*	0.58 (0.43-0.78) [0.47 (0.34-0.65)]* *p* =0.001	28.2 vs. 28.2	0.88 (0.66-1.17) *p* =0.39
LUX-lung 6 (n=363)	Afatinib vs. CDDP/GEM	Ex19/L858R+ Others (11%)	74 vs. 31	11.0 vs. 5.6	0.28 (0.20-0.39) *p* <0.0001	23.1 vs. 23.5	0.93 (0.72-1.22) *p* =0.61

†サブグループ解析,* exon 19 欠失変異と L858R 変異のみ（n=308）
CBDCA; carboplatin, CDDP; cisplatin, PTX; paclitaxel, GEM; gemcitabine, DTX; docetaxel, PEM; pemetrexed, ORR; objective response rate,
mPFS; median progression free survival, HR; hazard ratio, mOS; median overall survival

これらの混沌とした状況に終止符を打ったのは，アジアで行われたカルボプラチン＋パクリタキセル対ゲフィチニブの第Ⅲ相試験（IPASS）[60]である．本試験では，非-軽喫煙歴の腺癌症例を対象にゲフィチニブの PFS における優越性が検証されたが，試験全体において統計学的にはゲフィチニブの優越性が示されたものの，両群の PFS 曲線が交差する解釈が難しい結果が示された．しかし，*EGFR* 変異別のサブセット解析にて，*EGFR* 変異陽性群ではゲフィチニブ群が明らかに化学療法群に勝り（HR=0.48），一方の *EGFR* 変異陰性群ではまったく逆の結果となったことから（HR=2.85），EGFR-TKI の効果予測因子が *EGFR* 変異である可能性が示唆された（表１）．

３-１．初回治療における EGFR-TKI vs. 化学療法の臨床試験

IPASS や韓国で行われた First-SIGNAL 試験[61]のような臨床的背景因子（腺癌，非喫煙者）ではなく，*EGFR* 変異陽性 NSCLC に対するゲフィチニブの効果を検証する第Ⅲ相臨床試験が，まず本邦から世界に先駆けて 2 つ報告された．NEJ002 試験[62]と WJTOG3405 試験[63]は，ともにゲフィチニブを試験治療群とし，標準治療群を前者はカルボプラチン+パクリタキセル，後者はシスプラチン+ドセタキセルとした．いずれの試験においても，PFS ではゲフィチニブ群が優越性を示し，OS については両群間で差を認めなかった．これは二次治療以降のクロスオーバーによるもので，WJTOG3405 試験の生存期間中央値（MST）は 36 カ月を超える長いものであった（表 1）．その後，エルロチニブとプラチナ併用療法との比較試験として中国から OPTIMAL 試験[64]，欧州からは EURTAC 試験[65]が報告され，PFS および ORR ともにエルロチニブの優越性が示された．さらにアファチニブとプラチナ併用療法との第Ⅲ相臨床試験が行われた．LUX-Lung 3 試験[66]ではシスプラチン＋ペメトレキセド群と LUX-Lung 6 試験[67]ではシスプラチン＋ゲムシタビン群との比較が行われ，主要評価項目の PFS では，両試験において化学療法群に対するアファチニブ群の有意な延長効果を認めた（表１）．2015 年に LUX-Lung 3 試験と LUX-Lung 6 試験の OS の統合解析の結果が報告され，*EGFR* 活性型変異（common mutation）においてアファチニブ群が化学療法群に対して有意に OS を延長することが示された（HR=0.81）[68]．この統合解析において，*EGFR* 変異のサブタイプにより治療効果が異なることが注目された．Del 19 においてはアファチニブ群で有意な OS の延長（HR=0.59）を認めた．一方，L858R 変異では有意差はないものの，化学療法群で良い傾向がみられた[68]．LUX-Lung 3 試験の日本人サブグループ解析でも同様に Del 19 ではアファチニブ群で有意な OS の延長を認めた[69]．いずれの臨床試験も *EGFR* 変異陽性例に対しては EGFR-TKI が初回治療として有意に優れた PFS の延長効果を示し，オシメルチニブの一次治療適応拡大承認までは第一および二世代 EGFR-TKI が初回標準療法とされていた．

３-２．EGFR-TKI vs. EGFR-TKI の臨床試験

第一および第二世代の EGFR-TKI の効果の優劣は 2017 年までは明らかではなく，皮疹や下痢などの有害事象の頻度としてはゲフィチニブ，エルロチニブ，アファチニブの順で多くなることが知られている．一方，肝機能障害はゲフィチニブに多い[18]．それらの有効性と安全性のバランスを含めた優劣の判断には head to head の前向き比較試験での結果が重要とされた．

腺癌を対象に二次治療以降でエルロチニブとゲフィチニブを比較する第Ⅲ相比較試験（WJOG5108L 試験）が行われ，主要評価項目である PFS においてゲフィチニブのエルロチニブに対する非劣性は証明されず，*EGFR* 変異全体，Del 19，L858R 変異いずれのサブグループ解析においても有意差を認めなかった[70]（表２）．ゲフィチニブとアファチニブとの第Ⅱb 相比較試験（LUX-Lung 7 試験）の結果が報告された．LUX-Lung 7 試験では主要評価項目である PFS と time-to-treatment failure がアファチニブ群において有意に延長したが[71]，OS には差がなかった[72]（表２）．この試験においては LUX-Lung 3 試験と LUX-Lung 6 試験の統合解析結果[68]と異なり，L858R 変異を有する患者においても，アファチニブ群において PFS や奏効率は Del 19 と同様に良好な結果であったが，あくまでも第Ⅱb 相比較試験のサブグループ解析である．

また第二世代 EGFR-TKI であるダコミチニブとゲフィチニブとの第Ⅲ相比較試験（ARCHER 1050）においては主要評価項目である PFS と副次評価項目である OS がダコミチニブ群において有意に延長した[73,74]（表２）．しか

し中枢神経系（CNS）転移を除外した患者集団の結果で，66%の患者にダコミチニブの減量が必要となり，有害事象が課題と考えられた．この試験の結果，ダコミチニブは本邦において 2019 年 1 月に 5 番目の EGFR-TKI として承認された．当初，therascreen® EGFR 変異検出キット RGQ「キアゲン」のみがコンパニオン診断薬（CDx）であったが，2019 年 9 月にコバス® EGFR 変異検出キット v2.0 も追加承認された．

これら EGFR-TKI 同士の臨床試験に決定打を放ったのが，第三世代のオシメルチニブと第一世代 EGFR-TKI のゲフィチニブあるいはエルロチニブとの第Ⅲ相比較試験（FLAURA 試験）である．オシメルチニブ群において PFS が有意に延長し，脳転移症例にも有効で，Grade3 以上の毒性も有意に少なかった [20,75]．この試験でのオシメルチニブの有効性および忍容性から，オシメルチニブは *EGFR* 変異陽性 NSCLC の初回標準治療となった（表 2）[76]．また 2019 年 9 月にはオシメルチニブ群において OS も有意に延長したことが報告された（HR=0.799；95%CI，0.641-0.997；*p*=0.0462，OS 中央値；38.6 カ月 vs. 31.8 カ月）[77]．

3-3．EGFR-TKI と他の薬剤の併用療法

EGFR-TKI と他の薬剤の併用療法を検討した臨床試験の結果が報告されている．エルロチニブ＋ベバシズマブ併用療法の JO25567 試験 [78] では PFS は良好であったが OS には差がなかった [79]．ゲフィチニブ+ベバシズマブ併用療法の OLCSG1001 試験 [80]，ゲフィチニブ＋ペメトレキセド併用療法の JMIT 試験 [81]，ゲフィチニブ＋カルボプラチン+ペメトレキセド併用療法の NEJ005/TCOG0902 試験 [82] などで，EGFR-TKI と他の薬剤の併用療法について報告されている．アファチニブ単剤に対するアファチニブ＋セツキシマブ併用療法の効果を検証する第Ⅱ相試験（ACE-Lung）ではセツキシマブの上乗せ効果は認められなかった [83]．

表 2.　*EGFR* 遺伝子変異陽性患者に対する EGFR-TKI と EGFR-TKI の比較

Study (n)	Phase	line	レジメン	適格条件	ORR (%)	mPFS (月)	HR (95% CI)	mOS (月)	HR (95% CI)
WJOG 5108L (n=561, *EGFR 変異; n=401)	III	2nd 以降	Gefitinib vs. Erlotinib	腺癌 *Ex19/L858R + Others	*58.9 vs. 55.0	*8.3 vs. 10.0	*1.093 (0.879-1.358) *p* =0.424	*26.5 vs. 31.4	*1.189 (0.900-1.570) *p* =0.221
LUX-Lung 7 (n=319)	IIb	1st	Afatinib vs. Gefitinib	Ex19/L858R	72.5 vs. 56.0	11.0 vs. 10.9	0.74 (0.57-0.95) *p* =0.0178	27.9 vs. 24.5	0.86 (0.66-1.12) *p* =0.2580
ARCHER 1050 (n=452)	III	1st	Dacomitinib vs. Gefitinib	Ex19/L858R	75 vs. 72	14.7 vs. 9.2	0.59 (0.47-0.74) *p* <0.0001	34.1 vs. 26.8	0.76 (0.582-0.993) *p* =0.044
FLAURA (n=556)	III	1st	Osimertinib vs. Gefitinib/Erlotinib	Ex19/L858R	80 vs. 76	18.9 vs. 10.2	0.46 (0.37-0.57) *p* <0.001	38.6 vs. 31.8	0.799 (0.641-0.997) *p* =0.0462

* EGFR 変異陽性の 401 名の解析, ORR; objective response rate, mPFS; median progression free survival, HR; hazard ratio, mOS; median overall survival

表 3.　*EGFR* 遺伝子変異陽性患者に対するファーストライン EGFR-TKI+ 抗 VEGF（R）抗体と EGFR-TKI 単剤の比較

Study (n)	Phase	レジメン	CNS転移	ORR (%)	mPFS (月)	HR (95% CI)	mOS (月)	HR (95% CI)
JO25567 (n=154)	II	Erlotinib± bevacizumab	無	69 vs. 64	16.0 vs. 9.7	0.54 (0.36-0.79) *p* =0.0015	47.0 vs. 47.4	0.81 (0.53-1.23) *p* =0.3267
ALLIANCE (n=88)	II	Erlotinib± bevacizumab	E+B: 26% E: 31%	81 vs. 83	17.9 vs. 13.5	0.81 (0.5-1.31) *p* =0.39	32.4 vs. 50.6	1.41 (0.71-2.81) *p* =0.33
NEJ026 (n=228)	III	Erlotinib± bevacizumab	E+B: 32% E: 32%	72 vs. 66	16.9 vs. 13.3	0.605 (0.417-0.877) *p* =0.016	50.7 vs. 46.2	1.007 (0.681-1.490) *p* =0.973
ARTEMIS (n=311)	III	Erlotinib± bevacizumab	E+B: 28% E: 31%	87 vs. 85	17.9 vs. 11.2	0.55 (0.41-0.73) *P* <0.001	36.2 vs. 31.6	0.92 (0.69-1.23) *p* =0.581
RELAY (n=449)	III	Erlotinib± ramucirumab	無	76 vs. 75	19.4 vs. 12.4	0.59 (0.46-0.76) *P* <0.0001	NR	—

CNS; central nervous system, ORR; objective response rate, mPFS; median progression free survival, HR; hazard ratio, mOS; median overall survival
E; erlotinib, B; bevacizumab, NR; not reached

しかしこれらの試験はすべて第Ⅱ相臨床試験である. EGFR-TKI と他の薬剤との併用療法を検討した第Ⅲ相臨床試験として *EGFR* 変異を有する未治療進行 NSCLC に対するゲフィチニブ単独療法とゲフィチニブ+カルボプラチン+ペメトレキセド併用療法とを比較する NEJ009 試験では，併用療法群において PFS と OS ともに有意に延長し,併用療法群のOS中央値が50.9カ月であった[84]. エルロチニブ+ベバシズマブ併用療法とエルロチニブ単剤療法を比較する NEJ026 試験では，併用療法群において PFS は有意に延長したが[85],OS では差を認めなかった（HR=1.007; 95%CI，0.681-1.490; *p*=0.973，OS 中央値; 50.7 カ月 vs. 46.2 カ月）[86]（表 3）. 中国で行われた同様の ARTEMIS-CTONG1509 試験も同様の結果であった[87]. 活性型 *EGFR* 変異を有し，CNS 転移のない未治療の進行NSCLC患者を対象とした第Ⅲ相国際共同二重盲検無作為化試験である RELAY 試験では，エルロチニブと抗 VEGFR-2 抗体薬ラムシルマブの併用が，エルロチニブ単剤と比較して PFS を大きく延長した（HR=0.59; 95%CI，0.46-0.76; *p* <0.001，PFS 中央値; 19.4 カ月 vs. 12.4 カ月）[88]. 中間解析時点での OS 中央値は両群ともに未到達である（表 3）. また，ゲフィチニブとラムシルマブ併用での RELAY+試験において，主要評価項目の 1 年 PFS 率が 65%であり,エルロチニブとラムシルマブの併用と同等の有効性と安全性が評価された[89]. これらの試験結果に基づき，2020 年 11 月に *EGFR* 変異陽性の切除不能な進行・再発 NSCLC に対して，エルロチニブまたはゲフィチニブとラムシルマブの併用療法が適応追加された.

第三世代 EGFR-TKI と他の薬剤の併用療法についても試験結果が報告されつつある. *EGFR* 変異を有する未治療進行NSCLCに対するオシメルチニブ単独療法とオシメルチニブ+化学療法の併用療法を比較した第Ⅲ相 FLAURA2 試験では，オシメルチニブ+化学療法の併用療法が，オシメルチニブ単独療法と比較して病勢進行または死亡リスクを 38%低下させた（HR=0.62； 95%CI，0.49-0.79; p<0.001）[90]. この試験結果に基づき，2024 年 6 月にオシメルチニブと化学療法の併用療法が適応追加された. また, 未治療の進行再発 *EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC を対象とし，オシメルチニブを標準治療として，ラゼルチニブとアミバンタマブ併用療法の有効性を比較した無作為化比較試験（MARIPOSA 試験）の結果が報告された.主要評価項目である PFS において，ラゼルチニブとアミバンタマブの併用療法群の中央値は 23.7 カ月，オシメルチニブ群の中央値は 16.6 カ月であり，併用療法群において統計学的に有意な延長を認めた（HR=0.70; 95%CI, 0.58-0.85，p<0.001）[91]. この試験結果に基づき，2025 年 3 月に *EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC に対してラゼルチニブ/アミバンタマブ併用療法は保険適用を取得した.

3-4. 周術期における EGFR-TKI

完全切除後の *EGFR* 変異（Del 19 または L858R）陽性 NSCLC に対して，術後補助化学療法後のオシメルチニブ（3 年間内服）とプラセボを比較した無作為化比較試験（ADAURA 試験）が行われた. 主要評価項目であるⅡ期およびⅢA 期（第 7 版）症例の無病生存期間（DFS）において,オシメルチニブ群で統計学的に有意な延長が示され（HR=0.17; 99.06%CI，0.11-0.26; *p*<0.001）[92]，オシメルチニブは 2022 年 8 月に *EGFR* 変異陽性の NSCLC における術後補助療法についても適応が追加された. 5 年 OS に関しても，オシメルチニブ群 85%に対しプラセボ群 73%とオシメルチニブ群で有意な延長を認めている（HR=0.49; 95.03%CI，0.33-0.73; *p*<0.001）[93]. また，オシメルチニブを術前療法に用いる NeoADAURA 試験（NCT04351555，jRCT2080225229）なども行われており，より早期の症例に対する EGFR-TKI 使用の有用性が検証されている.

3-5. 放射線化学療法後における EGFR-TKI

切除不能なⅢ期の *EGFR* 変異陽性の NSCLC における化学放射線療法後のオシメルチニブ（病勢悪化まで継続）とプラセボを比較した無作為化比較試験（LAURA 試験）の結果が報告された.主要評価項目である PFS において，オシメルチニブ群の中央値は 39.1 カ月，プラセボは 5.6 カ月であり,オシメルチニブ群で統計学的に有意な延長が示された（HR=0.16; 95%CI 0.10-0.24, p<0.001）[215]. これに基づき，オシメルチニブは *EGFR* 遺伝子変異陽性切除不能局所進行肺がん化学放射線治療後の維持療法として保険適用を申請している.

４．*EGFR* エクソン 20 挿入変異に対する治療

従来 *EGFR* エクソン 20 の挿入変異は, ごく一部のサブタイプ（*EGFR* A763_Y764insFQEA 変異）を除いては既存の EGFR-TKI 治療の効果は限定的であった．*EGFR* エクソン 20 挿入変異を伴う進行 NSCLC を対象として，プラチナ/ペメトレキセド併用療法にアミバンタマブの上乗せの有効性，安全性を評価するための無作為化比較試験（PAPILLON 試験）が報告され, アミバンタマブの上乗せにより，病勢進行または死亡のリスクを 60%低減させることが示された（HR=0.40；95％CI，0.30–0.53；*p* <0.001）[47]. この試験結果に基づき,2024 年 9 月に *EGFR* エクソン 20 挿入変異陽性 NSCLC を対象として，プラチナ/ペメトレキセド＋アミバンタマブ併用療法が保険適用を取得した.

４-１．アミバンタマブ

アミバンタマブは *EGFR* および間葉上皮転換因子（MET）を標的とする完全ヒト型二重特異性抗体であり, EGFR 変異と MET 変異を標的とする直接阻害効果とともに, Fc 領域を介した免疫反応も関与して抗腫瘍効果を発揮するとされる新規治療薬である. 第 I 相試験である CHRYSALIS 試験の Exon 20 挿入変異を対象としたコホートにおいて，ORR 40%（95%CI，29-51），奏効期間中央値 11.1 カ月，PFS 中央値 8.3 カ月（95% CI，6.5-10.9）を示し，この結果をもって初めてプラチナ併用療法既治療 Exon 20 挿入変異に対する治療薬として 2021 年に FDA で承認された（本邦では単剤投与は未承認）．本邦では，PAPPILON 試験の結果に基づき，*EGFR* エクソン 20 挿入変異陽性 NSCLC を対象にしてプラチナ/ペメトレキセド＋アミバンタマブ併用療法が保険適用を取得している. また, 進行再発 *EGFR* コモン変異陽性 NSCLC を対象としても，未治療例でラゼルチニブ/アミバンタマブ併用療法（MARIPOSA 試験）が保険適用を取得，EGFR-TKI 耐性例でプラチナ/ペメトレキセド＋アミバンタマブ併用療法（MARIPOSA-2 試験）が保険適用を申請している.

５．*EGFR* Uncommon 遺伝子変異陽性に対する治療

５-１．第一世代 EGFR-TKI（ゲフィチニブ，エルロチニブ）

第一世代 EGFR-TKI は *in vitro* においても uncommon 変異のクローンに対する活性はいずれも低く, 実際の症例に対する効果も不十分である [218]．前向き試験のデータは乏しいが，NEJ002 に登録された G719X と L861Q 変異を示した 10 症例に対するゲフィチニブは，ORR 20%，PFS 中央値 2.2 カ月と化学療法と比較しても効果が低く，全生存期間も化学療法群と比較して悪い傾向が認められた [219].

５-２．アファチニブ

第二世代 EGFR-TKI であるアファチニブは *in vitro* において uncommon 変異クローンに広い活性を示し，compound 変異に対しても幅広く活性を有することが示されている [218, 220]．LUX-Lung 2，3，6 試験の統合解析においてはエクソン 20 挿入変異，T790M 変異を除く Uncommon 変異症例 38 例において, ORR 71.1%, PFS 中央値 10.7 カ月，DoR 中央値 11.1 カ月と報告されている．さらに，エクソン 20 挿入変異，T790M 変異を除く Uncommon 変異陽性進行再発非扁平上皮非小細胞肺癌 109 例対象として，アファチニブ（40 mg または 30 mg）とプラチナ併用療法を比較する第Ⅲ相試験（ACHILLES 試験）が本邦で行われた．全体 109 例が登録され，アファチニブ群には 73 例が割り付けられた．登録終了時点の中間解析で有効中止とされ, 結果は早期公表された. 主要評価項目である PFS は HR 0.421（95%CI，0.251-0.706．P=0.010．中央値 10.6 カ月 vs. 5.7 カ月）であった. それぞれのサブグループにおけるアファチニブの ORR は uncommon 全体で 61.7%，major uncommon で 55.8%, compound で 72.7%, その他の uncommon で 60.0%であった [221].

５-３．オシメルチニブ

第Ⅲ世代 EGFR-TKI であるオシメルチニブは，uncommon 変異に対して韓国（KOSG-LU15-09 試験）と本邦（UNICORN 試験）からそれぞれ前向き第Ⅱ相試験

が報告されている [222,223]. KOSG 試験は 37 例（うち compound 8 例, other 4 例を含む）を対象として, ORR 51%, PFS 中央値 8.2 カ月（95%CI, 5.2-10.5）と報告されている [222]. UNICORN 試験では 40 例（うち compound 18 例を含む）を対象として ORR 55%, PFS 中央値 8.2 カ月（95%CI, 5.6-11.0）と報告されている [223].

5-4. ラゼルチニブ+アミバンタマブ

EGFR/MET 二重特異性抗体アミバンタマブと第三世代 EGFR-TKI ラゼルチニブ併用療法の第 II 相試験（CHRYSALIS-2）の EGFR uncommon 変異コホートの結果が報告されている [224]. 未治療/既治療 104 例を対象としてアミバンタマブ＋ラゼルチニブ併用療法が投与され, ORR 52%, PFS 中央値 11.1 カ月と報告された. 特に未治療例 49 例においては ORR 57%, PFS 中央値 19.5 カ月と報告されている.

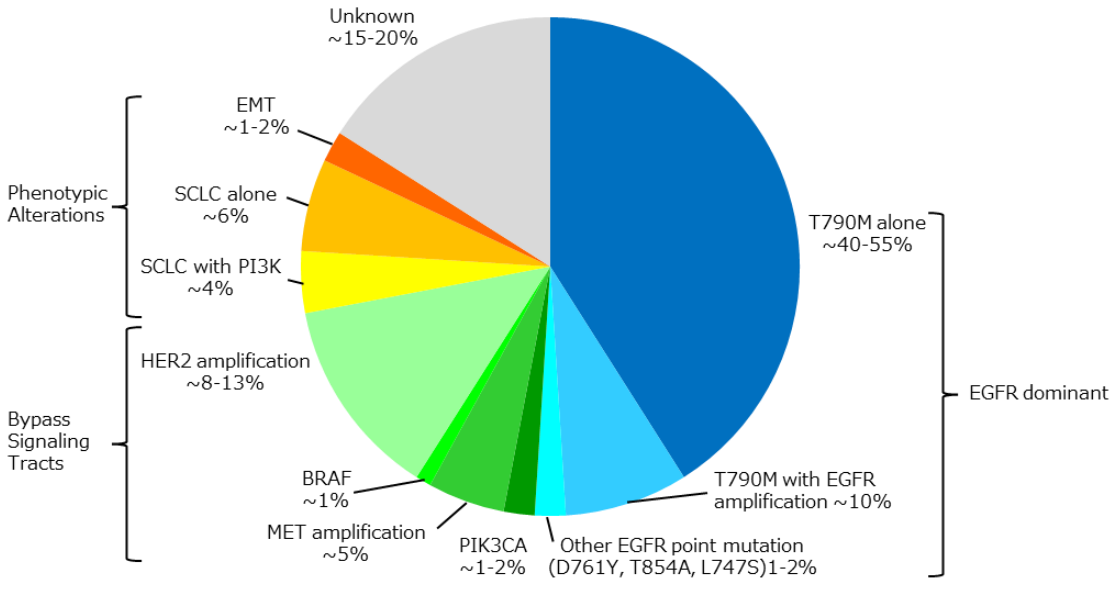
6. *EGFR* 遺伝子野生型における EGFR-TKI

2005 年頃は, BR.21 試験の結果からは *EGFR* 変異陰性例（野生型）であっても EGFR-TKI の有用性があると認識され [57], エルロチニブが *EGFR* 野生型 NSCLC の二次治療以降の選択肢の 1 つとされていた. しかし 2013 年に *EGFR* 野生型 NSCLC を対象とした第Ⅲ相試験（TAILOR 試験）において, エルロチニブがドセタキセルより明らかに劣る結果が示された [94]. また本邦でも, プラチナ製剤治療歴のある進行 NSCLC を対象とした二, 三次治療でのドセタキセルとエルロチニブを比較する第Ⅲ相試験（DELTA 試験）の結果が 2014 年に報告され, サブセット解析ではあるが *EGFR* 野生型 NSCLC に対してドセタキセル群で有意に PFS が良好であった [95]. このため, *EGFR* 変異陰性もしくは不明におけるエルロチニブ単剤は有効性と ILD のリスクなどから推奨されない.

（3）EGFR-TKI に対する獲得耐性

1. 獲得耐性メカニズム

EGFR 変異陽性進行 NSCLC の一次治療において, EGFR-TKI 投与後約 1 年で多くの患者に耐性獲得が認められる. 耐性メカニズムとしては, EGFR 内に耐性機序が存在する On-target 耐性の他に, EGFR 以外に耐性化の原因がある Off-target 耐性が報告されており, それぞれ耐性克服についても検討されてきた. 第一および第二世代 EGFR-TKI に対し耐性化した症例の 50-60%で, *EGFR* 遺伝子エクソン 20 領域の T790M 変異（コドン 790 におけるスレオニンからメチオニンへの変異）を認める [3,4,96-98]. このような阻害剤の結合部位に生じる変異はゲートキーパー変異と呼ばれ, EGFR の ATP 親和性が高まり相対的に EGFR-TKI 結合性が低下することで下流シグナルが阻



日本肺癌学会バイオマーカー委員会作成

図 3. EGFR-TKIs に対する獲得耐性のメカニズム

害されなくなり，耐性化をきたす．一方で，癌細胞の EGFR 依存性はまだ保たれており，異なる結合プロファイルをもった EGFR-TKI は有効であることが期待される（図 3）．

その他の耐性メカニズムとして，*MET* 増幅 [96,98-100]，HGF 過剰発現 [101]，*HER2* 増幅 [102]，*CRKL* 遺伝子増幅 [103]，*PIK3CA* 変異 [98]，*BRAF* 変異 [104]，*MAPK1* 増幅 [105]，PTEN 発現喪失 [106,107] などがある．さらに，5-10%の頻度で小細胞肺癌（SCLC）形質転換 [96,98] も報告されており，EGFR-TKI 治療前に Rb と p53 の両方に不活化のある *EGFR* 変異陽性 NSCLC の場合，SCLC 形質転換リスクが 43 倍高いとされる [108]．また上皮間葉移行（epithelial-mesenchymal transition; EMT）[98,109-112] の関与も示され，そのメカニズムとしては，AXL 活性化 [113]，MED12 発現低下 [114]，TGFβ-IL6 [115] などが報告されている（図３）．

２．獲得耐性への治療戦略

２-１．第三世代 EGFR-TKI 登場以前および T790M 変異陰性あるいは不明症例に対して

1-2 レジメンの化学療法歴があり，第一世代 EGFR-TKI を 12 週以上投与されて PD となった患者を対象として，第二世代 EGFR-TKI のアファチニブとプラセボを比較した第Ⅱb/Ⅲ相試験（LUX-Lung 1）では，主要評価項目の OS はプラセボ群と比較して有意な延長は認められなかった [116]．

増悪後にも EGFR-TKI を継続しながら化学療法を併用する治療戦略（Beyond PD）が理論上は有効とされており [117]，ゲフィチニブ治療中の増悪時にシスプラチン+ペメトレキセドを追加することの意義を検証する第Ⅲ相試験（IMPRESS 試験）が実施された．結果は両群とも PFS は変わらず，OS はゲフィチニブの Beyond PD を行わないほうがよいというものであった [118]．また IMPRESS 試験の血漿バイオマーカー解析で，血漿 T790M 陽性の患者に対しては，二次治療でプラチナ併用療法を行う際に，ゲフィチニブは併用すべきではないことが示された [119]．一方で，PD 時点で血漿 T790M 変異陰性の患者に対しては，化学療法にゲフィチニブを併用することでベネフィットが得られる可能性も示唆されている [119]．一次治療としてエルロチニブを投与中に RECIST PD と判定された後にもエルロチニブを継続投与することの臨床的意義を検討する目的で実施された第Ⅱ相試験（ASPIRATION 試験）では，PFS の差は 3.1 カ月であった [120]．Beyond PD 継続により次治療に移行できない可能性を回避するためにも，RECIST PD より 3 カ月以内での次治療への切り替えを検討する必要があるかもしれない．

日本の多施設共同前向きコホート試験である CSPOR LC-02 試験において，EGFR-TKI の一次治療を受けた *EGFR* 変異陽性の進行・再発 NSCLC 患者での RECIST PD 後の治療の実態と，EGFR-TKI 治療中止後の臨床経過が調査された．進行によって何らかの臨床症状を有する場合や複数個所での増大，主要臓器を脅かすものを臨床的悪化（clinical PD）と定義して，それに至るまでの期間を評価した．RECIST PD から clinical PD まで継続した患者と RECIST PD の時点で中止した患者では RECIST PD 後の OS に大きな差はみられなかった．ただし多変量解析にて，RECIST PD 後も臨床症状が安定している患者の中で女性，PS 良好，そして Del 19 の患者などは beyond PD でも EGFR-TKI を継続することで良好な OS を認めた [121]．

現時点では，一次治療で EGFR-TKI を投与されて耐性または増悪後，T790M 変異陰性の症例には，二次治療として「ドライバー遺伝子変異/転座陰性」に準じた細胞傷害性抗癌薬を用いた治療が勧められる [76]．

２-２．第三世代 EGFR-TKI

T790M 変異を標的とした第三世代 EGFR-TKI が開発され，EGFR-TKI 耐性後の T790M 変異陽性例に対する有用性が報告されてきた．なかでも，オシメルチニブが *EGFR* 変異陽性の EGFR-TKI 耐性後の T790M 変異陽性 NSCLC に対し，2015 年 11 月に FDA（米国食品医薬品局）で，2016 年 2 月に EMA（欧州医薬品庁）で承認された．本邦においても，2016 年 3 月に「EGFR-TKI に抵抗性の *EGFR* T790M 変異陽性の手術不能又は再発非小細胞肺癌」に対し，オシメルチニブが承認されている．

その他の第三世代 EGFR-TKI として，Rociletinib は効果と毒性の問題で Clovis Oncology 社が欧米での承認申請を撤回し，開発を中止した．Olmutinib は EGFR-TKI 耐性後 T790M 変異陽性 *EGFR* 変異陽性 NSCLC に対する第

Ⅰ-Ⅱ相試験で ORR 56%，PFS 中央値 8.3 カ月と良好な結果であった[122]．Olmutinib は 2016 年に韓国でいったん承認されたが，開発段階での 2 例の中毒性表皮壊死症(TEN)と 1 例のスティーブンス・ジョンソン症候群の重症皮疹の有害事象について報告が適切にされず，すでに開発は中止され，保険償還リストからも除外された．Naquotinib（ASP8273）も毒性のために開発が中止された．その他の第三世代 EGFR-TKI として，Avitinib，Nazartinib，Mavelertinib などが開発されている．

2-3．オシメルチニブ

オシメルチニブは，EGFR キナーゼドメインの ATP 結合部位の C797 に共有結合によって不可逆的に結合する[17]．オシメルチニブは特徴的な分子構造を有することで従来の EGFR-TKI とは異なる EGFR への阻害プロファイルを発揮するようデザインされており，*EGFR* 活性型変異および T790M 変異の両方を有する EGFR に選択的に作用するが，野生型 EGFR への作用は限定的である[123]．このため，T790M 変異を有する *EGFR* 変異陽性 NSCLC に対する高い効果と毒性の軽減が証明された．オシメルチニブの半減期は 48.3 時間で，食事や人種（アジアと非アジア），性別，体重や年齢の影響は受けにくく安定しており，1 日 1 回 80mg の固定用量が推奨された[124]．

2015 年に，EGFR-TKI 耐性となった *EGFR* 変異陽性 NSCLC に対するオシメルチニブの第Ⅰ-Ⅱ相臨床試験（AURA1/AURA2 試験）にあたる dose escalation 試験と dose expansion 試験の結果が報告された．T790M 変異陽性症例の ORR は 61%，PFS 中央値は 9.6 カ月に対し，陰性症例の ORR は 21%，PFS 中央値は 2.8 カ月であった[19]．AURA 試験の extension コホートにおいても，PFS および ORR ともに良好であり，サブグループ解析で CNS 転移症例に対するオシメルチニブの高い効果が示唆された[125]．第Ⅱ相試験（AURA2 試験）でも同様の結果であった[126]．AURA extension 試験と AURA2 試験の併合解析の結果，ORR は 66%，PFS 中央値は 9.9 カ月で OS 中央値は 26.8 カ月であった[127]．

EGFR-TKI に抵抗性の T790M 変異陽性 NSCLC 患者を対象としてオシメルチニブとプラチナ併用化学療法を比較する第Ⅲ相 AURA3 試験では，オシメルチニブで有意に PFS の延長を認め（HR=0.30，PFS 中央値；10.1 カ月 vs. 4.4 カ月），ORR もオシメルチニブが有意に良好（71% vs. 31%）であった．オシメルチニブ群で 4%に ILD を認めた[128]．その他，下痢，皮疹，皮膚乾燥や爪囲炎などの有害事象を認めたが，いずれも軽微であった．

EGFR-TKI 未治療の *EGFR* 変異陽性 NSCLC の中で，治療前より T790M 変異を認める *de novo* T790M は 22-80%にみられ，EGFR-TKI の初期耐性に関与している[129-136]．オシメルチニブを *EGFR* 変異陽性 NSCLC の一次治療に使用することで，この *de novo* T790M 耐性を克服できると考えられた．第Ⅰ相の AURA 試験では，未治療の *EGFR* 変異陽性 NSCLC に対するオシメルチニブ一次治療において，ORR が 77%，OS は 20.5 カ月と良好な結果であった[137]．この結果は，一次治療での第一世代 EGFR-TKI の有効性と比較しても有益であり，*de novo* T790M の発現に関係ないことから，オシメルチニブの一次治療としての第Ⅲ相試験（FLAURA 試験）が行われた．局所進行あるいは転移性 *EGFR* 変異陽性 NSCLC 患者を対象とし，オシメルチニブと標準治療であるゲフィチニブまたはエルロチニブとを比較した第Ⅲ相試験で，オシメルチニブにおいて PFS と OS が有意に延長し（表 2），脳転移症例にも有効で[75]，Grade3 以上の毒性も有意に少なかった[20,77,138]．この試験結果から，治療効果と毒性のバランスを考慮し，*EGFR* 変異（Del 19 または L858R 変異）陽性 NSCLC の一次治療としては，オシメルチニブ単剤療法が推奨されている[76]．また，先述の通り一次治療としてオシメルチニブ単独療法とオシメルチニブ+化学療法の併用療法を比較した第Ⅲ相 FLAURA2 試験では，併用療法が有意に PFS を延長し[90]，本邦でもオシメルチニブと化学療法の併用療法が使用可能となっている．

2-4．オシメルチニブの CNS 転移に対する効果

EGFR 変異陽性 NSCLC 患者での CNS 転移の頻度は 31%と多い[139]．ゲフィチニブ[71]やエルロチニブ[140]，アファチニブ[141]の CNS 内での活性は極めて低いが，プレクリニカルなデータでは，オシメルチニブはゲフィチニブやアファチニブよりも高い CNS 移行率が示された[142]．AURA3 試験での CNS 転移症例に対するオシメルチニブの効果は，CNS ORR が 70%で CNS PFS 中央値は 11.7 カ月であった[143]．FLAURA 試験においても，オシメルチ

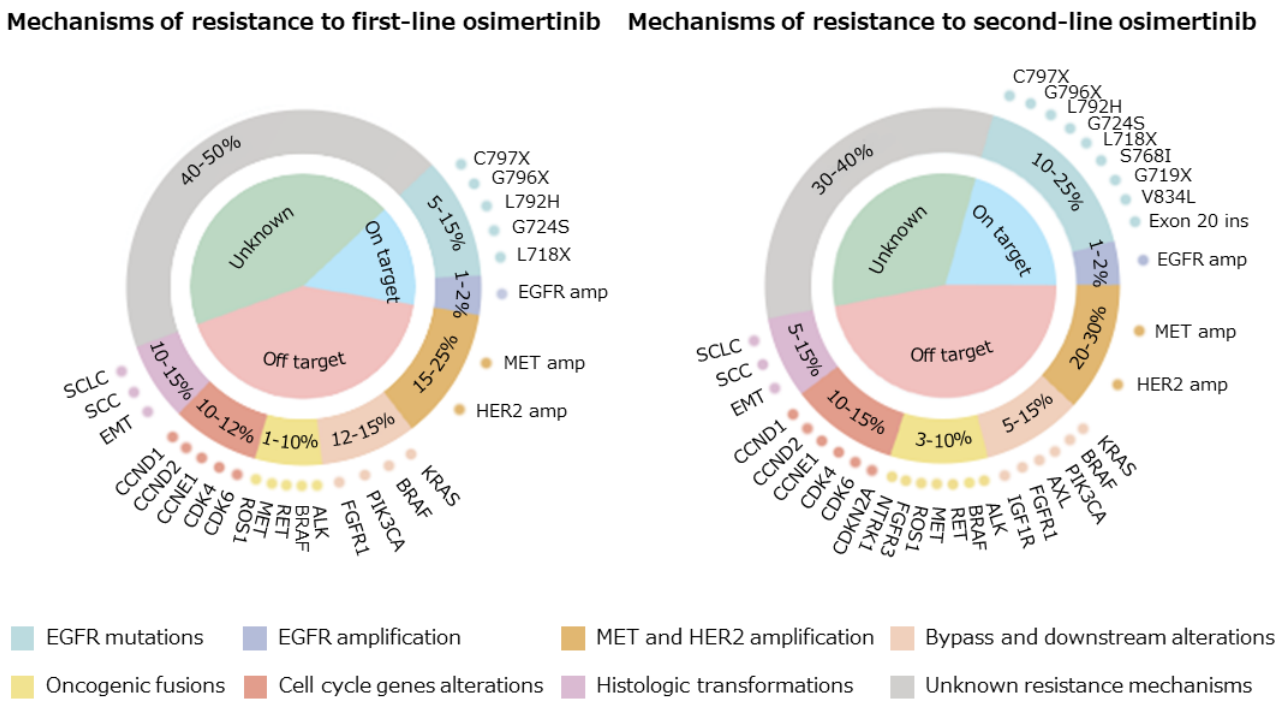


図 4. 初回および二次治療オシメルチニブ投与に対する耐性機序 [153]

ニブの CNS ORR は 91%，CNS PFS 中央値は未到達であるのに対し，ゲフィチニブまたはエルロチニブでは 13.9 カ月（HR=0.48）であった [75]．がん性髄膜炎に対する高い効果も報告されている [144,145]．

2-5．オシメルチニブに対する耐性機序

T790M 耐性変異を有する NSCLC に対するオシメルチニブ投与例においても，約 10 カ月程度で耐性変異が発現することが報告されている [128]．耐性獲得メカニズムの 1 つに，オシメルチニブの共有結合部位である C797 がセリンにかわる変異（C797S）が報告されている [146,147]．それ以外にも *MET* 増幅 [148] や *ERBB2* (HER2)増幅 [149]，*BRAF* V600E 変異 [150,151]，SCLC 形質転換 [152] などが報告されている（図 4）[153]．T790M 耐性変異患者のオシメルチニブ耐性後の腫瘍組織を用いた検討では，T790M/C797S 変異が 22%に，T790M 変異消失（T790M loss）が 68%にみられた [154]．T790M loss の耐性機序には SCLC 形質転換，*MET* 増幅，*BRAF* V600E 変異などがみられ，T790M loss のほうがオシメルチニブの治療期間が短いことより，もともとヘテロな耐性クローンが存在している可能性が示唆される [154]．

初回オシメルチニブの耐性機序に関して，少数の血漿検体での解析では *MEK1*，*KRAS*，*PIK3CA* 変異など様々な変異を認めているが，T790M 変異は認められなかった [137]．FLAURA 試験での血漿検体による初回オシメルチニブ耐性機序の検討においても，T790M 変異はなく，最も多い耐性機序は *MET* 増幅の 16%で，*EGFR* 内の変異は 10%（C797S 変異は 6%）であった [155]．血漿検体では *MET* 増幅が過少評価されることや，SCLC 形質転換などは検出できないことなどから，結果の解釈には注意が必要である．初回オシメルチニブの耐性機序に関しては，積極的に再生検を行って詳細を明らかにしていくことが望まれる．

2-6．ラゼルチニブ

ラゼルチニブ（Lazertinib）は第三世代 EGFR-TKI に位置づけられる，*EGFR* 活性型変異および T790M 変異を主たる標的とした不可逆的阻害剤である．特に中枢神経系（CNS）への浸透性が高く，脳転移症例においても有効性が期待されている [213]．

初期の臨床試験では，*EGFR* T790M 変異陽性 NSCLC 患者に対する有望な治療成績が示された．推奨投与量である 240mg/日において EGFR-TKI 既治療 T790M 陽性 NSCLC を対象とした第Ⅰ-Ⅱ相試験（LAZER201 試験）では，ラゼルチニブ単剤療法の ORR は 55.3%，PFS 中央値は 11.1 カ月であった [213]．また，*EGFR* 遺伝子変異陽

性NSCLCを対象としてラゼルチニブとゲフィチニブを比較した無作為化比較試験（LAZER301 試験）の結果も報告されている．主要評価項目である PFS において，ラゼルチニブ群の中央値は 20.6 カ月，ゲフィチニブ群の中央値は 9.7 カ月とラゼルチニブ群において統計学的有意な延長を認めた(HR 0.45; 95%CI, 0.34-0.58, p<0.001) [214]．ラゼルチニブ群の ORR は 76%であった．副作用としては,発疹,下痢,肝機能異常などが報告されているが，比較的忍容性が高いとされる．この試験の結果に基づき，韓国においてラゼルチニブ単剤治療が承認されているが，本邦では単剤での承認は得られてない. 本邦ではアミバンタマブとの併用（MARIPOSA 試験）において保険適用を 2025 年 3 月に取得した.

2-7．免疫チェックポイント阻害剤およびその他の新規治療薬

EGFR 変異陽性 NSCLC に対する一次治療での免疫チェックポイント阻害薬 (immune checkpoint inhibitor; ICI) 単独療法については，明確な有効性が示されていない [76]. PD-L1 発現陽性の *EGFR* 変異陽性 NSCLC に対する一次治療としてのペムブロリズマブの第Ⅱ相試験では, 奏効例がなかったことより試験は無効中止となっている [156].

EGER 変異陽性肺癌に対し，二次治療での ICI（ニボルマブ，ペムブロリズマブ，アテゾリズマブ）とドセタキセルを比較した第Ⅲ相試験の統合解析では，ICI はドセタキセルに対して OS を改善しなかった [157]．また，ICI と EGFR-TKI の併用療法では, 有効性よりも重篤な肝機能障害，ILD や皮疹などの有害事象が報告され [158]，*EGFR* 変異陽性例への ICI と EGFR-TKI の併用療法は推奨されない.

一次治療における非扁平上皮 NSCLC に対する，アテゾリズマブ＋ベバシズマブ＋カルボプラチン＋パクリタキセルの併用療法（ABCP）とベバシズマブ＋カルボプラチン＋パクリタキセルの併用療法（BCP）を比較した第Ⅲ相試験（IMpower150 試験）のサブグループ解析において，*EGFR* 変異陽性患者の OS の HR=0.61（95%CI: 0.29-1.28, 中央値 : 未到達 vs. 18.7 カ月），PFS の HR=0.61（95%CI: 0.36-1.03, 中央値 : 10.2 カ月 vs. 6.9 カ月）と ABCP 群が良好な傾向を示した [159]. さらに活性型 *EGFR* 変異（Del 19 および L858R 変異）のみを対象とした EGFR-TKI 治療後の患者における OS の更新された解析では，OS の HR=0.74（95%CI: 0.38-1.46，中央値 : 29.4 カ月 vs. 18.1 カ月）と ABCP 群で良好な傾向を示した [160]．韓国においても，Ⅳ期非扁平上皮 NSCLC で *EGFR* 変異または *ALK* 転座陽性かつ TKI 治療歴を有する患者を対象として, ABCP とペメトレキセド＋カルボプラチンあるいはシスプラチン（CP）併用療法を比較した第Ⅲ相試験（ATTLAS，KCSG-LU19-04）が行われ，ORR および PFS は ABCP 群で有意に良好であった（OS は両群で同等）[161]．以上より「一次治療 EGFR-TKI 耐性または増悪後の症例に二次治療でカルボプラチン＋パクリタキセル＋ベバシズマブ＋アテゾリズマブ療法を行うよう弱く推奨する」となっている [76].

（4）EGFR-TKI 治療とその他の効果予測因子

EGFR 変異以外にも EGFR-TKI の感受性に関わる因子がいくつか報告されている. その中には間接的に *EGFR* 変異の存在と関連を示すものもある.

1．リガンドレベルの変化

ゲフィチニブの奏効例と非奏効例で発現が異なる遺伝子を発現プロファイリングで検討したところ, 非奏効例でリガンドである Amphiregulin と TGFαの発現が高いことが示された [163]．また，血中のこれらのリガンド濃度の上昇はゲフィチニブの感受性と逆相関していた.

HER ファミリーのリガンドは細胞表面に結合した形で合成され，sheddase といわれる蛋白分解酵素で切り出される. ErbB リガンドの sheddase は ADAM(a disintegrin and metalloprotease) ファミリーに属し, 特に ADAM10 と 17 の関与が強い．多くの肺癌細胞株が ADAM17 を発現しており，このような細胞では ERBB3 のリガンドである heregulin が増加している [164]．ADAM の阻害薬である INCB4298 はこの autocrine ループを切ることでゲフィチニブの感受性を高くすることから，ADAM17 は EGFR-TKI の効果を抑制していると考えられる [164].

２．EGFR 遺伝子増幅

Cappuzzo らは *EGFR* 変異よりも Fluorescent *in situ* hybridization（FISH）によって検索された *EGFR* のコピー数の増加のほうがゲフィチニブの有効性の予測に有効であると報告した（全生存期間に対する *p* 値は *EGFR* 変異で 0.09 に対して *EGFR* 増幅は 0.03）[165]．ここで注意すべきは，遺伝子増幅の他に 40%以上の腫瘍細胞がテトラソミー（4 染色体性）以上となっている場合（high polysomy）を含めて FISH 陽性としている点である. 8 研究の 663 例の結果をまとめてみると，コピー数増加症例の奏効率は 35%，増加のない症例では 9%であった [12]. BR.21 試験においてはコピー数のみが効果予測因子であり，遺伝子変異は無関係であったと報告されている [166]. また ISEL 試験においてもコピー数が生存の予測因子であったと報告されている [167]．一般に，*EGFR* 変異が起こった後，腫瘍の進展により遺伝子増幅が起こると考えられるため [168]，増幅（high polysomy ではない）がある場合は変異も同時にあることが多く，このことも種々の結果をもたらす原因と考えられる．2010 年に前述の IPASS 試験のバイオマーカー解析において，*EGFR* 遺伝子コピー数が増幅した群においても *EGFR* 変異の有無によって明らかに EGFR-TKI の効果が異なることが示され，*EGFR* 変異のほうが FISH よりも優れたバイオマーカーであるとの結論に至り，FISH の意義は否定された [169].

３．他の HER ファミリー

EGFR 変異がある症例において，*HER2* の FISH が陽性の場合では陰性の場合とくらべて有意にゲフィチニブ投与後の生存期間が長いと報告されているが [170]，前述のように *HER2* 増幅は EGFR-TKI 獲得耐性のメカニズムでありこの両知見は矛盾する．また，*EGFR* 変異の有無にかかわらずゲフィチニブの感受性の細胞では ERBB3 の発現が増加しており，ERBB3 を介して PI3K-AKT 経路が活性化されているが，耐性細胞では ERBB3 を介していないことが示されている [171].

４．その他の遺伝子変化と TKI 感受性

KRAS，*EGFR*，*ERBB2* 変異，*ALK* 転座，*ROS1* 転座は相互排他的関係があるため，これらの遺伝子異常の存在は *EGFR* 変異の存在を否定することになる．したがって，これらの症例における EGFR-TKI の奏効は期待できない.

EGFR 以外の遺伝子に生じた変異が *EGFR* 変異と同時に存在する（共変異，co-mutation）ことで，EGFR-TKI 感受性に影響を与えることも知られている．*PTEN* 変異 [172] の他に *TP53* 変異 [172,173]，*HER2* 増幅 [173]，*MET* 増幅 [173, 174]，*MDM2* 増幅 [172]，*RB1* 変異 [172]，*CDK4/6* 変異 [174]，WNT/βカテニン異常 [174] などが報告されており，通常はこれら共変異の存在によって EGFR-TKI 感受性が低下する.

PI3K（ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ）の触媒サブユニット p110a をコードする遺伝子が PIK3CA であり，この遺伝子の変異は肺癌では 1-4%に認められる．*PIK3CA* 変異は *EGFR* 変異との排他的な関係はなく，ゲフィチニブ奏効ともあまり関連しないようであった．一方，PI3K の逆の作用をもつのが PTEN 腫瘍抑制遺伝子であり，PTEN 発現低下があると相対的に AKT が活性化され EGFR-TKI 感受性が低くなるとされている. リン酸化 AKT の陽性率が高いとゲフィチニブの感受性が高いとの報告もあるが [175]，一定の結論は得られていない．間接的に変異を含む *EGFR* の活性化をみている場合と，一次的な異常が PTEN にあって AKT が活性化している場合とで結果が異なると解釈できる.

その他に，接着分子である E-カドヘリンは EGFR と相互作用があることが知られているが，この蛋白発現と EGFR-TKI の感受性に相関があることが報告されている [176]．また，BIM（BCL2-like 11，BCL2 interacting modulator of cell death）はアポトーシスを促進する分子で，EGFR-TKI で起こる細胞死に必要とされている．アジア人の 10-20%は BIM のイントロンの欠失多型をもっており，これらの症例では EGFR-TKI の奏効が悪いことが報告されている [177].

（５）*EGFR* 変異の診断

１．*EGFR* 遺伝子変異検査の対象患者

EGFR 変異は肺腺癌特異的に認められる EGFR-TKI の効果予測因子であるので，基本的には *EGFR* 変異検査は

薬物治療を考慮している腺癌患者が対象となる. 非喫煙者, 女性などの臨床背景をもつ患者に相対的に高頻度であるが絶対的なものではなく, 男性や喫煙者という理由で検査を施行しないことは適切でない. 組織型については, 腺扁平上皮癌や大細胞癌と診断される可能性がある低分化な腺癌, 小細胞肺癌においても報告例があるが, 標本の一部に腺癌成分がある場合がほとんどであるため, 腺癌成分のある肺癌は検査の対象となる. したがって, 外科切除標本でどこにも腺癌成分のない扁平上皮癌などについては *EGFR* 変異がある可能性は極めて低く, 適応から外すことは妥当である. 一方で, 小さな生検や細胞検体では腫瘍全体の評価はできておらず, これらが扁平上皮癌や小細胞肺癌であっても *EGFR* 変異検査を施行することは妥当である.

また, 1 つの検体の中の不均一性の有無については様々な報告があるが, Yatabe らの詳細な解析により基本的にはないと考えてよいであろう [178]. すなわち, *EGFR* 変異は発がん過程の極めて早期に獲得されると考えられており, EGFR-TKI による治療前であれば, 一般に腫瘍細胞に均一に分布している. 原発巣と転移巣, 原発巣と再発病巣における *EGFR* 変異状態が異なることも稀であることが示されている [178,179]. 原発巣/再発巣のいずれも *EGFR* 変異検査が可能であれば, 腫瘍細胞量, DNA の保持状態でどちらを用いるか判断すべきである. ただし, 多発性で明らかに別々の肺腺癌については多発癌の可能性を考慮し, それぞれの腫瘍について検討を行うことは意味がある.

EGFR-TKI 治療後に出現した腫瘍に対しては, オシメルチニブを用いた治療対象選択のため, 特定の CDx を用いた T790M 耐性変異の有無の確認が必要となる. なお, 初回の *EGFR* 変異検査については, 2013 年に College of American Pathologists（CAP）, International Association for the Study of Lung Cancer（IASLC）および Association for Molecular Pathology（AMP）の三学会から *EGFR* および *ALK* 遺伝子検査ガイドライン [180] が発出されている. また, 2016 年 7 月に EGFR-TKI 耐性患者およびその T790M 変異検査を含めた *EGFR* 変異陽性 NSCLC の診療に関する IASLC の合意声明 [181] が公表され, 2017 年には The IASLC Atlas of EGFR Testing in Lung Cancer[182] が発出されているので, 参照されたい.

2．*EGFR* 遺伝子変異検査に用いる検査法

2004 年の *EGFR* 変異の発見以降, その検出法が相次いで報告され, 本手引ではそれらの解説を行ってきた. 当初は, 質保証体制が整備された主要検査センターによって, 薬事未承認検査法〔米国 CLIA 認証ラボで実施されている laboratory developed test（LDT）法に相当する位置付けの検査法（LDT 相当法）〕を用いて, その運用が進められていた. その後, 2012 年には体外診断用医薬品（*in vitro* diagnostics；IVD）として承認された検査法が上市された. さらに 2016 年には, *EGFR* 変異検査としては国内初となる CDx として IVD 承認された検査法が登場した. 一般に, 実臨床での腫瘍組織を用いた *EGFR* 変異検査の検出感度は 1-5%ほどである. 2018 年に発出された 2013 年の CAP/IASLC/AMP の *EGFR* および *ALK* 遺伝子検査ガイドライン [180] のアップデートガイドラインでは, 20%程度の腫瘍細胞を含む検体で検出可能な検査法（すなわち検出感度が 10%以上の検査法）を用いるべきとしている [183].

EGFR 変異検査は, 特許/ライセンス取得の対応や検査の質保証体制への整備状況に鑑みて, これらをクリアできる特定の実施機関での LDT 相当法を除き, IVD 法の利用が推奨される. また, 近年は次世代シークエンス（next-generation sequencing；NGS）法などを用いたマルチプレックス検査が登場し, 米国では CLIA/CAP 認証を受けた医療機関や検査センターで, LDT 法として利用が進んできた（表４）[133,134,182,184-193]. 2017 年 6 月には Thermo Fisher Scientific 社の Oncomine™ Dx Target Test が CDx として FDA 承認され, さらに 2018 年 5 月には Medicare による保険償還がされたことをきっかけに, 薬事承認薬の運用も徐々に広まった. 同システム（オンコマイン ™ Dx Target Test CDx システム）は, 本邦では 2018 年 4 月に *BRAF* V600E 変異のみを対象とした CDx として承認された. その後 2019 年 2 月に,「オンコマイン ™ Dx Target Test マルチ CDx システム」が *EGFR* 変異（Del 19 および L858R 変異）を含む 4 遺伝子に対す

表 4. *EGFR* 遺伝子変異の検出法とその特性

	Technique	Sensitivity (%Mutant DNA)	Mutations Identified	Detection of co-mutations	Potential Applications
CDx	Cobas	3%-5%	known only	No	Tissue, Plasma
	therascreen	1%-10%	known only	No	Tissue, Plasma
	AmoyDx® Pan Lung Cancer Panel	1%-5%	known only	Yes	Tissue
	Oncomine™ Dx Target Test	6%-8%*	known & new	Yes	Tissue
	FoundationOne CDx®	2%-5%**	known & new	Yes	Tissue
	FoundationOne® Liquid CDx	0.27%-0.34%***	known & new	Yes	Plasma
	Lung Cancer Compact Panel	0.10%-0.54%****	known & new	Yes	Tissue
RUO	Direct sequencing	10%-25%	known & new	No	Tissue
	Pyrosequencing	5%-10%	known only	No	Tissue
	Multiplex PCR (Snapshot)	5%	known only	Yes (hotspots)	Tissue
	WAVE-surveyor	2%	known only	No	Tissue, Plasma
	High-depth NGS (at least 1000x depth)	1%-10%	known & new	Yes	Tissue, Plasma
	MassARRAY Dx Lung Panel	1%-10%	known only	Yes (hotspots)	Tissue
	Scorpion ARMS	1%	known only	No	Tissue, Plasma
	Locked nucleic acid clamp	1%	known only	No	Tissue, Plasma
	TAm-Seq	2%	known & new	Yes	Tissue, Plasma
	BEAMing	<0.1%	known only	No	Tissue, Plasma
	Digital droplet PCR	<0.1%	known only	No	Tissue, Plasma
	CAPP-Seq	~0.02%	known & new	Yes	Plasma

EGFR; epidermal growth factor receptor gene, PCR; polymerase Chain reaction, NGS; next-generation sequencing, ARMS; amplification refractory mutation system, CAPP; cancer personalized profiling by deep sequencing, RUO; research use only
*,**,***; Data from FDA SSED document
(*; https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf16/P160045B.pdf,
**; https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf17/P170019B.pdf,
***; https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf19/P190032B.pdf),
****; https://www.dna-chip.co.jp/gene/compactpanel/background.php#pl1

るマルチプレックス CDx として承認された．また，2019 年 10 月には *EGFR* uncommon mutation ならびに T790M 変異に対して追加承認された．一方で， 2018 年 12 月に「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」が，*EGFR* 変異（Del 19, L858R 変異, T790M 変異）と *ALK* 融合遺伝子の 2 遺伝子について承認された．2020 年 9 月には *EGFR* 変異の CDx 対象となる変異が拡大され，*EGFR* uncommon mutation を含む活性型 *EGFR* 変異に対して適応となった．2021 年 3 月には，FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイルと同様に複数の CDx 機能をもつ血漿検査（リキッドバイオプシー検査）として，「FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル」が承認された．また，2022 年 11 月には NGS 法を用いた「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」が，NSCLC に対する *EGFR* 変異を含むマルチプレックス CDx として承認された．

上記のような NGS 法に加えて，リアルタイム PCR 法を原理としたマルチプレックス CDx として，「AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル」が 2021 年 6 月に承認されている．これらの CDx では，いずれも最も重要なバリアント（Del 19，L858R 変異）の検出は可能となっているが，その他重要度の高いとされるバリアント〔病的変異（pathogenic）もしくは病的である可能性の高い変異（likely pathogenic）〕では，検査法間でレポートされる内容に差があるため，検査法の選択にあたっては注意が必要である．「オンコマイン ™ Dx Target Test マルチ CDx システム」では，エクソン 20 挿入変異は当初は報告されなかったが，2020 年 5 月より解析対象に追加され，シークエンスレポート（薬事非対象報告書）には記載されるようになった（詳細は「（付表）各コンパニオン診断法における報告対象バリアント」の項を参照）．

NGS を用いたマルチプレックス CDx の保険償還について，「オンコマイン ™ Dx Target Test マルチ CDx システム」では，患者 1 人につき 1 回に限り算定できるが，本検査とは別に実施された肺癌における *EGFR* 変異検査，*ROS1* 融合遺伝子検査，*BRAF* 変異検査，ALK 融合タンパク検査および *ALK* 融合遺伝子検査に係る費用は別に算定できない．ただし，*EGFR* 変異検査については，再発や増悪により，二次的遺伝子変異が疑われ，再度治療法を選択する必要がある場合には 2 回に限り算定できる（2020 年 4 月の診療報酬改定においても変更なし）．一方で，「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」および「FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル」を CDx に用いる場合は，算定可能な保険点数と検査センターに支払う検査費用の間の乖離が大きいため，利用困難な状況となっている．

なお現在，医薬品医療機器総合機構（PMDA）では，同一の効能・効果を有する医薬品（EGFR-TKI）の適応判定に用いる CDx 間の互換使用に関する検討が進んでおり，すでに複数の CDx が存在する *EGFR* 変異検査については，その対象となっている．今後，同一の効能・効果を有する EGFR-TKI のいずれかに対応した CDx であれば，これら薬剤の CDx に互換使用が可能となる見込みである [194]．

2-1．組織検査

2007 年に *EGFR* 変異検査が保険適用対象となって以降は，主要検査センターで採用された 3 つの LDT 相当法（PNA LNA PCR-Clamp 法，PCR-Invader 法，Cycleave 法）が，検査法として国内では主流となった．その後，Scorpion-ARMS 法を用いたリアルタイム PCR 法（therascreen® EGFR 変異検出キット）が 2012 年 2 月に，また TaqMan-probe 法を用いたリアルタイム PCR 法（コバス® EGFR 変異検出キット）が 2014 年 1 月にそれぞれ IVD 承認された．その後 LDT については，2022 年度（令和 4 年度）診療報酬改定において削除となっている．

2-1-1．EGFR-TKI 投与前の初回組織検査

EGFR 変異は約 90%が Del 19 か L858R 変異であり，特定の変異に的を絞った検索が行われてきた．EGFR-TKI 投与前の初回検査において検索対象となる変異は，IVD 法を用いる場合，主要な Del 19，L858R 変異，T790M 変異の他，稀な G719X 変異，L861Q 変異，エクソン 20 挿入変異，S768I 変異が対象となる．IVD 法によって検索可能な稀な変異のうち，G719X 変異，L861Q 変異，S768I 変異はアファチニブに対し感受性を示すことが，LUX-Lung 2，Lung 3，Lung 6 の統合解析で示された [44]．またエクソン 20 挿入変異は，第一および第二世代の EGFR-TKI に対し効果が乏しいことが報告されている [37,38,40-44]．

2-1-2．EGFR-TKI 治療耐性後の T790M 変異検査

第一および第二世代の EGFR-TKI が初回の EGFR-TKI として投与され，その後増悪した場合でオシメルチニブの投与を考慮する際には，増悪後の検体を用いて，T790M 変異陽性であることを確認する必要がある．EGFR-TKI 耐性になった NSCLC に対するオシメルチニブの第Ⅱ相国際共同試験（AURA2 試験）で実施された患者データに基づき，米国では 2015 年 11 月に，本邦では 2016 年 3 月に「コバス®EGFR 変異検出キット v2.0」がホルマリン固定

パラフィン包埋（formalin-fixed paraffin embedded；FFPE）組織検体から抽出したゲノム DNA を検査対象にオシメルチニブの CDx として承認された．FFPE 組織検体を用いた本法の承認申請データにおける他の IVD 法との検査結果の一致率は95.6%,NGS法との一致率は91.0%となっている．その後 2018 年 12 月に，「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」が，また 2019 年 10 月に「オンコマイン ™ Dx Target Test マルチ CDx システム」が，さらに 2021 年 3 月に「FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル」が，オシメルチニブの CDx として承認された．

なお，日本国内 30 施設における EGFR-TKI 耐性進行 NSCLC の再生検の実態を調査した多施設共同後ろ向き観察研究によると，再生検成功率（癌細胞が採取できた症例数/再生検症例数）は 79.5%（314 症例/395 症例）であった [195]．再生検時の検体採取部位は原発巣 55.7%，転移巣 30.6%で，転移巣を採取部位とする割合は初回診断時の 9.1%と比べ大きく増加していた．再生検の採取方法は，経気管支アプローチが 62.0%，経皮的アプローチが 29.1%で，経皮的アプローチは診断時の 7.6%から大幅に増加していた．採取部位と採取方法による成功率の差はみられず，再生検時の合併症は 5.8%で多くは気胸であった．一方で，国内 49 施設において 2017 年に EGFR-TKI 投与中に病勢増悪を認めた 236 例を対象に行われた前向き観察研究（REMEDY 試験）の結果，T790M 変異検査のための検体採取率は87%,T790M検査実施率は84%,T790M変異陽性率は 26%，T790M 変異陽性でオシメルチニブが使用された割合は 24%であった [196]．しかしながら，血漿検体が全体の 58%を占めていたために T790M 変異陽性率が低かった可能性も考えられる．

再生検の問題として，確定診断時の原発巣に比べ奏効後の原発巣は腫瘍が小さく，周囲が線維化しており，鉗子での組織採取が困難になることである．また CT 上は腫瘤陰影であっても活動性病変でないこともあり，可能であれば生検前に PET/CT を行い FDG 集積の強い部分を生検するなどの工夫が必要である．再発部位（新規病変）が末梢肺に生じた場合には，気管支鏡でのアプローチが困難になる．また，肺以外の臓器に再発した際には，消化器内科，整形外科や脳神経外科など他科との連携が必要になる．特に再増悪部位が脳である場合は再生検が困難で，骨に関しては脱灰処理により遺伝子検査が困難になることもあるため，採取部位や脱灰方法にも工夫が必要である．脱灰方法については，EDTA 溶液を用いた処理が推奨され，強酸溶液などによる処理は避けるべきである [180]．

再生検からの組織検体に加えて，血中遊離 DNA（cell-free DNA; cfDNA）を対象とした検査（リキッドバイオプシー検査）では，主として血漿検体が用いられる（後述）．

2-2．血漿検査（リキッドバイオプシー検査）

リキッドバイオプシー検査は，患者の負担も少なく，組織検体採取困難な患者対しても比較的容易に検査できるため，様々ながん種の変異検査での利用に期待が高まっている．NSCLC 患者における血中 cfDNA を用いた *EGFR* 変異検査のメタアナリシスでは，組織検体の結果を参考基準とした場合，cfDNA 検体の特異性は 0.96，感度は 0.62 と報告されている [197]．本メタアナリシスの解析対象となった 27 研究では，cfDNA の抽出に血漿と血清の両方が用いられているが，現在では血漿が推奨されている．血中 cfDNA 検体を用いる検査法は，高感度の BEAMing 法や droplet digital PCR 法を含め組織検体で使用されている方法が IVD 承認されていないが，臨床研究では広く使われている（表４）．

現在，本邦で薬事承認されているリキッドバイオプシーによる検査では，cfDNA を用いている．リキッドバイオプシー検査は，米国において 2016 年 6 月にエルロチニブの，また 9 月にオシメルチニブの CDx として「Cobas® EGFR Mutation Test v2」が FDA 承認を取得している．本邦においても，オシメルチニブの CDx として「コバス® EGFR 変異検出キット v2.0」による T790M 変異検査が 2016 年 12 月に承認された．また，ゲフィチニブ，エルロチニブ，アファチニブに対する EGFR-TKI 投与前の初回検査は 2017 年 8 月に承認さている．2018 年 7 月からは，オシメルチニブの EGFR-TKI 投与前の初回検査に対しても薬事承認・保険適用された．その後 2020 年 7 月には，「EGFR リキッド遺伝子解析ソフトウェア」が，癌組織または血漿を用いたゲフィチニブ，エルロチニブおよびアファチニブの CDx として承認を得た（「EGFR リキ

表 5. コバス®EGFR 変異検出キット v2.0 の感度（最小検出感度）

EGFR変異型	Sheared* cell line DNA (コピー/ml)
G719X (G719A)	100
エクソン19欠失	75
S768I	25
T790M	100
エクソン20挿入	25
L858R	100
L861Q	30

コバス®EGFR 変異検出キット v2.0 の添付文書より引用
*約 220 bp に断片化，バックグラウンドとして野生型 DNA を約 100,000 コピー/mL を含む.

ッド遺伝子解析ソフトウェア」は 2024 年 9 月に供給停止）．また，2021 年 3 月には，324 のがん関連遺伝子を対象とした包括的がんゲノムプロファイリング（CGP）と，複数の分子標的治療薬に対する CDx の 2 つの機能を併せ持つリキッドバイオプシー検査として，「FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル」が承認された．また，「Guardant360® CDx がん遺伝子パネル」は 74 がん遺伝子を解析する包括的がんゲノムプロファイリング検査として 2022 年 3 月に承認されていたが，2024 年 8 月に EGFR 遺伝子エクソン 20 挿入変異を有する手術不能または再発の非小細胞肺がん（NSCLC）患者に対するアミバンタマブ（遺伝子組換え）と化学療法の併用療法の適応判定を補助するコンパニオン診断として承認された.

血漿検査では，使用する検出法の検出感度の把握が重要となる．「コバス® EGFR 変異検出キット v2.0」を用いた血漿検査における最小検出感度については，同キットの添付文書にデータが示されている（表 5）．血漿検体へ約 220 bp に断片化した細胞株 DNA をスパイクインした際の野生型 DNA 約 100,000 コピー/mL 中における変異型 DNA の検出限界（コピー数）が記載されており，最低で 100 コピー（25～100）とされている．ここから各バリアントの最小検出感度を計算すると，0.025%（S768I およびエクソン 20 挿入）-0.1%（L858R および T790M）となることから，血漿検体を用いた際の最小検出感度は 0.1%

表 6. ENSURE 試験に登録された NSCLC 患者の *EGFR* 遺伝子変異（エクソン 19 欠失変異と L858R 変異）における血漿検査（コバス®EGFR 変異検出キット v2.0）と FFPE 組織検体検査（コバス®EGFR 変異検出キット v1.0）との一致率

エクソン19欠失変異およびL858R変異		コバス®EGFR変異検出キットv1.0 (FFPE組織検体)		
		陽性	陰性	合計
コバス®EGFR変異検出キットv2.0 (血漿検体)	陽性	161	4	165
	陰性	49	217	266
	合計	210	221	431
陽性一致率 76.7% (161/210) 陰性一致率 98.2% (217/221) 全体一致率 87.7% (378/431)				

「cobas®EGFR Mutation Test v2」米国 FDA Summary of Safety and Effectiveness Data (SSED) より

程度と考えられる．なお，表 4 に *EGFR* 変異の検出法とその特性が記載したが，本記載は組織検体を用いた場合の感度である.

2-2-1．EGFR-TKI 投与前の初回リキッドバイオプシー検査

リキッドバイオプシー検査による初回 *EGFR* 変異検査の承認は，ⅢB/Ⅳ期 NSCLC の第一選択薬としてエルロチニブとシスプラチン＋ゲムシタビンの有効性と安全性を評価するための多施設オープンラベル無作為化第Ⅲ相試験（ENSURE 試験）[198] に基づいている．「コバス® EGFR 変異検出キット v2.0」による組織での検査を規準とした場合の陽性一致率（感度）は 76.7%にとどまるが，陰性一致率（特異度）は 98.2%と極めて高いため（表 6），この検査で陽性である場合は組織での *EGFR* 変異が陽性とほぼ同等の EGFR-TKI の奏効が期待できるといえる．なお，「コバス® EGFR 変異検出キット v2.0」は，NSCLC と病理組織診断または細胞診断された患者において，何らかの理由で組織検体や細胞検体を用いて *EGFR* 変異検査を実施できない場合に血漿検体を用いて検査することを目的としている．また，*EGFR* 変異が血漿検体中に検出されない患者は，偽陰性（組織検査において変異陽性であって血漿検査で変異が検出されないこと）の可能性が少なくないことを考慮して，再生検の可能性について検討し，採取可能となれば組織検体や細胞検体で *EGFR* 変異検査を行うことが推奨される.

2-2-2. EGFR-TKI 治療耐性後の二次的 T790M 変異検査

T790M 変異は EGFR-TKI に対する耐性獲得の過程で出現することが多く，T790M 変異陽性の腫瘍細胞数は耐性獲得後，臨床経過とともに増加することも知られている．それにつれて，血液中の腫瘍細胞由来漏出 DNA が出現・増加し，血漿検査による T790M 変異の検出率が上昇する．したがって，同一患者において最初の血漿検査で T790M 変異が検出されない場合でも，tumor burden の増加に伴って，後日再度の血漿検査で T790M 変異が検出される場合がある．EGFR-TKI に対する耐性獲得後に臨床経過とともに T790M 変異血漿検査の陽性率も上昇することが報告されている [199,200]．検査結果が血漿検査の時期に大きく依存することが示されているが，最適な血漿検査の時期については未だ明らかな知見はない．

オシメルチニブの第Ⅱ相国際共同試験（AURA2 試験）に登録された NSCLC 患者の検体のうち，T790M 変異検出における血漿検体（コバス® EGFR 変異検出キット v2.0）と FFPE 組織検体（コバス® EGFR 変異検出キット v1.0）間，および血漿検体を用いた NGS 法とコバス® EGFR 変異検出キット v2.0 間の一致率解析結果を示す（表 7）．「コバス® EGFR 変異検出キット v2.0」における血漿検査と組織検査の全体一致率は 65.9%であったが，血漿を検体とし「コバス® EGFR 変異検出キット v2.0」と NGS 法による一致率を評価したところ，全体一致率は 91.3%であった．

オシメルチニブの第 I 相試験（AURA I 試験）で使用された検査検体の後ろ向き解析では，血漿検体および組織検体による T790M 変異陽性患者の ORR（63% vs. 62%）と PFS 中央値（9.7 カ月 vs. 9.7 カ月）の比較では，両者は同等であった．一方で，組織検体で T790M 変異陽性であった 158 例のうち，47 例（29.7%）が血漿検体での T790M 変異が陰性であり，その PFS は 16.5 カ月と，組織検体および血漿検体で T790M 変異陰性であった症例の 2.8 カ月よりかなり長かった [201]．

表 7. オシメルチニブ第Ⅱ相国際共同試験（AURA2）の患者検体での T790M 変異検出における血漿検体と各検査法との一致率

T790M変異		コバス®EGFR変異検出キットv1.0 (FFPE組織検体)	
		陽性	陰性
コバス®EGFR 変異検出キットv2.0 (血漿検体)	陽性	131	22
	陰性	92	89
陽性一致率 58.7% (131/223) 陰性一致率 80.2% (89/111) 全体一致率 65.9% (220/334)			
T790M変異		次世代シークエンス解析 (NGS法) (血漿検体)	
		陽性	陰性
コバス®EGFR 変異検出 キットv2.0 (血漿検体)	陽性	129	16
	陰性	12	163
陽性一致率 91.5% (129/141) 陰性一致率 91.1% (163/179) 全体一致率 91.3% (292/320)			

「コバス® EGFR 変異検出キット v2.0」 添付文書より引用

これらの試験では，組織検査により T790M 変異陽性であった患者に対して試験が行われたため，血漿検査で T790M 変異陽性であった患者集団に対するオシメルチニブの効果が検証されていない状況である．そのため，リキッドバイオプシー検査のみが実施され，T790M 変異陽性であった症例には，オシメルチニブ奏効性に関するデータが十分でないといえる．したがって，本邦では現時点において，組織採取が難しいときに限りリキッドバイオプシー検査を行うことを推奨している．また，リキッドバイオプシー検査において変異陰性であった場合は，腫瘍由来 DNA が血漿中に十分に漏出していないことを考慮して，再生検の可能性について検討すべきである．病勢の進行などによって組織採取が可能になった時点において，組織検体を用いて T790M 変異検査を行い，その有無を確認することが推奨される．なお Oxnard らは，二次的 T790M 変異検査では，最初の検査を血漿検体で行い，T790M 変異陰性患者に対し再生検された組織・細胞検体を用いる検査アルゴリズムを提案している [201]．また，2016 年 9 月に改訂されたオシメルチニブの米国添付文書や IASLC の合意声明においては，再生検の可否を先行検討し，困難な場

合について血漿検体による二次的 T790M 変異検査を実施する検査アルゴリズムを推奨している [175]．本邦でも，血漿検体を用いた T790M 変異検査がオシメルチブの効果予測因子となることが，臨床試験（WJOG8815L）で示されている [202].

３．対象となる検体とその適正性について

本検査では，様々な臨床検体が検査対象となりうるが，検査センターへ提出される割合は，主として FFPE 組織検体と細胞検体（胸水，気管支擦過細胞，気管支洗浄液など）が多い. IVD 法では FFPE 組織検体での検査が原則となっているが，臨床上，細胞検体が積極的に用いられてきた [203,204]．腫瘍部の新鮮凍結検体の利用も可能であるが，検体の選択には，その特徴をよく理解することが重要である. 上記の検査方法によって感度が異なるのと同様に，対象となる検体や採取によって腫瘍細胞の存在確認の方法や許容腫瘍細胞割合が異なるため，注意が必要である [204-206].

３-１．組織・細胞検体

EGFR 変異検査の陰性判定は，検体の適正性について十分に評価された場合にのみ可能となる．検体の適正性は，腫瘍細胞の割合，DNA の質および量に基づいて評価される必要がある. 評価に際しては，*EGFR* 変異検査の感度（必要となる腫瘍細胞の割合）および必要最少の DNA 量が明示されている必要があり，外注先を含む検査担当部門はその情報を提供しなければならない. *EGFR* 変異検査法として標準的に使用されている IVD 法や主要な LDT 法の検出感度は，概ね 1-5%（%変異 DNA）となっている（表４）. CDx 承認 IVD 法では，単一遺伝子検査法の場合は，腫瘍細胞含有割合は 20%以上が推奨され，NGS を用いたマルチプレックス検査法（オンコマイン ™ Dx Target Test マルチ CDx システム）の場合は，日常診療上の病理医間の目視評価差を考慮し，30%以上（検出感度上は最低 20%以上）が推奨されており，これに満たない場合，FFPE 組織検体などではマクロダイセクション（用手的に行うマイクロダイセクション）の実施が必要となる．これらの判断は病理医が行うのが通例であり，密接な連携･関与が必要となる. *EGFR* 変異検査を外注検査として行う場合には，適正な検体を提出することが提出する側の責任であることを十分に留意する必要がある.

３-１-１．FFPE 組織検体

薄切した組織切片はスライドガラスにマウントさせて提出する．5-10 枚の未染色標本を作製し，そのうちの 1 枚を HE 染色し腫瘍細胞の存在を確認することが推奨される. 特に微小な生検検体では，病理診断の後に再薄切した場合には，腫瘍部分あるいは組織そのものがなくなってしまうことがあるので注意を要する. あらかじめ *EGFR* 変異検査を行う予定の場合は未染色標本作製時に遺伝子変異検査用標本を余分に作製しておくことも有用である [207]. 検体中の腫瘍細胞の存在状態は様々であるため，病理診断報告書に腫瘍量や腫瘍含有割合を記録しておくことが推奨される．またマクロダイセクションを実施した場合は，その旨と実施後の腫瘍量や腫瘍含有割合を記録することが推奨される．検査センターへ外注する場合，検査に供した検体の HE 標本（マクロダイセクションを行う際に腫瘍部のマーキングを行った HE 染色標本）は，可能な限り検査後にも再確認できるようにしておく. ホルマリン固定には，10%中性緩衝ホルマリン液が標準的に用いられており，固定時間は 6-48 時間が推奨されている [180,208]. FFPE 組織検体における取り扱いについては，日本病理学会から発出されている「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」[209] を参照されたい.

３-１-２．FFPE 細胞検体（セルブロック検体）

免疫組織化学染色（IHC）法や FISH 法を用いる ALK 検査が開始されて以降，胸水などの細胞検体からのセルブロックの検査使用の重要性が増した. セルブロックでの保管により，FFPE 組織検体同様，CDx や鑑別診断などを目的とした IHC 法や FISH 法による解析が繰り返し可能となる．また，腫瘍細胞の含有割合の確認も容易となる．セルブロック作製法は複数知られており，遠心分離細胞収集法と細胞固化法に大別される．本邦ではそれぞれ 4-5 種程度の作製法が用いられていることが，これまでの調査研究で明らかとなっているが，前者では遠心管法が，後者ではアルギン酸ナトリウム法が，比較的多くの施設で用いられている（アルギン酸ナトリウム法については肺癌患者にお

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 4-2. ALK」を参照）.

3-1-3. 細胞検体

呼吸器領域における細胞診では,以下のような複数の方法による検体採取が行われている. 一部を除き, 細胞検体の核酸品質は, FFPE 組織検体やセルブロック検体に比べ良好であり, 2018 年の CAP/IASLC/AMP のアップデート遺伝子検査ガイドラインでも,その使用を推奨している[183]. しかし, 検査に必要な腫瘍細胞量や腫瘍含有割合を得ることが難しい場合も少なくなく, *EGFR* 変異検査に使用する場合は, 検体の特性を踏まえた対応が必要となる.

a) 胸水・心嚢液：これらの検体は, 時として腫瘍細胞数が乏しい場合があり, 腫瘍細胞の確認が必須である. 上述のセルブロックの作製も考慮すべきである.

b) 経気管支擦過細胞・経気管支穿刺吸引細胞・リンパ節穿刺吸引細胞：これらの検体では, 適切に腫瘍から採取されれば腫瘍細胞に富んだ検体の採取が可能である. スメア標本からの DNA 抽出も可能であるが, 腫瘍細胞の存在の確認が必須である.

c) 喀痰・吸引痰・気管支洗浄液（BAL）：正常細胞が混入することが多く,腫瘍細胞に富んだ検体を採取することが比較的困難な検体であり, あまり推奨されない. 喀痰での変異の検出率は *EGFR* 変異を有する腫瘍をもつ患者の 30-50%にとどまるとの報告もある[210].

3-1-4. 新鮮凍結検体

最も高品質の DNA や RNA を抽出可能であるが, 同時に DNase や RNase の酵素活性も保持されており, 検体の取扱いを迅速に行わなければ,核酸品質を急速に低下させるおそれがあるため, 注意を要する. 手術室などで割を入れ採取する場合も多いが,腫瘍細胞含有量を顕微鏡的に確認する必要がある. 周囲の炎症が強い腫瘍, 粘液産生が高度な腫瘍, 中心部線維化巣が広範な腫瘍では, 腫瘍細胞が採取されず偽陰性になることがある. 腫瘍細胞を確認する手段としては以下の方法がある：①凍結腫瘍組織を薄切し, HE 標本を作製し, その標本で腫瘍細胞の存在および占有割合を確認する. ②採取時に割を入れその片割れを凍結組織とし, 残りの割面で組織標本を作製し確認する.

3-2. 血漿検体

リキッドバイオプシー検査では,血漿中に遊離している DNA 断片から *EGFR* 変異を検出する. 血漿検体は組織検体と異なり, 腫瘍細胞の割合や DNA の質, 量に基づいて評価できないため, 血液採取, 血漿の分離, 血漿検体の保管に至るプレアナリシスの段階において適切に扱われた検体を使用するべきである. 特に採血後の検体を長時間室温で放置すると, 血球成分の崩壊や DNA の分解の原因につながる. また, 血漿成分を分離する際に血球成分が混入すると, 有核細胞由来のゲノム DNA が原因で, 偽陰性となる可能性があることは注意しなければならない. IVD 法では,EDTA-2K の採血管を使用した場合,血漿の分離は, 採血後 8 時間以内安定である. 血漿分離後の血漿検体は, 15-30℃で 1 日間, 2-8℃で 3 日間, −25-−15℃で 12 カ月, そして−70℃以下の場合は 12 カ月保管可能である. また, ASCO と CAP は合同で, 血漿検体に対する取り扱いについてレビューをしている〔Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology (ASCO) and College of American Pathologists (CAP) Joint Review〕[211,212].

4. EGFR 遺伝子変異のコンパニオン診断薬（CDx）の横断的使用に関する指針

4-1. 背景

非小細胞肺癌（NSCLC）においては, 数多くのドライバー遺伝子変異が同定され, その阻害薬の開発は現在も活発に行われている. 特定の医薬品の有効性や安全性を高めるために, 使用対象患者が該当するかどうかを確認することを目的として, 医薬品毎に設定されている診断薬をコンパニオン診断薬（CDx）と呼ぶ. 原則として, CDx は個々の医薬品に対応して開発・承認されてきたが, 治療選択肢の多様化に伴い, CDx の多様化も進み, CDx によって治療選択肢が限定されるという問題が顕在化してきている. この問題を解決するために, 肺癌学会から EGFR 遺伝子変異陽性肺癌に使用される CDx を横断的に使用することが

提案され，科学的な評価を経てその妥当性の検証が試みられている．

4-2．*EGFR* 遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌に対する CDx と対象医薬品の現状

2024 年時点において EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌患者に対しては，ゲフィチニブ，エルロチニブ，アファチニブ，ダコミチニブ，オシメルチニブ（以下，「EGFR 分子標的薬」という）が承認されており，それぞれに CDx が指定されている．EGFR 分子標的薬には，それぞれ効能や副作用に特徴があり，検出された遺伝子変異に応じて使用する EGFR 分子標的薬が選択されることから，EGFR 分子標的薬を選定する前に CDx が使用されるのが一般的である．しかしながら，EGFR 遺伝子変異を検出するために使用した CDx が，当該患者において適切と考えられる EGFR 分子標的薬に対応していない場合，保険診療上は当該分子標的薬が使用できず，患者が適切な治療を受けられないことが実臨床上の課題となっている．

4-3．*EGFR* 遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌に対する医薬品横断的 CDx の提案

「医薬品横断的なコンパニオン診断を目的とする体外診断用医薬品等の取扱いについて」（令和 4 年 3 月 31 日付け薬生薬審発 0331 第 1 号，薬生機審発 0331 第 1 号，薬生安発 0331 第 1 号）（以下「横断化通知」という）において，以下の要件（1）から（3）に該当することが，医薬品横断的 CDx として扱う条件として示されている．

要件（1）　適応対象（対象とする疾患（悪性腫瘍の場合にはがん種），バイオマーカー及び検査対象とする検体種）が同一となる CDx が複数承認されていること．
要件（2）　いずれの CDx も互いに異なる医薬品の適応判定の補助を目的として承認されていること．
要件（3）　いずれの CDx の検査結果も互いに異なる医薬品の適応判定の補助に際して，科学的に妥当と判断される範囲で互換使用できること．

表 8 に示す診断薬とそれに対応する EGFR 分子標的薬は上記要件を満たすことが確認され，肺癌学会から非小細胞肺癌組織における EGFR 遺伝子変異を検出する CDx について，横断的に使用することが提案された．血漿検体を使用する CDx も存在しているが，血漿検体と組織検体それぞれを使用する CDx の相関性試験成績の解釈は容易でないため，今回の横断的 CDx 検討の対象からは除外された．また，EGFR エクソン 20 挿入変異については，各製品間における分析学的同等性が十分に評価されていないことから，今回の横断的 CDx 検討からは除外された．

表 10 に横断的 CDx 候補製品と対応する EGFR 分子標的薬の組み合わせを示す．バイオマーカーおよび検査対象とする検体種が同一となる CDx が複数承認されており，いずれの CDx も互いに異なる医薬品の適応判定の補助を目的として承認されていることから要件（1）および（2）を満たすことが確認された．

表 8．横断的 CDx の対象となる候補製品

	製品名	製造販売業者	承認番号
1	コバス EGFR変異検出キット v2.0	ロシュ・ダイアグノスティックス	22800EZX00011000
2	オンコマイン Dx Target Test マルチCDxシステム	ライフテクノロジーズジャパン	23000BZX00089000
3	therascreen EGFR変異検出キット RGQ「キアゲン」	キアゲン	22300AMX01256000
4	FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル	中外製薬	23000BZX00403000
5	EGFRリキッド遺伝子解析ソフトウェア	DNAチップ研究所	30200BZX00249000
6	AmoyDx肺癌マルチ遺伝子PCRパネル	理研ジェネシス	30300EZX00076000
7	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	DNAチップ研究所	30400BZX00263000

※血漿検体を用いる CDx は横断的使用の対象外とする．

表 9．各候補製品と対応する EGFR 分子標的薬の組み合わせ

	ゲフィチニブ	エルロチニブ塩酸塩	アファチニブマレイン酸塩	オシメルチニブメシル酸塩	ダコミチニブ水和物	ラゼルチニブメシル酸塩水和物+アミバンタマブ
製品1	○	○	○	○	○	○
製品2	○	○	○	○	○	×
製品3	○	○	○	×	○	×
製品4	○	○	○	○	○	×
製品5	○	○	○	×	×	×
製品6	○	○	○	○	×	×
製品7	○	○	○	○	×	×

各診断薬の添付文書において公表されている承認薬剤（表 9 参照）に基づき評価された各製品間の同等性についての検討を表 10 に示す．ここに示すとおり，いずれの CDx の検査結果も互いに異なる医薬品の適応判定の補助に際して，科学的に妥当と判断される範囲にて互換使用できることが確認された．

表 10. 各製品の添付文書に記載された相関性試験成績

	対照法	検体数	陽性一致率	陰性一致率
製品1	A社 リアルタイムPCR法*1	118	100%	98%
	B社 リアルタイムPCR法*1	118	100%	100%
	コバスEGFR遺伝子変異キット*2	369	96.60%	96.30%
	NGS法	368	88.30%	97.30%
製品2	リアルタイムPCR法-1*3	119	100%	95.20%
	リアルタイムPCR法-2*4	193	98.60%	99.20%
製品3	サンガー法	360	99.40%	86.60%
	前世代品	192	97.09%	97.75%
製品4	既承認品A（PCR法）*5	262	98.10%	99.40%
	既承認品A（PCR法）及び既承認品B（PCR法）*6	129	97.20%	100%
	既承認品A（PCR法）及び既承認品C（PCR法）*7	196	98.90%	86.10%
製品5	PNA-LNA PCRクランプ法*8	156	88.20%	100%
製品6	A社PCR検査キット*9	226	99.40%	96.60%
	B社NGS検査	334	100%	98.50%
製品7	既承認体外診断用医薬品（PCR法）*10	150	100%	90.90%

*1 初回承認後,対象となる医薬品にダコミチニブ水和物が追加されていることから,A社又はB社のリアルタイムPCR法は製品3であると考えられる.

*2 製品1の前世代品.T790M変異のみを対象とした相関性試験.

*3 エクソン19欠失変異及びL858R変異を対象とした相関性試験.オシメルチニブメシル酸塩を含むCDxとして承認された根拠となっていることから,対照法は製品1であると考えられる.

*4 ダコミチニブ水和物のCDxとして承認された根拠となっていることから,対照法は製品3あると考えられる.

*5 エクソン19欠失変異及びL858R変異を対象とした相関性試験.オシメルチニブメシル酸塩を含むCDxとして承認された根拠となっていることから,対照法は製品1であると考えられる.

*6 エクソン19欠失変異及びL858R変異を対象とした相関性試験.ダコミチニブ水和物のCDxとして承認された根拠となっていることから,既承認品A又はBは製品3であると考えられる.

*7 T790M変異を対象とした相関性試験.オシメルチニブメシル酸塩を含むCDxとして承認された根拠となっていることから,既承認品A又はCは製品1又はコバスEGFR遺伝子変異キットのいずれかであると考えられる.

*8 エクソン19欠失変異及びL858R変異を対象とした相関性試験.

*9 オシメルチニブメシル酸塩を含むCDxとして承認された根拠となっていることから,対照法は製品1であると考えられる.

*10 添付文書に記載された文献[1]では製品1であることが記載されている.

4-4. 横断的 CDx における注意点

4-4-1. 検出対象となる遺伝子変異の違いについて

今回検討した各製品では，検出可能な変異の範囲が異なるため，使用時には製品ごとの特性を十分に理解する必要がある．特に，uncommon mutation に分類される G719X 変異，S768I 変異，L861Q 変異，E709X 変異，およびその他の一部の稀な変異が検出できないなどの差異が認められている．検出可能な遺伝子変異については，付表を確認のうえで行うことが推奨される．T790M 変異については，製品 5 以外で検出可能だが，同等性試験成績およびその他の文献においても，T790M 変異に絞った検出性能の同等性が評価されているケースは少なく，すべての製品間での同等性は評価されていない．ただし，T790M 変異は一塩基置換であり，L858R 変異などの他の一塩基置換における検出性能の同等性が示されていることから，最小検出感度などに注意を払うことで横断的 CDx に含めることは妥当と考えられる．

4-4-2. 最小検出感度について

各製品ごとに最小検出感度が異なるため，特性を十分に理解して使用することが適切である．代表的な EGFR 遺伝子変異における，各製品の添付文書において公表されている最小検出感度は表 11 のとおりである．表 11 の結果を踏まえると，特に欠失変異については製品間で最小検出感度が異なること，T790M 変異の有無を検討する場合，

表 11. 各製品の添付文書に記載された最小検出感度

	試験検体	L858R変異	エクソン19欠失変異	T790M変異
製品1	FFPE組織検体	3.96 ~ 5.32%	1.39 ~ 2.53%	2.04 ~ 3.03%
製品2	非小細胞肺癌検体	5.30%	4.40%	5.70%
製品3	細胞株，プラスミドおよび臨床検体	5.94%（細胞株）	0.14 ~ 16.87%（変異ごとに検体種が異なる）	9.72%（細胞株）
製品4	記載なし	2.40%	5.10%	2.50%
製品5	記載なし*1			検出対象外
製品6	感度試験用管理物質	1%	1%	2%
製品7	記載なし	記載なし	記載なし	記載なし

*1 添付文書の使用上の注意において，組織検体で 5%未満のアレル頻度のエクソン 19 欠失変異および L858R 変異を検出するため，対象となる医薬品の臨床試験において有効性および安全性が評価されていない集団も陽性となる可能性がある旨の注意喚起が記載されている．

臨床試験に紐づく製品 1 の最小検出感度を参考に製品を選択する必要があることに留意する必要がある．

4-4-3. 不一致例について

検出対象となる変異の違いや検体の腫瘍細胞含有割合，最小検出感度の関係などにより，製品間で不一致例が生じる可能性がある．治療方針を決定するにあたり極めて重要な事案であるが，それぞれの検査法での検出原理や特徴が異なるため，不可避の現象であると考えられる．不一致例が認められた場合には，検査結果の信頼性を確保するために，がん遺伝子パネル検査などの他の検査方法も考慮することが推奨される．

４-５．重要な基本的注意事項のまとめ

【使用目的】

がん組織から抽出した DNA 中の EGFR 遺伝子変異の検出（EGFR に対する分子標的薬の非小細胞肺癌患者への適応を判定するための補助に用いる）

【重要な基本的注意】

・本品による EGFR 検査の実施に際しては関連学会のガイドラインなどを参照すること.

・本品による EGFR に対する分子標的薬の適応判定の補助においては, 横断化に係る報告書の内容を熟知, 理解した上で使用すること. また横断化に係る報告書および横断的 CDx により適応判定が可能な医薬品の情報については, 以下のウェブサイトから入手可能である.

（ https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/cross-sectional-project/0013.html）

・（製品 3 のみ）EFGR 遺伝子 T790M 変異の検出感度がオシメルチニブメシル酸塩の臨床試験における組入れ検査より低いことから, 偽陰性となる可能性があることに留意すること.

5. 薬事承認および保険診療の観点からみた本検査のあり方

EGFR-TKI 投与前の初回検査については, 2011 年 9 月にゲフィチニブの添付文書改訂で *EGFR* 変異陽性が適応条件となったことを受け, 2012 年 4 月の診療報酬改定で 2,000 点が 2,100 点に引き上げられ，このとき患者 1 人につき 1 回のみとする制限が撤廃された. 2012 年 9 月には「therascreen® EGFR 変異検出キット」が *EGFR* 変異検査として初めて IVD として承認され, これにあわせ IVD 承認されたリアルタイム PCR 法については 2,500 点が算定可能となった．一方で，EGFR-TKI 耐性患者の T790M 変異検査については，2016 年 3 月にオシメルチニブの CDx として，「コバス®EGFR 変異検出キット v2.0」が IVD 承認されたことを受け，翌 4 月より 2,500 点での算定が可能となった. *EGFR* 変異検査については, 再発や増悪により二次的遺伝子変異などが疑われ, 再度治療法を選択する必要がある場合にも算定できる.

５-１．T790M 血漿検査の検査回数について

前述した通り, 血漿検査の場合, 検査結果が検査を行ったタイミングに大きく依存することが考えられているが, 最適な血漿検査の時期については未だ知見はない. 最適な血漿検査時期を推奨できない現時点においては, 過度に検査回数を制限することは，血漿検査の偽陰性を招いて，T790M 変異陽性患者のオシメルチニブ治療の機会を喪失することが強く懸念される．さらに，肺癌患者の EGFR-TKI 治療および化学療法の臨床経過において奏効と増悪を繰り返すことに伴って，T790M 変異陽性細胞の出現状況（陽性または陰性）が動的に変化することも報告されている [200]. したがって, 患者の不利益を回避する観点から, 初回の T790M 変異血漿検査が陰性であっても, 病勢の進行などにより T790M 変異陽性が強く疑われる症例であって, 再生検が不可能であり, かつ再度治療選択を検討する必要がある場合などにおいては, 再度の T790M 変異血漿検査の実施が望ましいと考える．これまで血漿検査（D006-12）に対しては, 厳しい算定回数制限が設けられていたが，2020 年 4 月の診療報酬改定においては，「肺癌の詳細な診断及び治療法を選択する場合, 又は肺癌の再発や増悪により, *EGFR* 遺伝子変異の二次的遺伝子変異等が疑われ, 再度治療法を選択する場合に, 患者 1 人につき, 診断及び治療法を選択する場合には 1 回, 再度治療法を選択する場合には 2 回に限り算定できる」とされ，回数が 2 回へと変更となり制限が緩和された.

５-２．同一月中の T790M 血漿検査・組織検査の実施について

血漿検査が優先される場合として, 組織検査の標的病巣部位が内科的に到達困難で手術などの侵襲的な手技が必要な場合もしくはまったく組織検査不能の場合や, 組織検査による出血，縦隔炎，呼吸不全，肺炎，気胸などのリスクを考慮した結果, 組織検査のリスクが高いと判断された場合が想定される. 以上のような場合において T790M 変異血漿検査が実施されるが, 結果が陰性の際には, 組織検

査合併症のリスクが高いことを承知のうえで気管支鏡生検，CT 下生検などによる組織採取に踏み切る例や侵襲を伴う全身麻酔下外科的手術（肺切除，縦隔鏡下切除，骨転移・病的骨折手術，転移性腫瘍切除など）により腫瘍組織を採取する例がある．このような症例においては，血漿検査から時間を置かずに組織採取ならびに組織検査を行う必要性から，同一月中に血漿検査と組織検査，双方の実施が必要となる場合がある．しかしながら，上述のように血漿検査の回数については，再度治療法を選択する場合には２回へと増回されたものの，同一月中に血漿検査および組織検査の双方が実施された場合は「主たるもののみ算定する」という制限が設けられているため，実施においては注意が必要である．

6. おわりに

実臨床において適正な *EGFR* 変異検査に基づいた治療選択がなされる目的で解説した．一方で，本邦においても，NGS を用いたマルチプレックス CDx およびがんゲノムプロファイリング検査が保険適用となり，クリニカルシークエンスが本格稼働した．さらに 2021 年８月には，血漿のマルチプレックス CDx も保険償還された．肺癌は他のがん種とは異なり，前者のマルチプレック CDx での臨床実施が主軸となっており，これまでの単一遺伝子検査からの移行が急速に進んでいる．一方で，この移行にあたっては，検体の核酸品質，患者の状態に対して検査にかかる時間（Turnaround time; TAT）などの課題が顕在化してきている．現在実施されている肺癌バイオマーカー検査の中で，変異陽性患者割合が最も高い *EGFR* 変異の検査については，特に進行・再発の NSCLC 患者で早急な治療開始が必要な場合は，その検査結果の把握は臨床上極めて重要となり，TAT を考慮した検査法選択が重要となる．また，従来の CDx はそれぞれの薬剤で開発され，実臨床では医薬品と一致しない CDx で検査が行われることもあり，その結果が保険診療の適用範囲外とされるケースが散見され，迅速な治療の妨げとなっていたが，今回の手引では CDx の横断的使用についても記述を行った．実臨床において保険診療の問題なく患者が最適な治療を選択できるようになることを期待する．

参考文献

1. 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 350:2129-39, 2004

2. Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al: EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. Science 304:1497-500, 2004

3. Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T, et al: EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. N Engl J Med 352:786-92, 2005

4. Pao W, Miller VA, Politi KA, et al: Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. PLoS Med 2:e73, 2005

5. Yarden Y, Sliwkowski MX: Untangling the ErbB signalling network. Nat Rev Mol Cell Biol 2:127-37, 2001

6. Hynes NE, Lane HA: ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. Nat Rev Cancer 5:341-54, 2005

7. Ciardiello F, Tortora G: EGFR antagonists in cancer treatment. N Engl J Med 358:1160-74, 2008

8. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, et al: Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. Crit Rev Oncol Hematol 19:183-232, 1995

9. Modjtahedi H, Dean C: The receptor for EGF and its ligands - expression, prognostic value and target for therapy in cancer (review). Int J Oncol 4:277-96, 1994

10. Kobayashi Y, Mitsudomi T: Not all epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer are created equal: Perspectives for individualized treatment strategy. Cancer Sci 107:1179-86, 2016

11. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, et al: Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. J Natl Cancer Inst 97:339-46, 2005

12. Mitsudomi T, Yatabe Y: Mutations of the epidermal growth factor receptor gene and related genes as determinants of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors sensitivity in lung cancer. Cancer Sci 98:1817-24, 2007

13. Dearden S, Stevens J, Wu YL, et al: Mutation incidence and coincidence in non small-cell lung cancer: meta-analyses by ethnicity and histology (mutMap). Ann Oncol 24:2371-6, 2013

14. Midha A, Dearden S, McCormack R: EGFR mutation incidence in non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology: a systematic review and global map by ethnicity (mutMapII). Am J Cancer Res 5:2892-911, 2015

15. Yatabe Y, Kosaka T, Takahashi T, et al: EGFR mutation is specific for terminal respiratory unit type adenocarcinoma. Am J Surg Pathol 29:633-9, 2005

16. Dong YJ, Cai YR, Zhou LJ, et al: Association between the histological subtype of lung adenocarcinoma, EGFR/KRAS mutation status and the ALK rearrangement according to the novel IASLC/ATS/ERS classification. Oncol Lett 11:2552-2558, 2016

17. Cross DA, Ashton SE, Ghiorghiu S, et al: AZD9291, an irreversible EGFR TKI, overcomes T790M-mediated resistance to EGFR inhibitors in lung cancer. Cancer Discov 4:1046-61, 2014

18. Takeda M, Okamoto I, Nakagawa K: Pooled safety analysis of EGFR-TKI treatment for EGFR mutation-positive non-small cell lung cancer. Lung Cancer 88:74-9, 2015

19. Janne PA, Yang JC, Kim DW, et al: AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. N Engl J Med 372:1689-99, 2015

20. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al: Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med 378:113-125, 2018

21. Suh CH, Park HS, Kim KW, et al: Pneumonitis in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with EGFR tyrosine kinase inhibitor: Meta-analysis of 153 cohorts with 15,713 patients: Meta-analysis of incidence and risk factors of EGFR-TKI pneumonitis in NSCLC. Lung Cancer 123:60-69, 2018

22. アストラゼネカ：タグリッソ使用成績調査　最終報告　結果報告. http://www.jsmo.or.jp/file/dl/newsj/2301.pdf, 2019

23. Noonan SA, Sachs PB, Camidge DR: Transient Asymptomatic Pulmonary Opacities Occurring during Osimertinib Treatment. J Thorac Oncol 11:2253-2258, 2016

24. Yun CH, Mengwasser KE, Toms AV, et al: The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP. Proc Natl Acad Sci U S A 105:2070-5, 2008

25. Kobayashi Y, Togashi Y, Yatabe Y, et al: EGFR exon 18 mutations in lung cancer: molecular predictors of augmented sensitivity to afatinib and neratinib as compared with first or third generation TKIs. Clin Cancer Res, 2015

26. Wu JY, Yu CJ, Chang YC, et al: Effectiveness of tyrosine kinase inhibitors on "uncommon" epidermal growth factor receptor mutations of unknown clinical significance in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 17:3812-21, 2011

27. Arcila ME, Nafa K, Chaft JE, et al: EGFR exon 20 insertion mutations in lung adenocarcinomas: prevalence, molecular heterogeneity, and clinicopathologic characteristics. Mol Cancer Ther 12:220-9, 2013

28. Shi Y, Au JS, Thongprasert S, et al: A prospective, molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology (PIONEER). J Thorac Oncol 9:154-62, 2014

29. Lee B, Lee T, Lee SH, et al: Clinicopathologic characteristics of EGFR, KRAS, and ALK alterations in 6,595 lung cancers. Oncotarget 7:23874-84, 2016

30. Sheng M, Wang F, Zhao Y, et al: Comparison of clinical outcomes of patients with non-small-cell lung cancer harbouring epidermal growth factor receptor exon 19 or exon 21 mutations after tyrosine kinase inhibitors treatment: a meta-analysis. Eur J Clin Pharmacol 72:1-11, 2016

31. Eck MJ, Yun CH: Structural and mechanistic underpinnings of the differential drug sensitivity of EGFR mutations in non-small cell lung cancer. Biochim Biophys Acta 1804:559-66, 2010

32. Carey KD, Garton AJ, Romero MS, et al: Kinetic analysis of epidermal growth factor receptor somatic mutant proteins shows increased sensitivity to the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, erlotinib. Cancer Res 66:8163-71, 2006

33. Cho J, Chen L, Sangji N, et al: Cetuximab response of lung cancer-derived EGF receptor mutants is associated with asymmetric dimerization. Cancer Res 73:6770-9, 2013

34. Okabe T, Okamoto I, Tamura K, et al: Differential constitutive activation of the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer cells bearing EGFR gene mutation and amplification. Cancer Res 67:2046-53, 2007

35. Oxnard GR, Lo PC, Nishino M, et al: Natural history and molecular characteristics of lung cancers harboring EGFR exon 20 insertions. J Thorac Oncol 8:179-84, 2013

36. Pan Y, Zhang Y, Li Y, et al: Prevalence, clinicopathologic characteristics, and molecular associations of EGFR exon 20 insertion mutations in East Asian patients with lung adenocarcinoma. Ann Surg Oncol 21 Suppl 4:S490-6, 2014

37. Beau-Faller M, Prim N, Ruppert AM, et al: Rare EGFR exon 18 and exon 20 mutations in non-small-cell lung cancer on 10 117 patients: a multicentre observational study by the French ERMETIC-IFCT network. Ann Oncol 25:126-31, 2014

38. 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 121:3212-20, 2015

39. Riess JW, Gandara DR, Frampton GM, et al: Diverse EGFR Exon 20 Insertions and Co-Occurring Molecular Alterations Identified by Comprehensive Genomic Profiling of NSCLC. J Thorac Oncol 13:1560-1568, 2018

40. Voon PJ, Tsui DW, Rosenfeld N, et al: EGFR exon 20 insertion A763-Y764insFQEA and response to erlotinib--Letter. Mol Cancer Ther 12:2614-5, 2013

41. Woo HS, Ahn HK, Lee HY, et al: Epidermal growth factor receptor (EGFR) exon 20 mutations in non-small-cell lung cancer and resistance to EGFR-tyrosine kinase inhibitors. Invest New Drugs 32:1311-5, 2014

42. Yasuda H, Park E, Yun CH, et al: Structural, biochemical, and clinical characterization of epidermal growth factor receptor (EGFR) exon 20 insertion mutations in lung cancer. Sci Transl Med 5:216ra177, 2013

43. Yasuda H, Kobayashi S, Costa DB: EGFR exon 20 insertion mutations in non-small-cell lung cancer: preclinical data and clinical implications. Lancet Oncol 13:e23-31, 2012

44. Lee CK, Wu YL, Ding PN, et al: Impact of Specific Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Mutations and Clinical Characteristics on Outcomes After Treatment With EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors Versus Chemotherapy in EGFR-Mutant Lung Cancer: A Meta-Analysis. J Clin Oncol 33:1958-65, 2015

45. Vasconcelos P, Gergis C, Viray H, et al: EGFR-A763_Y764insFQEA Is a Unique Exon 20 Insertion Mutation That Displays Sensitivity to Approved and In-Development Lung Cancer EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors. JTO Clin Res Rep 1, 2020

46. 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:Jco2100662, 2021

47. Zhou C, Tang KJ, Cho BC, et al: Amivantamab plus Chemotherapy in NSCLC with EGFR Exon 20 Insertions. N Engl J Med. 2023 Oct 21.

48. 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:JCO1900931, 2019

49. Kohsaka S, Nagano M, Ueno T, et al: A method of high-throughput functional evaluation of EGFR gene variants of unknown significance in cancer. Sci Transl Med 9:eaan6566 2017

50. Chen YR, Fu YN, Lin CH, et al: Distinctive activation patterns in constitutively active and gefitinib-sensitive EGFR mutants. Oncogene 25:1205-15, 2006

51. Yang TY, Tsai CR, Chen KC, et al: Good response to gefitinib in a lung adenocarcinoma harboring a heterozygous complex mutation of L833V and H835L in epidermal growth factor receptor gene. J Clin Oncol 29:e468-9, 2011

52. 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 25:1545-52, 2007

53. 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 22:777-84, 2004

54. 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 22:785-94, 2004

55. 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 23:5892-9, 2005

56. Thatcher N, Chang A, Parikh P, et al: Gefitinib plus best supportive care in previously treated patients with refractory advanced non-small-cell lung cancer: results from a randomised, placebo-controlled, multicentre study (Iressa Survival Evaluation in Lung Cancer). Lancet 366:1527-37, 2005

57. Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, et al: Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. N Engl J Med 353:123-32, 2005

58. Maruyama R, Nishiwaki Y, Tamura T, et al: Phase III study, V-15-32, of gefitinib versus docetaxel in previously treated Japanese patients with non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 26:4244-52, 2008

59. Kim ES, Hirsh V, Mok T, et al: Gefitinib versus docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer (INTEREST): a randomised phase III trial. Lancet 372:1809-18, 2008

60. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al: Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. N Engl J Med 361:947-57, 2009

61. Han JY, Park K, Kim SW, et al: First-SIGNAL: first-line single-agent iressa versus gemcitabine and cisplatin trial in never-smokers with adenocarcinoma of the lung. J Clin Oncol 30:1122-8, 2012

62. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al: Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. N Engl J Med 362:2380-8, 2010

63. 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 11:121-8, 2010

64. 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 12:735-42, 2011

65. 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 13:239-46, 2012

66. 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 31:3327-34, 2013

67. Wu YL, Zhou C, Hu CP, et al: Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. Lancet Oncol 15:213-22, 2014

68. 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 16:141-51, 2015

69. Kato T, Yoshioka H, Okamoto I, et al: Afatinib versus cisplatin plus pemetrexed in Japanese patients with advanced non-small cell lung cancer harboring activating EGFR mutations: Subgroup analysis of LUX-Lung 3. Cancer Sci 106:1202-11, 2015

70. Urata Y, Katakami N, Morita S, et al: Randomized Phase III Study Comparing Gefitinib With Erlotinib in Patients With Previously Treated Advanced Lung Adenocarcinoma: WJOG 5108L. J Clin Oncol 34:3248-57, 2016

71. 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 17:577-89, 2016

72. 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 28:270-277, 2017

73. 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 18:1454-1466, 2017

74. 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 36:2244-2250, 2018

75. 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:JCO2018783118, 2018

76. 日本肺癌学会ガイドライン検討委員会: 肺癌診療ガイドライン 2024 年版. https://www.haigan.gr.jp/guideline/2024/

77. Ramalingam SS, Gray JE, Ohe Y, et al: Osimertinib vs comparator EGFR-TKI as first-line treatment for EGFRm advanced NSCLC (FLAURA): Final overall survival analysis. Ann Oncol 30: v851-v934. , 2019

78. Seto T, Kato T, Nishio M, 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 15:1236-44, 2014

79. Yamamoto N, Seto T, Nishio M, et al: Erlotinib plus bevacizumab vs erlotinib monotherapy as first-line treatment for advanced EGFR mutation-positive non-squamous non-small-cell lung cancer: Survival follow-up results of the randomized JO25567 study. Lung Cancer 151:20-24, 2021

80. Ichihara E, Hotta K, Nogami N, et al: Phase II trial of gefitinib in combination with bevacizumab as first-line therapy for advanced non-small cell lung cancer with activating EGFR gene

mutations: the Okayama Lung Cancer Study Group Trial 1001. J Thorac Oncol 10:486-91, 2015

81. Cheng Y, Murakami H, Yang PC, et al: Randomized Phase II Trial of Gefitinib With and Without Pemetrexed as First-Line Therapy in Patients With Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer With Activating Epidermal Growth Factor Receptor Mutations. J Clin Oncol 34:3258-66, 2016

82. Sugawara S, Oizumi S, Minato K, 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: NEJ005/TCOG0902. Ann Oncol 26:888-94, 2015

83. Cortot AB, Madroszyk A, Giroux-Leprieur E, et al: First-Line Afatinib plus Cetuximab for EGFR-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer: Results from the Randomized Phase II IFCT-1503 ACE-Lung Study. Clin Cancer Res 27:4168-4176, 2021

84. Hosomi Y, Morita S, Sugawara S, et al: Gefitinib Alone Versus Gefitinib Plus Chemotherapy for Non-Small-Cell Lung Cancer With Mutated Epidermal Growth Factor Receptor: NEJ009 Study. J Clin Oncol 38:115-123, 2020

85. Saito H, Fukuhara T, Furuya N, et al: Erlotinib plus bevacizumab versus erlotinib alone in patients with EGFR-positive advanced non-squamous non-small-cell lung cancer (NEJ026): interim analysis of an open-label, randomised, multicentre, phase 3 trial. Lancet Oncol 20:625-635, 2019

86. Kawashima Y, Fukuhara T, Saito H, et al: Bevacizumab plus erlotinib versus erlotinib alone in Japanese patients with advanced, metastatic, EGFR-mutant non-small-cell lung cancer (NEJ026): overall survival analysis of an open-label, randomised, multicentre, phase 3 trial. Lancet Respir Med, 2021

87. Zhou Q, Xu CR, Cheng Y, et al: Bevacizumab plus erlotinib in Chinese patients with untreated, EGFR-mutated, advanced NSCLC (ARTEMIS-CTONG1509): A multicenter phase 3 study. Cancer Cell 39:1279-1291.e3, 2021

88. Nakagawa K, Garon EB, Seto T, et al: Ramucirumab plus erlotinib in patients with untreated, EGFR-mutated, advanced non-small-cell lung cancer (RELAY): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. Lancet Oncol 20:1655-1669, 2019

89. Nishio M, Nishio K, Reck M, et al: RELAY+: Exploratory study of ramucirumab plus gefitinib in untreated patients (pts) with epidermal growth factor receptor (EGFR)-mutated metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). Journal of Clinical Oncology 38:9564-9564, 2020

90. Planchard D, Jänne PA, Cheng Y, et al. Osimertinib with or without Chemotherapy in EGFR MutatedAdvanced NSCLC. N Engl J Med 389:1935-1948, 2023

91. Cho BC, Felip E, Spira AI, et al. LBA14 Amivantamab plus lazertinib vs osimertinib as first-line treatment in patients with EGFR-mutated, advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): Primary results from MARIPOSA, a phase III, global, randomized, controlled trial. Ann Oncol 34;Suppl 2:S1306, 2023

92. Wu YL, Tsuboi M, He J, et al: Osimertinib in Resected EGFR-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med 383:1711-1723, 2020

93. Tsuboi M, Herbst RS, John T, et al. Overall Survival with Osimertinib in Resected EGFR-Mutated NSCLC. N Engl J Med 389:137-147, 2023

94. Garassino MC, Martelli O, Broggini M, et al: Erlotinib versus docetaxel as second-line treatment of patients with advanced non-small-cell lung cancer and wild-type EGFR tumours (TAILOR): a randomised controlled trial. Lancet Oncol 14:981-8, 2013

95. Kawaguchi T, Ando M, Asami K, et al: Randomized phase III trial of erlotinib versus docetaxel as second- or third-line therapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer: Docetaxel and Erlotinib Lung Cancer Trial (DELTA). J Clin Oncol 32:1902-8, 2014

96. 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 19:2240-7, 2013

97. Campo M, Gerber D, Gainor JF, et al: Acquired Resistance to First-Line Afatinib and the Challenges of Prearranged Progression Biopsies. J Thorac Oncol 11:2022-2026, 2016

98. Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, et al: Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. Sci Transl Med 3:75ra26, 2011

99. Bean J, Brennan C, Shih JY, et al: MET amplification occurs with or without T790M mutations in EGFR mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib or erlotinib. Proc Natl Acad Sci U S A 104:20932-7, 2007

100. Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al: MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. Science 316:1039-43, 2007

101. Yano S, Wang W, Li Q, et al: Hepatocyte growth factor induces gefitinib resistance of lung adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor-activating mutations. Cancer Res 68:9479-87, 2008

102. Takezawa K, Pirazzoli V, Arcila ME, et al: HER2 Amplification: A Potential Mechanism of Acquired Resistance to EGFR Inhibition in EGFR-Mutant Lung Cancers That Lack the Second-Site EGFRT790M Mutation. Cancer Discov 2:922-933, 2012

103. Cheung HW, Du J, Boehm JS, et al: Amplification of CRKL induces transformation and epidermal growth factor receptor inhibitor resistance in human non-small cell lung cancers. Cancer Discov 1:608-25, 2011

104. Ohashi K, Sequist LV, Arcila ME, et al: Lung cancers with acquired resistance to EGFR inhibitors occasionally harbor BRAF gene mutations but lack mutations in KRAS, NRAS, or MEK1. Proc Natl Acad Sci U S A 109:E2127-33, 2012

105. Ercan D, Xu C, Yanagita M, et al: Reactivation of ERK signaling causes resistance to EGFR kinase inhibitors. Cancer Discov 2:934-47, 2012

106. Sos ML, Koker M, Weir BA, et al: PTEN loss contributes to erlotinib resistance in EGFR-mutant lung cancer by activation of Akt and EGFR. Cancer Res 69:3256-61, 2009

107. Yamamoto C, Basaki Y, Kawahara A, et al: Loss of PTEN expression by blocking nuclear translocation of EGR1 in gefitinib-resistant lung cancer cells harboring epidermal growth factor receptor-activating mutations. Cancer Res 70:8715-25, 2010

108. 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 35:3065-3074, 2017

109. Uramoto H, Iwata T, Onitsuka T, et al: Epithelial-mesenchymal transition in EGFR-TKI acquired resistant lung adenocarcinoma. Anticancer Res 30:2513-7, 2010

110. Shien K, Toyooka S, Yamamoto H, et al: Acquired Resistance to EGFR Inhibitors Is Associated with a Manifestation of Stem Cell-like Properties in Cancer Cells. Cancer Res 73:3051-61, 2013

111. Vazquez-Martin A, Cufi S, Oliveras-Ferraros C, et al: IGF-1R/epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) crosstalk suppresses the erlotinib-sensitizing effect of EGFR exon 19 deletion mutations. Sci Rep 3:2560, 2013

112. Hashida S, Yamamoto H, Shien K, et al: Acquisition of cancer stem cell-like properties in non-small cell lung cancer with acquired resistance to afatinib. Cancer Sci, 2015

113. Zhang Z, Lee JC, Lin L, et al: Activation of the AXL kinase causes resistance to EGFR-targeted therapy in lung cancer. Nat Genet 44:852-60, 2012

114. Huang S, Holzel M, Knijnenburg T, et al: MED12 Controls the Response to Multiple Cancer Drugs through Regulation of TGF-beta Receptor Signaling. Cell 151:937-50, 2012

115. Yao Z, Fenoglio S, Gao DC, et al: TGF-beta IL-6 axis mediates selective and adaptive mechanisms of resistance to molecular targeted therapy in lung cancer. Proc Natl Acad Sci U S A 107:15535-40, 2010

116. Miller VA, Hirsh V, Cadranel J, et al: Afatinib versus placebo for patients with advanced, metastatic non-small-cell lung cancer after failure of erlotinib, gefitinib, or both, and one or two lines of chemotherapy (LUX-Lung 1): a phase 2b/3 randomised trial. Lancet Oncol 13:528-38, 2012

117. Chmielecki J, Foo J, Oxnard GR, et al: Optimization of dosing for EGFR-mutant non-small cell lung cancer with evolutionary cancer modeling. Sci Transl Med 3:90ra59, 2011

118. Soria JC, Wu YL, Nakagawa K, et al: Gefitinib plus chemotherapy versus placebo plus chemotherapy in EGFR-mutation-positive non-small-cell lung cancer after progression on first-line gefitinib (IMPRESS): a phase 3 randomised trial. Lancet Oncol 16:990-8, 2015

119. Mok TSK, Kim SW, Wu YL, et al: Gefitinib Plus Chemotherapy Versus Chemotherapy in Epidermal Growth Factor Receptor Mutation-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer Resistant to First-Line Gefitinib (IMPRESS): Overall Survival and Biomarker Analyses. J Clin Oncol 35:4027-4034, 2017

120. Park K, Yu CJ, Kim SW, et al: First-Line Erlotinib Therapy Until and Beyond Response Evaluation Criteria in Solid Tumors Progression in Asian Patients With Epidermal Growth Factor Receptor Mutation-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer: The ASPIRATION Study. JAMA Oncol 2:305-12, 2016

121. Goto Y, Tanai C, Yoh K, et al: Continuing EGFR-TKI beyond radiological progression in patients with advanced or recurrent, EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: an observational study. ESMO Open 2:e000214, 2017

122. Park K, J-S L, Lee KH: BI 1482694(HM61713), an EGFR mutantspecific inhibitor, in T790M+ NSCLC; efficacy and safety at the RP2D. ASCO Meeting Abstracts 2016; 34(15_Sappl.):9055

123. Finlay MR, Anderton M, Ashton S, et al: Discovery of a potent and selective EGFR inhibitor (AZD9291) of both sensitizing and T790M resistance mutations that spares the wild type form of the receptor. J Med Chem 57:8249-67, 2014

124. Planchard D, Brown KH, Kim DW, et al: Osimertinib Western and Asian clinical pharmacokinetics in patients and healthy volunteers: implications for formulation, dose, and dosing frequency in pivotal clinical studies. Cancer Chemother Pharmacol 77:767-76, 2016

125. Yang JC, Ahn MJ, Kim DW, et al: Osimertinib in Pretreated T790M-Positive Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: AURA Study Phase II Extension Component. J Clin Oncol 35:1288-1296, 2017

126. Goss G, Tsai CM, Shepherd FA, et al: Osimertinib for pretreated EGFR Thr790Met-positive advanced non-small-cell lung cancer (AURA2): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 study. Lancet Oncol 17:1643-1652, 2016

127. Ahn MJ, Tsai CM, Shepherd FA, et al: Osimertinib in patients with T790M mutation-positive, advanced non-small cell lung cancer: Long-term follow-up from a pooled analysis of 2 phase 2 studies. Cancer 125:892-901, 2019

128. Mok TS, Wu YL, Ahn MJ, et al: Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. N Engl J Med 376:629-640, 2017

129. Fujita Y, Suda K, Kimura H, et al: Highly sensitive detection of EGFR T790M mutation using colony hybridization predicts favorable prognosis of patients with lung cancer harboring activating EGFR mutation. J Thorac Oncol 7:1640-4, 2012

130. Rosell R, Molina MA, Costa C, et al: Pretreatment EGFR T790M mutation and BRCA1 mRNA expression in erlotinib-treated advanced non-small-cell lung cancer patients with EGFR mutations. Clin Cancer Res 17:1160-8, 2011

131. Yu HA, Arcila ME, Hellmann MD, et al: Poor response to erlotinib in patients with tumors containing baseline EGFR T790M mutations found by routine clinical molecular testing. Ann Oncol 25:423-8, 2014

132. Ding D, Yu Y, Li Z, et al: The predictive role of pretreatment epidermal growth factor receptor T790M mutation on the progression-free survival of tyrosine-kinase inhibitor-treated non-small cell lung cancer patients: a meta-analysis. Onco Targets Ther 7:387-93, 2014

133. Costa C, Molina MA, Drozdowskyj A, et al: The impact of EGFR T790M mutations and BIM mRNA expression on outcome in patients with EGFR-mutant NSCLC treated with erlotinib or chemotherapy in the randomized phase III EURTAC trial. Clin Cancer Res 20:2001-10, 2014

134. Watanabe M, Kawaguchi T, Isa S, 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 21:3552-60, 2015

135. Zhao J, Feng HH, Zhao JY, et al: A sensitive and practical method to detect the T790M mutation in the epidermal growth factor receptor. Oncol Lett 11:2573-2579, 2016

136. Liu Y, Sun L, Xiong ZC, et al: Meta-analysis of the impact of de novo and acquired EGFR T790M mutations on the prognosis of patients with non-small cell lung cancer receiving EGFR-TKIs. Onco Targets Ther 10:2267-2279, 2017

137. Ramalingam SS, Yang JC, Lee CK, et al: Osimertinib As First-Line Treatment of EGFR Mutation-Positive Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. J Clin Oncol 36:841-849, 2018

138. Ramalingam SS, Vansteenkiste J, Planchard D, et al: Overall Survival with Osimertinib in Untreated, EGFR-Mutated Advanced NSCLC. N Engl J Med 382:41-50, 2020

139. Iuchi T, Shingyoji M, Itakura M, et al: Frequency of brain metastases in non-small-cell lung cancer, and their association with epidermal growth factor receptor mutations. Int J Clin Oncol 20:674-9, 2015

140. Porta R, Sanchez-Torres JM, Paz-Ares L, et al: Brain metastases from lung cancer responding to erlotinib: the importance of EGFR mutation. Eur Respir J 37:624-31, 2011

141. Schuler M, Wu YL, Hirsh V, et al: First-Line Afatinib versus Chemotherapy in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer and Common Epidermal Growth Factor Receptor Gene Mutations and Brain Metastases. J Thorac Oncol 11:380-90, 2016

142. Ballard P, Yates JW, Yang Z, et al: Preclinical Comparison of Osimertinib with Other EGFR-TKIs in EGFR-Mutant NSCLC Brain Metastases Models, and Early Evidence of Clinical Brain Metastases Activity. Clin Cancer Res 22:5130-5140, 2016

143. Wu YL, Ahn MJ, Garassino MC, et al: CNS Efficacy of Osimertinib in Patients With T790M-Positive Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Data From a Randomized Phase III Trial (AURA3). J Clin Oncol 36:2702-2709, 2018

144. Ahn MJ, Chiu CH, Cheng Y, et al: Osimertinib for patients with leptomeningeal metastases associated with epidermal growth factor receptor T790M positive advanced NSCLC: the AURA LM analysis. J Thorac Oncol, 2019

145. Yang JCH, Kim SW, Kim DW, et al: Osimertinib in Patients With Epidermal Growth Factor Receptor Mutation-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer and Leptomeningeal Metastases: The BLOOM Study. J Clin Oncol:JCO1900457, 2019

146. Thress KS, Paweletz CP, Felip E, et al: Acquired EGFR C797S mutation mediates resistance to AZD9291 in non-small cell lung cancer harboring EGFR T790M. Nat Med, 2015

147. Ercan D, Choi HG, Yun CH, et al: EGFR Mutations and Resistance to Irreversible Pyrimidine-Based EGFR Inhibitors. Clin Cancer Res 21:3913-23, 2015

148. Ou SI, Agarwal N, Ali SM: High MET amplification level as a resistance mechanism to osimertinib (AZD9291) in a patient that symptomatically responded to crizotinib treatment post-osimertinib progression. Lung Cancer 98:59-61, 2016

149. Planchard D, Loriot Y, Andre F, et al: EGFR-independent mechanisms of acquired resistance to AZD9291 in EGFR T790M-positive NSCLC patients. Ann Oncol 26:2073-8, 2015

150. Ho CC, Liao WY, Lin CA, et al: Acquired BRAF V600E Mutation as Resistant Mechanism after Treatment with Osimertinib. J Thorac Oncol 12:567-572, 2017

151. Bearz A, De Carlo E, Doliana R, et al: Acquired BRAF V600E Mutation as Resistant Mechanism after Treatment with Third-Generation EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor. J Thorac Oncol 12:e181-e182, 2017

152. Ahn S, Hwang SH, Han J, et al: Transformation to Small Cell Lung Cancer of Pulmonary Adenocarcinoma: Clinicopathologic Analysis of Six Cases. J Pathol Transl Med 50:258-63, 2016

153. Fu K, Xie F, Wang F, Fu L. Therapeutic strategies for EGFR-mutated non-small cell lung cancer patients with osimertinib resistance. J Hematol Oncol 15:173, 2022

154. 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 4:1527-1534, 2018

155. Chmielecki J, Gray JE, Cheng Y, et al: Candidate mechanisms of acquired resistance to first-line osimertinib in EGFR-mutated advanced non-small cell lung cancer. Nat Commun 14:1070, 2023

156. Lisberg A, Cummings A, Goldman JW, et al: A Phase II Study of Pembrolizumab in EGFR-Mutant, PD-L1+, Tyrosine Kinase Inhibitor Naive Patients With Advanced NSCLC. J Thorac Oncol 13:1138-1145, 2018

157. Lee CK, Man J, Lord S, et al: Checkpoint Inhibitors in Metastatic EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer-A Meta-Analysis. J Thorac Oncol 12:403-407, 2017

158. Liang H, Liu X, Wang M: Immunotherapy combined with epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer treatment. Onco Targets Ther 11:6189-6196, 2018

159. Reck M, Mok TSK, Nishio M, et al: Atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in non-small-cell lung cancer (IMpower150): key subgroup analyses of patients with EGFR mutations or baseline liver metastases in a randomised, open-label phase 3 trial. Lancet Respir Med 7:387-401, 2019

160. 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 17:309-323, 2022

161. Park S, Kim TM, Han JY, et al. A Phase 3, Randomized study of atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in patients with EGFR or ALK mutated in non-small cell lung cancer (ATTLAS, KCSG-LU19-04). J Clin Oncol 101200JCO2301891, 2023

162. Passaro A, Wang J, Wang Y, et al. Amivantamab plus chemotherapy with and without lazertinib in EGFR-mutant advanced NSCLC after disease progression on osimertinib: primary results from the phase III MARIPOSA-2 study. Ann Oncol S0923-7534(23)04281-3, 2023

163. Ishikawa N, Daigo Y, Takano A, et al: Increases of amphiregulin and transforming growth factor-alpha in serum as predictors of poor response to gefitinib among patients with advanced non-small cell lung cancers. Cancer Res 65:9176-84, 2005

164. Zhou BB, Peyton M, He B, et al: Targeting ADAM-mediated ligand cleavage to inhibit HER3 and EGFR pathways in non-small cell lung cancer. Cancer Cell 10:39-50, 2006

165. Cappuzzo F, Hirsch FR, Rossi E, et al: Epidermal growth factor receptor gene and protein and gefitinib sensitivity in non-small-cell lung cancer. J Natl Cancer Inst 97:643-55, 2005

166. Tsao MS, Sakurada A, Cutz JC, et al: Erlotinib in lung cancer - molecular and clinical predictors of outcome. N Engl J Med 353:133-44, 2005

167. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA, Jr., et al: Molecular predictors of outcome with gefitinib in a phase III placebo-controlled study in advanced non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 24:5034-42, 2006

168. Yatabe Y, Takahashi T, Mitsudomi T: Epidermal growth factor receptor gene amplification is acquired in association with tumor progression of EGFR-mutated lung cancer. Cancer Res 68:2106-11, 2008

169. 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 29:2866-74, 2011

170. Cappuzzo F, Varella-Garcia M, Shigematsu H, et al: Increased HER2 gene copy number is associated with response to gefitinib therapy in epidermal growth factor receptor-positive non-small-cell lung cancer patients. J Clin Oncol 23:5007-18, 2005

171. Engelman JA, Janne PA, Mermel C, et al: ErbB-3 mediates phosphoinositide 3-kinase activity in gefitinib-sensitive non-small cell lung cancer cell lines. Proc Natl Acad Sci U S A 102:3788-93, 2005

172. Kim Y, Lee B, Shim JH, et al. Concurrent Genetic Alterations Predict the Progression to Target Therapy in EGFR-Mutated Advanced NSCLC. J Thorac Oncol 14:193-202, 2019

173. Yu HA, Suzawa K, Jordan E, et al. Concurrent Alterations in EGFR-Mutant Lung Cancers Associated with Resistance to EGFR Kinase Inhibitors and Characterization of MTOR as a Mediator of Resistance. Clin Cancer Res 24:3108-3118, 2018

174. Blakely CM, Watkins TBK, Wu W, et al. Evolution and clinical impact of co-occurring genetic alterations in advanced-stage EGFR-mutant lung cancers. Nat Genet 49:1693-1704, 2017

175. Cappuzzo F, Magrini E, Ceresoli GL, et al: Akt phosphorylation and gefitinib efficacy in patients with advanced non-small-cell lung cancer. J Natl Cancer Inst 96:1133-41, 2004

176. Witta SE, Gemmill RM, Hirsch FR, et al: Restoring E-cadherin expression increases sensitivity to epidermal growth factor receptor inhibitors in lung cancer cell lines. Cancer Res 66:944-50, 2006

177. Ng KP, Hillmer AM, Chuah CT, et al: A common BIM deletion polymorphism mediates intrinsic resistance and inferior responses to tyrosine kinase inhibitors in cancer. Nat Med 18:521-8, 2012

178. Yatabe Y, Matsuo K, Mitsudomi T: Heterogeneous distribution of EGFR mutations is extremely rare in lung adenocarcinoma. J Clin Oncol 29:2972-7, 2011

179. Nahar R, Zhai W, Zhang T, et al: Elucidating the genomic architecture of Asian EGFR-mutant lung adenocarcinoma through multi-region exome sequencing. Nat Commun 9:216, 2018

180. 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 8:823-59, 2013

181. Tan DS, Yom SS, Tsao MS, et al: The International Association for the Study of Lung Cancer Consensus Statement on Optimizing Management of EGFR Mutation-Positive Non-Small Cell Lung Cancer: Status in 2016. J Thorac Oncol 11:946-63, 2016

182. Mok TS, Carbone DP, Hirsch FR: IASLC ATLAS OF EGFR TESTING IN LUNG CANCER. An IASLC publication (https://www.iaslc.org/publications/iaslc-atlas-egfr-testing-lung-cancer), 2017

183. 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 13:323-358, 2018

184. 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 66:381-5, 2013

185. Arcila ME, Oxnard GR, Nafa K, 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 17:1169-80, 2011

186. Sherwood JL, Muller S, Orr MC, et al: Panel based MALDI-TOF tumour profiling is a sensitive method for detecting mutations in clinical non small cell lung cancer tumour. PLoS One 9:e100566, 2014

187. Young EC, Owens MM, Adebiyi I, et al: A comparison of methods for EGFR mutation testing in non-small cell lung cancer. Diagn Mol Pathol 22:190-5, 2013

188. Dias-Santagata D, Akhavanfard S, David SS, et al: Rapid targeted mutational analysis of human tumours: a clinical platform to guide personalized cancer medicine. EMBO Mol Med 2:146-58, 2010

189. Janne PA, Borras AM, Kuang Y, et al: A rapid and sensitive enzymatic method for epidermal growth factor receptor mutation screening. Clin Cancer Res 12:751-8, 2006

190. Uchida J, Kato K, Kukita Y, et al: Diagnostic Accuracy of Noninvasive Genotyping of EGFR in Lung Cancer Patients by Deep Sequencing of Plasma Cell-Free DNA. Clin Chem 61:1191-6, 2015

191. Forshew T, Murtaza M, Parkinson C, et al: Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA. Sci Transl Med 4:136ra68, 2012

192. Taniguchi K, Uchida J, Nishino K, et al: Quantitative detection of EGFR mutations in circulating tumor DNA derived from lung adenocarcinomas. Clin Cancer Res 17:7808-15, 2011

193. Newman AM, Bratman SV, To J, et al: An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. Nat Med 20:548-54, 2014

194. 柳原玲子(PMDA): コンパニオン診断薬等（CDx）に対する 新たな規制上の取扱い案について. https://www.pmda.go.jp/files/000233040.pdf, 2019

195. Nosaki K, Satouchi M, Kurata T, et al: Re-biopsy status among non-small cell lung cancer patients in Japan:A retrospective study. Lung Cancer 100:1-8, 2016

196. Kanai,K., Yamamoto N, Nogami N, et al: A prospective study of molecular testing status in the EGFR mutation positive NSCLC patients with disease progression during EGFR TKI treatment (REMEDY study) J Thorac Oncol 13:S82–S83, 2018

197. Qiu M, Wang J, Xu Y, et al: Circulating tumor DNA is effective for the detection of EGFR mutation in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 24:206-12, 2015

198. Wu YL, Zhou C, Liam CK, et al: First-line erlotinib versus gemcitabine/cisplatin in patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: analyses from the phase III, randomized, open-label, ENSURE study. Ann Oncol 26:1883-9, 2015

199. Sueoka-Aragane N, Katakami N, Satouchi M, et al: Monitoring EGFR T790M with plasma DNA from lung cancer patients in a prospective observational study. Cancer Sci 107:162-7, 2016

200. Zheng D, Ye X, Zhang MZ, et al: Plasma EGFR T790M ctDNA status is associated with clinical outcome in advanced NSCLC patients with acquired EGFR-TKI resistance. Sci Rep 6:20913, 2016

201. 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

202. Sakai K, Takahama T, Shimokawa M, et al: Predicting osimertinib-treatment outcomes through EGFR mutant-fraction monitoring in the circulating tumor DNA of EGFR T790M-positive patients with non-small cell lung cancer (WJOG8815L). Mol Oncol 15:126-137, 2021.

203. Yatabe Y, Kerr KM, Utomo A, et al: EGFR mutation testing practices within the Asia Pacific region: results of a multicenter diagnostic survey. J Thorac Oncol 10:438-45, 2015

204. Shiau CJ, Babwah JP, da Cunha Santos G, et al: Sample features associated with success rates in population-based EGFR mutation testing. J Thorac Oncol 9:947-56, 2014

205. Leary AF, Castro DG, Nicholson AG, et al: Establishing an EGFR mutation screening service for non-small cell lung cancer - sample quality criteria and candidate histological predictors. Eur J Cancer 48:61-7, 2012

206. Hlinkova K, Babal P, Berzinec P, et al: Evaluation of 2-year experience with EGFR mutation analysis of small diagnostic samples. Diagn Mol Pathol 22:70-5, 2013

207. Thunnissen E, Kerr KM, Herth FJ, et al: The challenge of NSCLC diagnosis and predictive analysis on small samples. Practical approach of a working group. Lung Cancer 76:1-18, 2012

208. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, et al: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. J Clin Oncol 25:118-45, 2007

209. 日本病理学会：ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程 初版. http://pathology.or.jp/genome_med/pdf/textbook.pdf, 2018

210. Hubers AJ, Heideman DA, Yatabe Y, et al: EGFR mutation analysis in sputum of lung cancer patients: a multitechnique study. Lung Cancer 82:38-43, 2013

211. Merker JD, Oxnard GR, Compton C, et al: Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. J Clin Oncol 36:1631-1641, 2018

212. Merker JD, Oxnard GR, Compton C, et al: Circulating Tumor DNA Analysis in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. Arch Pathol Lab Med 142:1242-1253, 2018

213. Ahn MJ , Han JY, Cho BC , et,al.: Lazertinib in patients with EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer: results from the dose escalation and dose exp ansion parts of a first-in-human, open-label, multicentre, phase 1-2 study. Lancet Oncol 20. 1681-1690,2018

214. Cho BC, Ahn M-J, Kang JH, et al. Lazertinib versus gefitinib as first-line treatment in patients with EGFR-mutated advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): results from LASER301. J Clin Oncol 2023;41:4208-4217.

215. Shhun lu, Kato T,Suresh R, et al. Osimertinib after Chemoradiotherapy in Stage III EGFR-Mutated NSCLC. N Engl J Med 391:585-597, 2024

216. Kohsaka S, Nagano M, Ueno T, et al. A method of high-throughput functional evaluation of EGFR gene variants of unknown significance in cancer. Science Translational Medicine. 2017;9(416).

217. Robichaux JP, Le X, Vijayan RSK, et al: Structure-based classification predicts drug response in EGFR-mutant NSCLC. Nature 597:732-737, 2021

218. Banno E, Togashi Y, Nakamura Y, et al. Sensitivities to various epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors of uncommon epidermal growth factor receptor mutations L861Q and S768I: What is the optimal epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor? Cancer Science. 2016;107(8):1134-1140.

219. Watanabe S, Minegishi Y, Yoshizawa H, et al. Effectiveness of gefitinib against non-small-cell lung cancer with the uncommon EGFR mutations G719X and L861Q. Journal of Thoracic Oncology. 2014;9(2):189-194.

220. Kohsaka S, Nagano M, Ueno T, et al: A method of high-throughput functional evaluation of EGFR gene variants of unknown significance in cancer. Sci Transl Med 9:eaan6566, 2017

221. Miura S, Tanaka H, Okamoto H, et al: Pragmatic Randomized Study of Afatinib Versus ChemotherapyforPatientsWithNon–SmallCellLungCancer With Uncommon Epidermal Growth Factor Receptor Mutations: ACHILLES/TORG1834. J Clin Oncol 2025 Apr 16

222. 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 38:488-495, 2020

223. Okuma Y, Kubota K, Shimokawa M, et al: First-Line Osimertinib for Previously Untreated Patients With NSCLC and Uncommon EGFR Mutations: The UNICORN Phase 2 Nonrandomized Clinical Trial. JAMA Oncol 10:43-51, 2024

224. Byoung Chul Cho, Yongsheng Wang, Enriqueta Felip, et al: Amivantamab plus lazertinib in atypical EGFR-mutated advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): Results from CHRYSALIS-2. J Clin Oncol 42:(suppl 16; abstr 8516), 2024

2024 年 4 月改訂 ・ 2024 年 7 月改訂 ・ 2024 年 9 月改訂 ・2025 年 4 月改訂

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

4-2. ALK

（2024 年 9 月改訂 v2.0）

目　次

はじめに ... 3
（1）*ALK* 融合遺伝子肺癌 ... 3
（2）*ALK* 融合遺伝子のメカニズム ... 4
（3）*ALK* 融合遺伝子肺癌の臨床病理学的特徴 ... 5
（4）ALK 阻害薬の臨床試験 ... 6
1．クリゾチニブ ... 6
2．アレクチニブ ... 8
3．セリチニブ ... 10
4．ロルラチニブ ... 11
5．ブリグチニブ ... 12
（5）薬剤耐性変異 ... 14
（6）*ALK* 融合遺伝子の診断 ... 14
1．FISH 法 ... 15
1-1．FISH のための検体 ... 15
2．RT-PCR（reverse transcriptasec–PCR）法 ... 16
2-1．RT-PCR の検査 ... 17
2-2．RT-PCR の検体 ... 17
3．IHC 法 ... 17
3-1．検体 ... 17
3-2．抗原賦活処理 ... 17
3-3．検出キットによる違い ... 17
3-4．検出法（増感法） ... 18
4．NGS 法 ... 18
5．標本の選択 ... 18
5-1．セルブロック作製の推奨 ... 19
（7）結果の報告 ... 22

解析前セクション.....22
解析セクション.....22
結果セクション.....22
解釈／結論 23
（8）*ALK* 遺伝子検査のアルゴリズム（図 11） 23
（9）ALK 検査の保険適用.....24
（１０）おわりに・・・実地診療と *ALK* 25
参考文献.....26
追補 1.改定版 CAP/IASLC/AMP チロシンキナーゼ阻害薬標的治療の患者選択のための遺伝子検査ガイドライン 29
追補 2. ASCO Endorsement of CAP/IASLC/AMP Guideline 31

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

朝重 耕一, 荒金 尚子, 後藤 功一, 阪本 智宏, 里内 美弥子, 枝園 和彦, 須田 健一, 宗 淳一, 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

はじめに

EML4-ALK 融合遺伝子は自治医大の曽田，間野らによって 2007 年に初めて報告された [1]．*ALK* 融合遺伝子は，非小細胞肺癌の約 3-5%に認められ，非小細胞肺癌の中でも腺癌に特異的にみられる．

クリゾチニブが *ALK* 融合遺伝子陽性肺癌に対する治療薬として初めて承認された ALK 阻害薬であり [2]，米国では 2011 年に，わが国では 2012 年に承認された．その後，第二世代 ALK 阻害薬として 2014 年にアレクチニブ，2016 年にセリチニブが承認され，第三世代 ALK 阻害薬として 2018 年にロルラチニブ，2021 年にブリグチニブが承認され，現在 5 種類の ALK 阻害薬を用いることが可能となった．これらの分子標的薬は従来の標準化学療法と比べ劇的な治療成績の向上をもたらした．しかしながら，*ALK* 融合遺伝子陽性肺癌を適正に取り扱うためには様々な注意が必要である．

本項では *ALK* 融合遺伝子陽性肺癌の診療，特に *ALK* 融合遺伝子の診断にあたっての注意を中心に第 1 版（2011 年），第 2 版（2015 年），第 3 版（2019 年），第 4 版（2021 年）に続いて，最新の知見を第 5 版としてまとめた．なお，ALK 阻害薬とそのコンパニオン診断薬に関する情報は頻繁に更新されるため，最新の情報については PMDA ホームページ＊を参照いただきたい．

＊（https://www.pmda.go.jp/review-services/drug-reviews/review-information/cd/0001.html）

（1）*ALK* 融合遺伝子肺癌

2007 年に自治医大の曽田，間野らのグループは軽度喫煙歴のある男性肺癌の cDNA 発現ライブラリーをマウス 3T3 線維芽細胞にトランスフェクションしフォーカス形成を指標にトランスフォーミング活性をもつ遺伝子を回収するという，1980 年代に RAS 遺伝子をクローニングした方法を改良した方法で *EMK4-ALK* 融合遺伝子を同定した [1]．これはともに第二染色体短腕に逆向きに存在する *EML4*（echinoderm microtubule-associatedprotein-like4）遺伝子と *ALK*（anaplastic lymphoma kinase）遺伝子が小さな逆位を形成することで互いに同じ向きに融合したものである（図 1）[a]．

受容体型チロシンキナーゼである ALK はリガンド結合によって二量体化し活性化するが，この遺伝子転座が起こると ALK に結合した coiled-coil ドメインによってリガンド結合なしに恒常的に二量体化し活性化すると考えられている [3]．遺伝子の転座は血液腫瘍ではよく知られた癌遺伝子の活性化メカニズムであるが，上皮性の固形腫瘍では稀であると考えられていたのでその意味でも重要な発見といえる．一方，Cell Signaling Technology のグループは肺癌細胞内のリン酸化チロシンを系統的にマススペクトロメトリーで解析する方法でまったく独立して ALK の活性化を発見した [4]．*EML4-ALK* のトランスジェニックマウスでは生後数週のうちに数百個の肺腫瘍を形成するが，ALK のチロシンキナーゼ阻害薬を投与すると急速な腫瘍消退が観察された [5]．

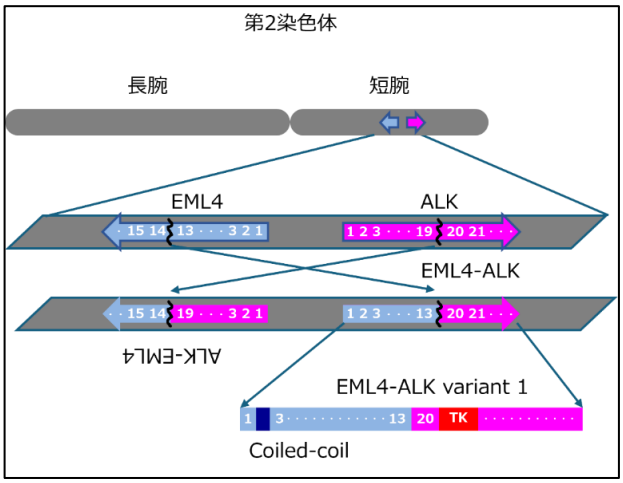


図 1． *EML4-ALK* variant 1 のメカニズム
染色体短腕上で，EML4 と ALK 遺伝子内の切断点で，逆向に回転するようにして再結合することで，*EML4-ALK* と *ALK-EML4* が形成される．EML 4 の二量体化に必要な coiled-coil domain，ALK のチロシンキナーゼドメインをともにもつ EML4-ALK のみが活性があると考えられる．

[a] *EML4* 遺伝子と *ALK* 遺伝子の rearrangement（遺伝子再構成）あるいは translocation（転座）によって両者の融合遺伝子（fusion gene）が形成される．その結果両者が融合したタンパクが発現される．このとき ALK タンパクの発現量は正常より増加し，検出できるようになることが多い．また，この転座は突然変異ともいえる．

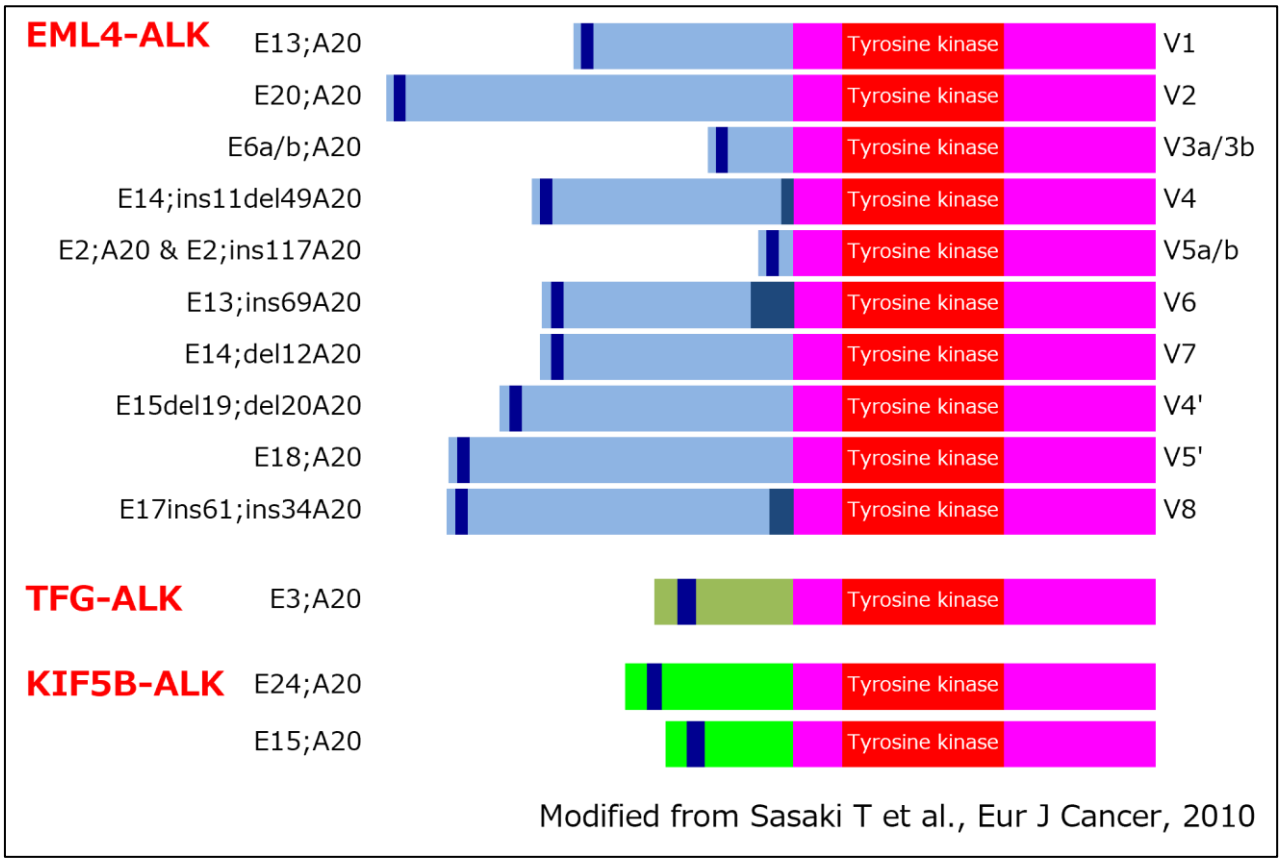


図２． 肺癌にみられる *ALK* 融合遺伝子（Sasaki T ら. The biology and treatment of EML4-ALK non-small cell lung cancer. Eur J Cancer 2010; 46: 1773-80.より改変）
Reproduced with permission from Elsevier （2021）

（２）*ALK* 融合遺伝子のメカニズム

ALK 融合遺伝子はもともと anaplastic lymphoma において，次いで inflammatory myofibroblastic tumor（IMT）（炎症性筋線維芽細胞性腫瘍）[b] において報告された．これらの場合，転座の相手方の遺伝子は *EML4* ではなく，リンパ腫の場合 *NPM*，*TPM3*，*TFG*，*ATIC*，*CLTC1*，*MSN*，*TPM4*，*ALO17*，*MYH9* など，IMT の場合 *TPM4*，*RANBP2*，*CARS*，*SEC31L1* である [6]．*ALK* 融合遺伝子は *ALK* 側のエクソン 20 以降（チロシンキナーゼドメインの上流）と融合タンパクを作っていることが多く，イントロン 19 上の脆弱部位が想定されている．

一方，転座の相手方である *NPM*，*TPM3*，*EML4* はすべてオリゴマー化ドメインあるいは coiled-coil ドメインをもっており，これらが *ALK* と融合することで，リガンドの結合がなくても恒常的な ALK の二量体化をきたすことで活性化されてがん化キナーゼになる．

一方，別の ALK の活性化メカニズムとして，*EGFR* 遺伝子変異のような，*ALK* 遺伝子のキナーゼドメインの点突然変異が神経芽細胞腫で報告されている．

EML4-ALK は肺癌特異的であり他の腫瘍では報告がないが，10 種類以上の variant があることが明らかとなっている（図２）．トランスフォーム活性には *EML4* の N 末端側の coiled-coil ドメインと *ALK* エクソン 20 のキナーゼドメインは必須であり，すべての variant はこれをもっている．なかには 10-70 塩基の欠失や挿入を伴っているものもある．この中では特に，*EML4* エクソン 13 と *ALK* エクソン 20 の融合（variant 1），*EML4* エクソン 6 と *ALK* エクソン 20 の融合（variant 3a/b）の二種がそれぞれ 30%程度で最も多い（図３）．

[b] IMT は，主として，筋線維芽細胞の特徴を示す紡錘形細胞の増殖からなり，リンパ球や形質細胞を主とする炎症細胞浸潤を伴う稀な腫瘍である．原発巣としては，肺が最も多く，次いで腸間膜・腹腔内臓器（肝・胃・腸・膀胱など）・頭部・四肢などと多岐にわたる．（Coffin C M, Watterson J, Priest J R ,et al: Extrapulmonary inflammatory myofibroblastic tumor （inflammatory pseudotumor）; A clinicopathologic and immunohistochemical study of 84 cases. Am J Surg Pathol 19: 859-872, 1995）

竹内らは高感度免疫組織化学法にて陽性を示した肺癌検体から新たな *ALK* 融合遺伝子を見いだした．この場合 *KIF5B* 遺伝子のエクソン 24 が *ALK* のエクソン 20 と融合していた [7]．*KIF5B* のエクソン 15 と融合する例も報告された [8]．KIF5B は細胞内小器官の運搬に関するタンパクであるが，これも二量体化ドメインをもっており，よって *EML4-ALK* と同様に二量体化することで ALK のキナーゼが活性化されると考えられている．

Cell Signaling Technology のグループはチロシンリン酸化を受けているタンパクを，免疫沈降とマススペクトロメトリーを組み合わせて，41 の肺癌細胞株，150 以上の肺癌検体を用いて網羅的に検索した [4]．その結果，1 例の細胞株 H2228 と 3 例の臨床検体において ALK リン酸化が亢進しており，3 例から *EML4-ALK*（E6;A20 と E13;A20）を同定した．もう一例は *TFG* 遺伝子（*TRK* fused gene）のエクソン 3 と転座していたが，これはリンパ腫において以前同定されていたものと同じ融合であった．*TFG* も coiled-coil ドメインを有している．

（3）*ALK* 融合遺伝子肺癌の臨床病理学的特徴

ALK 融合遺伝子を有する肺癌の特徴について表 1 にまとめた．非小細胞肺癌全体では 2-5%程度である．組織型では圧倒的に腺癌に多く，腺癌での頻度は 4-5%程度であり，他の組織型では例外的である．ただし，後述するように，充実型腺癌では胞体の形状が扁平上皮癌に類似する症例もあり，免疫組織学的に確認された腺癌か留意して解釈する必要がある [9]．最初に報告された症例は喫煙者であったが，後の報告では非喫煙者により頻度が高いことが確認されている．また，*EGFR* 遺伝子変異にみられるような人種差はないようである（表 1）．年齢では若年者に多い傾向にあり ALK 肺癌の平均年齢は 50 代半ばとするものが多く，*ALK* 融合遺伝子を有しない肺癌より 10 歳程度若年である．性差は明らかではないが，非喫煙者の数を反映してかやや女性に多い．

しかしながら，重要な点として *ALK* 融合遺伝子は喫煙者や高齢者の肺癌でもしばしば検出される．そのため，このような臨床背景のみで *ALK* 融合遺伝子の存在を確実に予測あるいは否定することは不可能である．すなわち検査を行うまでは不明であるというスタンスが必要である．これは CAP/IASLC/AMP ガイドラインでも述べられている [10]．

一方，ALK 融合遺伝子は肺腺癌に主にみられる他の *EGFR*, *KRAS*, *HER2* の遺伝子変異とは相互に排他的な関

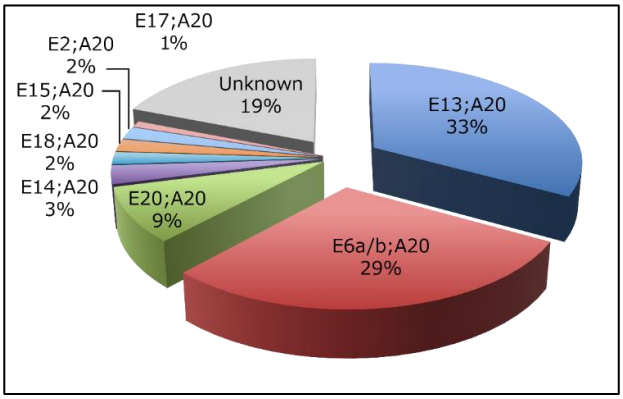


図 3． 肺癌における *EML4-ALK* 融合遺伝子パターン別頻度（Sasaki T ら. The biology and treatment of EML4-ALK non-small cell lung cancer. Eur J Cancer 2010; 46: 1773-80. より改変）
Reproduced with permission from Elsevier （2021）

表 1． 種々の臨床病理学的因子と ALK 遺伝子転座の関連

報告者	Journal	年	全体		組織型		喫煙歴		年齢		性別	
			症例数	ALK+	腺癌	非腺癌	非喫煙者	喫煙者	ALK(+)	ALK(-)	女性	男性
Soda	Nature	2007	75	5(7%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Rikova	Cell	2007	103	4(4%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Shinmura	Lung Cancer	2008	77	2(3%)	2/50(4%)	0/27	0/22(0%)	2/41(5%)	53	66	1/39(2.5%)	1/38(2.5%)
Perner	Neoplasia	2008	603	16(3%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Koivunen	CCR	2008	306	6(2%)	8/208(4%)	0/97	4/69(6%)	2/184(1%)	55.9	61.9	5/124(4%)	3/187(2%)
Wong	Cancer	2009	266	13(5%)	11/209(5%)	2/12*	10/127	1/82	59(52-65)	64(55-71)	8/134	5/132
Boland	Hum Pathol	2009	335	6(2%)	N/A	N/A	N/A	N/A	69.8	69.6	N/A	N/A
Martelli	Am J pathol	2009	120	9(8%)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Rodig	CCR	2009	358	20(6%)	20/358(6%)	–	14/95(15%)	6/243(2%)	51(29-76)	66(29-90)	9/220(4%)	11/138(8%)
Shaw*	JCO	2009	141	19(13%)	18/130(14%)	1/11(9%)	19/85(22%)	0/57(0%)	52(29-76)	65(29-90)	8/85(9%)	11/38(29%)
Inamura	Mod Pathol	2009	363	11(3%)	11/253(4%)	0/110	6/105(6%)腺癌	5/147(3%)腺癌	56±11	64±9	5/134(4%)腺癌	6/119(5%)腺癌
Takahashi	Ann Surg	2010	211	5(2%)	5/211(2%)	0/102	4/92(4%)	1/118(1%)	70.0±9.7	65.2 ± 10.1	4/100(4%)	1/111(1%)
Paik	JTO	2011	640	28(4%)	27/450(6%)	1/190(1%)	16/275(6%)	12/365(3%)	N/A	N/A	14/226(6%)	14/414(3%)
Yatabe	unpublished	2011	831	31(4%)	31/730(4%)	1/100(1%)	21/364(6%)	6/379(2%)	57±9.9	65 ± 9.5	20/382(5%)	11/447(2%)
Total			4429	175(4%)	133/2699(5%)	5/649(1%)	94/1234(8%)	34/1626(1%)	N/A	N/A	74/1444(5%)	63/1624(4%)

*臨床病理学的因子で選択した症例

係があることが繰り返し示されており，他の遺伝子変異がすでに検出されていればその症例における ALK 融合遺伝子の検出の可能性はほとんどないと考えてよいであろう．ただし，これは治療前の場合であり，ALK 阻害薬の耐性機序として，*ALK* 遺伝子増幅や，*EGFR* 遺伝子変異や *KRAS* 遺伝子変異の獲得などの報告もある [11]．

病理組織学的にも特徴があることが知られており，Inamura らは *EML4-ALK* 肺癌の 11 例のうち 6 例で acinartype が優勢であることを報告した．ちなみに他の 5 例は papillary 優勢であった（WHO 分類では 4 例が acinar，2 例が papillary，5 例が mixed であった）[12]．11 例全例は Thyroidtranscriptionfactor-1（TTF-1）陽性であり，celllineage 的には *EGFR* 遺伝子変異の多い，末梢肺由来の細胞に由来すると考えられる．また，Rodig らは優勢なパターンが細気管支肺胞上皮癌（BAC），acinar，papillary，solid のうちでの *ALK* 肺癌の割合は 1/22，4/124，0/46，11/134 と solidtype に多いと報告している [13]．細胞レベルでは細胞内に豊富なムチンを有し核が偏在しているいわゆる印環細胞（signetringcell）を有する症例が *ALK* 肺癌の 82%を占めていた．すなわち，腺癌症例を印環細胞がない，10%以下，10%以上での *ALK* 融合遺伝子の頻度はそれぞれ，3/295，2/21，12/26 であった [13]．図４に *ALK* 肺癌の典型的な組織像を示す．

（４）ALK 阻害薬の臨床試験

現在本邦で使用可能な ALK 阻害薬は第一世代のクリゾチニブ，第二世代のアレクチニブ，セリチニブ，第三世代のロルラチニブ，ブリグチニブなどの複数の薬剤が上市されている．

本項ではそれぞれの薬剤の臨床試験につき記載する．

１．クリゾチニブ

クリゾチニブ（ザーコリ®）は，ALK と c-MET, ROS-1 などのチロシンキナーゼを阻害するマルチキナーゼ阻害薬であり，もともと MET 阻害薬として開発されていた．First-in-human の第Ⅰ相試験はまず患者選択を行わない固形癌患者で 2006 年から Part1 の用量漸増試験が行われたが，ALK や MET の活性化がある患者を prescreening するようにプロトコール改正がなされ，Part2 では 250mg 1 日 2 回内服の推奨用量で，ALK か MET の活性化を有する症例を対象に molecularly defined expansion cohort が行われた．また非小細胞肺癌での ALK 転座が報告され，用量漸増試験中に 2 例の *ALK* 融合遺伝子陽性腫瘍（*ALK* 転座を有する Inflammatory myofibroblastic tumor と *EML4-ALK* 融合遺伝子を有する非小細胞肺癌）での良好な効果が確認された後，*ALK* 融合遺伝子陽性肺癌に対する expanded cohort が 2008 年に追加された．ALK 融合遺伝子陽性肺癌に対する抗腫瘍効果は最初の 19 例の preliminary な結果を 2009 年の米国臨床腫瘍学会，次いで 2010 年の New England Journal of Medicine 誌でこの *ALK* 融合遺伝子陽性肺癌に対する第Ⅱ相部分というべき試験（Profile1001）の結果が報告された [2]．さらに，その Update された結果は 2012 年の The Lancet Oncology 誌で報告されている [14] ので，この結果を以下に紹介する．

Profile1001 の *ALK* 融合遺伝子陽性肺癌に対する Expanded cohort には，FISH 法により診断された 149 例の *ALK* 融合遺伝子陽性肺癌が登録された．登録症例は非喫煙者が 71%，腺癌が 97%を占めており，84%は前治療を受けていた．

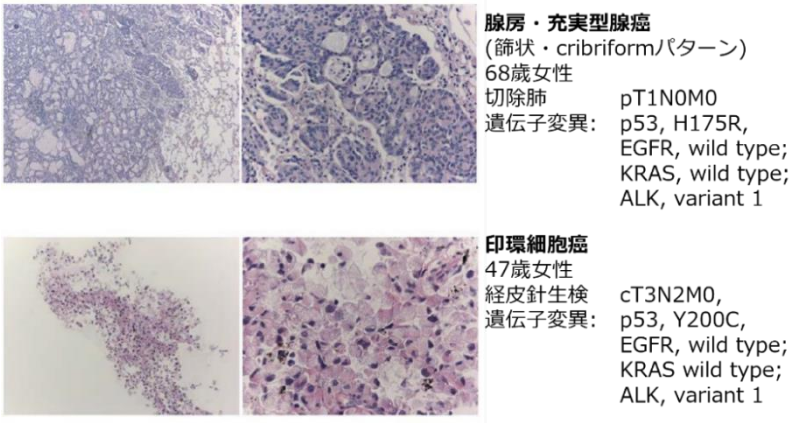


図４． *ALK* 融合遺伝子陽性肺癌の組織像
ALK 陽性肺癌では，特徴的な篩状パターンを示す腺癌が多いとされる．これらのパターンは腺癌組織分類で腺房型腺癌や充実型腺癌に分類される．また，印環細胞癌の形態を示す腺癌においても *ALK* 融合遺伝子を有することが多いが，この成分は部分的にみられることがほとんどである．

143 例で抗腫瘍効果の判定が可能であり，3 例の CR を含め 87 例が奏効し，奏効率は 60.8%であった．投与後 8 週，16 週での病勢制御率はそれぞれ 82.5%, 70.6%であった．無増悪生存期間（PFS）中央値は 9.7 カ月（95%信頼区間（CI）; 7.7-12.8 カ月）．6 カ月，12 カ月時点での生存率はそれぞれ，87.9%（95%CI: 81.3-92.3），74.8%（95%CI: 66.4-92.3）であった．144 例（97%）に有害事象が認められたが，多くは Grade 1/2 であり，20%以上の発現率の副作用は視覚障害（残像など）（96 例, 64%），悪心（84 例, 56%），下痢（74 例, 50%），嘔吐（58 例，39%），末梢性浮腫（44 例，30%），便秘（41 例, 28%），眩暈（31 例, 21%）であった．Grade 3/4 の有害事象は 36 例に認められた〔好中球減少 9 例，ALT 上昇 6 例，低リン血症 6 例，リンパ球減少 6 例，AST 上昇 5 例，肺臓炎 3 例（うち Grade 4 が 1 例）など〕．また，この試験では RECIST で病勢進行（PD）となった後にも臨床的に利益があると判断されれば継続投与が可能となっており，主治医判定で PD となった 69 例中 39 例は PD 後 2 週間を超えてクリゾチニブを継続投与しており，うち 12 例は PD 判定後 6 カ月を超えて継続投与を行っていた [14].

この良好な成績を受けて，2011 年 8 月に米国で承認され，本邦では 2012 年 3 月 30 日に「*ALK* 融合遺伝子陽性の切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌」を効果・効能として承認され，同 5 月より販売され実臨床に導入されている．

ALK 融合遺伝子陽性非小細胞肺癌に対するクリゾチニブの第Ⅲ相試験は二次治療でクリゾチニブとペメトレキセドまたはドセタキセルを比較する Profile1007 試験 [15] と一次治療でクリゾチニブとシスプラチンもしくはカルボプラチン＋ペメトレキセドを比較する Profile1014 試験 [16] が行われ，その結果は 1007 試験については 2013 年に，1014 試験については 2014 年にそれぞれ New England Journal of Medicine 誌に報告されている．

1007 試験では FISH 法により *ALK* 融合遺伝子陽性と診断され，プラチナ併用療法による一次治療後に再発した 347 例が登録され，化学療法群（ペメトレキセド 500mg/m^2, day1 点滴静注・3 週サイクル，もしくはドセタキセル 75mg/m^2, day1 点滴静注・3 週サイクル）あるいはクリゾチニブ群（クリゾチニブ 250mg 1 日 2 回内服）に 1:1 で割り付けられた．化学療法群に割り付けられた場合，ペメトレキセドを未使用もしくは扁平上皮癌が優勢な組織型でなければペメトレキセドを用いることとされており，また化学療法群に割り付けられた場合は PD となった後に別の第Ⅱ相試験（Profile1005）に組み入れてクリゾチニブを投与する crossover が許容されていた．主評価項目は PFS であり，副次評価項目は全生存期間（OS），奏効率，安全性，患者報告アウトカムであった．

PFS 中央値はクリゾチニブ群で 7.7 カ月（95%CI: 6.0-8.8），化学療法群は 5 カ月（95%CI: 2.6-4.3）であり，有意にクリゾチニブ群で延長していた〔hazard ratio（HR）=0.49, 95%CI: 0.37-0.64, p<0.001〕．

奏効率はクリゾチニブ群で 65%，化学療法群で 20%であり，クリゾチニブ群で有意に高かった（p<0.001）．化学療法群の中ではドセタキセルの奏効率が 7%（95%CI: 2-16），ペメトレキセドでは 29%（95%CI: 21-39）であった．最終解析に必要な event の 40%の時点で行われた OS の中間解析では，クリゾチニブ群の生存期間中央値が 20.3 カ月（95%CI: 18.1-not reached），化学療法群で 22.8 カ月（95%CI: 18.6-not reached）であり HR は 1.02（95%CI: 0.68-1.54, p=0.54）と有意差を認めなかった．肺癌に関連する症状と QOL に関する患者報告アウトカムではクリゾチニブ群で化学療法群より大きな改善が認められた [15].

1014 試験では FISH により診断された ALK 融合遺伝子陽性の進行期非扁平上皮非小細胞肺癌で化学療法未施行の 343 例がクリゾチニブ群（クリゾチニブ 250mg 1 日 2 回内服）あるいは化学療法群（シスプラチン<75mg/m^2, day1>もしくはカルボプラチン<AUC=5-6>＋ペメトレキセド<500mg/m^2, day1>点滴静注・3 週サイクル）に 1:1 で割り付けられた．主評価項目は PFS であり，副次評価項目は OS，奏効率，安全性，患者報告アウトカムであった．

PFS 中央値はクリゾチニブ群で 10.9 カ月（95%CI: 8.3-13.9），化学療法群は 7.0 カ月（95%CI: 6.8-8.2）であり，有意にクリゾチニブ群で延長していた〔hazard ratio（HR）=0.45, 95%CI: 0.35-0.60, p<0.001〕．

奏効率はクリゾチニブ群で 74%（95%CI: 67-81），化学療法群で 45%（95%CI: 37-53）とクリゾチニブ群で有意に高かった（p<0.001）．PFS 解析時点での OS は event 数が 29%と immature であり，生存期間中央値には両群共に達しておらず，HR=0.82（95%CI: 0.54-1.26, p=0.36）と有意差はなかった．1 年生存率はクリゾチニブ群で 84%，化学療法群で 79%であった．有害事象に関してはクリゾチニブ群では視覚障害，下痢，悪心，浮腫が，化学療法群では悪心，倦怠感，嘔吐，食思不振が多く認められた．肺癌に関連する症状と QOL に関する患者報告アウトカムではクリゾチニブ群で化学療法群より大きな改善が認められた [16]．これらの試験結果から，クリゾチニブは ALK 融合遺伝子陽性肺癌において，初回治療および二次治療における標準治療に位置づけられた．本試験の Updateデータは2018年のJournal of Clinical Oncology 誌で報告されている [17]．Median follow up は 46 カ月であり，化学療法群の 84.2%はクリゾチニブの投与を受けていた．OS 中央値はクリゾチニブ群で not reached（95%CI: 45.8-not reached），化学療法群で 47.5 カ月（95%CI: 32.2-not reached）であり，HR は 0.760（95%CI: 0.548-1.053; p=0.0978）であった．また，本試験において後治療の影響について検討されており，クリゾチニブ群において後治療で少なくとも 1 レジメンの他の ALK-TKI が使用された 57 例において OS が良好であることも示されている〔生存期間中央値 not reached（95%CI: not reached-not reached）〕．

2．アレクチニブ

アレクチニブ（アレセンサ®）は，当初より ALK を特異的に阻害することを目的にスクリーニング・創薬された選択的 ALK チロシンキナーゼ阻害薬である．

アレクチニブの first-in-human の第Ⅰ-Ⅱ相試験（AF-001JP）[18] は，2010 年より本邦で開始された．対象は免疫染色と FISH 両者もしくは RT-PCR により ALK 融合遺伝子陽性と診断された ALK 阻害薬未治療の進行期非小細胞肺癌患者であり，第Ⅰ相試験部分では用量漸増試験の 20mg1 日 2 回～300mg 1 日 2 回の範囲において用量制限毒性，安全性が評価された．最大投与量の 300mg 1 日 2 回においても用量制限毒性を認めなかったことから，推奨用量は 300mg 1 日 2 回とされ，第Ⅱ相試験部分はこの用量で実施されている．本試験結果は，2013 年の The Lancet Oncology 誌にて報告され [19]，さらに 3 年フォローアップされたデータが 2017 年の Journal of Clinical Oncology 誌に掲載された [20]．

第Ⅱ相試験に登録された 46 例について，9 例の CR を含む 43 例が奏効し，奏効率は 93.5%（95%CI: 82.1-98.6），PFS 中央値は not reached（95%CI: 33.1-not reached），3 年 PFS 率は 62%（95%CI: 45-75），OS 中央値も not reached であり，3 年 OS 率は 78%（95% CI: 63-88）と報告されている．また安全性については，第Ⅰ相部分と合わせ，300mg 1 日 2 回投与を受けた 58 例で評価されている．忍容性は良好で，20%以上の発現率の副作用は，血中ビリルビン増加（21 例，36.2%），味覚異常（20 例，34.5%），AST（GOT）増加（19 例，32.8%），血中クレアチニン増加（19 例，32.8%），便秘（18 例，31%），皮疹（17 例，29.3%），好中球減少（15 例，25.9%），ALT（GPT）増加（15 例，25.9%），CPK 増加（12 例，20.7%），白血球減少（12 例，20.7%）であったが，このうち Grade 3 は好中球減少が 4 名，血中ビリルビン・AST（GOT）増加・CPK 増加が各 2 例，白血球減少が 1 名のみであり，Grade 4 の副作用は認めなかった [20]．

この良好な臨床試験結果を受け，アレクチニブは 2014 年 7 月 4 日に「*ALK* 融合遺伝子陽性の切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌」に対して製造販売承認がなされ，同 9 月より日常診療に導入されている．

また，アレクチニブは，前臨床試験において，クリゾチニブに耐性を示す *ALK* 変異（L1196M, C1156Y など）に対しても有効であることが示されている．本邦でアレクチニブの 150mg 製剤と AF-001JP で用いられていた 20mg/40mg 製剤の生物学的同等性試験が行われたが，この試験は前治療を規定しない試験であり，ALK 阻害薬既治療例を含む試験であった．この試験にはクリゾチニブ既治療例 28 例を含む 35 例が登録された．その結果は 2016 年の Cancer Science 誌で報告され [21]，アレクチニブ 20mg/40mg カプセルと 150mg カプセルでは薬物動態は同様であり，食事にも影響されないことが示されるとともに，クリゾチニブ既治療例を含む *ALK* 陽性患者に対するアレクチニブの抗腫瘍効果が示された．その中でアレクチニブはクリゾチニブ耐性の 20 例に対し，65.0%の奏

効率（95%CI: 40.8-84.6）を示したことが報告されている.

また海外での第Ⅰ-Ⅱ相試験（AF-002JG）[22]は FISH により診断された *ALK* 融合遺伝子陽性の非小細胞肺癌でクリゾチニブに耐性もしくは不耐の症例を対象に行われており,その第Ⅰ相の用量増加試験の結果が 2014 年に The Lancet Oncology 誌に報告されている[22]．体格が大きい症例の多い米国で行われた試験であり，投与量が 300-900mg 1 日 2 回と日本人での推奨用量と異なっているが，47 例が登録され，44 例で抗腫瘍効果が評価可能であり奏効率は 55%〔confirmed complete response（CR）2%, confirmed partial response（PR）32%, unconfirmed PR 20%〕であった．また baseline で中枢神経転移のあった 21 例中 6 例の CR（3 例は unconfirmed）を含む 11 例で奏効を得たことも報告された.

アレクチニブは，初回治療の第Ⅲ相試験として標準的化学療法ではなくクリゾチニブとの head to head 試験が本邦（J-ALEX 試験）[23]および日本を除く Global（ALEX 試験）[24]で行われた．J-ALEX 試験では ALK 阻害薬未治療・化学療法歴は 1 レジメン以下の *ALK* 融合遺伝子陽性進行再発非小細胞肺癌患者 207 例を対象にアレクチニブ 300mg1 日 2 回投与群とクリゾチニブ 250mg1 日 2 回投与群に 1:1 に割り付けられて行われ，その結果は 2017 年に Lancet 誌に報告されている[18]. 主評価項目は PFS であり，PFS 中央値はアレクチニブ群（n=103）で not reached（95%CI: 20.3-not reached），クリゾチニブ群（n=104）で 10.2 カ月（95%CI: 8.2-12.0）であり，HR は 0.34（99.7%CI: 0.17-0.71, p<0.0001）と有意にアレクチニブ群で良好であった. 毒性のプロファイルは既報の通りであり，Grade 3-4 の有害事象や，投与中止に至る有害事象の頻度はクリゾチニブ群で高かった．ALEX 試験は J-ALEX と同様の対象でアレクチニブとクリゾチニブの比較を行った第Ⅲ相試験であり，アレクチニブの投与量が ALEX 試験では 600mg 1 日 2 回と倍量であることと，層別化因子に脳転移の有無が加えられていることが主な相違点であった．本試験の結果は 2017 年の New England Journal of Medicine 誌に掲載されており[24]，PFS 中央値はアレクチニブ群（n=152）で not reached（95%CI: 17.7-not reached），クリゾチニブ群（n=151）で 11.1 カ月（95%CI: 9.1-13.1）であり，HR は 0.47（95%CI: 0.34-0.65, p<0.001）と有意にアレクチニブ群で良好であった．また，CNS progression もしくは死亡までの期間はアレクチニブ群で有意に長かった（HR=0.16; 95%CI: 0.10-0.28, p<0.001）．12 カ月時点での CNS progression の累積発生率はアレクチニブ群で 9.4%（95%CI: 5.4-14.7），クリゾチニブ群で 41.4%（95%CI: 33.2-49.4%）であった．ALEX 試験での中枢神経系病変に対する効果は 2018 年に Annals of Oncology 誌にも報告されており[25]，脳転移病変（計測可能病変）の奏効率は放射線治療歴のある場合アレクチニブ群で 85.7%，クリゾチニブ群で 71.4%，放射線治療歴がない場合にはそれぞれ 78.4%, 40.4%であった．CNS 転移のある場合の PFS は HR=0.40（95%CI: 0.25-0.64）と CNS 転移がない場合 HR=0.51（95%CI: 0.33-0.80）と同様アレクチニブ群で良好であった.

ALEX 試験のアップデートされた結果が 2020 年の Annals of Oncology 誌に報告されており[26]，PFS 中央値はアレクチニブ群で 34.8 カ月（95%CI: 17.7-not evaluable），クリゾチニブ群で 10.9 カ月（95%CI: 9.1-12.9），HR は 0.43（95%CI: 0.32-0.58）であった．OS データは immature であるが OS 中央値はアレクチニブ群は未到達，クリゾチニブ群で 57.4 カ月（95%CI: 34.6-not reached），HR は 0.67（95%CI: 0.46-0.98）であった.

また，アレクチニブは 2024 年 4 月に NEJM 誌に報告された ALINA 試験[27]の結果をもとに 2024 年 8 月に ALK 融合遺伝子陽性の非小細胞肺癌における術後補助療法にも適応が拡大された．ALINA 試験では IB 期（腫瘍 4cm 以上），II 期，IIIA 期（UICC/AJCC 第 7 版）の ALK 陽性 NSCLC を完全切除した患者に対し，アレクチニブ（600mg1 日 2 回）を 24 カ月間投与する群（n=130）と，プラチナベース化学療法を 21 日サイクルで 4 回投与する群（n=127）に 1：1 の割合で無作為に割り付けられた．主要エンドポイントは DFS で，2 年時点での DFS はアレクチニブ群 93.8%，化学療法群 63.0%（HR:0.24；95%CI: 0.13-0.45, P<0.001）とアレクチニブ群で有意に良好であった. 再発症例の検討では脳転移が最も多かったが，脳転移再発率はアレクチニブ群 3.1%に対し，化学

療法群 11%とアレクチニブ群で少なく，CNS 再発も抑制することが示された（HR:0.22 ; 95%CI: 0.08-0.58）.

3．セリチニブ

セリチニブ（ジカディア®）は，選択的 ALK 阻害薬であり，クリゾチニブの約 20 倍の ALK 阻害活性をもつとされ，複数のクリゾチニブ耐性遺伝子変異にも有効とされる薬剤である．第Ⅰ-Ⅱ相試験（ASCEND-1）の結果は 2014 年の New England Journal of Medicine 誌に報告されている [28]．FISH 法により診断された *ALK* 融合遺伝子陽性の非小細胞肺癌患者 59 例が第Ⅰ相部分に登録され，推奨用量は 750mg 1 日 1 回投与とされた．その後の Expansion Phase では 71 例が追加され，400mg 以上を投与された 114 例における奏効率は 58%（95%CI: 48-67），クリゾチニブ既治療の 80 例における奏効率は 56%（95%CI: 45-67）であった．また 400mg 以上を投与された症例における PFS 中央値は 7 カ月（95%CI: 5.6-9.5）であった．また，少なくとも 1 レジメンのプラチナ併用療法歴を有するクリゾチニブ耐性例に対するセリチニブの第Ⅱ相試験（ASCEND-2 n=140）が行われた．本試験の結果は 2016 年に Journal of Clinical Oncology 誌に報告されており [29]，奏効率は 38.6%（95%CI: 30.5-47.2）で PFS 中央値は 5.7 カ月（95%CI: 5.4-7.6）であった．毒性では悪心（81.4%），下痢（80.0%），嘔吐（62.9%）と消化器毒性が強いことが特徴的であった．ASCEND-2 の日本人サブセット（n=24）での主な毒性は悪心（91.7%）．嘔吐（83.3%），下痢（83.3%），食思不振（66.7%），疲労（66.7%），ALT 上昇（41.7%），AST 上昇（41.7%），体重減少（33.3%）でこれらの多くは Grade 1/2 であり，主な Grade 3/4 の毒性はγGTP 上昇（16.7%），倦怠感（12.5%）であった [30]．毒性による休薬，減量は 91.7%で行われており，その原因は悪心（45.8%），下痢（37.5%），嘔吐（33.3%）であったが，間質性肺疾患は認められず，毒性による治療中止はなかった [30]．また，1-2 レジメンの化学療法（1 レジメンはプラチナ併用療法）とクリゾチニブ後に進行した *ALK* 融合遺伝子陽性非小細胞肺癌に対するセリチニブ（n=115）と化学療法〔ドセタキセル（n=40）もしくはペメトレキセド（n=73）〕の比較第Ⅲ相試験（ASCEND-5）が行われ，The Lancet Oncology 誌に報告されており [31]，主評価項目の PFS はセリチニブ群で化学療法群より有意に良好なことが示された〔PFS 中央値 5.4 カ月（95%CI: 4.1-6.9）vs 1.6 カ月（95%CI: 1.4-2.8），HR=0.49（95%CI: 0.36-0.67, p<0.001）〕．これらの結果を受けて本邦では，まず，2016 年 3 月 28 日にクリゾチニブ不応もしくは不耐の ALK 融合遺伝子陽性非小細胞肺癌にセリチニブが承認された．セリチニブの初回治療での効果をみる試験として未治療の Stage IIIb/IV の ALK 融合遺伝子陽性非小細胞肺癌を対象にセリチニブ 750mg 1 日 1 回連日経口投与とシスプラチンもしくはカルボプラチンにペメトレキセドの併用治療（3 週間毎，点滴静注）を比較する第Ⅲ相試験（ASCEND-4）が行われ，2017 年 Lancet 誌に報告されている [32]．主評価項目の PFS はセリチニブ群（n=189）で有意に良好なことが示され，また脳転移の有無によらずセリチニブ群で PFS が良好であることも示された．2016 年 6 月時点での全生存期間の解析は immature ではあるが，奏効率は 72.5% vs 26.7%とセリチニブ群で有意に高かった．この結果により 2017 年 9 月 22 日「クリゾチニブ治療に不応もしくは不耐の」の条件が外され，*ALK* 融合遺伝子陽性肺癌の一次治療にも適応拡大がなされた．しかし，クリゾチニブとの比較第Ⅲ相試験で PFS が有意に長く，毒性が少ないことが示されているアレクチニブが初回治療の標準治療として広く使われるようになっていることから，本邦でアレクチニブに耐性となった *ALK* 陽性肺癌（クリゾチニブ治療と 1 レジメンまでの化学療法の前治療は許容）に対するセリチニブの単群第Ⅱ相試験（ASCEND-9，n=20）が行われた．その結果は 2018 年に Cancer Science に報告されているが [23]，主評価項目の主治医判定の奏効率は 25%（95%CI: 8.7-49.1），副次評価項目の病勢制御率は 70%（95%CI: 45.8-88.1），奏効期間中央値は 6.3 カ月（95%CI: 3.5-9.3），PFS 中央値は 3.7 カ月（95%CI: 1.9-5.3）であった．またセリチニブ 750mg 空腹時投与により消化器毒性が多く認められており，その軽減を目的として低用量（450mg または 600mg）での低脂肪食後投与を検討する海外無作為化第Ⅰ相試験（ASCEND-8）が行われ，結果が 2017 年，2019 年の Journal of Thoracic Oncology 誌に報告された [33,34]．本試験においてセリチニブ 450mg 1 日 1 回食後投与が，750mg 1 日 1 回空腹時投与と比較して，同程度な有効性と消化器毒性の軽減が認められた．その結果，2019 年 2 月に本邦において「450mg を 1 日 1 回，食後に経口投

与」とする用法・用量の変更承認がなされた.

4．ロルラチニブ

ロルラチニブ（ローブレナ®）は，クリゾチニブ耐性遺伝子変異の克服と CNS への移行性の改善を目的に，クリゾチニブの物理化学的性質を最適化し 12 員環に構造変化させた ALK/ROS 1 阻害活性をもつ薬剤である．ALK 阻害薬治療後の疾患進行（PD）には耐性変異が関わっており，なかでも G1202R および G1202del 変異では，第一，第二世代 ALK 阻害薬の効果が減弱する一方，ロルラチニブはこれらの変異に対しても効果を発揮することがこれまでの *in vitro* の研究で示されてきた [35]．また，脳内における臨床上有効な薬物濃度については，ロルラチニブの first-in-human の国際共同第Ⅰ-Ⅱ相試験の第Ⅰ相パートにおいて，100mg QD（1 日 1 回）または 150mg QD を反復投与された患者の脳脊髄中濃度/血漿中濃度の比の平均値=0.75（標準偏差 0.16）という結果が示され，良好な CSF 移行性が示されている [31]．

ロルラチニブの国際共同第Ⅰ-Ⅱ相試験は，*ALK* 融合遺伝子陽性または *ROS1* 融合遺伝子陽性の切除不能な進行・再発 NSCLC 患者を対象に 2014 年から実施された．第Ⅰ相パートにおいて最大耐量および推奨用量が検討され，第Ⅱ相パートにおいて，第Ⅰ相試験で定められた推奨用量 100mg QD 投与における有効性および安全性が評価された.

国際共同第Ⅰ-Ⅱ相試験の結果は，第Ⅰ相パートについては 2017 年に [36]，第Ⅱ相パートについては 2018 年に The Lancet Oncology 誌に掲載されている [37].

本試験の第Ⅱ相パートには 275 例が組み入れられ，融合遺伝子および前治療レジメンに基づき 6 つのコホートに分けられた〔EXP1～5：ALK 融合遺伝子陽性肺癌患者（EXP1：未治療の患者 30 例，EXP2：クリゾチニブによる治療を受けた患者 27 例, EXP3A：クリゾチニブおよび化学療法による治療を受けた患者 32 例, EXP3B：クリゾチニブ以外の 1 レジメンの ALK 阻害薬による治療を受けた患者 28 例，EXP4：2 レジメン以上の ALK 阻害薬による治療を受けた患者 65 例, EXP5：3 レジメン以上の ALK 阻害薬による治療を受けた患者 46 例），EXP6：*ROS1* 融合遺伝子陽性肺癌患者 47 例．なお，EXP3B～5 では化学療法の有無は問わないものとされた〕.

1 レジメン以上の ALK 阻害薬による治療を受けていた患者（EXP2～5）198 例における奏効率（ORR）は 47.0%（95%CI: 39.9-54.2），PFS 中央値は 7.3 カ月（95%CI: 5.6-11.0）であった．また，ベースライン時に頭蓋内病変がみられた 81 例における頭蓋内奏効率（IC-ORR）は 63.0%（95%CI: 51.5-73.4）であった．これらの奏効率は，前治療の ALK 阻害薬がクリゾチニブであった患者〔EXP2～3A，ORR: 69.5%（95%CI: 56.1-80.8），IC-ORR; 87.0%（95%CI: 66.4-97.2)〕，クリゾチニブ以外の ALK 阻害薬であった患者〔EXP3B，32.1%（95%CI: 15.9-52.4），55.6%（95%CI: 21.2-86.3)〕，2 レジメン以上の ALK 阻害薬による治療を受けた患者〔EXP4-5，38.7%（95%CI: 29.6-48.5），53.1%（95%CI: 38.3-67.5)〕においても同様に，全般的な奏効率と比較して頭蓋内奏効率が高い数値を示した [37].

第Ⅱ相パートの 275 例において認められた主な副作用は，高コレステロール血症 224 例（81%），高トリグリセリド血症 166 例（60%），浮腫 119 例（43%），末梢性ニューロパチー82 例（30%）であり，Grade3～4 の主な副作用は高コレステロール血症 43 例（16%），高トリグリセリド血症 43 例（16%）であった．重篤な副作用は 19 例（7%）に認められ，最もよくみられたものは認知障害 2 例（1%）であった．ロルラチニブに特徴的な副作用として，認知障害，気分障害，言語障害などの中枢神経系障害が 107 例（39%）に認められたが，その多くが Grade 1～2 であり，用量調整や投与中止によって回復し，可逆的と考えられている [36, 37].

この第Ⅰ-Ⅱ相試験の Update が 2018 年の ASCO にて発表されている [38]．2018 年 2 月 2 日にカットオフされたデータにおける ORR は EXP2-3A, EXP3B, EXP4-5 でそれぞれ 72.9%（95%CI: 59.7-83.6），42.9%（95%CI: 24.5-62.8），39.6%（95%CI: 30.5-49.4）であり，IC-ORR はそれぞれ 70.3%（95%CI: 53.0-84.1），46.2%（95%CI: 19.2-74.9），48.1%（95%CI: 36.9-59.5），PFS 中央値はそれぞれ 11.1 カ月（95%CI: 8.2-未達），5.5 カ月（95%CI: 2.9-8.2），6.9 カ月（95%CI: 5.4-9.5）であった.

この第Ⅱ相試験のBaselineの耐性変異の状況による効果の違いが，米国癌研究会議（AACR）において報告されている[39]．198 例の少なくとも 1 レジメンの ALK 阻害薬に耐性となった症例から組織サンプルもしくは血漿サンプルを得，血漿の cell free DNA（cfDNA）での解析では 45/190 例（24%）で，腫瘍組織の tissue DNA（tDNA）では 40/191 例（21%）で 1 つ以上の *ALK* 変異を認め，1 サンプルにつき 1～8 つの *ALK* 変異が確認された．検出されたすべての遺伝子変異のうち，最もよくみられた変異は G1202R/del（25%, 27.6%）であり，その他，F1174，L1196M，G1269A，I1171 などが多く認められた．G1202R/del を有する症例における奏効率は 57.9%であり，奏効期間中央値は 6.9 カ月（95%CI: 4.3-NR）であった．前治療がクリゾチニブのみの症例での奏効率は *ALK* 融合遺伝子変異が認められた症例と認められなかった症例では有意差がなかった（cfDNA 解析; 72.7% vs 73.3%，tDNA 解析: 72.7% vs 74.4%）．対照的に，第二世代 ALK 阻害薬の治療歴がある症例においては *ALK* 遺伝子変異が認められた症例のほうが遺伝子変異がなかった症例より奏効率が高かった（cfDNA 解析: 61.8 vs 30.9%，tDNA 解析: 65.5% vs 26.9%）．第二世代 ALK 阻害薬の治療歴のある症例となかった症例での PFS は cfDNA 解析で 7.3 カ月（95%CI: 4.1-13.1）vs 5.6 カ月（95%CI: 4.1-8.2），tDNA 解析で 11.0 カ月（95%CI: 6.9-22.9）vs 5.4 カ月（95%CI: 3.9-6.9）であった．

また，探索的解析として実施されたロルラチニブ投与後の頭蓋内 PD または頭蓋内以外の PD の累積発生率の解析結果が世界肺癌学会（WCLC）において報告され[40]，ベースライン時に脳転移なしの患者（n=67）において，頭蓋内 PD の 12 カ月時点における累積発生率は評価不能，頭蓋内以外の PD は 49%であり，ベースライン時に脳転移ありの患者（n=131）においてもそれぞれ 22%，31%と，頭蓋内病変が発生する割合が低いという結果であった．

ロルラチニブはこの第Ⅰ-Ⅱ相試験の結果で，世界に先駆け，本邦で 2018 年 9 月 21 日に「ALK チロシンキナーゼ阻害薬に抵抗性又は不耐容の *ALK* 融合遺伝子陽性の切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌」の効能・効果で承認され，臨床導入されている．

ロルラチニブに関しては，現在この第Ⅰ-Ⅱ相試験の結果をもって，日本肺癌学会のガイドライン 2020 年度版において，二次治療以降として推奨度 2C での治療が提案されている．

未治療の *ALK* 融合遺伝子陽性肺癌を対象としたロルラチニブとクリゾチニブの有効性を比較する国際共同第Ⅲ相試験（Crown 試験）が 2017 年より実施され，結果は 2020 年の New England Journal of Medicine 誌に掲載された[41]．FISH 法により診断された ALK 融合遺伝子陽性の非小細胞肺癌患者 296 例が組み入れられ，ロルラチニブ 100mg 1 日 1 回投与群 149 例，クリゾチニブ 250mg 1 日 2 回投与群 147 例に無作為に割り振られた．主要評価項目は PFS であり，PFS 中央値はロルラチニブ群（n=149）で not reached（95%CI: not reached-not reached），クリゾチニブ群（n=147）で 9.3 カ月（95%CI: 7.6-11.1）であり，HR は 0.28（95%CI: 0.19-0.41，p<0.001）と有意にロルラチニブ群で良好であった．12 カ月無増悪生存率は，ロルラチニブ群 78%，クリゾチニブ群 39%であった．毒性のプロファイルは既報の通りであり，Grade3-4 の有害事象はロルラチニブ群で高かったが，12 カ月時点での治療継続割合はロルラチニブ群で 76%，クリゾチニブ群で 35%とロルラチニブ群で高かった．ベースラインで脳転移を有していた 78 症例の中枢神経系病変に対する奏効率は，ロルラチニブ群で 66%，クリゾチニブ群で 20%とロルラチニブ群で良好であった．12 カ月時点で中枢神経病変の出現，増悪を伴わない生存割合はロルラチニブ群で 96%（95%CI: 91-98）とクリゾチニブ群で 60%（95%CI: 49-69）であり，HR は 0.07（95%CI: 0.03-0.17）であり，ロルラチニブの中枢神経系病変への有効性が引き続き示された．

ロルラチニブは本試験の結果をもって，「ALK 融合遺伝子陽性の切除不能な進行・再発非小細胞肺癌」に適応が拡大され，一次治療から使用可能となった．

5．ブリグチニブ

ブリグチニブ（アルンブリグ®）は，既存の ALK-TKI に対する二次耐性変異への阻害効果と，既治療での増悪時に出現する中枢神経病変への有効性を目的に創製された新規 ALK-TKI である．クリゾチニブやアレクチニブ耐性として知られる I1171X や G1202R を含む複数の二次耐性

変異に対し *in vitro* で有効性を示し，マウス皮下移植片モデルにおいてもそれらの耐性変異に対する腫瘍増殖抑制効果が確認されている．また，マウスにおける中枢神経系転移モデルにおいても抗腫瘍効果を示すとともに生存を延長した．

海外において行われた臨床薬理第Ⅰ-Ⅱ相試験（AP26113-11-101 試験）において，*ALK* 融合遺伝子陽性非小細胞肺癌患者 79 例を含む進行癌（白血病を除く）137 症例を対象に 30mg 1 日 1 回から 300mg 1 日 1 回まで用量漸増し，MTD や安全性プロファイル，忍容性および DLT の検討が行われた．その際，「投与初期に発現する肺関連有害事象（EOPE: Early-onset Pulmonary Event)」が確認された．EOPE 発現と開始用量に関連が認められており，90mg 1 日 1 回 7 日間による導入療法を先行させることにより 180mg 1 日 1 回の用量において EOPE の発現が低下した．以上の結果を踏まえ，本邦での承認用法および用量は「1 日 1 回 90mg を 7 日間経口投与する．その後，1 日 1 回 180mg を経口投与する．」となっている．

海外において，未治療の *ALK* 融合遺伝子陽性肺癌に対するブリグチニブとクリゾチニブの有効性を比較する国際共同第Ⅲ相試験（ALTA-1L 試験）が 2016 年より実施され，結果は 2018 年の New England Journal of Medicine 誌に掲載された [42]．FISH 法または IHC 法にて診断された ALK 陽性非小細胞肺癌患者 275 例が組み入れられ，ブリグチニブ 180mg 1 日 1 回（90mg 1 日 1 回での 7 日間導入療法後）投与群 137 例，クリゾチニブ 250mg 1 日 2 回投与群 138 例に無作為に割り振られた．主要評価項目は PFS であり，PFS 中央値はブリグチニブ群で not reached，クリゾチニブ群で 9.8 カ月（95%CI: 9.0-12.9）であり，HR は 0.49（95%CI: 0.33-0.74, p<0.001）と有意にブリグチニブ群で良好であった．12 カ月無増悪生存率は，ブリグチニブ群 67%，クリゾチニブ群 43%であった．ベースラインで脳転移を有していた 87 例の中枢神経系病変の 12 カ月無増悪生存率はブリグチニブ群 67%，クリゾチニブ群 21%であり，HR は 0.27（95%CI: 0.13-0.54）であり，ブリグチニブの中枢神経系病変への有効性が示された．本試験においてブリグチニブ群で認められた主な副作用は，クレアチンホスホキナーゼ上昇 53 例（39%），下痢 67 例（49%），悪心 36 例（26%），リパーゼ上昇 26 例（19%），アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）上昇 26 例（19%）であった．Grade 3 以上の副作用は 83 例（61%）に認められ，間質性肺疾患・肺炎 4 例（3%），貧血，錯乱状態などが認められた．

本邦において，アレクチニブを含む他の ALK-TKI 耐性非小細胞肺癌症例を対象とした日本人に対するブリグチニブの有効性および安全性を評価する第Ⅱ相試験（J-ALTA 試験）が実施された．結果は 2021 年の Journal of Thoracic Oncology 誌に掲載された [43]．FISH 法または IHC 法にて診断された日本人 *ALK* 陽性非小細胞肺癌患者 72 例（FAS 群）を対象に，安全性評価リードインパートとして ALK 阻害薬の治療歴を問わず 9 例，再燃例対象拡大パートとして 63 例が組み入れられた．さらに拡大パートではメインコホート（FAS-P 群）としてアレクチニブのみ，またはアレクチニブとクリゾチニブ投与例 47 例，サブコホートとしてメインコホート以外の ALK 阻害薬 2 剤までの投与例 16 例が設定された．主要評価項目は，FAS-P 群における客観的奏効率であり，症例全体（FAS 群）での ORR や，それぞれのサブグループでの PFS, OS，奏効期間などが副次評価項目として検討された．また頭蓋内病変に対する有効性も検討された．FAS-P 群における ORR は 31%（95%CI: 17-44%）であり，95%CI の下限値が設定された閾値奏効率 15%を上回った．頭蓋内病変に対する奏効率は 25%と良好であった．耐性変異別の奏効率については，G1202R 変異で奏効率 33%（1/3），G1202R 以外の変異では，少数例での検討ではあるものの奏効率 55%と良好な結果であった．

ALTA-1L 試験のアップデート結果が 2020 年に Journal of Clinical Oncology 誌に報告された [44]．中央判定による PFS の比較では，PFS の中央値はブリグチニブ群とクリゾチニブ群でそれぞれ 24.0 カ月（95%CI: 18.5-not reached）と 11.0 カ月（95%CI: 9.2-12.9）であり，HR は 0.49（95%CI: 0.35-0.68, p<0.001）とブリグチニブ群で有意に良好であった．2 年生存率はそれぞれ，76%（95%CI: 67-82%）と 74%（95%CI: 65-80%）で，HR0.92（95%CI: 0.57-1.47, p=0.771）であった．

以上の結果を踏まえ，ブリグチニブは本邦において「*ALK* 融合遺伝子陽性の切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌」を適応として一次および二次治療以降の治療薬として承認された．

現在，本邦で承認されている 5 剤の ALK チロシンキナーゼ阻害薬の臨床試験につき記載した．日本肺癌学会肺癌診療ガイドライン 2023 年度版では PS 0-1 の *ALK* 融合遺伝子陽性肺癌の一次治療としてアレクチニブが推奨度 1A，ブリグチニブ，ロルラチニブが推奨度 2B で推奨されている．2023 年度版の改訂でクリゾチニブ，セリチニブについての推奨度は記載がなくなっているが，プラチナ製剤併用療法と比較した場合における有効性のエビデンスは確立されているためエビデンスの強さは A 評価となっている．

PS 2-4 の場合にはアレクチニブが推奨度 1C で推奨されている．また，一次治療アレクチニブ耐性または増悪後の PS 0-2 に対する治療としては，ロルラチニブ，ブリグチニブ，セリチニブを用いた単剤療法が推奨度 2C でそれぞれ推奨されている．しかし，ALK 阻害薬の一次治療を比較する第 Ⅲ 相試験の全生存期間の結果はすべて未だ immature であり，有意差が示されておらず，ALK 阻害薬の至適なシークエンスは不明である．クリゾチニブを初回 ALK 阻害薬とした場合のシークエンスでの治療における生存期間の報告が散見されるがいずれも小規模であり [45-47]，今後の検討が待たれる．また，それぞれの症例に対する至適なシークエンスを検討するにあたっては，今後は NGS を用いることにより耐性遺伝子の状況を確認し，その状況に応じて個別化されるようになる可能性もあるものと考えられる．

（5）薬剤耐性変異

ALK 融合遺伝子肺癌に対するそれぞれの ALK 阻害薬治療後に，EGFR 阻害薬と同様に二次性変異を伴って耐性を生じることが知られている [35]．*EML4-ALK* 融合バリアントによって獲得される変異が異なるとする報告もあるが [48]，薬剤によって生じる変異は大きく異なる（図 5）．また，それぞれの薬剤における耐性変異ごとにその他の ALK 阻害薬の効果が異なり（表 2），耐性メカニズムによる治療戦略の決定がなされる将来も近い．

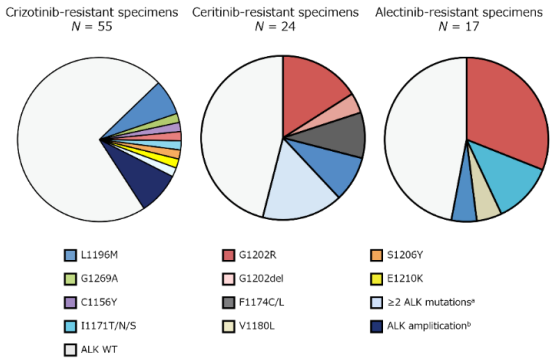


図 5. ALK 阻害薬治療後に生じる薬剤耐性遺伝子変異の分布
（Cancer Discov. 2016;6:1118-1133）
Reproduced with permission from American Association for Cancer Research （2021）

表 2. それぞれの耐性遺伝子変異における ALK 阻害薬の IC50
（Cancer Discov. 2016;6:1118-1133）
Reproduced with permission from American Association for Cancer Research （2021）

Cellular ALK phosphorylation mean IC_{50} (nmol/L)

Mutation status	Crizotinib	Ceritinib	Alectinib	Brigatinib	Lorlatinib
Parental Ba/F3	763.9	885.7	890.1	2774.0	11293.8
EML4-ALK V1	38.6	4.9	11.4	10.7	2.3
EML4-ALK C1156Y	61.9	5.3	11.6	4.5	4.6
EML4-ALK I1171N	130.1	8.2	397.7	26.1	49.0
EML4-ALK I1171S	94.1	3.8	177.0	17.8	30.4
EML4-ALK I1171T	51.4	1.7	33.6[a]	6.1	11.5
EML4-ALK F1174C	115.0	38.0[a]	27.0	18.0	8.0
EML4-ALK L1196M	339.0	9.3	117.6	26.5	34.0
EML4-ALK L1198F	0.4	196.2	42.3	13.9	14.8
EML4-ALK G1202R	381.6	124.4	706.6	129.5	49.9
EML4-ALK G1202del	58.4	50.1	58.8	95.8	5.2
EML4-ALK D1203N	116.3	35.3	27.9	34.6	11.1
EML4-ALK E1210K	42.8	5.8	31.6	24.0	1.7
EML4-ALK G1269A	117.0	0.4	25.0	ND	10.0
EML4-ALK D1203N+F1174C	338.8	237.8	75.1	123.4	69.8
EML4-ALK D1203N+E1210K	153.0	97.8	82.8	136.0	26.6

$IC_{50} \leq 50$ nmol/L
$IC_{50} > 50 < 200$ nmol/L
$IC_{50} \geq 200$ nmol/L

（6）ALK 融合遺伝子の診断

ALK の異常を検出する方法として蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション（Fluorescence *in situ* hybridization; FISH）法，免疫組織化学（immunohistochemistry; IHC）法，RT-PCR 法（塩基配列決定を含む），遺伝子パネル検査（Capture hybrid 法および amplicon 法）がある．各検出法の長所と短所について表 3 にまとめるとともに，それぞれについて解説する．

表 3. *ALK* 融合遺伝子の各種検出法の長所と短所

	IHC法	FISH法	RT-PCR法	NGS Capture hybrid法	NGS Amplicon法
長所	未知のfusionも検出可能	未知のfusionも検出可能	高感度	未知のfusionも検出可能	
	比較的容易で，他の免疫染色はルーチンとして施行されている	リンパ腫の診断として確立	高特異度	他の遺伝子変異や融合遺伝子とともに結果が得られる	他の遺伝子変異や融合遺伝子とともに結果が得られる
	アレクチニブの臨床試験にも用いられた	クリゾチニブの臨床試験にも			
	短いTAT				
	FFPEで可能	FFPEで可能		FFPEで可能	FFPEで可能
短所	融合遺伝子を直接的に見ているわけではない	比較的高価で，技術的に熟練が必要	良質のRNAを要する	比較的高価	比較的高価で，良質のRNAを要する
			腫瘍細胞の存在の確認が必要	腫瘍細胞の存在の確認が必要	腫瘍細胞の存在の確認が必要
	抗体のクローンと検出系によって結果に大きな差が出ることが知られている	比較的長いTAT	多くの転座パターンに対応するためにはmultiplex化や複数のPCR を行う必要あり	比較的長いTAT	比較的長い TAT
		偽陽性，偽陰性が報告されている	未知の fusion は検出できない		未知の fusion は検出できない

TAT:Turnaround time

1．FISH 法

蛍光色素でラベルした DNA プローブを標本上で標的遺伝子とハイブリダイズさせ，そのシグナルを蛍光顕微鏡で観察する方法である．本邦では，Vysis®ALK Break Apart FISH プローブキット（Abbott Molecular）がクリゾチニブ，アレクチニブおよびブリグチニブのコンパニオン診断薬として体外診断用医薬品（IVD）の承認を取得しており，保険適用されている．

FISH の方法としては *ALK* 遺伝子と *EML* 4 遺伝子にそれぞれプローブをおいて，これらが融合するのを検出する方法（fusion assay）と，*ALK* 遺伝子の切断点を隔てて 2 つのプローブを置いておき，これらが切断されて他の遺伝子と融合することを検出する方法（break-apart assay）（図 6）の 2 つが存在する．しかし，*EML4* と *ALK* はもともと染色体 2 番短腕の比較的近いところに存在しているので，融合のシグナルがしばしばわかりにくいこと，*EML4* のみが融合の相手とは限らないこと，などから現在では後者の break-apart assay が使われることがほとんどであり，前述の体外診断用医薬品として承認されたキットも break-apart 法での検出である．

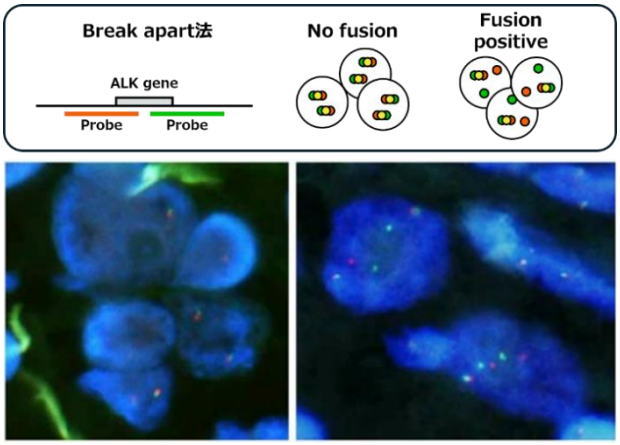


図 6. Break-apart 法による ALK 遺伝子再構成の検出
再構成切断点を挟んだプローブを異なる蛍光色素でラベルし FISH を行うと，遺伝子再構成のない場合は緑と赤が近接し，重なると黄色のシグナルを与えるが，遺伝子再構成があると緑と赤が分離してみえる．

1-1．FISH のための検体

FISH には通常のホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)標本が用いられる．DNA 抽出のためには厚めの薄切切片が求められることが多いのに対し，FISH では IHC と同程度の厚さ（4-6μm 厚）が求められる．また，通常の IHC に比べてより強い熱処理やタンパク分解酵素を用いるため，薄切した組織がスライドからはがれやすい．必ず剥離防止剤を塗布されたコートスライドを用いる必要がある．代表的なコートスライドとして，MAS-GP コートスライド・FRONTIER コートスライド，プラチナプロスライド（松浪硝子工業）や New シラン II，New シラン III（武藤化学）などがある．

FISH の標的分子は DNA であるため，標本内の DNA の断片化に強く影響を受ける．長期間（5 日以上程度）ホル

マリンに浸透させることによる過固定や酸性脱灰液を用いた脱灰操作によって，DNA 断片化が引き起こされるため，これらの操作は避けるべきであり，結果としてこのような状態になってしまった組織標本を用いることは避ける必要がある．特に，肺癌骨転移巣標本では，ほとんどの場合脱灰操作が加わり，FISH および IHC による検討が困難となる可能性があることから，使用する脱灰液に十分留意する必要がある．

乳癌における *HER2* 遺伝子増幅検索については，固定までの条件が American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists によって細かく規定されたガイドラインが発表されている [49]．このガイドラインでは，切除されてから 1 時間以内に中性緩衝ホルマリンでの固定が始められるべきであり，腫瘍を 5-6mm に細切し，6 時間以上 72 時間以下に固定を終了しなければならないとされている．また，これらの時間（固定までの時間，固定方法，固定時間）の記録を残すように勧めているほか，未染標本は作製してから 6 週間以内にテストが完了しなければならないと述べられている．

FISH は形態学的な観察が可能であり，腫瘍細胞の同定が可能であるが，暗視野での観察であり，光学顕微鏡ほど詳細な観察は不可能である．そのため，腫瘍細胞の同定が難しい標本は避けるべきである．

2．RT-PCR（reverse transcriptase[c]–PCR）法

EML4-ALK 融合遺伝子は *EML4* が逆方向に融合するために，*EML4* 側と *ALK* 側にそれぞれプライマーを設定しておけば正常では PCR 産物ができず，逆位をもって転座が起こったときのみに PCR 産物が得られるはずであり，特異度の高い転座の検出が期待される．さらに，最も頻度の高い *EML4-ALK* では，染色体逆位によって通常は転写産物に含まれない配列のプライマーを用いる点で，高い感度が得られる．また，必要により塩基配列を引き続いて決定することも可能でヌクレオチドレベルでの遺伝子再構成の詳細を検証することも可能となる（図 7）．

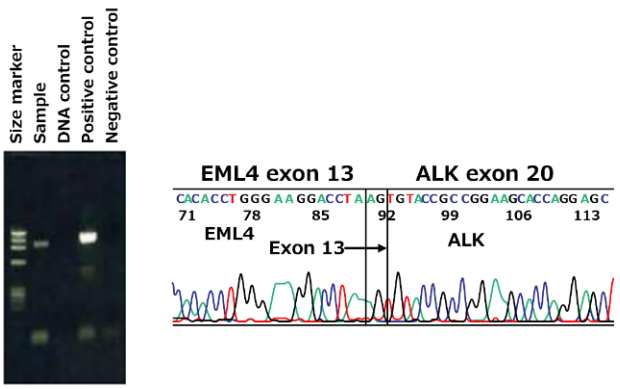


図 7.　RT-PCR 産物の直接塩基配列決定法による EML4-ALK の variant 1 の検出

しかしながら，上述したように，*EML4-ALK* には多くの種類があるので，検出に際してはそこに留意する必要がある．

Takeuchi らはこれらを考慮して *EML4* のエクソン 2 とエクソン 13 に 2 つのセンス側のプライマー，*ALK* のエクソン 20 にアンチセンス側のプライマーをおく multiplex PCR で多くの variant を検出できると報告している [50]．

この場合，染色体 DNA では通常増幅可能な PCR 産物の大きさの範囲を越えるため，検体としては mRNA を逆転写して合成される cDNA を用いる必要がある [d]．PCR 産物の大きさを知ることでどの variant であるかを知ることが可能であるが，特定の variant の PCR 産物が大きくなりすぎないように配慮する必要がある．また，この方法では高品質の RNA とともに高い RT-PCR の技術が必要とされる．通常の FFPE 標本から高品質の RNA を抽出するのは困難であり，この方法を FFPE 標本に適用するのは適切ではない [10]．また，EML4-ALK を検出するように設計された PCR プライマーからは，当然 *KIF5B-ALK* や *TFG-ALK* などの転座は検出できず，未知のパートナーに対応できないということに留意する必要がある．

[c] 通常遺伝情報の流れは DNA->RNA->タンパクであるが，レトロウイルスといわれる一群のウイルスは RNA 依存性 DNA 合成酵素をもっている．この酵素は reverse transcriptase（逆転写酵素）という．

[d] 細胞の核から抽出される DNA は genomic DNA（染色体 DNA）であり，これにはタンパク質合成の設計図となる部分（エクソン）とタンパク質には翻訳されない部分（イントロン）がある．タンパク質合成の前にまず DNA はメッセンジャーRNA（mRNA）に転写（transcription）されるが，この際イントロン部分が飛ばして転写される．これをスプライシング（splicing）と呼ぶ．さらに mRNA からタンパク質が合成される過程を翻訳（translation）という．RNA から上述の逆転写酵素を用いて合成された DNA を cDNA（complementary DNA）といい，イントロン部分がない．これに対して染色体 DNA を gDNA と記載することがある．

2-1．RT-PCR の検査

リアルタイム PCR 法を原理としたコンパニオン診断薬として,2021 年 9 月に「AmoyDx®肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル」が保険償還された．現在 11 ドライバー遺伝子の変異を同時に検出することが可能で，このうち 7 ドライバー遺伝子（*EGFR*/*ALK*/*ROS-1*/*BRAF*/*MET*/*RET*/*KRAS*）について，非小細胞肺癌における 13 の抗悪性腫瘍薬の適応判定に用いることが可能となった. 実際の運用については,「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」についても参照されたい.

2-2．RT-PCR の検体

核酸抽出後には腫瘍細胞が含まれていたかの検証ができないため, いかにその確証を取るかが重要となってくる. 具体的には, 検体採取後, ホルマリン固定する組織と対になるように組織を採取し，直ちに RNAlater などの RNA 分解阻害剤で処理する必要がある．また, 細胞診検体では生食や PBS でよく攪拌して腫瘍細胞の分布に偏りをなくす必要がある．EGFR 遺伝子変異はサンプルから DNA を抽出して解析するが，ALK では RNA をもとに解析するので, 検体処理法が異なることに留意が必要である．より一般的な方法としては，腫瘍組織の一部を OCT コンパウンドに包埋し, 凍結切片を用いることで, 腫瘍細胞に富んだ領域から選択的に DNA もしくは RNA を取ることが可能である．また，スタンプ法は，生検組織，切除材料ともに用いることができるが, 腫瘍細胞が選択的にスライドに付着するため [51], そのアルコール固定標本は良い解析サンプルとなる.

3．IHC 法

ALKIHC 法は，その転座を有するリンパ腫の同定に有用であるが，肺癌における EML4-ALK は，これまで未分化大細胞型リンパ腫に用いてきた IHC 法では検出されにくいことがわかっている [52]. すなわち肺癌においては肺癌用に至適化されたIHC法が必要である. 本邦においては, ニチレイバイオサイエンス社よりヒストファイン ALK iAEP®キットが, Ventana 社より OptiView ALK（D5F3）がコンパニオン体外診断薬として IVD 承認を取得している．従来は薬剤と対応しての承認であったが，どちらのテストにおいても，アレクチニブ，クリゾチニブの適応を判断することができる．セリチニブ，ロルラチニブおよびブリグチニブについては OptiView ALK（D5F3）のみ適応の判断に用いることができる.

3-1．検体

FISH 法とほぼ同様に未染薄切標本によって検討がなされる. 抗原賦活化処理による薄切組織脱離を防止するため，コートスライドグラスを用いる必要がある．少なくとも 1 枚の未染標本があれば IHC による検討が可能であるが，FISH 検体用に同時に未染標本を作っておくとよい．通常予備を含めて 3～4 枚の未染標本が必要である．重要な点は，これらのうちの 1 枚を HE 染色し，腫瘍細胞の存在を確認することである．特に TBLB 標本では，病理診断の後に再薄切して作製した標本では組織自体がほとんどなくなったり, 腫瘍細胞が消失してしまうことがあるので注意を要する.

IHC 法では, FISH 法よりも少ない細胞数での評価が可能であり, 腫瘍細胞量の乏しい検体においても施行できる点は長所となる．組織の固定については，FISH の項で解説したとおり，ASCO/CAP による浸潤性乳癌における HER2 検査ガイドラインに従って固定を行うことが求められる.

3-2．抗原賦活処理

ホルマリン固定では，タンパク質にメチレン架橋が形成され，これにより抗原抗体反応の低下（抗原のマスキング）が起こることが知られている．抗原賦活化とは，これを熱処理やタンパク分解酵素処理などを用いて抗原性を回復することをいい，ALK 染色の場合はもともと発現量が少ないこともあり必須の工程である. 使用する抗原賦活処理液は, 染色結果に大きな影響を与えることから, 方法に適した処理液の選択が不可欠となる. この段階で切片が剥離することがあるので, 剥離防止用にコートされたスライドグラスを用いる必要がある.

3-3．検出キットによる違い

iAEP キットと OptiView ALK キットではその染色特性

が異なる．iAEP では，一般的な免疫染色と同等の染色態度で，比較するとシグナル強度はやや弱めで，非特異的バックグラウンドシグナルは少ない．
OptiView ALK キットでは，シグナル増幅のためドット状に染色され，シグナル強度は強く，非特異的シグナルも強い傾向がある [53].

3-4．検出法（増感法）

通常の現在ルーチン検査で用いられている IHC 法では，ポリマー法などの検出法が用いられているが，肺癌の ALK IHC においては高感度法を用いる必要がある．iAEP キットではリンカー法が（図 8），OptiView ALK キットではタイラマイド法が用いられている．

4．NGS 法

オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム（以下，オンコマイン DxTT），Foundation One CDx がんゲノムプロファイル（以下，Foundation One CDx），Foundation One Liquid CDx がんゲノムプロファイル（以下，Foundation One Liquid CDx），GenMineTOP がんゲノムプロファイリングシステム（以下，GenmineTOP）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（以下，コンパクトパネル）などのコンパニオン診断テストを含んだ遺伝子パネル検査が IVD として認可されている．日本肺癌学会ではこれらのコンパニオン診断部分に対して手引きを作成しており，詳細はそれを参照されたい．*ALK* 検査において NGS 法として知っておかなくてはならないのは，オンコマイン DxTT，コンパクトパネルはアンプリコンシークエンスであり，既存の融合遺伝子しか検出ができないのに対し，Foundation One CDx および Foundation One Liquid CDx，GenmineTOP は capture hybrid 法を用いているため，これまで報告されていないパートナーとの融合遺伝子も検出できる点である．オンコマイン DxTT および Foundation One CDx，GenmineTOP はいずれの方法も 20%以上，コンパクトパネルは 5%以上の腫瘍細胞含有量を有する検体に対してのテストであり，検体を提出する前に病理診断医による確認が必要である．また，Foundation One Liquid CDx は血液検体を用いるため，検体の採取に関して侵襲性が低く採取しやすいというメリットがある一方で，ctDNA

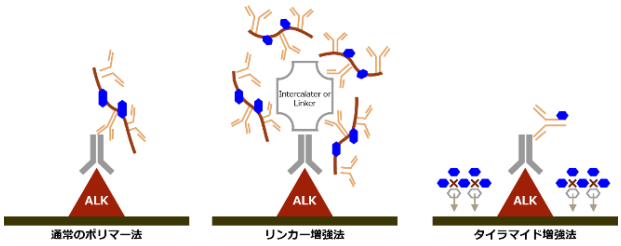


図 8.　免疫染色による増感法
図では通常のポリマー法と感度増強法の違いを示している．

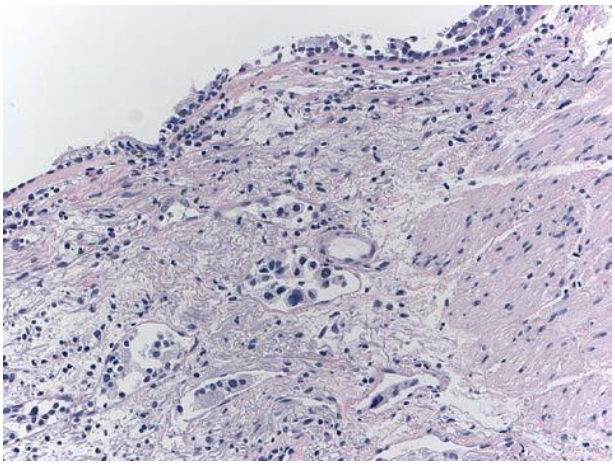


図 9.　TBLB による組織標本の一例
腫瘍細胞は気管支粘膜内のリンパ管に沿って進展しており，免疫染色（TTF-1 陽性）とあわせて腺癌と診断できるが，十分な腫瘍細胞が得られないため，FISH 法による ALK テストには不適切と判断された．ALK テスト用の検体は病理医により評価される必要がある．

（circulating tumor DNA: 血中循環腫瘍 DNA）の量が不十分な場合，正確な検査結果が得られない可能性があることに留意する必要がある．さらに組織検体と血液検体における検査結果の一致率は 74.6%とする報告もあり検査結果の解釈には注意を要する [54].

5．標本の選択

上記の *ALK* 検査法を施行するため，手術切除標本，転移巣の切開生検標本，内視鏡や針生検などによる小生検組織，胸水細胞診検体など様々な検体が用いられている．これらの組織内に腫瘍細胞が含まれていなければ，その組織から得られる結果は意味ももたず，偽陰性の原因にもなる．そのため，*ALK* 検査法の種類に応じた十分量の腫瘍細胞が検体内に含まれていることを病理部門が確認する必要がある．例えば図 9 の検体が得られた場合，すべての腫瘍細胞で FISH 法によるシグナル観察が可能であっても，規定である 100 個の腫瘍細胞は得られないため，腺癌と診断できたとしても FISH 法による *ALK* 検査は原則不可と評価すべきである．それぞれの検体種ごとのおおよその目

安を表 4 に示した．特に細胞の変性が強い傾向をもつ生検組織は十分な観察のうえで *ALK* 検査に供されるべきか決定されるべきである．

5-1．セルブロック作製の推奨

組織をもとにした標本ではいずれの検索方法においても問題はないが（図 10-1），細胞検体では工夫が必要である（図 10-2）．胸水検体などの細胞検体のみで，検査が必要な場合はセルブロックの作製が推奨され，CAP/IASLC/CAP のガイドラインでも，*EGFR* 変異検査利用も含めて，スメアではなく，セルブロックによる検討を推奨している．いったんセルブロックを作製してしまえば，腺癌・扁平上皮癌を区別するための IHC 法検査，*EGFR* 変異検査，ALK IHC 法および FISH 法検査，すべてに利用可能である．セルブロックの作製に関しては様々な方法が用いられているが，標準化はされていない．FISH プローブキット（アボット社）の 2014 年 7 月の添付文書改訂に伴い，対象検体に FFPE 細胞ペレットが追加されたことから，細胞をホルマリン固定する作製法を選択すべきである．代表的な方法について表 5 にまとめた．

表 4.　ALK テストに必要な実践的腫瘍細胞量

方法	最低必要細胞	実践的な腫瘍細胞量	備考
FISH法	100個	200-500個以上	すべての細胞で評価可能なシグナルが得られるわけではないため，実際には数百個の腫瘍細胞が必要となる．
IHC法	確実に腫瘍細胞と確定できる細胞1個	100個以上	アーチファクトを除外したり，神経内分泌形態や粘液産生細胞であることを認識するためには，組織構築をある程度判断できる腫瘍細胞量が必要．また，免疫染色による TTF-1 陽性所見や神経内分泌マーカー陰性所見はサンプル適否の判断に重要な参考所見になる．
RT-PCR法	1%以上の腫瘍細胞含有率	5%以上の腫瘍細胞含有率	EML4-ALK の場合，プライマー配列の特徴から RT-PCR 法は極めて感度が高い．しかしながら，細胞診で確実に腫瘍細胞陽性と判断できるのは，施設にもよるが，おおよそ 5%以上であり，細胞診陽性所見なしでの結果は意味がないと評価される．
NGS法	20%以上の腫瘍細胞核含有率*	20%以上の腫瘍細胞核含有率*	Hybrid Capture 法および Amplicon 法いずれにおいても平均リード数が 1000-2000 であり，実際の検出感度は RT-PCR 法よりさらに高い 20% の腫瘍含有量が必要とされている（＊コンパクトパネルは 10% 以上の腫瘍含有量）．

表 5.　代表的なセルブロック作成法

細胞ボタン方法

a. 吸引サンプルまたはサイトスピン検体を，拡散したり塗り付けたりしないように，スライドグラス上に静かに1滴滴下する.
b. 数秒間付着させた後に，スライドを注意深くエタノールに浸漬して固定する.
c. 固定が終わったボタン様の滴下物を静かにメスの刃で剥がし，生検標本と同様に処理する.

血漿トロンビン法

a. 細胞診材料を2,500rpmで10分間遠心分離機にかける.
b. 上清を取り除く.
c. 2滴の沈殿物をピペットで先細の小チューブ（エッペンドルフチューブなど）へ移す.
d. 200μLの血漿を加えて，標本を短時間ミキサーで混和する.
e. 50μLのトロンビンを加えて，標本を短時間ミキサーで混和する.
f. 標本を5分間インキュベートする.
g. ゲル化した細胞塊を埋め込みカセット（2つのフィルターパッドの間）に入れ，カセットを閉じる.
h. 10%緩衝ホルマリン液中で材料を固定する.
i. 固定標本を取り出し，生検の小標本と同様に処理する.

アルギン酸ナトリウム法

a. 液状検体の遠心沈殿物を，10%緩衝ホルマリン液内で溶解，浮遊させ2-3時間固定する.
b. 遠心分離機によって固定細胞のペレットを集め，ホルマリン上清を注ぎ落とし，蒸留水で洗浄する.
c. 遠心分離機にかけ，ペレットを0.5mLの1%アルギン酸ナトリウムで再浮遊させる.
d. ナトリウムカルシウム（1M）を溶液に加え，ゲル化させる.
e. ゲル化した材料を鉗子で採取し，生検の小標本と同様に処理する.

グルコマンナン法

a. 液状検体の遠心沈殿物を，10%緩衝ホルマリン液内で溶解，浮遊させ2-3時間固定する.
b. 遠心分離機によって固定細胞のペレットを集め，ホルマリン上清を注ぎ落とし，蒸留水で洗浄する.
c. 遠心分離機にかけ，ペレットをグルコマンナン-ホルマリン溶液（HOLDGEL 110:アジア器材）に加える.
d. メタノールに3時間以上浸し，グルコマンナンをゲル化させる.
e. ゲル化した材料を鉗子で採取し，生検の小標本と同様に処理する.

IASLC ALK/ROS1 Atlas より

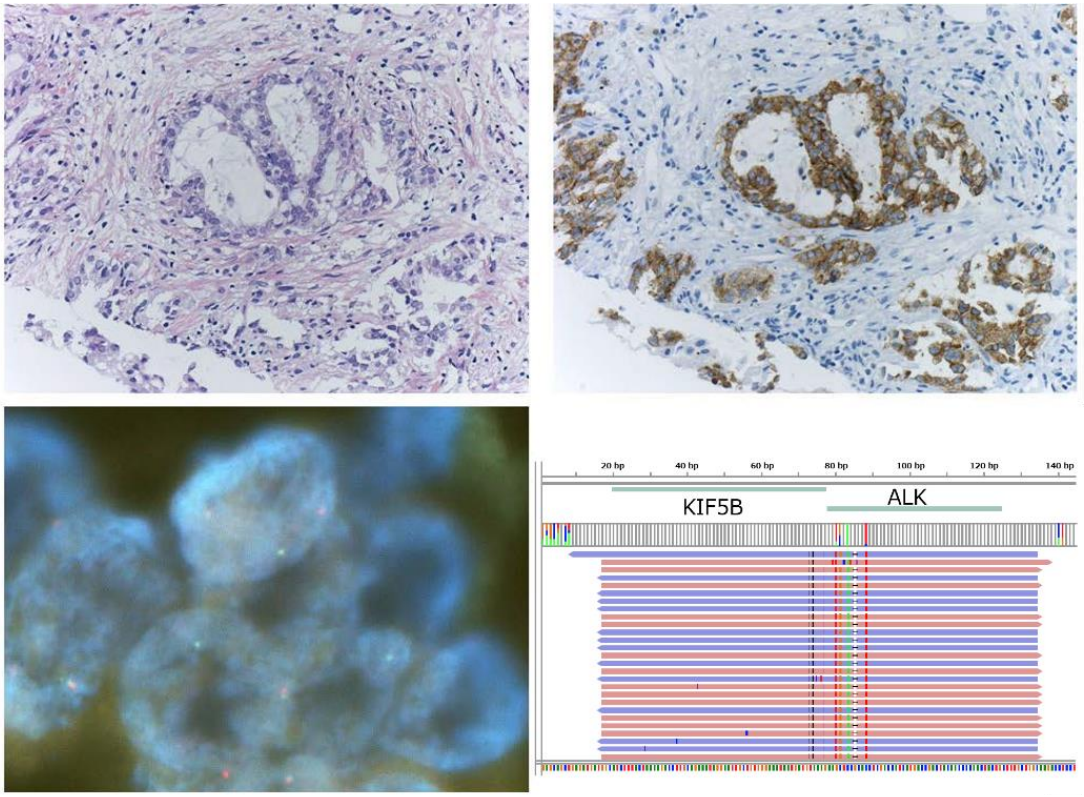


図 10-1.　生検組織での検出例

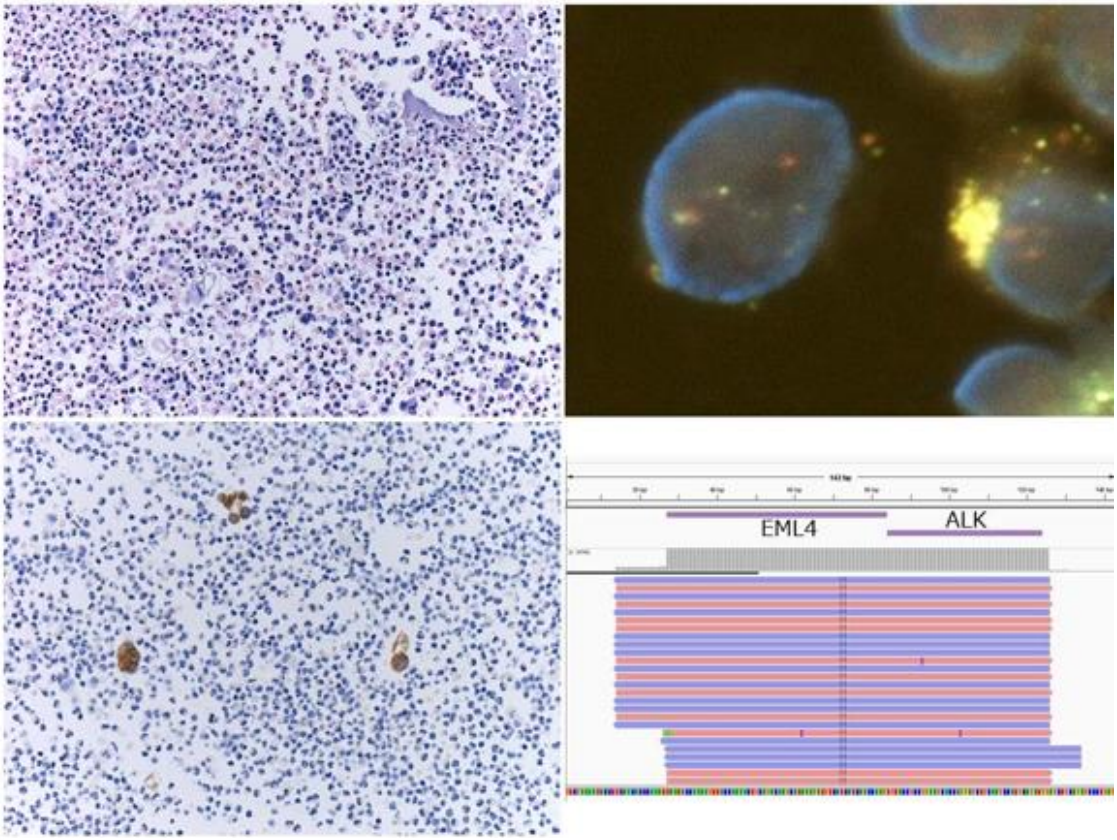


図 10-2.　細胞診セルブロックにおける検出例

（7）結果の報告

腫瘍の分子病理診断の標準的な報告と同様に，*ALK* 検査も，解析前（preanalytic），解析（analytic），結果（results），および解釈／結論（interpretation/conclusion）について以下の内容が記載されている必要がある.

解析前セクション

患者情報および標本の種類および診断の概要が記載される必要がある.

標本の種類: 切除標本, 切開生検, 生検組織（気管支／経気管支生検，針生検），FNA 細胞診，液状検体（胸水，脊髄液）

組織の提出状態: ホルマリン固定標本，セルブロック標本，これらの未染標本（標本の種類を記載する）

腫瘍細胞の評価:

- IHC 法，FISH 法，および/または RT-PCR 法検査のために検体に十分量の腫瘍細胞があるか否かを評価するための, 切片内での推定される腫瘍細胞割合（切片内のすべての核と比較した腫瘍細胞の核のパーセント）およびその評価者氏名
- マクロダイセクションなどの手法により腫瘍細胞に富んだ領域を選択したか否か: 施行した場合はその後の DNA/RNA が抽出される組織での腫瘍細胞割合
- 壊死の範囲, 炎症性細胞浸潤, 炭肺, および組織のアーティファクトの有無
- 情報があれば, 追加診断用免疫組織化学マーカー, 例えば TTF-1，p63/p40，および粘液染色による検査結果

総合的な標本の適切性: 「検査に適正」あるいは「不適（suboptimal）」の別．不適切であった場合はその理由を述べる.

解析セクション

解析方法の検出感度および診断基準とともに，基本的な操作手順記載される. 再検査や検査施設間の結果の相違に備えて, 別の検査施設が何を行ったのか理解できるように十分な情報を提供すべきである.

- *ALK* FISH 法: 使用試薬名および陽性結果判定に使用される診断基準
- ALK IHC 法: 使用試薬名 , 抗体の濃度, インキュベーション時間および温度，および二次シグナルの増強システム
- *ALK* RT-PCR 法: 方法，プライマー，プローブおよびその陽性コントロール，解析法の検出感度

ALK 検査に限らず，精度管理は遺伝子検査の重要な情報である．精度管理の種類，施行時期，結果について簡便に記載すべきである.

結果セクション

検査結果を記載する．偶然見つかった所見やその意義がわからないバリアントなども含まれる. 結果が不確定である場合は，それを明確に記載すべきである．結果は，腫瘍医および専門外の病理医が容易に結果を理解できるように ALK 融合遺伝子陽性または陰性として報告されるべきである. また, 得られた付加的情報についても記載されるべきである.

- *ALK* FISH 法: 解析された細胞の数および陽性パターンを示した細胞の数とパーセント．非定型パターンがみられたら，International Systems for Human Cytogenetic Nomenclature（ISCN）による表記がなされるべきである.
- ALK IHC 法: 陽性腫瘍細胞パーセント，染色強度，および染色パターンとともに, 結果は陽性, 陰性または評価不能として報告されるべきである．結果が評価不能の場合，その理由について説明をすべきである.
- *ALK* RT-PCR 法: これまで,「バリアント 1」などと記載されてきたが，融合パターン，例えば *EML4-ALK*（E13;A20）, についての情報も付け加えることが推奨されている．（詳細な命名法は http://atlasgeneticsoncology.org/Tumors/inv2p21p23NSCCLungID5667.html で入手可能）
- NGS 法: 標準的な遺伝子パネル報告の記載についての推奨に沿った報告様式を用いる [55, 56].

解釈／結論

以下の項目が含まれるべきである.

容易で理解しやすい臨床的解釈：これは遺伝子検査結果や腫瘍が，ALK 阻害薬治療に反応するかもしくは抵抗するかの可能性（臨床的エビデンスを考慮しながら）も含まれる.

評価不能であった場合，同一標本での再検査の意義や他の標本を用いた検討の可能性について記載されるべきである.

（8）*ALK* 遺伝子検査のアルゴリズム（図 11）

これまで *ALK* 融合遺伝子を検出には，IHC によるスクリーニングを行い，陽性であれば，FISH でそれを確認するアルゴリズムが用いられてきた．*ALK* 融合遺伝子陽性非小細胞肺癌は非小細胞肺癌の 4-5%を占めるにすぎず，迅速で効率の良いスクリーニングが臨床的に求められてきたからである．しかしながら，IHC と FISH による結果の一致率は非常に高く，不一致があった場合にもその原因についての解析も進んでいる．これらの状況の変化を背景に，改正版 CAP/IASLC/AMP 遺伝子検査ガイドラインでは，ALK IHC を FISH に並ぶ患者選択の手段として十分な性能を有することをシステマティックレビューで示した．また，米国 FDA および本邦においても，コンパニオン診断の改定が行われ，IHC での患者選択が可能になった．したがって，これまで IHC 陽性所見が得られた後に行っていた FISH は必要とされなくなった．また，近年は *ALK* 融合遺伝子結果もわかる遺伝子パネル検査（NGS 法，RT-PCR 法）もコンパニオン診断として加わり，これらの結果のみでも患者選択可能となった.

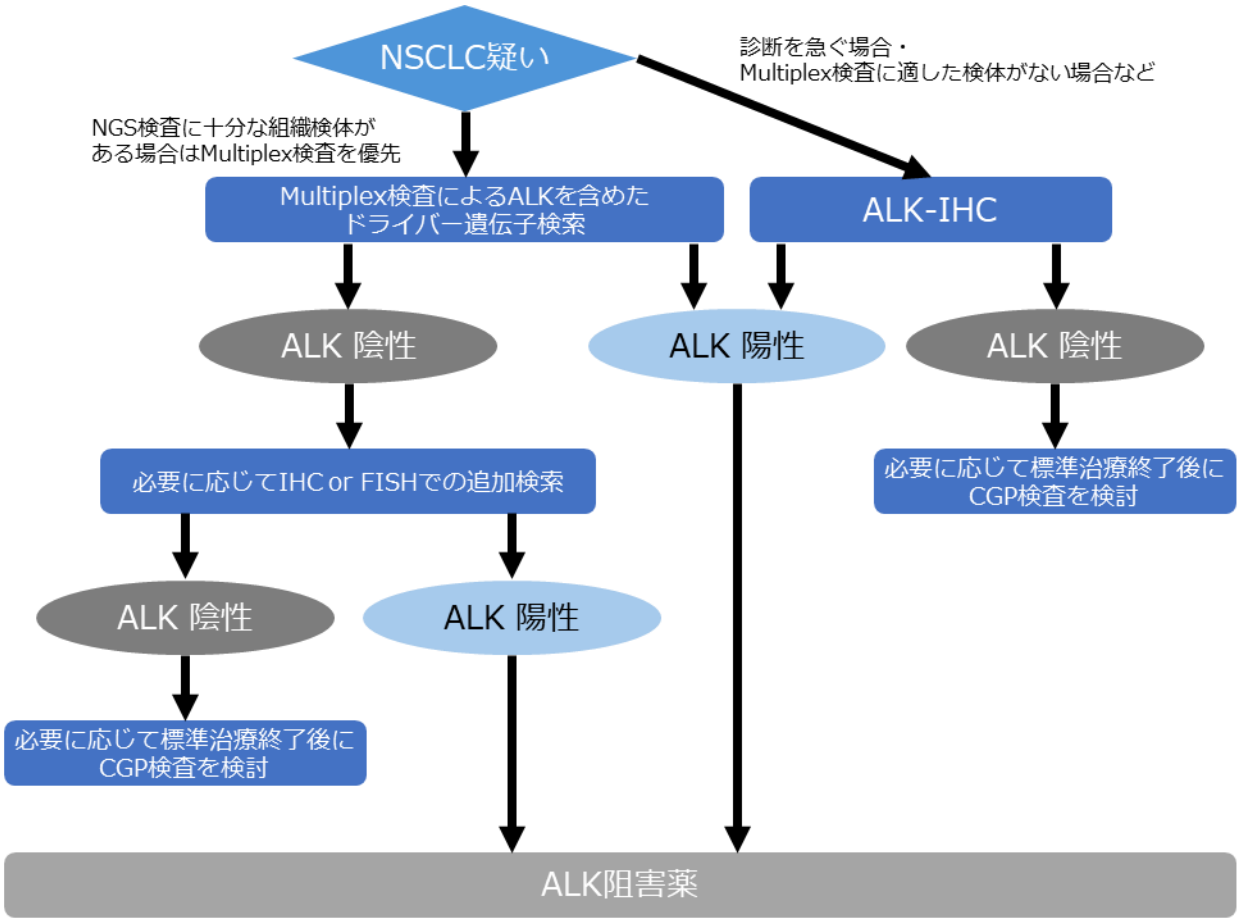


図 11.　ALK 遺伝子検査のアルゴリズム

これら４つの検査方法を用いることができるが，それぞれの検査で,以下の pitfalls もあることが知られている.

FISH 法	• 陽性細胞が境界領域にある場合は，その結果は不安定であることが多い.
	• isolated 5' predominant パターンに代表される非定型的シグナルでは規定上は陰性となるものの，ALK 融合遺伝子陽性例が含まれることが知られている.
IHC 法	• 小細胞癌や神経内分泌大細胞癌では陽性反応が認められることがある．これは部分的なことが多いが，強いシグナルの場合もある.
	• マクロファージなどに非特異的な強陽性像で，腫瘍細胞が確認できず，陽性とされる場合もある．これは特に生検組織に多い.
NGS 法	• 結果が得られる検査成功率が高くないため，結果が出てこない場合もある.
RT-PCR 法	• NGS 法ほどではないがある程度の検体量と質が求められ，結果が左右される可能性がある.

これらの方法のどれを選択すべきかはそれぞれの施設での状況もあると考えられるが, それぞれのアッセイで長所および短所があり, いずれの方法も少数例ながら検出できない症例も出てくる．1 つの方法のみならず，結果が確実といえない場合もしくは臨床病理像から *ALK* 融合遺伝子が少しでも疑われる場合は, 異なる方法で再検査をすべきである. ETOP での検証では, IHC を施行するとともに, FISH, RT-PCR, NGS のいずれかを施行し, 一致した結果が得られることを推奨している [57].

なお，結果が確実とはいえない場合とは，FISH における非定型シグナルや, 境界領域での陽性細胞数を指す．免疫染色においては, 小細胞癌や神経内分泌癌を否定できない場合，弱陽性像（H-Score 120 以下）や不均一陽性像などを指す．また，臨床病理学的な像と異なる場合とは，若年腺癌や, 組織学的な特徴をもつ腺癌（粘液産生を伴う篩状増生パターンを示す腺癌や，印環細胞癌などの TTF-1 陽性の粘液産生性腺癌）で陰性となる場合などが対象となる.

（９）ALK 検査の保険適用

2024 年 8 月現在，IVD 承認コンパニオン体外診断薬として以下の検査がある．なお，冒頭でも述べたが，ALK 阻害薬とそのコンパニオン診断薬に関する情報は頻繁に更新されるため，最新の情報については常に PMDA ホームページ内のコンパニオン診断薬等の情報（ https://www.pmda.go.jp/review-services/drug-reviews/review-information/cd/0001.html）を確認いただきたい.

- FISH: N005-2 *ALK* 融合遺伝子標本作製 6,520 点

ALK 阻害薬の投与の適応を判断することを目的として，FISH 法により遺伝子標本作製を行った場合に，当該薬剤の投与方針の決定までの間に 1 回を限度として算定する.

- IHC: N002 免疫染色（免疫抗体法）病理組織標本作製, 6. ALK 融合タンパク 2,700 点

ALK IHC 適応の際の通知：非小細胞肺癌患者に対して，ALK 阻害薬の投与の適応を判断することを目的として，ブリッジ試薬を用いた免疫組織染色法により病理標本作製を行った場合に，当該薬剤の投与方針の決定までの間に 1 回を限度として算定する.

- RT-PCR:

肺癌関連遺伝子多項目同時検査（７項目）12,500 点

D006-24 肺癌関連遺伝子多項目同時検査　10,000 点

D004-2　悪性腫瘍組織検査

1　悪性腫瘍遺伝子検査　イ（１）2,500 点

肺癌患者の腫瘍組織を検体として EGFR/ROS1/ALK/BRAF/MET/KRAS/RET の遺伝子検査をリアルタイム PCR 法により同時に実施した場合に 1 回に限り算定する.

● NGS:

・オンコマイン ™ Dx Target Test マルチ CDx システム: 18,000 点

D004-2　悪性腫瘍組織検査

1 悪性腫瘍遺伝子検査

注 1 口　3 項目　　6,000 点

注 2 口　3 項目以上　12,000 点

注：以下の FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイルおよび FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル検査は，ALK 陽性肺がんにおけるいくつかの ALK-TKI のコンパニオン診断薬として承認されているが，実際にはがんゲノム外来を通じて行われるエキスパートパネル検査において施行されなければ保険点数の問題などもあり，個別に行われることはないと考えられる．

・FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル：56,000 点

D006-19　がんゲノムプロファイリング検査 48,000 点

B011-5　がんゲノムプロファイリング評価提供料 12,000 点

・FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル： 56,000 点

D006-19　がんゲノムプロファイリング検査 48,000 点

B011-5　がんゲノムプロファイリング評価提供料 12,000 点

血液検体を用いた CGP 検査については，2022 年度の診療報酬改定において，組織検体を用いた CGP 検査ができない場合に算定が可能であることに加え，組織検体を用いた CGP 検査で結果を得られなかった場合に 2 回目の CGP 検査として血液検体を用いた CGP 検査を行うことができるようになった．

（１０）おわりに・・・実地診療と *ALK*

ALK 陽性肺癌は全肺癌の数パーセントを占めるにすぎず，その対象は限られている．しかしながら，*ALK* 転座肺癌において ALK チロシンキナーゼ阻害薬の効果は著明であることが多く，正しい患者選択を行うことが最重要であることはいうまでもない．しかし，*ALK* 肺癌の診断は，肺癌における *EGFR*，乳癌や胃癌における *HER2* 検査などの種々の遺伝子検査の中にあっても難しい点が多い．日本肺癌学会が中心となって衆中の知恵を結集し，この頻度は低いが治療効果の高い遺伝子変異をもつ肺癌の個別化治療を成功させたいものである．このために本手引きが一助となれば幸いである．

参考文献

1. 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.

2. 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.

3. Mano H. Non-solid oncogenes in solid tumors: EML4-ALK fusion genes in lung cancer. Cancer science 2008;99:2349-2355.

4. Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. Cell 2007;131:1190-1203.

5. Soda M, Takada S, Takeuchi K, et al. A mouse model for EML4-ALK-positive lung cancer. Proc Natl Acad Sci U S A 2008;105:19893-19897.

6. Chiarle R, Voena C, Ambrogio C, et al. The anaplastic lymphoma kinase in the pathogenesis of cancer. Nat Rev Cancer 2008;8:11-23.

7. Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y, et al. KIF5B-ALK, a novel fusion oncokinase identified by an immunohistochemistry- based diagnostic system for ALK-positive lung cancer. Clin Cancer Res 2009;15:3143-3149.

8. Wong DW, Leung EL, Wong SK, et al. A novel KIF5B-ALK variant in nonsmall cell lung cancer. Cancer 2011.

9. 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;18:1167-1176.

10. 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;8:823-859.

11. 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;18:1472-1482.

12. Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, et al. EML4-ALK lung cancers are characterized by rare other mutations, a TTF-1 cell lineage, an acinar histology, and young onset. Mod Pathol 2009;22:508-515.

13. Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S, et al. Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the western population. Clin Cancer Res 2009;15:5216-5223.

14. Camidge DR, Doebele RC. Treating ALK-positive lung cancer--early successes and future challenges. Nat Rev Clin Oncol 2012;9:268-277.

15. 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.

16. 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.

17. 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;36:2251-2258.

18. Hida T, Nokihara H, Kondo M, et al. Alectinib versus crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer（J-ALEX）: an open-label, randomised phase 3 trial. Lancet 2017;390:29-39.

19. Seto T, Kiura K, Nishio M, et al. CH5424802（RO5424802）for patients with ALK-rearranged advanced non-small-cell lung cancer（AF-001JP study）: a single-arm, open-label, phase 1-2 study. Lancet Oncol 2013;14:590-598.

20. Tamura T, Kiura K, Seto T, et al. Three-Year Follow-Up of an Alectinib Phase I/II Study in ALK-Positive Non-Small- Cell Lung Cancer: AF-001JP. J Clin Oncol 2017;35:1515-1521.

21. Nakagawa K, Hida T, Seto T, et al. Antitumor activity of alectinib（CH5424802/RO5424802）for ALK-rearranged NSCLC with or without prior crizotinib treatment in bioequivalence study. J Clin Oncol 2014;32:abstr 8103.

22. Gadgeel SM, Gandhi L, Riely GJ, et al. Safety and activity of alectinib against systemic disease and brain metastases in patients with crizotinib-resistant ALK-rearranged non-small-cell lung cancer（AF-002JG）: results from the dose- finding portion of a phase 1/2 study. Lancet Oncol 2014;15:1119-1128.

23. Hida T, Seto T, Horinouchi H, et al. Phase II study of ceritinib in alectinib-pretreated patients with anaplastic lymphoma kinase-rearranged metastatic non-small-cell lung cancer in Japan: ASCEND-9. Cancer science 2018;109:2863-2872.

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. Gadgeel S, Peters S, Mok T, et al. Alectinib versus crizotinib in treatment-naive anaplastic lymphoma kinase-positive（ALK+）non-small-cell lung cancer: CNS efficacy results from the ALEX study. Ann Oncol 2018;29:2214-2222.

26. 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

27. Wu YL, Dziadziuszko R, Ahn JS, et.al. Alectinib in Resected ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med 2024;390:1265-1276.

28. Shaw AT, Kim DW, Mehra R, et al. Ceritinib in ALK-rearranged non-small-cell lung cancer. N Engl J Med 2014;370:1189-1197.

29. Crino L, Ahn MJ, De Marinis F, et al. Multicenter Phase II Study of Whole-Body and Intracranial Activity With Ceritinib in Patients With ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer Previously Treated With Chemotherapy and Crizotinib: Results From ASCEND-2. J Clin Oncol 2016;34:2866-2873.

30. Hida T, Satouchi M, Nakagawa K, et al. Ceritinib in patients with advanced, crizotinib-treated, anaplastic lymphoma kinase-rearranged NSCLC: Japanese subset. Jpn J Clin Oncol 2017;47:618-624.

31. 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. The Lancet Oncology 2017;18:874-886.

32. Soria J-C, 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. The Lancet 2017;389:917-929.

33. Cho BC, Kim D-W, Bearz A, et al. ASCEND-8: A Randomized Phase 1 Study of Ceritinib, 450 mg or 600 mg, Taken with a Low-Fat Meal versus 750 mg in Fasted State in Patients with Anaplastic Lymphoma Kinase（ALK）-Rearranged Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer（NSCLC）. J Thorac Oncol. 2017;12:1357–1367.

34. Cho BC, Obermannova R, Bearz A, et al. Efficacy and Safety of Ceritinib（450 mg/d or 600 mg/d）With Food Versus 750-mg/d Fasted in Patients With ALK Receptor Tyrosine Kinase（ALK）-Positive NSCLC: Primary Efficacy Results From the ASCEND-8 Study. J Thorac Oncol. 2019;14:1255–1265.

35. 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 discovery 2016;6:1118-1133.

36. 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;18:1590-1599.

37. 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;19:1654-1667.

38. Besse B, Solomon B, Felip E, et al. Lorlatinib in patients（Pts）with previously treated ALK+ advanced non-small cell lung cancer（NSCLC）: Updated efficacy and safety. J Clin Oncol 2018;36:Abstr 9032.

39. Shaw AT, Martini JF, Besse B, et al. Efficacy of lorlatinib in patients（pts）with advanced ALK-positive non-small cell lung cancer（NSCLC）and ALK kinase domain mutations. AACR Anuall Meeting 2018:ABstr CT044.

40. Bauer TM, Shaw AT, Johnson M, et al. Brain Penetration of Lorlatinib and Cumulative Incidence Rates for CNS and Non CNS Progression from a Phase 1/2 Study. . J Thorac Oncol 2018;2018:S382-S383.

41. 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.

42. Camidge DR, Kim HR, Ahn M-J, et al. Brigatinib Versus Crizotinib in Advanced ALK Inhibitor-Naive ALK-Positive Non-Small Cell Lung Cancer: Second Interim Analysis of the Phase III ALTA-1L Trial. J Clin Oncol. 2020;38:3592–3603.

43. Nishio M, Yoshida T, Kumagai T, et al. Brigatinib in Japanese Patients With ALK-Positive NSCLC Previously Treated With Alectinib and Other Tyrosine Kinase Inhibitors: Outcomes of the Phase 2 J-ALTA Trial. J Thorac Oncol. 2021;16:452–463.

44. Camidge DR, Kim HR, Ahn M-J, et al. Brigatinib versus Crizotinib in ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2018;379:2027–2039.

45. Watanabe S, Hayashi H, Okamoto K, et al. Progression-Free and Overall Survival of Patients With ALK Rearrangement-Positive Non-Small Cell Lung Cancer Treated Sequentially With Crizotinib and Alectinib. Clin Lung Cancer 2016;17:528-534.

46. Duruisseaux M, Besse B, Cadranel J, et al. Overall survival with crizotinib and next-generation ALK inhibitors in ALK- positive non-small-cell lung cancer（IFCT-1302 CLINALK）: a French nationwide cohort retrospective study. Oncotarget 2017;8:21903-21917.

47. Asao T, Fujiwara Y, Itahashi K, et al. Sequential Use of Anaplastic Lymphoma Kinase Inhibitors in Japanese Patients With ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer: A Retrospective Analysis. Clin Lung Cancer 2017;18:e251-e258.

48. 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;36:1199-1206.

49. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, et al. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. J Clin Oncol 2013.

50. Takeuchi K, Choi YL, Soda M, et al. Multiplex reverse transcription-PCR screening for EML4-ALK fusion transcripts.Clin Cancer Res 2008;14:6618-6624.

51. Maitra A, Wistuba, II, Virmani AK, et al. Enrichment of epithelial cells for molecular studies. Nat Med 1999;5:459- 463.

52. Mino-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, et al. A novel, highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. Clin Cancer Res 2010;16:1561-1571.

53. Marchetti A, Di Lorito A, Pace MV, et al. ALK Protein Analysis by IHC Staining after Recent Regulatory Changes: A Comparison of Two Widely Used Approaches, Revision of the Literature, and a New Testing Algorithm. J Thorac Oncol 2016;11:487-495.

54. Shu Y, Wu X, Tong X, et al. Circulating Tumor DNA Mutation Profiling by Targeted Next Generation Sequencing Provides Guidance for Personalized Treatments in Multiple Cancer Types. Sci Rep. 2017;7:583.

55. 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;19:4-23.

56.合同ワーキング・グループ．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ダンス（第 1.0 版）.2017/10/11. Available at https://www.jsmo.or.jp/about/doc/20171011_01.pdf.

57. Letovanec I, Finn S, Zygoura P, et al. Evaluation of NGS and RT-PCR Methods for ALK Rearrangement in European NSCLC Patients: Results from the European Thoracic Oncology Platform Lungscape Project. J Thorac Oncol 2018;13:413-425.

58. 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;13:323-358.

59. 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.

60. 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;20:129-159.

61. 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:JCO2017767293.

2024 年 4 月改訂 ・ 2024 年 9 月改訂

追補 1.　改定版 CAP/IASLC/AMP チロシンキナーゼ阻害薬標的治療の患者選択のための遺伝子検査ガイドライン

Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment with Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors

Journal of Thoracic Oncology, Volume 13, Issue 3, Pages 323-358（March 2018）[58]

DOI: 10.1016/j.jtho.2017.12.001

Archives of Pathology & Laboratory Medicine, Volume 142, Issue 3, Pages 321-346（March 2018）[59]

DOI: 10.5858/arpa.2017-0388-CP.

Journal of Molecular Diagnostics, Volume 20, Issue 2, Pages 129-159（March 2018）[60]

DOI: 10.1016/j.jmoldx.2017.11.004

表 3.　アップデートされた推奨の概要（推奨度つき）[58]

2013年推奨	2018年推奨
専門家統一見解: 細胞検体は *EGFR* および *ALK* 検査に適している. セルブロック標本がスメア標本よりも望ましい.	推奨: 病理医はセルブロックやその他の細胞診検体を肺癌バイオマーカー遺伝子検査に適した検体として用いることができる.
専門家統一見解: 検査室は，*EGFR* 検査として，少なくとも 50%の腫瘍細胞を有する検体で変異を検出可能な検査法を用いるべきであり，10%程度の腫瘍細胞を含む検体でも検出可能なより感度の高い検査法を用いる（もしくはそれが可能な外部検査機関をもつ）ことが推奨される.	専門家統一見解: 検査室は 20%程度の腫瘍細胞を含む検体で分子異常を検出可能な肺癌バイオマーカー遺伝子検査法を用いる，もしくはそれが可能な外部検査機関をもつべきである.
推奨: EGFR-TKI 治療の患者選択に EGFR 免疫染色を用いることを推奨しない.	強い推奨: 検査室は免疫染色による総 EGFR 発現量を EGFR-TKI 治療の患者選択に用いるべきではない.

表 4. ガイドライン 2018 推奨一覧 [59]

ガイドライン推奨	推奨度
Key Question1: 肺癌患者に対しどの新しい遺伝子を検査すべきか？	
1. *ROS1* 検査は臨床的特徴にかかわらず，すべての肺腺癌患者において行わなければならない.	強く推奨
2. ROS1 タンパクのIHCは肺腺癌患者においてスクリーニング検査として使用することができる*1．しかし，ROS1 タンパクの IHC が陽性であった場合には，他の分子学的もしくは細胞遺伝学的診断法を用いて確認すべきである.	専門家統一見解
3. *BRAF* 遺伝子検査は，臨床試験を除いて，ルーチンの単独検査としては必要ない．多数のパネル検査の一遺伝子として，初回診断もしくは *EGFR*，*ALK*，*ROS1* 検査が陰性であった場合は，*BRAF* を含めることは妥当である.	専門家統一見解
4. *RET* 遺伝子検査は，臨床試験を除いて，ルーチンの単独検査としては必要ない．多数のパネル検査の一遺伝子として，初回診断もしくは *EGFR*，*ALK*，*ROS1* 検査が陰性であった場合は，*RET* を含めることは妥当である.	専門家統一見解
5. *ERBB2 (HER2)* 遺伝子検査は，臨床試験を除いて，ルーチンの単独検査としては必要ない．多数のパネル検査の一遺伝子として，初回診断もしくは*EGFR*，*ALK*，*ROS1* 検査が陰性であった場合は，*ERBB2 (HER2)* を含めることは妥当である.	専門家統一見解
6. *KRAS* 遺伝子検査は，臨床試験を除いて，ルーチンの単独検査としては必要ない．多数のパネル検査の一遺伝子として，初回診断もしくは*EGFR*，*ALK*，*ROS1* 検査が陰性であった場合は，*KRAS* を含めることは妥当である.	専門家統一見解
7. *MET* 遺伝子検査は，臨床試験を除いて，ルーチンの単独検査としては必要ない．多数のパネル検査の一遺伝子として，初回診断もしくは*EGFR*，*ALK*，*ROS1* 検査が陰性であった場合は，*MET* を含めることは妥当である.	
Key Question 2: 遺伝子検査ではどのような方法を用いるべきか？	
8. *ALK* 検査において IHC は FISH と同等の代替法である.	推奨
9. *EGFR*，*ALK*，*ROS1* 以外の治療選択肢を決定するためには，複数の単一遺伝子検査を行うよりも，遺伝子パネル検査が望ましい.	専門家統一見解
10. 検査室は，予期しない，一致しない，曖昧な，信頼性が低い結果が得られた場合，他の方法もしくは検体を用いて確認もしくは解決し検査結果を保証すべきである.	専門家統一見解
Key Question 3: 腺癌成分を含まない肺癌において遺伝子検査を行うことは適切か？	
11. 臨床医は臨床的特徴からドライバー変異を有する可能性が高い場合，腺癌以外の組織型において遺伝子バイオマーカー検査を行ってもよい.	専門家統一見解
Key Question 4: 分子標的治療耐性となった患者においてどのような検査が必要か？	
12. 臨床医は，EGFR-TKI 感受性 *EGFR* 遺伝子変異をもち，EGFR-TKI 治療後に増悪した肺腺癌患者において，第三世代 EGFR-TKI 治療適応を判断するために，*EGFR* T790M 変異検査を行わなければならない.	専門家統一見解
13. EGFR-TKI耐性となった患者における *EGFR* T790M 検査では，腫瘍細胞が5%と少ない検体においても*EGFR* T790M 変異を検出可能な検査法を用いるべきである.	推奨
14. ALK-TKI 感受性変異をもち，ALK-TKI 耐性となった肺腺癌患者に対して *ALK* 遺伝子変異をルーチンに検査するかしないか，現時点での根拠は不十分である.	推奨度なし
Key Question 5: 肺癌患者における血中遊離 DNA テストの役割はなにか？	
15. 現時点では，血漿遊離 DNA テストを用いて原発性肺腺癌の診断とすることを裏付ける根拠は不十分である.	推奨度なし
16. 臨床医は，組織検体が遺伝子検査を行うには少なかったり不良であったりした場合には，*EGFR* 遺伝子変異検査として血漿遊離 DNA 検査を用いることができる.	推奨
17. 臨床医は，EGFR-TKI 治療後に増悪した肺腺癌患者において，*EGFR* T790M 変異検査として血漿遊離 DNA 検査を用いることができる．ただし血漿検査が陰性であった場合は，組織検体を用いた検査が推奨される.	専門家統一見解
18. 現時点で，原発性肺腺癌の診断，*EGFR* やその他の遺伝子変異の同定，EGFR-TKI 耐性時の *EGFR* T790M 変異検査として循環腫瘍細胞を用いた遺伝子検査の使用を裏付ける根拠は不十分である.	推奨度なし

略語: FISH, fluorescence in situ hybridization; IHC, immunohistochemistry, 免疫組織化学的検査, TKI, tyrosine kinase inhibitor, チロシンキナーゼ阻害薬

*1 訳者注: 具体的な免疫染色の方法については，CAP 免疫染色における分析検証ガイドライン（Arch Pathol Lab Med. 2014;138:1432-1443）などを参照し，十分な検証を行うとともに慎重な運用が望まれる.

表 2.　推奨度の強さ [60]

推奨カテゴリー	推奨内容	根拠
強い推奨 (strong recommendation)	肺癌における特定の遺伝子検査の施行が勧められるもしくは行わないよう勧められる. （must, shouldが含まれる）	確信できる（高い）もしくは適切な（中等度）の質をもったエビデンスによって裏付けられるか，あらゆる害に勝る明らかな益がある場合.
推奨 (recommendation)	肺癌における特定の遺伝子検査の施行が勧められるもしくは行わないよう勧められる. （should, mayが含まれる）	エビデンスの質（中等度の適性，低い非適性）や功罪，価値，費用のバランスにやや制約があるが，委員が推奨するに足る根拠があると結論付けた場合.
専門家統一見解 (expert consensus opinion)	肺癌における特定の遺伝子検査の施行が勧められるもしくは行わないよう勧められる. （should, may が含まれる）	エビデンスの質（低いもしくはかなり低い適正性，低い非適正性）や功罪，価値，費用のバランスに重大な制約があるが，委員のコンセンサスが言及する必要があるとする場合.
推奨なし (no recommendation)	肺癌における特定の遺伝子検査に推奨がない.	推奨を行うだけのエビデンス，確証，合意が不十分の場合.

追補 2. ASCO Endorsement of CAP/IASLC/AMP Guideline

なお，この CAP/IASLC/AMP updated molecular testing guideline は ASCO によって是認されているが [61]，以下の点が付記されている.

2013 年のガイドラインの対照表（表 3）

1. その他の細胞診検体—>細胞診スメア:

推奨: 病理医はセルブロックや細胞診スメア検体を肺癌バイオマーカー遺伝子検査に適した検体として用いることができる.

新しいガイドライン（表 4）

#3. *BRAF* テスト: *BRAF* 検査は，臨床像にかかわらず，すべての進行肺癌患者で施行されるべきである．#11. 臨床医は次の腫瘍に関しても遺伝子バイオマーカー検査を施行してもよい.

a. 腺癌成分を含む場合

b. 非小細胞癌で，臨床的特徴からドライバー変異を有する可能性が高い場合（例えば 50 歳以下の年齢や軽度喫煙者～非喫煙者など）

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

4-3. ROS1

（2025 年 4 月改訂 v2.1）

目　次

（1）*ROS1* 融合遺伝子の種類 2
（2）*ROS1* 融合遺伝子陽性肺癌の臨床病理学的特徴 3
（3）ROS1 阻害薬の臨床試験 3
1．クリゾチニブ（Crizotinib） 3
2．セリチニブ（Ceritinib） 3
3．エヌトレクチニブ（Entrectinib） 3
4．ロルラチニブ（Lorlatinib） 4
5．タレトレクチニブ（Taletrectinib） 4
6．レポトレクチニブ（Repotrectinib） 4
（4）*ROS1* 融合遺伝子陽性進行肺癌の治療 4
（5）*ROS1* 融合遺伝子の診断 5
1．*ROS1* 融合遺伝子の検出法 5
2．マルチ遺伝子検査（PCR 法/NGS 法） 5
3．RT-PCR 法（AmoyDx 社） 5
4．FISH 法 6
5．IHC 法 7
（6）*ROS1* 融合遺伝子検査のアルゴリズム 7
参考文献 8

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

荒金 尚子, 國政 啓, 久山 彰一, 阪本 智宏, 清水 淳市, 須田 健一, 善家 義貴, 畑中 豊, 林 大久生, 古屋 直樹, 三浦 理, 三窪 将史, 宮内 栄作, 横内 浩, 豊岡 伸一, 谷田部 恭

ROS1 はインスリン受容体サブファミリーに属し，細胞の増殖および分化に関与する癌原遺伝子受容体型チロシンキナーゼである．ROS1 蛋白質をコードする *ROS1* 遺伝子は染色体 6 番長腕（6q21）に位置し，全長 127kb，44 エクソンからなる [1]．2003 年に Charest ら [1,2] が，神経膠芽腫の細胞株 U118MG において *ROS1* 遺伝子が *FIG* 遺伝子と融合していることを発見し，この *FIG-ROS1* 遺伝子融合によって ROS1 キナーゼが恒常的に活性化され，悪性細胞への形質転換をもたらすことが報告された．その後，肺癌細胞株や非小細胞肺癌患者において種々の *ROS1* 融合遺伝子が同定され，この融合遺伝子を線維芽細胞に発現させると細胞増殖能や腫瘍形成能を獲得すること，またそれらは ROS1 キナーゼの阻害によって抑制されることが報告された [3,4]．さらに，*EZR-ROS1* 融合遺伝子を肺胞上皮細胞に発現させたトランスジェニックマウスでは肺腺癌が形成されることも報告されている [5]．これらのことから，*ROS1* 融合遺伝子は *EGFR* 遺伝子変異や *ALK* 融合遺伝子と同じように，非小細胞肺癌の治療標的として注目されるようになった．また，少数例ではあるが，胃癌，大腸癌，胆管癌，卵巣癌，炎症性筋線維芽細胞性腫瘍，血管肉腫などでも *ROS1* 融合遺伝子の存在が報告されている [6,7]．

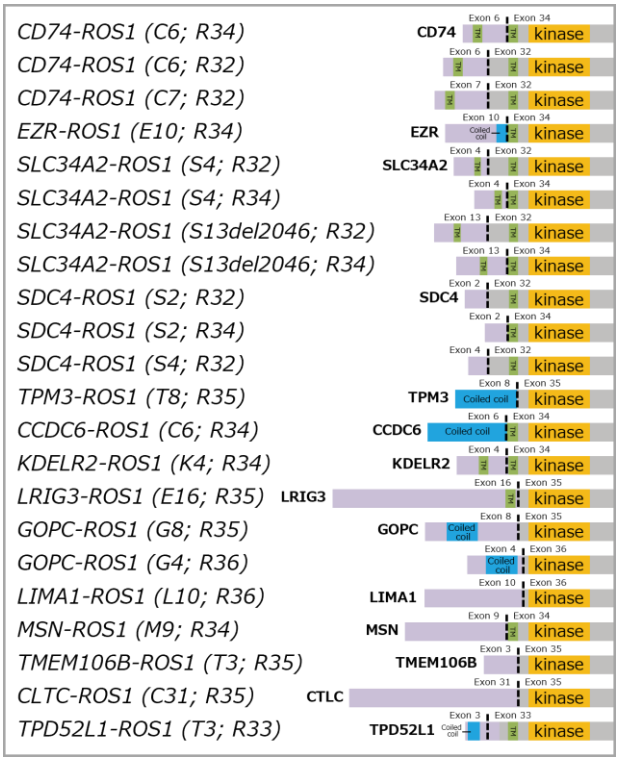


図 1.　肺癌における *ROS1* 融合遺伝子の種類
（文献 8 より引用，改変）

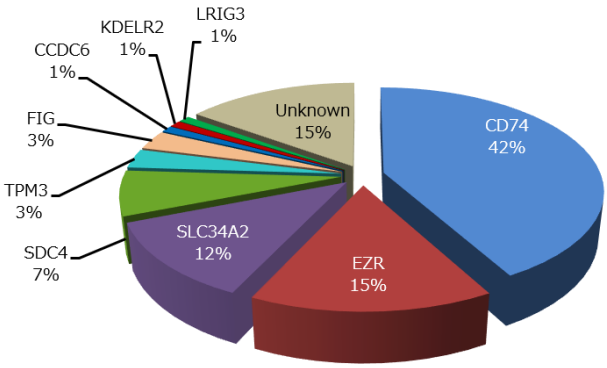


図 2.　肺癌における ROS1 融合遺伝子のパートナー別頻度

（1）*ROS1* 融合遺伝子の種類

ROS1 融合遺伝子は，*ALK* 融合遺伝子等と同様に，染色体の転座や部分的欠失などによって遺伝子再構成が起こり，*ROS1* 遺伝子と種々のパートナー遺伝子が融合することで生じる [6]．*ROS1* 側の融合点は，RNA レベルでエクソン 32，34，35，36 であり，いずれもキナーゼ領域の上流であるためキナーゼ領域が保持されたまま融合する．*ALK* 融合遺伝子と比較して，*ROS1* と融合するパートナー遺伝子は多く，これまでに様々なパートナー遺伝子が報告されている（図 1）[8,9,10]．なかでも肺癌で高頻度に検出される *ROS1* のパートナー遺伝子は，*CD74*，*EZR*，*SLC34A2*，*SDC4* であり，この 4 種類で約 7 割を占める（図 2）[10,11]．*ALK* 融合遺伝子と同様に，coiled-coil 領域を有するパートナーとの融合では，この領域による ROS1 融合タンパク質の恒常的な二量体化が ROS1 キナーゼの活性化をもたらすと考えられるが，coiled-coil 領域を有さないパートナーとの *ROS1* 融合バリアントも多く，これらのキナーゼ活性化の機序は明らかにされていないものもある [7]．また，ROS1 キナーゼの活性化による細胞の形質転換は，MAP-ERK kinase, SHP-2, STAT3, AKT などの下流の細胞内シグナルの活性化によってもたらされるが [12,13,14]，興味深いことに，ROS1 キナーゼの下流で活性化される分子は，*ROS1* が融合するパートナー遺伝子の種類によって異なる可能性も示唆されている [14]．

（2）*ROS1* 融合遺伝子陽性肺癌の臨床病理学的特徴

ROS1 融合遺伝子の頻度は非小細胞肺癌の約 1～2%であり，この頻度は，日本を含む東アジアと欧米でほぼ同程度であり，*EGFR* 遺伝子変異にみられるような人種間差はないと考えられている．また，*ALK* 融合遺伝子陽性肺癌（*ALK* 肺癌）と同様に，若年，女性，非喫煙者に多い[10]．脳転移がやや多く，*ROS1* 融合遺伝子陽性の進行肺癌の約 3 割で診断時に脳転移を認めると報告されている[10]．病理組織型としては TTF-1 陽性の腺癌が多く[10,15]，*ALK* 肺癌と同様に病理亜型として signet-ring cell や mucinous cribriform パターンを有する solid タイプに多いとする報告もあるが[4,16]，これらの特徴を有さない腺癌や，扁平上皮癌，多形癌，大細胞癌など，腺癌以外の非小細胞肺癌でも *ROS1* 融合遺伝子は検出されることがあり[10]，臨床病理学的特徴のみで *ROS1* 融合遺伝子陽性肺癌（*ROS1* 肺癌）を推定することは困難である．さらに，*ROS1* 融合遺伝子は，*EGFR* 遺伝子変異や *ALK* 融合遺伝子などと同様に，その他のドライバー遺伝子異常と相互に排他的な関係にある[10]．

（3）ROS1 阻害薬の臨床試験

1．クリゾチニブ（Crizotinib）

ROS1 は蛋白質の構造上，ALK のチロシンキナーゼ領域と高い相同性を有しており[17]，ALK のチロシンキナーゼを阻害するクリゾチニブは ROS1 チロシンキナーゼの阻害活性も有する．海外で行われたクリゾチニブの臨床第Ⅰ相試験（PROFILE1001 試験）の拡大コホートでは，*ROS1* 肺癌 50 例のうち，完全奏効が 3 例，部分奏効が 33 例で，奏効割合（ORR）は 72%（95%信頼区間 [CI] 58～84%），奏効期間中央値（DCR）は 17.6 カ月（95% CI 14.5 カ月～未到達），無増悪生存期間中央値（mPFS）は 19.2 カ月（95% CI 14.4 カ月～未到達）であった[18]．この結果をもとに，*ROS1* 肺癌に対するクリゾチニブ（ザーコリ®）の適応拡大が，2016 年 3 月に米国 FDA で，同 8 月には欧州 EMA で承認された．

一方，本邦を含む東アジア 4 カ国（日本，中国，韓国，台湾）においては，*ROS1* 肺癌に対するクリゾチニブの臨床第Ⅱ相試験（OO12-01 試験）が行われた．国内 26 例を含む計 127 例の患者が登録され，完全奏効が 17 例，部分奏効が 74 例で，ORR は 71.7%（95% CI 63.0～79.3%），mPFS は 15.9 カ月（95% CI 12.9～24.0 カ月）となり，クリゾチニブの高い有効性が示された[19]．この結果より，本邦では，クリゾチニブの *ROS1* 融合遺伝子陽性切除不能進行・再発非小細胞肺癌への適応拡大が承認された．

2．セリチニブ（Ceritinib）

第二世代の ALK 阻害薬であるセリチニブも ROS1 阻害作用があり，韓国で *ROS1* 肺癌に対するセリチニブの臨床第Ⅱ相試験が行われた[20]．その結果，ORR は 67%（95% CI 48～81%），DOR は 21 カ月（95% CI 17～25 カ月），mPFS は 19.3 カ月（95% CI 1～37 カ月）で，クリゾチニブとほぼ同等の効果が認められたが，*ALK* 肺癌に対するセリチニブ治療と同様に消化器毒性が多くみられた（下痢 78%，嘔気 59%，食思不振 56%，嘔吐 53%など）．その後セリチニブは，適応追加の承認申請が行われなかったため，*ROS1* 肺癌に対する治療薬としては承認されていない．

3．エヌトレクチニブ（Entrectinib）

エヌトレクチニブは，ROS1，ALK，TRK のキナーゼ阻害薬である．*ROS1* 肺癌に対するエヌトレクチニブの有効性は，*ROS1* 融合遺伝子陽性固形癌を対象に行われた 2 つの臨床第Ⅰ相試験（ALKA-372-001，STARTRK-1）と 1 つの臨床第Ⅱ相試験（STARTRK-2）の統合解析で評価されており，ORR は 67.1%（95% CI 59.3～74.3%），DOR は 15.7 カ月（95% CI 13.9～28.6 カ月），mPFS は 15.7 カ月（95% CI 11.0～21.1 カ月）であった[21]．また，エヌトレクチニブは脳脊髄液への移行が良い薬剤として知られており，この統合解析では，脳転移巣における ORR が 79.2%（95% CI 57.9～92.9%），mPFS が 12.0 カ月（95% CI 6.2～19.3 カ月）と報告されている[21]．頻度の高い有害事象としては，味覚障害（43%），浮動性めまい（35%），便秘（31%），疲労（30%），下痢（27%）などが報告されている[21]．これらの臨床試験の結果，2020 年 2 月に，エヌトレクチニブは *ROS1* 融合遺伝子陽性の

切除不能な進行・再発非小細胞肺癌の治療薬として承認された（2019 年 6 月に *NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発の固形癌の治療薬としても承認されている）.

4．ロルラチニブ（Lorlatinib）

ALK 阻害薬であるロルラチニブも ROS1 キナーゼ阻害作用を有している. *ROS1* 肺癌に対するロルラチニブの臨床第Ⅰ-Ⅱ相試験では, ROS1 阻害薬未治療例（N=21）においてORR は 62%（95% CI 38～82%）, DOR は 25.3 カ月（95% CI 7.5～31.9 カ月）, mPFS は 21.0 カ月（95% CI 4.2～31.9 カ月）であり, クリゾチニブ既治療例(N＝40)においてORR は 35%(95% CI 21～52%), DOR は 13.8 カ月（95% CI 9.7 カ月～未到達）, mPFS は 8.5 カ月(95% CI 4.7～15.2 カ月)であった [22]. ROS1 阻害薬未治療例（N=32）に対する臨床第Ⅱ相試験では, ORR は 80%（95% CI 63～91%）, mPFS は 53.7 カ月（95% CI 27.7～79.7 カ月）であった [23]. 主な有害事象は, 高コレステロール血症（78～80%）, 高 TG 血症（61～78%）, 浮腫（13～40%）, 末梢神経障害（19～36%）, 認知機能への影響（13～27%）, 体重増加（6～23%）などが報告されている [22].

ロルラチニブは, *ALK* 肺癌に対しては承認されているが, *ROS1* 肺癌に対する治療薬としては承認されていない.

5．タレトレクチニブ（Taletrectinib）

タレトレクチニブは選択的 ROS1 キナーゼ阻害薬であり, 前臨床試験では ROS1 G2032R などの ROS1 阻害薬耐性変異にも感受性が高いことが示されている [24]. *ROS1* 肺癌に対するタレトレクチニブの臨床第Ⅰ相試験では, ROS1 阻害薬未治療例(N=9)においてORR 66.7%(95% CI 35.4～87.9%), mPFS 29.1 カ月（95% CI 2.6 カ月～未到達）であり, クリゾチニブ既治療例（N＝6）においてORR 33.3%（95% CI 9.7～70.0%）, mPFS 14.2 カ月（95% CI 1.5 カ月～未到達）であった [25]. 中国で行われた臨床第Ⅱ相試験（TRUST-I）では, ROS1 阻害薬未治療例（N=106）においてORR 90.6%（95% CI 83.33～95.38%), ROS1 阻害薬既治療例（N＝66）においてORR 51.5%（95% CI 38.88～64.01%）であった [26]. 12 例は ROS1 G2032R 変異を有しており, 12 例中 8 例（66.7%, 95% CI 34.89～90.08%）で奏効を認めた. 8 名の未治療脳転移症例における脳転移巣への効果もORR 87.5%（95% CI 47.35～99.68%）であった. 主な有害事象は, AST 上昇（76.3%）, 下痢（69.9%）, ALT 上昇（67.6%）, 嘔吐（53.2%）, 貧血（49.1%）であり, めまい（23.1%）, 味覚障害（10.4%）, 頭痛（8.7%）, 感覚鈍麻（7.5%）などの神経症状も認められた. 現在, 国際共同の臨床第Ⅱ相試験（TRUST-II）が進行中である [27].

6．レポトレクチニブ（Repotrectinib）

レポトレクチニブは, 耐性変異克服可能な構造有する ROS1 阻害薬であり,脳脊髄液の移行も良好である. *ROS1* 肺癌に対する臨床第Ⅰ-Ⅱ相試験（TRIDENT-1）の第Ⅱ相推奨用量の結果は, ROS1 阻害薬未治療例（N=71）においてORR 79%（95% CI 68～88%）, DOR 34.1 カ月（95% CI 25.6 カ月～未到達）, mPFS 35.7 カ月（95% CI 27.4 カ月～未到達）であり, ROS1 阻害薬既治療例（N＝56）においてORR 38%（95% CI 25～52%）, DOR 14.8 カ月（95% CI 7.6 カ月～未到達）, mPFS 9.0 カ月（95% CI 6.8～19.6 カ月）であった [28]. ROS1 G2032R 陽性例においては, 17 例中 10 例（59%）で奏効が得られた. 主な治療関連有害事象は, 浮動性めまい（58%）, 味覚障害（50%）, 感覚異常（30%）, 便秘（26%）, 貧血（26%）などが報告されている [28].

この臨床試験の結果に基づき, 2024 年 9 月 24 日, レポトレクチニブは *ROS1* 融合遺伝子陽性の進行非小細胞肺癌の治療薬として製造販売承認されている.

（4）*ROS1* 融合遺伝子陽性進行肺癌の治療

前述の臨床試験の結果に基づいて, 本邦では *ROS1* 融合遺伝子陽性の進行非小細胞肺癌の治療薬としてクリゾチニブ, エヌトレクチニブとレポトレクチニブが承認されている. また, 日本肺癌学会による肺癌診療ガイドライン（2024 年版）では, *ROS1* 融合遺伝子陽性の進行非小細胞肺癌の初回治療において, クリゾチニブ単剤療法, エ

表 1.　クリゾチニブ，エヌトレクチニブ，レポトレクチニブのコンパニオン診断（CDx）

検査法	検査名	クリゾチニブのCDx	エヌトレクチニブのCDx	レポトレクチニブのCDx
マルチ遺伝子 PCR	AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル	●	●	●
NGS (tissue)	オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム	●	●	
	FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル		●	
	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	●		
NGS (plasma)	FoundationOne Liquid CDx がんゲノムプロファイル		●	
RT-PCR	OncoGuide AmoyDx *ROS1* 融合遺伝子検出キット	●	●	

ヌトレクチニブ単剤療法，レポトレクチニブ単剤療法のいずれかを行うように推奨されている（推奨の強さ：1，エビデンスの強さ：C，合意率：100%）．加えて，クリゾチニブ耐性後のエヌトレクチニブ単剤療法の効果は明らかではないことが言及されている．また，*ROS1* 肺癌を対象とした細胞傷害性抗癌薬治療の前向き臨床試験は行われていないが，少数例の後ろ向き解析でペメトレキセドを含む治療が良好な成績が示されている [29]．肺癌診療ガイドラインでは，*ROS1* 肺癌を含めてドライバー遺伝子陽性進行非小細胞肺癌（*KRAS, HER2, NTRK* を除く）に対する細胞傷害性抗癌薬治療は，各々の標的療法後の二次治療として位置づけられている．

（5）*ROS1* 融合遺伝子の診断

1．*ROS1* 融合遺伝子の検出法

ROS1 融合遺伝子の検出には，単一遺伝子検査として RT-PCR 法（reverse transcription polymerase chain reaction），免疫組織化学染色（immunohistochemistory: IHC）法，蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション（Fluorescence *in situ* hybridization: FISH）法があり，マルチ遺伝子検査としてマルチ遺伝子 PCR 法，次世代シーケンス法（Next generation sequencing: NGS）がある．これらのうち，クリゾチニブ，エヌトレクチニブとレポトレクチニブのコンパニオン診断（CDx）をそれぞれ表 1 に示す．現在はマルチ遺伝子検査が主流となってきている．十分な検体採取が困難な場合などに単一遺伝子検査としての RT-PCR 法（OncoGuide AmoyDx *ROS1* 融合遺伝子検出キット）を使用する場合がある．また FISH 法や IHC 法を活用することで *ROS1* 融合遺伝子の存在にあたりをつけることもマルチ検査に十分な組織検体が採取できない状況では検討されうる．

2．マルチ遺伝子検査（PCR 法/NGS 法）

マルチ遺伝子検査としては，PCR 法を用いた AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネルと，NGS 法を用いたオンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム，FoundationOne CDx がんゲノムプロファイル，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があるが，これらについては各々の検査の手引きを参照されたい．マルチ遺伝子検査ではそれぞれの検査でカバーしている報告対象 *ROS1* 融合遺伝子のバリアントが異なっており，詳細については各コンパニオン診断法における報告対象バリアント（2024 年 4 月作成）を参照されたい．

3．RT-PCR 法（AmoyDx 社）

RT-PCR 法は，解析する検体から RNA を抽出し，逆転写反応を行ったあと，目的とする遺伝子領域に設定されたプライマーを用いて増幅する方法である．*ROS1* 融合遺伝子を検出するためには，融合点をはさんで *ROS1* 側と融合パートナー側にそれぞれプライマーを設定する．手技は比較的容易であり汎用性が高い．また検査に要する時間が

短く，進行肺癌の治療選択のための臨床検査として適用可能である．しかしながら，解析試料である RNA は分解されやすいため，取扱いや保存に細心の注意が必要である．また，あらかじめ目的とする遺伝子領域にプライマーを設定する必要があるため，既知の融合バリアントのみ検出可能であり，未知の融合バリアントは検出不可能である．本邦では，AmoyDx 社の ROS1 RT-PCR キット「OncoGuide AmoyDx ROS1 融合遺伝子検出キット」が，ROS1 肺癌に対するクリゾチニブ，エヌトレクチニブのコンパニオン診断薬として承認されている．本キットは，逆転写反応，および蛍光標識加水分解プローブ法を用いたリアルタイム PCR を連続して行うツーステップ RT-PCR を原理としており，ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織，新鮮凍結組織，細胞診検体から抽出した RNA を用いて，14 種類の ROS1 融合遺伝子を検出することが可能である．標的配列の両端に蛍光物質（FAM）と消光物質（BHQ1）で標識されたプローブが PCR の伸長反応に伴い加水分解され，蛍光を発する．その蛍光強度を PCR のサイクルごとに検出し，蛍光強度が一定量に達した際のサイクル数（Cycle threshold（Ct）値）に応じて結果を判定する．

4．FISH 法

蛍光色素でラベルした DNA プローブを標本上でターゲット遺伝子とハイブリダイズさせ，そのシグナルを蛍光顕微鏡で観察する方法である．*ROS1* 融合遺伝子について体外診断薬（IVD）化された FISH 法は現時点では存在せず，Abbott Molecular や ZytoVision，アジレント・テクノロジーのプローブキットが研究用試薬（RUO）として販売されている．FISH 法には，融合を起こす 2 つの遺伝子それぞれにプローブを置いて，2 つのプローブが融合するのを検出する方法（fusion FISH 法）と，*ROS1* などキナーゼ遺伝子の切断点を隔てて 2 つのプローブを置き，他の遺伝子と融合する際に，切断点を境に 2 つの遺伝子領域が離断されることを検出する方法（break apart FISH 法）が存在する．*ROS1* 融合遺伝子では，パートナー遺伝子の種類が多いことやパートナー遺伝子が *ROS1* の位置する染色体 6 番長腕の近くに存在する場合も多いことから，break apart FISH 法を用いることが多い．図 3 に break apart FISH 法を用いた *ROS1* 融合遺伝子の検出例を示す[15]．

Break apart FISH 法の利点は，FFPE 切片で DNA を標的とするので解析試料として比較的安定性が高いことや，パートナー遺伝子の情報がなくても検出できること，すなわち未知の融合バリアントも検出可能なことである（ただしパートナー遺伝子は同定不可能）．一方，問題点としては，まず，検査手技や判定に熟練を要するため，検査実施施設や判定医が限定されることである．さらに，立体での現象を一断面で評価するため，異なる切片で判定結果が一致しない可能性があること，検体の品質によって蛍光シグナルを検出できない場合があること，また特に進行肺癌からの微量な検体は評価可能な細胞数が少なく判定困難な場合があることなどが，問題点として挙げられる．米国 FDA におけるクリゾチニブの適応拡大の承認は，PROFILE1001 試験の *ROS1* 肺癌拡大コホートの成績[18]をもとに行われたが，この試験での *ROS1* 肺癌の診断は主に break apart FISH 法が用いられ，その診断基準は，「50 個以上の評価可能な腫瘍細胞のうち陽性細胞≧15%」であった．

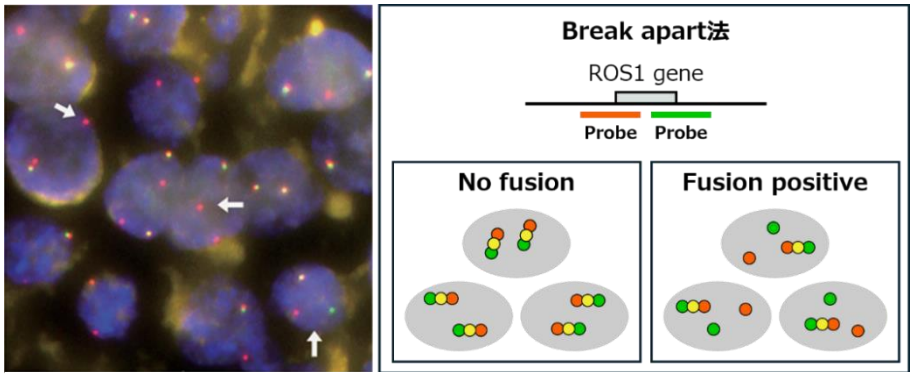
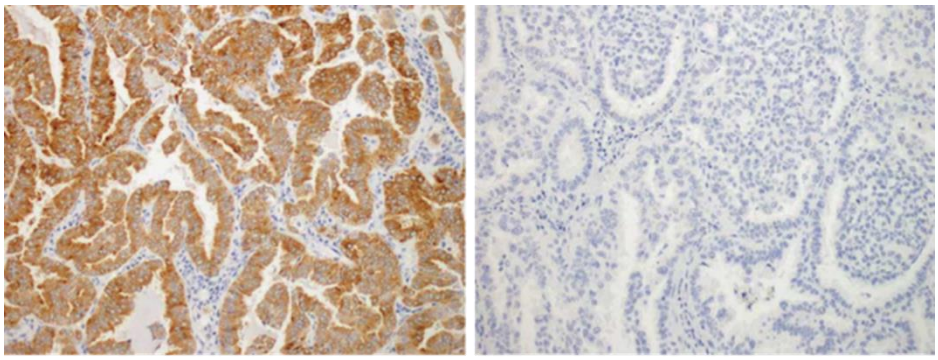


図 3． break apart FISH 法による ROS1 融合遺伝子の検出（文献 15 より引用）
緑：5′ROS1 プローブ，赤：3′ROS1 プローブ



ROS1 IHC陽性　　ROS1 IHC陰性

図 4.　IHC 法による ROS1 タンパク質の検出例（文献 15 より引用）

5．IHC 法

IHC 法は，安価かつ比較的簡便で汎用性が高い方法である．IHC 法では，FFPE 切片における細胞の ROS1 タンパク質に対して特異的な抗体を反応させ，二次抗体と発色基質を用いて発現タンパク質を可視化する．一般的に，発現強度や発現細胞割合に応じてスコア化し，タンパク質発現の程度を評価する．図 4 に IHC 法を用いた ROS1 タンパク質発現解析の例を示す [15]．

ROS1 の IHC 法には，Cell Signaling Technology 社の抗 ROS1 抗体（D4D6 クローン，ウサギモノクローナル抗体）などが RUO として市販されているが，現時点で IVD 化された抗体試薬はない．これまでに，肺癌における ROS1 融合タンパク質の発現を IHC 法で検討した報告もあり [15,30]，*ROS1* 融合遺伝子陽性例で ROS1 高発現の傾向はあるものの，これらの検討は主に外科的切除標本で行われており生検標本での検討は少なく，また正常細胞においても ROS1 の発現が高頻度に認められる．ROS1 IHC 法には陽性／陰性カットオフ値の設定の仕方によって偽陽性や偽陰性の可能性がある．世界肺癌学会が作成したガイダンス（IASLC ATLAS of *ALK* and *ROS1* Testing in Lung Cancer, Second Edition, 2016）[31] には，IHC 法を用いた *ROS1* 肺癌のスクリーニングに関する記述がみられるが，IHC 法でスクリーニングを行ったとしても *ROS1* 肺癌の診断にはその他の検査法による確認が必要と記載されている．

表 2．Oncoguide AmoyDx *ROS1* 融合遺伝子検出キットで検出可能な *ROS1* 融合遺伝子

Variant		
Partner	**Exon**	**COSMIC ID**
CD74-ROS1	C6R32	COSF1202
	C6R34	COSF1200
EZR-ROS1	E10R34	COSF1267
SDC4-ROS1	S2R32	COSF1265
	S4R32	COSF1278
	S4R34	COSF1280
SLC34A2-ROS1	S13R32	COSF1259
	S13R34	COSF1261
	S4R32	COSF1197
	S4R34	COSF1198
TPM3-ROS1	T8R35	
LRIG3-ROS1	L16R35	COSF1269
GOPC-ROS1	G4R36	COSF1188
	G18R35	

（6）*ROS1* 融合遺伝子検査のアルゴリズム

ROS1 融合遺伝子の診断は，他のドライバー遺伝子の診断と同様に，コンパニオン診断機能を有するマルチ遺伝子検査で行うことが推奨される．コンパニオン診断ではない検査法で ROS1 融合遺伝子が検出された場合は，単一遺伝子検査のコンパニオン診断である OncoGuide AmoyDx ROS1 融合遺伝子検出キットで *ROS1* 融合遺伝子の存在を確認する必要がある．表 2 に示すように，薬剤により承認されているコンパニオン診断薬が異なるので，薬剤を選択するときにはどのコンパニオン診断薬で検出されたかに注意を要する．

参考文献

1. Charest A, Lane K, McMahon K, et al. Fusion of FIG to the receptor tyrosine kinase ROS in a glioblastoma with an interstitial del(6)(q21q21). Genes Chromosomes Cancer 2003;37:58-71.

2. Charest A, Kheifets V, Park J, et al. Oncogenic targeting of an activated tyrosine kinase to the Golgi apparatus in a glioblastoma. Proc Natl Acad Sci U S A 2003;100:916-21.

3. Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. Cell 2007;131:1190-203.

4. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. Nat Med 2012;18:378-81.

5. Arai Y, Totoki Y, Takahashi H, et al. Mouse model for ROS1-rearranged lung cancer. PloS one 2013;8:e56010.

6. Shaw AT, Hsu PP, Awad MM, Engelman JA. Tyrosine kinase gene rearrangements in epithelial malignancies. Nat Rev Cancer 2013;13:772-87.

7. Davies KD, Doebele RC. Molecular pathways: ROS1 fusion proteins in cancer. Clin Cancer Res 2013;19:4040-5.

8. Kohno T, Nakaoku T, Tsuta K, et al. Beyond ALK-RET, ROS1 and other oncogene fusions in lung cancer. Transl Lung Cancer Res 2015;4:156-64.

9. Hirsch FR, Suda K, Wiens J, Bunn PA. New and emerging targeted treatments in advanced non-small-cell lung cancer. The Lancet 2016;388:1012-24.

10. Gendarme S, Bylicki O, Chouaid C, et al. ROS-1 Fusions in Non-Small-Cell Lung Cancer: Evidence to Date. Curr Oncol. 2022;29:641-58.

11. Gainor JF, Shaw AT. Novel targets in non-small cell lung cancer: ROS1 and RET fusions. The oncologist 2013;18:865-75.

12. Charest A, Wilker EW, McLaughlin ME, et al. ROS fusion tyrosine kinase activates a SH2 domain-containing phosphatase-2/phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin signaling axis to form glioblastoma in mice. Cancer Res 2006;66:7473-81.

13. Davies KD, Le AT, Theodoro MF, et al. Identifying and targeting ROS1 gene fusions in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2012;18:4570-9.

14. Jun HJ, Johnson H, Bronson RT, de Feraudy S, White F, Charest A. The oncogenic lung cancer fusion kinase CD74-ROS activates a novel invasiveness pathway through E-Syt1 phosphorylation. Cancer Res 2012;72:3764-74.

15. Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. J Clin Oncol 2012;30:863-70.

16. Yoshida A, Tsuta K, Wakai S, et al. Immunohistochemical detection of ROS1 is useful for identifying ROS1 rearrangements in lung cancers. Mod Pathol 2014;27:711-20.

17. Robinson DR, Wu YM, Lin SF. The protein tyrosine kinase family of the human genome. Oncogene 2000;19:5548-57.

18. Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. N Engl J Med 2014;371:1963-71.

19. Wu YL, Yang JC, 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;36:1405-11.

20. Lim SM, Kim HR, Lee JS, et al. Open-label, multicenter, phase II study of ceritinib in patients with non-small-cell lung cancer harboring ROS1 rearrangement. J Clin Oncol 2017;35:2613-18.

21. 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; 39:1253-63.

22. 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;20:1691-1701

23. Ahn BC, Kim YJ, Kim DW, et al. Lorlatinib in TKI naïve, advanced ROS1-positive non-small-cell lung cancer: A multicenter, open-label, single-arm, phase 2 trial. J Clin Oncol 2024; 42: Issue 16_suppl

24. Katayama R, Gong B, Togashi N et al. The new-generation selective ROS1/NTRK inhibitor DS-6051b overcomes crizotinib resistant ROS1-G2032R mutation in preclinical models. Nat. Commun 2019;10:3604.

25. Ou SI, Fujiwara Y, Shaw AT, et al. Efficacy of Taletrectinib (AB-106/DS-6051b) in ROS1+ NSCLC: An Updated Pooled Analysis of U.S. and Japan Phase 1 Studies. JTO Clin Res Rep 2020; 2:100108.

26. Li W, Xiong A, Yang N, et al. Efficacy and Safety of Taletrectinib in Chinese Patients With ROS1+ Non-Small Cell Lung Cancer: The Phase II TRUST-I Study. J Clin Oncol 2024; 42:2660-2670.

27. Nagasaka M, Ohe Y, Zhou C, et al. TRUST-II: a global phase II study of taletrectinib in ROS1-positive non-small-cell lung cancer and other solid tumors. Future Oncol 2023;19:123-135.

28. Drilon A, Camidge DR, Lin JJ, et al. Repotrectinib in ROS1 Fusion-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med 2024;390:118-131.

29. Drilon A, Bergagnini I, Delasos L, et al. Clinical outcomes with pemetrexed-based systemic therapies in RET-rearranged lung cancers. Ann Oncol 2016;27:1286-91.

30. Viola P, Maurya M, Croud J, et al. A Validation Study for the Use of ROS1 Immunohistochemical Staining in Screening for ROS1

Translocations in Lung Cancer. J Thorac Oncol 2016;11:1029-39.

31. IASLC ATLAS of ALK and ROS1 Testing in Lung Cancer. Second Edition ed. Aurora, CO, USA: International Association for the Study of Lung Cancer; 2016.

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

4-4. BRAF

（2024 年 4 月改訂 v2.0）

目　次

（1）*BRAF* 遺伝子とその遺伝子変異 2
（2）*BRAF* 変異陽性肺癌の臨床病理学的特徴 3
（3）*BRAF* V600E 陽性肺癌に対する治療戦略と臨床試験 4
（4）*BRAF* 変異の診断 4
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） 4
2．AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル 4
3．その他の方法 4
参考文献 6

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）*BRAF* 遺伝子とその遺伝子変異

v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1（BRAF）タンパク質は，細胞内シグナル伝達経路の 1 つである RAS-RAF-MEK-ERK 経路（MAPK 経路）の構成因子であるセリン/スレオニン プロテインキナーゼ RAF ファミリータンパク質の 1 つであり，細胞の分化・増殖に関与している（図 1）．このタンパク質をコードする *BRAF* 遺伝子は，7 番染色体長腕（7q34）に位置し，全長 190kb，18 エクソンで構成されている．

2002 年に Davies ら [1] は，悪性黒色腫や大腸癌，肺癌などの様々な癌種において *BRAF* 遺伝子変異が起こっていることを発見した．悪性腫瘍で起こる *BRAF* 遺伝子変異は，BRAF タンパク質の activation loop（A-loop）をコードするコドン 599～602 と，phosphate binding loop（P-loop）をコードするコドン 464～469，およびこれらの周辺に集中している（図 2）．悪性黒色腫においては *BRAF* 遺伝子変異のほとんどが V600E 変異であるが，肺癌で起こる *BRAF* 遺伝子変異は V600E 変異が約半数であり，その他の変異タイプ（non-V600E 変異）が比較的多いのが特徴といえる [2]．*BRAF* V600E 変異は BRAF キナーゼの活性化を引き起こし，下流シグナルである ERK の恒常的なリン酸化が起こること，またこのシグナル伝達経路の活性化によって悪性細胞への形質転換をもたらすことが知られているが [1]，*BRAF* non-V600E 変異には生物学的意義が不明なものもあり，これまでのところ肺癌における BRAF を標的とした治療開発は，V600E 陽性例に限定して行われている．

悪性黒色腫や甲状腺癌における *BRAF* 遺伝子変異の頻度は約 40%であるが，非小細胞肺癌においては 1～3%と希少頻度である [2,3]．2013 年から本邦で行われている，全国規模の肺癌遺伝子スクリーニングプロジェクト（Lung Cancer Genomic Screening Project for Individualized Medicine in Japan: LC-SCRUM-Japan）では，EGFR 遺伝子変異陰性の非扁平上皮非小細胞肺癌において *BRAF* 遺伝子変異は 5%（83/1,688 例）で，V600E 変異に限ると 2%（34/1,688 例）であり，ALK，ROS1 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 [4]．LC-SCRUM-Japan は，主に EGFR 遺伝子変異陰性例を対象にして遺伝子解析を行っていることから，EGFR 遺伝子変異が非扁平上皮非小細胞肺癌の約 50%を占めると考え

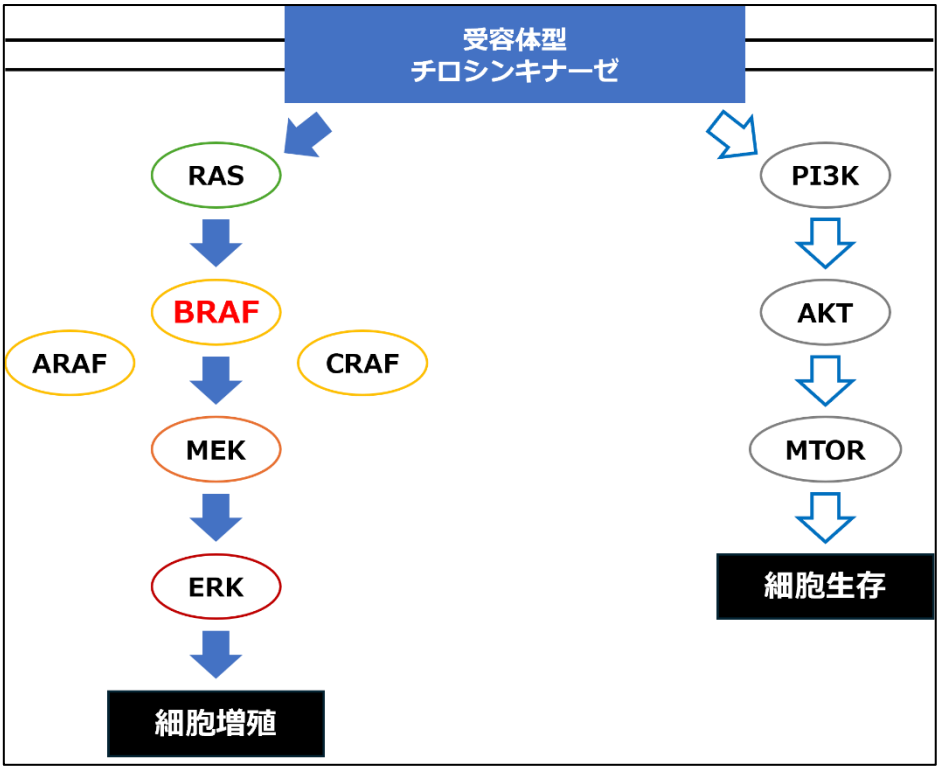


図 1．細胞の増殖，生存に関わる細胞内シグナル伝達経路
Reproduced with permission from Elsevier (2021)

ると，BRAF V600E 変異の頻度は非扁平上皮非小細胞肺癌の約 1%と考えられる（図 3）.

（2）*BRAF* 変異陽性肺癌の臨床病理学的特徴

Ding らの報告では，non-V600E 変異 4 例を含む *BRAF* 遺伝子変異患者 28 例のうち，43%（12/28 例）が男性，21%（6/28 例）が喫煙者であり，年齢中央値は 64 歳（37-78 歳）であった [8]. LC-SCRUM-Japan においては，BRAF V600E 陽性患者の 68%（23/34 例）が男性，65%（22/34 例）が喫煙者であり，年齢中央値は 65 歳（39-85 歳）であった．また，腺癌が 97%（33/34）であり，1 例は扁平上皮癌（1/264 例），小細胞肺癌 309 例の解析では変異例を認めなかった．以上より，*BRAF* V600E 陽性肺癌の特徴として，組織型は非小細胞肺癌，特に腺癌であること，非喫煙者/軽喫煙者にも認められるが，喫煙者に多い傾向があること，*EGFR/ALK/ROS1* といったその他のドライバー変異とは相互排他性があることが挙げられる [2,5-7]. *EGFR/ALK/ROS1* 肺癌とは異なり，若年者や女性に多い傾向はなく，傾向としては *KRAS* 肺癌と類似している．病理学的には，腺癌の亜型として acinar predominant type が最も多く，solid predominant type が次いで多くみら

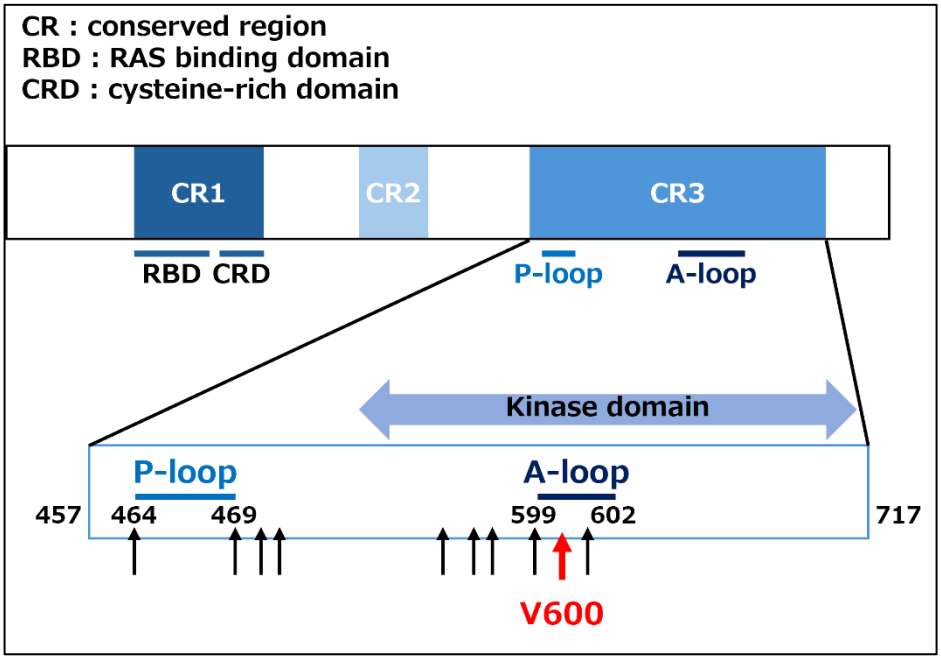


図 2. BRAF の蛋白構造と非小細胞肺癌における *BRAF* 遺伝子変異の種類
（LC-SCRUM-Japan のデータより．矢印（↑）は変異箇所を示す）

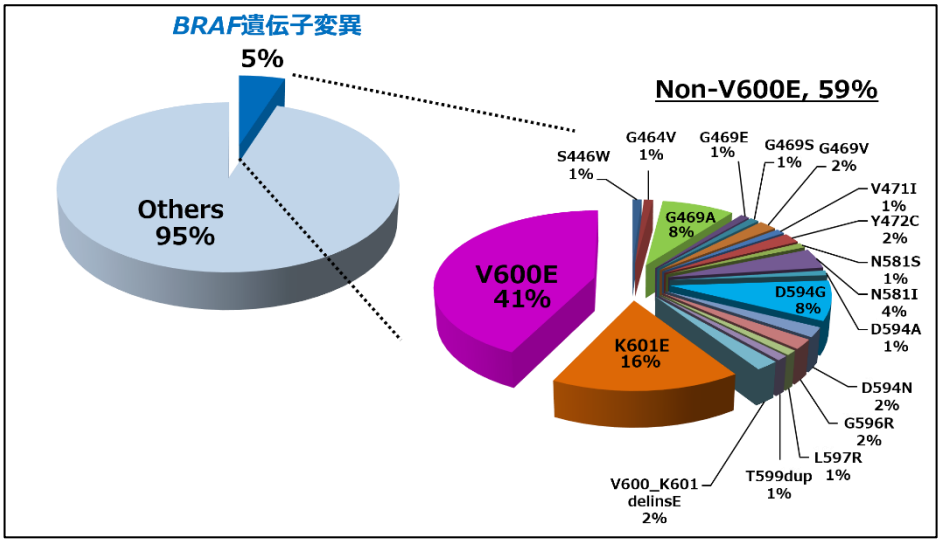


図 3. LC-SCRUM-Japan における *BRAF* 遺伝子変異の頻度
（EGFR 変異陰性非扁平上皮非小細胞肺癌 1,688 例の解析結果）

れるとされる[7].

LC-SCRUM-Japan で同定された *BRAF* V600E 陽性肺癌において,一次治療としてプラチナ併用化学療法が行われた 20 例の治療成績をみると，奏効割合は 30%（6/20 例），病勢制御割合は 75%（15/20 例），無増悪生存期間中央値は 13.7 カ月（95%CI: 7.9-31.9 カ月）であった. これは過去の非小細胞肺癌に対する一次化学療法の治療成績と比較してやや良好な傾向を示しており,細胞傷害性抗癌薬も *BRAF* V600E 変異陽性肺癌に対して一定の効果を有すると考えられる.

（3）*BRAF* V600E 陽性肺癌に対する治療戦略と臨床試験

BRAF V600E 陽性非小細胞肺癌に対する治療開発として，未治療例または既治療例を対象に BRAF 阻害薬ダブラフェニブ単剤療法，あるいはダブラフェニブと MEK 阻害薬トラメチニブ併用療法の国際多施設共同第Ⅱ相試験（BRF113928 試験）が行われた. この臨床試験は 3 つのコホートで行われ，*BRAF* V600E 陽性非小細胞肺癌に対するダブラフェニブ単剤の治療効果をみたコホート A には，未治療例が 6 例，二次治療以降の症例が 78 例登録された. 既治療例 78 例のうち 26 例で部分奏効（PR）が得られ，奏効割合は 33%（95%CI: 23-45%），奏効期間中央値は 9.6 ヶ月（95%CI: 5.4-15.2 カ月），無増悪生存期間中央値は 5.5 ヶ月（95%CI: 3.4-7.3 カ月）であった. また，未治療例 6 例のうち 4 例は PR が得られ，無増悪生存期間は 4.0～16.6 カ月であった[9]. BRAF V600E 陽性の既治療非小細胞肺癌に対するダブラフェニブとトラメチニブの併用療法の効果をみたコホート B では，57 例中 2 例の完全奏効（CR）と 34 例の PR が得られ，奏効割合は 63.2%（95%CI: 49.3-75.6%），奏効期間中央値は 9.0 カ月（95%CI: 6.9-18.3 カ月），無増悪生存期間中央値は 9.7 カ月(95%CI: 6.9-19.6 カ月)であった[10]. 一方，コホートＣでは，未治療の BRAF V600E 陽性非小細胞肺癌に対してダブラフェニブとトラメチニブの併用療法が行われ，36 例中 2 例の CR と 21 例の PR が得られ，奏効割合は 64%（95%CI: 46-79%），奏効期間中央値は 10.4 カ月（95%CI: 8.3-17.9 カ月），無増悪生存期間中央値は 10.9 カ月（95%CI: 7.0-16.6 カ月）であった[11]. これらの結果に基づき，*BRAF* V600E 陽性肺癌に対するダブラフェニブ（タフィンラー®）とトラメチニブ（メキニスト®）の併用療法が，2017 年 4 月に欧州 EMA で，同 6 月に米国 FDA で承認された. 同様に，本邦でも 2016 年 12 月に承認申請され，2018 年 3 月に承認された.

（4）*BRAF* 変異の診断

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）

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ラフェニブ+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た. その後，*EGFR* 遺伝子変異陽性肺癌や *ALK* 融合遺伝子陽性肺癌をはじめとする様々な標的治療薬のコンパニオン診断薬としても承認され,現在ではオンコマイン 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なっている.

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，*BRAF* 遺伝子変異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 *BRAF* 遺伝子変異が検出された場合，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ダンス[12]」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，悪性黒色腫では，アリル特異的 PCR 法を原理としたロシュ･ダイアグノスティックス社の「コバス® BRAF V600 変異検出キット」が，BRAF 阻害薬ベムラフェニブの CDx として承認されている．また同様に，ダブラフェニブおよびトラメチニブの CDx としてはシスメックス・ビオメリュー社の「THxID® BRAF キット」が承認されている．悪性黒色腫の場合，コバス® BRAF V600 変異検出キットは，ダイレクトシークエンス法との比較において，陽性一致率 92.7%，陰性一致率 90.8%であったとされる．また，THxID® BRAF キットもダイレクトシークエンス法との比較において，98%の陽性一致率を示したとされる．これらの結果から，PCR 法は *BRAF* V600E 変異診断において有用な手法であるといえるが，現在のところ，これらのキットの適応は悪性黒色腫のみであり，肺癌における *BRAF* 遺伝子検査法としては承認されていない．

参考文献

1. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. Nature 2002; 417:949-954

2. Paik PK, Arcila ME, Fara M, et al. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations. J Clin Oncol 2011; 29:2046-2051

3. Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. Lancet Oncol 2011; 12:175-180

4. 松本慎吾．全国肺癌ゲノムスクリーニングプロジェクト（LC-SCRUM-Japan）におけるクリニカルシークエンス．第 58 回日本肺癌学会学術集会 2017（S2-1）.

5. Kinno T, Tsuta K, Shiraishi K, et al. Clinicopathological features of nonsmall cell lung carcinomas with BRAF mutations. Ann Oncol 2014; 25:138-142

6. Litvak AM, Paik PK, Woo KM, et al. Clinical characteristics and course of 63 patients with BRAF mutant lung cancers. J Thorac Oncol 2014; 9:1669-1674

7. Zheng D, Wang R, Pan Y, et al. Prevalence and Clinicopathological Characteristics of BRAF Mutations in Chinese Patients with Lung Adenocarcinoma. Ann Surg Oncol 2015; 22 Suppl 3:S1284-1291

8. Ding, X , Zhang, Z , Jiang, T , et al . Clinicopathologic characteristics and outcomes of Chinese patients with non-small-cell lung cancer and BRAF mutation. Cancer Med 2017 ; 6 : 555-562

9. 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 2016; 17:642-650

10. 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; 17:984-993

11. 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; 18:1307-1316

12. 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等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイダンス（第 1.0 版）．2017 年.

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

4-5. MET

（2025 年 3 月改訂 v2.1）

目　次

（1）はじめに . . . 3
（2）*MET* 遺伝子とその異常 . . . 3
1．*MET* 遺伝子の構造と機能 . . . 3
2．*MET* ex14 skipping . . . 3
3．*MET* 増幅 . . . 5
4．MET 蛋白過剰発現 . . . 5
5．*MET* 融合遺伝子 . . . 5
（3）MET 阻害剤 . . . 5
1．総論 . . . 5
2．*MET* ex14 skipping に対する MET 阻害薬の種類 . . . 5
2-1．VISION 試験 . . . 6
2-2．GEOMETRY mono-1 試験 . . . 7
2-3．GLORY 試験 . . . 7
（4）*MET* ex14 skipping 変異の診断 . . . 7
1．総論 . . . 7
2．AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル . . . 8
3．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 . . . 8
4．FoundationOne CDx および FoundationOne Liquid CDx . . . 8
5．オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム . . . 8
6．保険点数について . . . 8
7．肺癌の遺伝子検査における METex14 skipping 検査の位置づけ . . . 9
（5）おわりに . . . 10
参考文献 . . . 11

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

横内 浩, 古屋 直樹, 谷田部 恭, 荒金 尚子, 國政 啓, 久山 彰一, 阪本 智宏, 須田 健一, 善家 義貴, 畑中 豊, 林 大久生, 三浦 理, 三窪 将史, 宮内 栄作, 清水 淳市, 豊岡 伸一

（1）はじめに

MET は 1984 年に中村らによってラットの血清中に肝細胞増殖因子として見いだされた分子であり[1]，*KRAS* に次いで古いがん遺伝子の 1 つである．以降，多くの研究が精力的になされ，2010 年代後半には NSCLC に対する MET 抗体薬（Onartuzumab）を用いた臨床試験[2]が行われたものの，肺癌治療に対する有効な分子標的としては *MET* exon 14 skipping（以下 *MET* ex14 skipping）に対する薬剤を待たなければならなかった．現在は，*MET* の遺伝子異常である *MET* 増幅に対する治療薬，MET 分解を促す抗体薬，MET 発現に対する抗体薬物複合体などの開発が進んでいる．本手引き（ガイダンス）では，すでに実地臨床に用いられている *MET* ex14 skipping に対する解析について解説を加え，他の *MET* 遺伝子異常については，対応する薬剤が承認された時点でその解析のガイダンスを追加していきたい．

（2）*MET* 遺伝子とその異常

1．*MET* 遺伝子の構造と機能

MET 遺伝子は 7q21-q31 に位置する proto-oncogene で，肝細胞増殖因子（HGF）をリガンドとする受容体型チロシンキナーゼをコードしている．MET はさまざまなドメインからなる単一膜貫通受容体タンパク質であり，構成するドメインとして細胞外リガンド結合（SEMA）ドメイン，プレキシン-セマフォリン-インテグリン（PSI）ドメイン，免疫グロブリン-プレキシン-転写因子（IPT）ドメイン，膜貫通ドメイン，細胞内の膜近傍（JM）ドメイン，チロシンキナーゼドメインがある[3]．リガンドが結合すると，MET はホモ二量体を形成してチロシン 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，RAS/MAPK，Rac/Rho，PI3K/AKT シグナル伝達経路を活性化することで，腫瘍においては，その増殖，抗アポトーシス，転移に関与することが知られている（図 1）[4]．

MET 遺伝子変化としては，ex14 skipping 変異・増幅・蛋白過剰発現・融合遺伝子が報告されている．特に ex14 skipping 変異は強力なドライバー遺伝子異常であり，近年の MET 阻害薬の開発に伴って注目されるようになった．

2．*MET* ex14 skipping

2006 年，*MET* 遺伝子のイントロン領域などの変異により，exon14 が翻訳されなくなることが明らかとなり，*MET* ex14 skipping 変異として報告された[5]．*MET* ex14 skipping には，図 2 に示すように *MET* ex14 そのものの

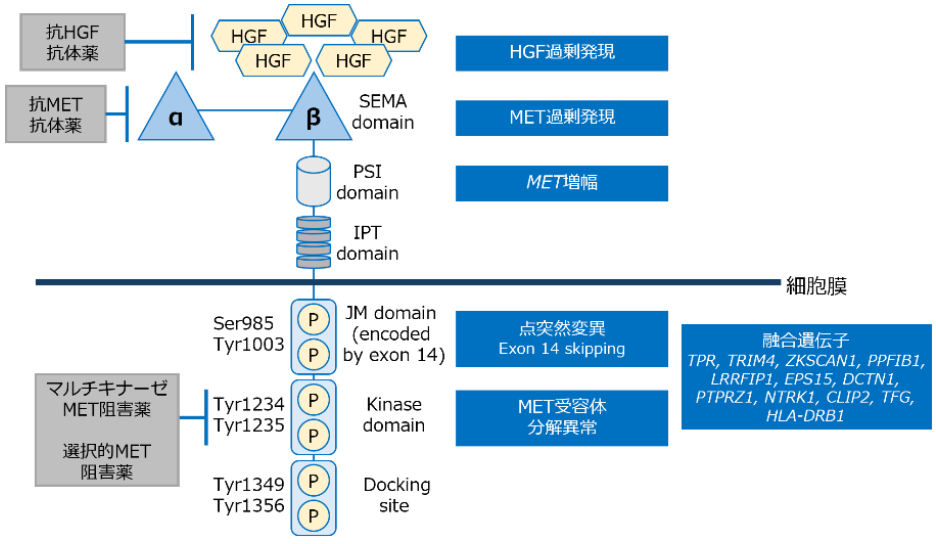
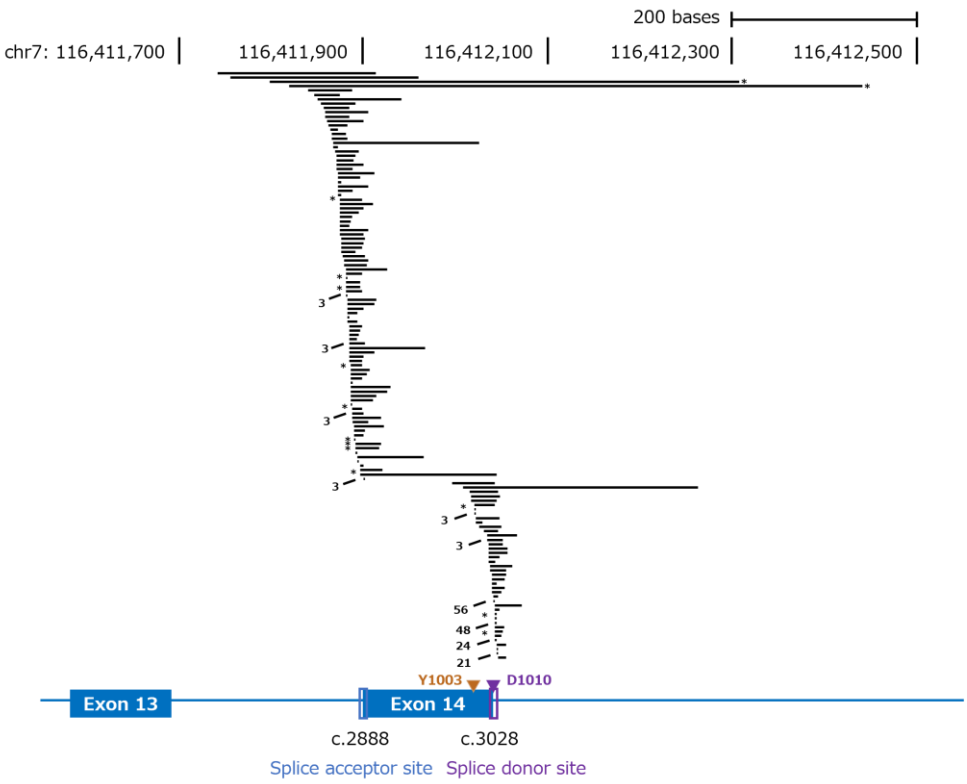


図 1． *MET* とそのリガンドである HGF の機能とその異常，それに対する薬剤の概要



METex14 skipping	Base substitution	Indel
Splice donor sites	149 (49.1%)	42 (13.8%)
Splice acceptor sites	4 (1.3%)	100 (32.9%)
Noncoding regions adjacent to splice acceptor	4 (1.3%)	3 (1.0%)
Whole exon 14 deletion		2 (0.7%)

図 2.　*MET* ex14 skipping を生じる遺伝子異常の分布
(J Thorac Oncol 2016;11:1493-1502 より改変)

欠失のほかに，イントロン/エクソン部分の遺伝子欠失や遺伝子変異により，スプライス部位の異常をきたし，exon14 の欠失した転写物の生成を生じるものもある．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）によって媒介される．*MET* ex14 は膜近傍領域（JM）をコードし，c-Cbl E3 ubiquitin ligase binding site を含んだ領域で，Cbl は，JM ドメイン内のリン酸化した Y1003 と結合する [6]．Cbl によるユビキチン化によって受容体の細胞内への取り込みや分解が誘発され，下流シグナルの制御に関わる [7]．一方，*MET* ex14 がないことにより，ユビキチン化や分解が抑制され，その結果 MET の活性化が生じると考えられている（図 3）．このユビキチン化に重要な *MET* Y1003 の変異においても *MET* ex14 skipping と同等の分解異常をきたす（”

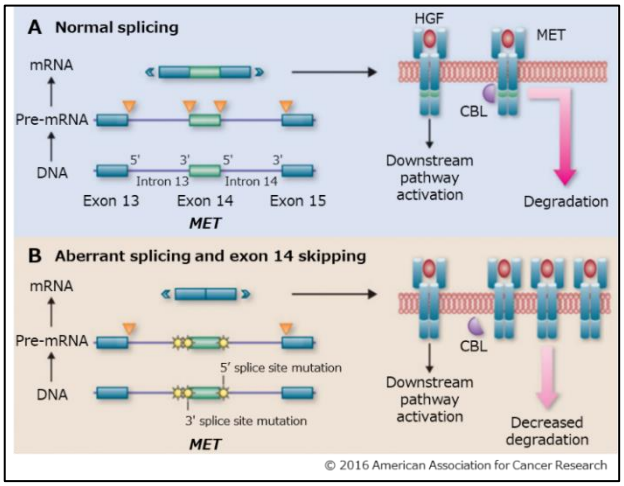


図 3.　MET 遺伝子の正常スプライシング（A）と ex14 skipping による異常スプライシング（B）(Clin Cancer Res 2016; 22: 2832-2834) Reproduced with permission from American Association for Cancer Research (2024)

functional analogue”) [8, 9]. この分解異常によってタンパク質の異常集積が生じ，後述の遺伝子増幅と合わせて免疫染色での過剰発現と関連することが知られている [8, 10, 11]. *MET* ex14 skipping は，肺腺癌のおよそ 3～4%を占め，高齢者に多く，性差，喫煙との相関は低いとされる [12]. また，通常他のドライバー変異（*EGFR*，*ALK*，*ROS1*，*BRAF*，*HER2*）とは相互排他的だが，*KRAS* の共変異が約 3%の症例で報告されている [13]. *MET* ex14 skipping は，肺腺癌以外の組織型では扁平上皮癌にも認められ [14]，肉腫様癌で頻度が高い（5～32%）ことが知られている [8, 13, 15, 16].

3．*MET* 増幅

MET 増幅は，主に *de novo* と獲得性（acquired）の 2 つに分類される．*de novo MET* 増幅は NSCLC の 1～5%にみられ，予後不良と関連する [17, 18]. 一方，耐性獲得機序としての *MET* 増幅は第 1～第 3 世代の EGFR TKI 投与後の耐性化後に認められ，*EGFR* 変異陽性 NSCLC 患者の 5～15%で確認される [19, 20]. また *ALK*，*RET*，*ROS1* を標的とする治療に対する獲得耐性のメカニズムとしても認識されている [21].

4．MET 蛋白過剰発現

IHC を用いた *de novo* MET 蛋白過剰発現は陽性基準にもよるが，NSCLC 患者の約 20～48%で認められる [22, 23]. 一部の *MET* ex14 skipping 陽性腫瘍のみで MET 蛋白質発現が増強するとする報告もあるが [24]，MET 過剰発現と遺伝子増幅または，*MET* の他の遺伝子変化の相関は弱く，他の発癌性ドライバー変化の状況で過剰発現を認めることがある [13, 24, 25]. そのため，MET 過剰発現は遺伝子異常をサロゲートするバイオマーカーとはならない.

5．*MET* 融合遺伝子

MET 遺伝子融合は，主に神経膠腫，乳頭状腎細胞癌，甲状腺癌などで報告されている [26]. NSCLC における *MET* 融合遺伝子の頻度は非小細胞肺癌の 0.29%[27]，ドライバー遺伝子陰性肺腺癌の 0.5%と報告されている [28]. これまでさまざまな融合パートナーが特定されており，そのブレークポイントは *MET* 遺伝子内のイントロン 14 を中心に各イントロン領域で発生している. 融合遺伝子産物によってパートナー遺伝子内のコイルドコイルドメインと *MET* キナーゼドメインとの二量体形成が促進される [26, 28].

（3）MET 阻害剤

1．総論

MET 活性化機序は，増幅，変異，過剰発現，融合遺伝子など多様であり，これらの *MET* 遺伝子異常に対する薬物治療が進展している．特に開発が進んでいる薬剤は MET チロシンキナーゼ阻害薬（TKI）であり，結合メカニズムと構造によりタイプ Ia，Ib，II，III に分けられる [29, 30]. タイプ I の阻害薬は，チロシンキナーゼドメインの活性化した ATP 結合部位に作用する阻害薬である．タイプ I に該当する阻害薬（クリゾチニブ，カプマチニブ，テポチニブ，サボリチニブ，グマロンチニブ，Vebreltinib など）のうち，solvent-front の G1163 残基などとの相互作用に依存する点が特徴的であるクリゾチニブはタイプ Ia[30]，MET キナーゼへの特異性がより高いその他の阻害薬をタイプ Ib と呼ぶ. タイプ II の阻害薬（カボザンチニブ，メレスチニブ）は，タイプ I の領域ならびに非活性化 ATP 結合部位に作用する ATP 競合性のチロシンキナーゼ阻害薬であり，タイプ III 阻害薬はアロステリックサイトに接合する阻害薬である．現在 MET 阻害薬はチロシンキナーゼ阻害薬の他に抗体薬も開発され，種々の *MET* 遺伝子異常に対する効果が期待される.

2．*MET* ex14 skipping に対する MET 阻害薬の種類

現在報告されている *MET* ex14 skipping に対する *MET* 阻害薬について表 1 にまとめた．このうちテポチニブ（商品名：テプミトコ）は，先駆け審査指定制度に基づいて臨床第Ⅱ相試験である VISION 試験 [31] をもとに 2019 年 11 月 19 日に承認された．また GEOMETRY mono-1 試験 [32] をもとに，2020 年 6 月 4 日にカプマチニブ（商品名：タブレクタ）が承認され，GLORY 試験 [33] をもとに，2024 年 6 月 24 日にグマロンチニブ（商品名：ハイイータン）が承認されている．いずれの試験においても *MET* ex14 skipping をきたす変異部位（splice acceptor site, splice donor site, whole-exon 14 deletion）や変異種類

表 1. *MET* ex14 skipping 陽性 NSCLC を標的とした治療薬（承認済及び試験進行中のみ）

Agent	本邦における承認	Company	Targets	Type of inhibitor	Enzyme IC50, nM	Clinicaltrials.gov/NCT No.	PMID
選択的MET TKI							
Tepotinib	承認済 (2019/11/19)	Merck	MET	Type Ib TKI	3	NCT02864992	23553846 32469185 37270698
Capmatinib	承認済 (2020/6/29)	Novartis	MET	Type Ib TKI	0.13	NCT02414139	21918175 32877583
Gumarontinib	承認済 (2024/6/24)	Haihe Biopharma /大鵬薬品	MET	Type Ib TKI	0.42	NCT04270591	29237805
Savolitinib	未承認	AstraZeneca	MET	Type Ib TKI	5	NCT02897479	25148209
Vebreltinib (Bozitinib, APL-101, PLB-1001)	未承認	Apollomics	MET	Type Ib TKI	31	NCT03175224 NCT04258033	ESMO 2023 #1379P
マルチキナーゼ阻害薬							
Crizotinib	未承認	Pfizer	MET, ALK, ROS1, RON	Type Ia TKI	<1.0	NCT02465060 NCT02499614 NCT02664935	21812414 19459657 31932802
Elzovantinib (TPX-0022)	未承認	Turning Point Therapeutics	MET, CSF1R, SRC	Type I TKI	0.14	NCT03993873	AACR-NCI-EORTC 2020 #P225
Cabozantinib	未承認	Elexis	MET, AXL, RET, VEGFR2, FLT3, ROS1, KIT	Type II TKI	1.3	NCT01639508	21926191
Merestinib	未承認	Eli Lilly	MET, RON, TIE-1, TIE-2, AXL, ROS1, DDR1/2, FLT3, MERTK, RON, MKNK1/2	Type II TKI	4.7	NCT02920996	23275061
抗体薬							
Sym015	未承認	Symphogen Servier	MET	IgG1 MoAb mixture	N/A	NCT02648724	ASCO 2020 #9510
REGN5093	未承認	Regeneron	MET	MET bispecific Ab	N/A	NCT04077099	ASCO 2022 #TPS8593
Amivantamab	未承認	Janssen	EGFR MET	Bispecific Ab	N/A	NCT02609776	WCLC 2023 #OA21.04

（indels, point mutations)と治療効果との間に関連は認めなかった．また，MET TKI に加え，新しい作用機序を有する抗 MET 抗体薬の開発も進んでいる．

2-1．VISION 試験

VISION 試験は，*MET* ex14 skipping 変異陽性の切除不能な進行・再発 NSCLC 患者を対象にテポチニブ 500mg の 1 日 1 回投与における抗腫瘍効果と忍容性及び安全性を評価する，国際共同，非盲検，単群，マルチコホート，第Ⅱ相試験である [31]．主要評価項目は奏効率 (ORR・RECIST ver 1.1 基準に基づく独立評価判定）で，有効性評価が可能であった主要解析コホート（コホート A ）146 例の ORR は 44.5%，そのうち観察期間が 9 カ月以上得られた 99 例における ORR は 46%, PFS 中央値

は 8.5 カ月，OS 中央値は 17.1 カ月であった．その後，並行して行われていた検証的コホート（コホート C）と統合した長期フォローデータ解析結果が公表され（観察期間中央値：32.6 ヵ月），事前に規定された前治療歴別のサブグループ解析において，未治療例（n=111)/既治療例(n=97）の ORR，PFS 中央値，OS 中央値は，それぞれ 58.6%/49.5%，15.9 カ月/11.5 カ月，29.7 カ月/20.4 カ月であった [34].

2-2．GEOMETRY mono-1 試験

GEOMETRY mono-1 試験は，*MET* ex14 skipping 変異陽性の切除不能な進行・再発 NSCLC 患者を対象とした国際共同，非盲検，単群，第Ⅱ相試験である [32]. 未治療例(コホート 5b) 28 例，及び既治療例（コホート 4）69 例に対してカプマチニブ 1 回 400mg が 1 日 2 回経口投与された．主要評価項目である独立評価判定による ORR（RECIST ver 1.1 基準に基づく）は，未治療例/既治療例でそれぞれ 67.9%/40.6%，PFS 中央値，OS 中央値は，それぞれ 12.42 カ月/5.42 カ月，15.24 カ月/13.57 カ月であった [32,35]．最終解析報告では，未治療例コホート 60 例（コホート 5b: N=28，コホート 7 N=32）と既治療例コホート 100 例（コホート 4: N=69，コホート 6: N=31）の PFS および OS 中央値は，それぞれ 12.45 カ月/5.49 カ月，21.36 カ月/16.79 カ月であった [36] ．

2-3．GLORY 試験

GLORY 試験 [33] は，*MET* 変異陽性 NSCLC 患者を対象とした第Ⅰb 相試験と，*MET* ex14 skipping 変異陽性の局所進行性または転移性 NSCLC 患者を対象とした第Ⅱ相試験からなり，第Ⅱ相試験は，国際共同，非盲検，単群試験である．第Ⅱ相試験の有効性解析対象集団において，未治療例 44 例，および既治療例 35 例に対してグマロンチニブ 1 回 300mg が 1 日 1 回投与された．観察期間中央値：13.5 カ月において，主要評価項目である独立評価判定による ORR（RECIST ver 1.1 基準に基づく）は，未治療例/既治療例でそれぞれ 70.5%/60.0%，PFS 中央値，OS 中央値は，それぞれ 11.7 カ月/7.6 カ月，未達/16.2 カ月であった．

（4）*MET* ex14 skipping 変異の診断

1．総論

MET ex14 skipping は DNA の異常が exon14 を欠くたんぱく質として腫瘍化に作用する．前述のごとくスプライス部位を含む広い範囲の Indel が半分程度を占め，一般に DNA をもとにした解析は多くの偽陰性が生じることがわかっている [37,38,39] ．本邦で承認されているマルチプレックス検査ではいずれも RNA をもとにした解析であり，exon 14 欠失そのものを検出するため，より高い感受性と機能を有するアプローチが可能である [40].

VISION 試験では，組織検体に対してはアンプリコンベースの NGS であるオンコマイン Focus Assay，および血漿 cfDNA にハイブリッドキャプチャーベースの Guardant360 CDxTest を用いて患者選択が行われたが，組織・血液が同一プラットホームで検討可能な ArcherMET の分析学的妥当性が確認され，本邦におけるコンパニオン診断薬として 2020 年 3 月に薬事承認された．ArcherMET は，モレキュラーバーコードを有している点や Anchored Multiplex PCR を用いている点が新しかった．しかし，Invitae/ArcherDx 社のグローバル経営戦略転換に伴い，2023 年 2 月に製造販売終了となった．2025 年 3 月 31 日現在，本邦において *MET* ex14 skipping 陽性非小細胞肺癌患者におけるテポチニブのコンパニオン診断となっているのは，AmoyDx（厚生労働省承認：2021 年 8 月 12 日），コンパクトパネル（同：2022 年 11 月 16 日）およびオンコマイン DxTT（同：2024 年 5 月 14 日）であり，カプマチニブのコンパニオン診断となっているのは FoundationOne CDx（同：2020 年 5 月 29 日），FoundationOne Liquid CDx （同：2023 年 5 月 25 日），オンコマイン DxTT（同：2024 年 4 月 30 日）および AmoyDx（同：2024 年 5 月 16 日）であり，グマロンチニブのコンパニオン診断となっているのは，AmoyDx（同：2024 年 7 月 19 日）であり，単一検査で *MET* ex14 skipping を調べる方法は入手不可となっている．なお，*MET* ex14 skipping を検出する簡便なスクリーニング法としての MET IHC は，否定する報告が明確であり [25,31,41]，現時点では推奨できない．一方で *MET* ex14 skipping 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る [42].

2．AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル

非小細胞肺癌 7 種のドライバー遺伝子（*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *MET*, *KRAS*, *RET*）をカバーする，リアルタイム PCR 法を原理としたコンパニオン診断薬で TAT（Turn Around Time）が短いことが特長である．組織から抽出した RNA 中の *MET* ex14 skipping を，RT-PCR（reverse transcription PCR）法により検出する．具体的な解説については, 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」の項を参照されたい．*MET* ex14 skipping の検出によりテポチニブ，カプマチニブおよびグマロンチニブの使用が可能である．VISION 試験にて *MET* ex14 skipping 変異の有無が確認された 127 例の検体を用い，NGS 法を原理とした既承認医療機器を対照として一致率を検討した．その結果, 本検査法の陽性一致率 100.0%，陰性一致率 97.7%であった [43].

3．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

非小細胞肺癌 7 種のドライバー遺伝子(*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *MET*, *BRAF*, *KRAS*, *RET*) をカバーする，NGS を用いたコンパニオン診断薬である. 検査に必要な腫瘍含有率は 5%以上が推奨とされ, 他のマルチプレックス検査と比べて低く, 細胞診検体での提出も可能となっていることが特長である．*MET* ex14 skipping の検出によりテポチニブの使用が可能である．ArcherMET を対照とした相関性試験（肺癌組織 FFPE 検体 *MET* ex14 skipping 変異）: 全症例数 99 例（陽性 49 例, 陰性 50 例）において，本検査法の陽性一致率 98.0%，陰性一致率 100.0%であった [44].

4．FoundationOne CDx および FoundationOne Liquid CDx

GEOMETRY mono-1 試験では，中央測定機関で RT-PCR 法により検査された．当該検査との分析学的妥当性が確認された FoundationOne CDx がんゲノムプロファイルがカプマチニブのコンパニオン診断として承認されている．FoundationOne CDx における *MET* ex14 skipping の解析には exon14 近傍の splice site mutation/deletion の検出によって検出する. 同様の技術をもつ FoundationOne Liquid CDx もカプマチニブのコンパニオン診断として承認された. 具体的な解説については, 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」の項を参照されたい.

5．オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム

非小細胞肺癌 7 種のドライバー遺伝子（*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *MET*, *BRAF*, *RET*, *HER2*）をカバーする，NGS を用いたコンパニオン診断薬である. オンコマイン DxTT では，解析アルゴリズムとして RNA における *MET* ex14 skipping と DNA での *MET* イントロン-エクソン境界領域の遺伝子解析を行う．当初 *MET* ex14 skipping 検出については偽陽性の問題があり, 日本肺癌学会からの留意のお知らせの通り，*MET* ex14 skipping のリードカウントがおよそ800以下の場合は偽陽性の可能性が高かった [45]. しかしその後の分析学的妥当性を検証して改善を加えた結果, この問題は一定の解決がなされており, 本コンパニオン診断薬による *MET* ex14 skipping の検出により，テポチニブおよびカプマチニブの使用が可能となっている.

6．保険点数について

AmoyDx: 進行再発非小細胞肺癌患者へのテポチニブ, カプマチニブおよびグマロンチニブによる治療法の選択を目的として，患者 1 人につき 1 回のみ算定できる.

- 組織による AmoyDx：12,500 点

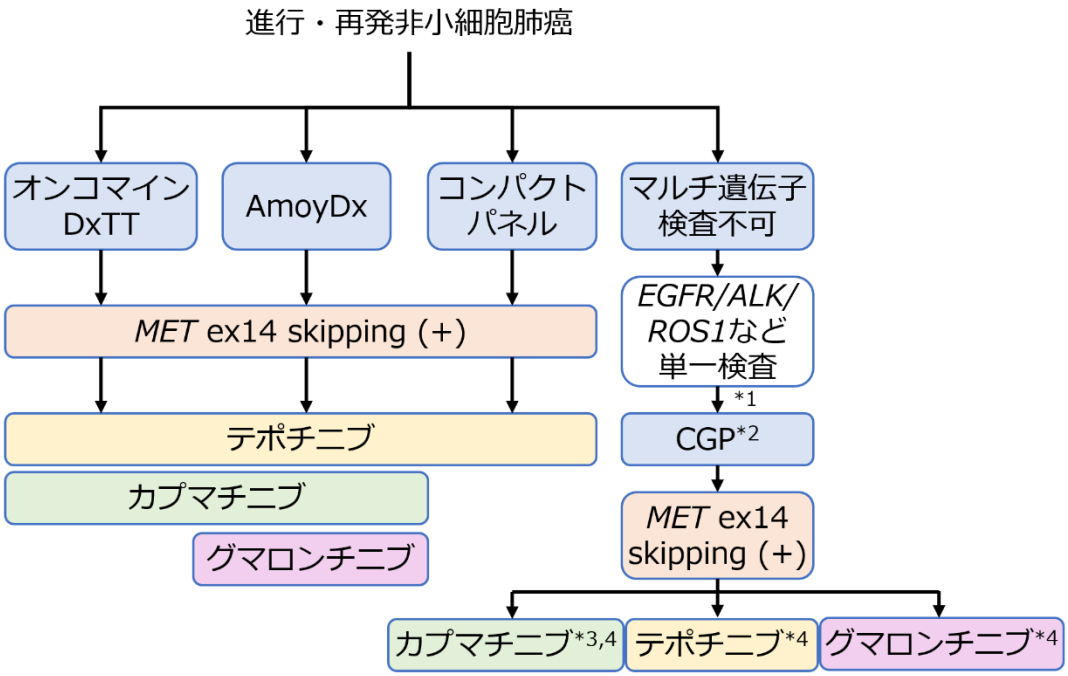


図 4. 保険診療における *MET* ex14 skipping 検査のアルゴリズム
*1 標準治療が終了あるいは終了見込みのタイミングで出検.
*2 包括的がんゲノムプロファイリング検査（Comprehensive Genomic Profiling）. がんゲノム医療中核拠点病院・拠点病院・連携病院より出検される. 2025 年 3 月 31 日現在, 保険収載された検査は FoundationOne CDx (F1CDx), NCC オンコパネル, FoundationOne Liquid CDx (F1 リキッド), GenMineTOP, Guardant360 である.
*3 F1CDx, F1 リキッドを*1 のタイミングによらず *MET* ex14 skipping のコンパニオン診断として用いた場合. ただしこの場合には, 検査費用と診療報酬に大きな差が生じることに注意する.
*4 CGP 検査を行って *MET* ex14 skipping が検出され, がんゲノム医療中核拠点病院, 拠点病院もしくはエキスパートパネル実施可能がんゲノム医療連携病院のエキスパートパネルで推奨された場合.

（「D006-24 肺癌関連遺伝子多項目同時検査 10,000 点」「D004-2 悪性腫瘍組織検査１. 悪性腫瘍遺伝子検査イ. 処理が容易なもの (１)医薬品の適応判定の補助等に用いるもの 2,500 点」を合算した）

コンパクトパネル: 進行再発非小細胞肺癌患者へのテポチニブによる治療法の選択を目的として, 患者 1 人につき 1 回のみ算定できる.

- 組織もしくは細胞によるコンパクトパネル：20,000 点

（「D004-2 悪性腫瘍組織検査１. 悪性腫瘍遺伝子検査イ. 処理が容易なもの 4 項目以上:8,000 点と「D004-2 悪性腫瘍組織検査１. 悪性腫瘍遺伝子検査 ロ.処理が複雑なもの 3 項目以上 12,000 点を合算した）

オンコマイン DxTT: 進行再発非小細胞肺癌患者へのテポチニブおよびカプマチニブによる治療法の選択を目的として, 患者 1 人につき 1 回のみ算定できる.

- 組織によるオンコマイン DxTT：18,000 点

（「D004-2 悪性腫瘍組織検査１. 悪性腫瘍遺伝子検査イ. 処理が容易なもの 3 項目:6,000 点と「D004-2 悪性腫瘍組織検査１. 悪性腫瘍遺伝子検査 ロ.処理が複雑なもの 3 項目以上 12,000 点を合算した）

FoundationOne CDx あるいは FoundationOne Liquid CDx: コンパニオン診断薬として用いた場合にはカプマチニブによる治療法の選択を目的として使用される. ただし検査費用として保険償還される額はコンパニオン部分のみである. そのため検査会社が病院に請求する額との間に大きな相違が生じ, 病院側が多額の負担を負うことになるため, 実質的には使用が困難な状態となっている.

7. 肺癌の遺伝子検査における METex14 skipping 検査の位置づけ

MET 阻害薬の高い奏効率を考えると, 他のドライバー変異である *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF* と同等の位置づ

けで, すべての非小細胞肺癌患者でその遺伝子変異を知ったうえで治療計画を立てる必要がある．先述の通り *MET* ex14 skipping を検出できる保険収載された個別遺伝子検査はない. そのため他の遺伝子異常同様に, 初回治療前にマルチ遺伝子パネル検査を行うことが推奨される. 現状での遺伝子検査と治療薬剤の組み合わせを，図 4 にまとめた.

（5）おわりに

MET ex14 skipping に対する有効な治療薬が開発され，3 つの MET TKI が保険適用となっている．この治療薬を患者さんに届けるために, 現状では単一検査はなくマルチプレックス遺伝子検査を施行する状況となっている. そのため微小検体にてマルチ検査を出検できない場合に *MET* ex14 skipping の診断は困難であるため，組織採取に工夫が必要であり, 採取検体の状況に応じたマルチ検査の選択も重要である．またマルチ検査が failure した際の *MET* ex14 skipping 検出方法については保険診療の面も含めた今後の課題となっている．さらに他の *MET* 遺伝子異常（増幅，融合遺伝子），蛋白過剰発現に対する診断方法，治療開発の今後の動向にも注視していく必要がある.

参考文献

1. Nakamura T, Nawa K, Ichihara A. Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. Biochem Biophys Res Commun. 1984;122(3):1450-9.

2. Spigel DR, Edelman MJ, O'Byrne K, et al. Results from the phase III randomized trial of onartuzumab plus erlotinib versus erlotinib in previously treated stage IIIB or IV non-small-cell lung cancer: METLung. J Clin Oncol. 2017;35(4):412-420.

3. Matsumoto K, Umitsu M, De Silva DM, et al. Hepatocyte growth factor/MET in cancer progression and biomarker discovery. Cancer Sci. 2017; 108 (3): 296-307.

4. Liang H, Wang M. MET Oncogene in Non-Small Cell Lung Cancer: Mechanism of MET Dysregulation and Agents Targeting the HGF/c-Met Axis. Onco Targets Ther 2020; 13: 2491-2510.

5. 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: 283-289.

6. Peschard P, Ishiyama N, Lin T, et al. 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.

7. 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.

8. 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: 721-730.

9. 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: 850-859.

10. Paik PK, Drilon A, Fan PD, et al. Response to MET inhibitors in patients with stage IV lung adenocarcinomas harboring MET mutations causing exon 14 skipping. Cancer Discov 2015; 5: 842-849.

11. Tong JH, Yeung SF, Chan AW, et al. MET amplification and exon 14 splice site mutation define unique molecular subgroups of non-small cell lung carcinoma with poor prognosis. Clin Cancer Res 2016; 22: 3048-3056.

12. 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.

13. 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.

14. 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.

15. 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.

16. 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.

17. Schildhaus HU, Schultheis AM, Ruschoff J, et al. MET amplification status in therapy-naïve adeno- and squamous cell carcinomas of the lung. Clin Cancer Res. 2015; 21(4):907-915.

18. 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.

19. 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.

20. Leonetti A, Sharma S, Minari R, et al. Resistance mechanisms to osimertinib in EGFR-mutated non-small cell lung cancer. Br J Cancer. 2019; 121(9): 725-737.

21. 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.

22. Park S, Koh J, Kim DW, et al. MET amplification, protein expression, and mutations in pulmonary adenocarcinoma. Lung Cancer. 2015; 90(3): 381-387.

23. 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.

24. 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.

25. 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; 14(9): 1666-1671.

26. Stransky N, Cerami E, Schalm S, Kim JL, Lengauer C. The landscape of kinase fusions in cancer. Nat Commun. 2014; 5: 4846.

27. Riedel R, Fassunke J, Scheel AH, et al. MET fusions in NSCLC: clinicopathologic features and response to MET inhibition. J Thorac Oncol. 2023; S1556-0864(23)00666-4.

28. 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.

29. Cui JJ. Targeting receptor tyrosine kinase MET in cancer: small molecule inhibitors and clinical progress. J Med Chem. 2014; 57:4427-4453.

30. 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.

31. Paik PK, Felip E, Veillon R, Tepotinib in non-small-cell lung cancer with MET exon 14 skipping mutations. N Engl J Med. 2020; 383(10): 931-943.

32. 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: 944-957.

33. Yu Y, Zhou J, Li X, et al. Gumarontinib in patients with non-small-cell lung cancer harbouring *MET* exon 14 skipping mutations: a multicentre, single-arm, open-label, phase 1b/2 trial. EClinicalMedicine 2023;59:101952.

34. Mazieres J, Paik PK, Garassino MC, et al. Tepotinib treatment in patients with MET exon 14-skipping non-small cell lung cancer: long-term follow-up of the VISION phase 2 nonrandomized clinical

35. 国際共同第Ⅱ相試験（A2201 試験）［承認時評価資料］

36. Wolf J, Hochmair M, Han JY, et al. Capmatinib in MET exon 14-mutated non-small-cell lung cancer: final results from the open-label, phase 2 GEOMETRY mono-1 trial. Lancet Oncol 2024 Oct;25(10):1357-1370.

37. Davies KD, Lomboy A, Lawrence CA, DNA-based versus RNA-based detection of MET exon 14 skipping events in lung cancer. J Thorac Oncol 2019; 14: 737-741.

38. Descarpentries C, Lepretre F, Escande F, et al. Optimization of routine testing for MET exon 14 splice site mutations in NSCLC patients. J Thorac Oncol 2018; 13: 1873-1883.

39. Jurkiewicz M, Saqi A, Mansukhani MM, et al. Efficacy of DNA versus RNA NGS-based methods in MET exon 14 skipping mutation detection. J Clin Oncol 2020; 38: 9036-9036.

40. 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.

41. 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.

42. 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.

43. AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル添付文書 https://www.info.pmda.go.jp/downfiles/ivd/PDF/850278_30300EZX00076000_A_01_07.pdf

44. Kato K, Okami J, Nakamura H, et al. Analytical performance of a highly sensitive system to detect gene variants using next-generation sequencing for lung cancer companion diagnostics. Diagnostics. 2023; 13(8): 1476.

45. 日本肺癌学会.「オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム」における METex14 skipping 変異検出時での留意点について. https://www.haigan.gr.jp/modules/important/index.php?content_id=227

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 [1]. *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み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 [2]. 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 [3]．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 [4]．融合バリアントとして最も多い *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 [1-3]（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 [5].

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 [6-8]．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 [8]. *RET* 融合遺伝子は，融合するパートナー遺伝子によって 30 種類以上のバリアントが報告されている [9]（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

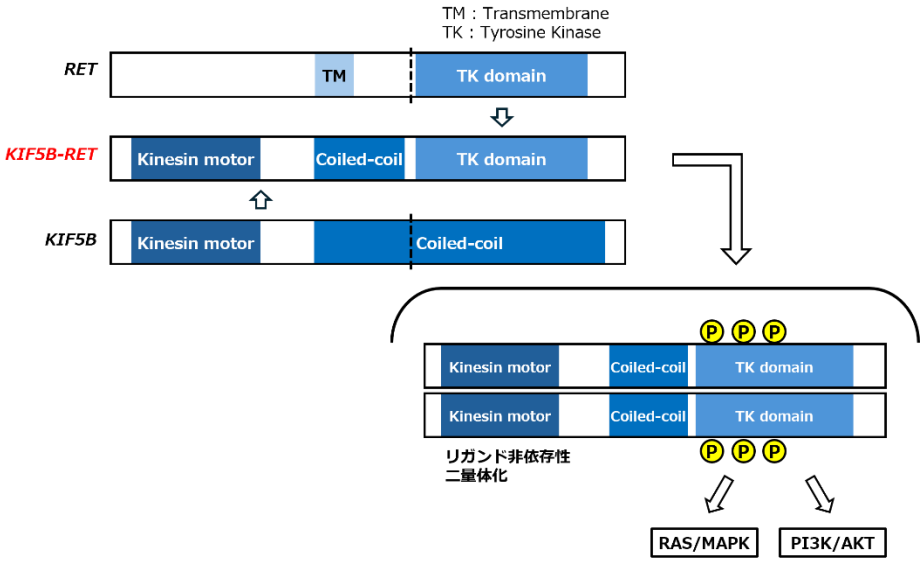


図 1.　*RET* 融合遺伝子とその活性化メカニズム

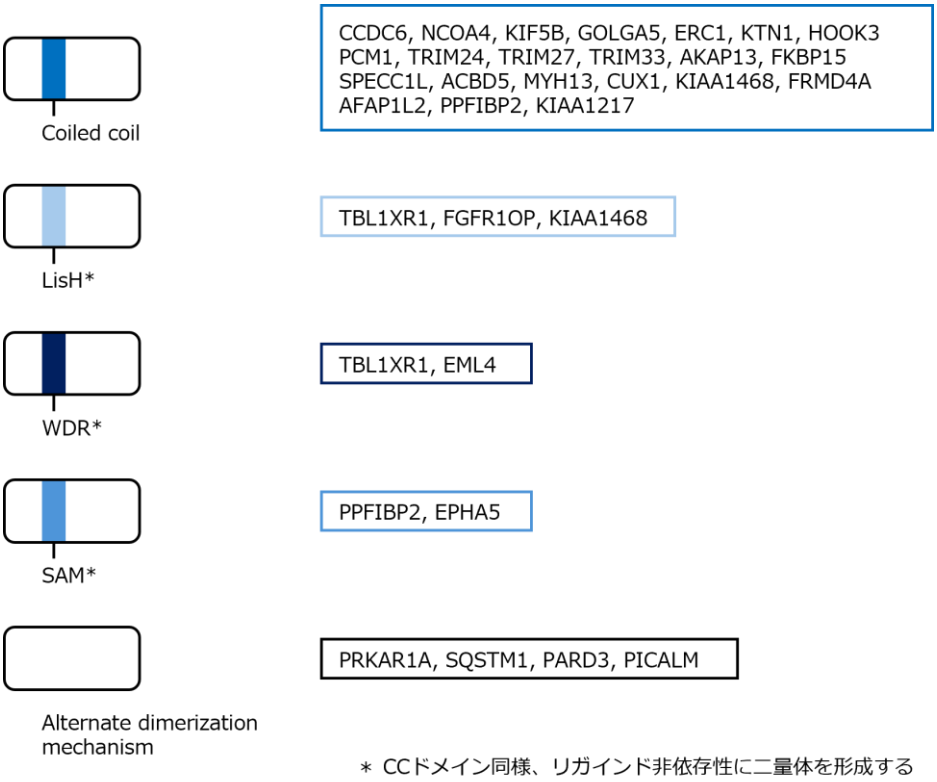


図 2.　*RET* の融合パートナー遺伝子

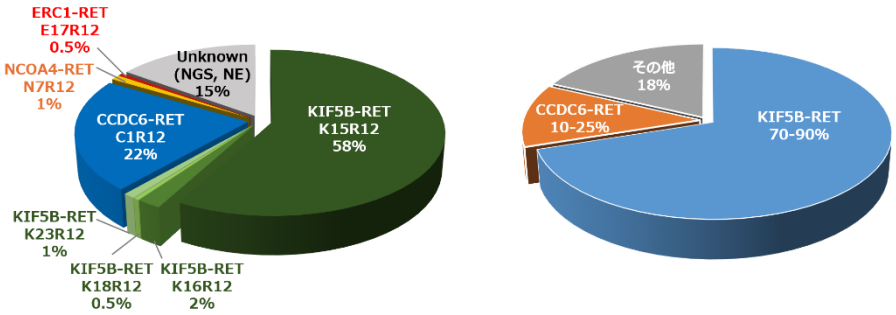


図 3. 非小細胞肺癌における *RET* の融合パートナー遺伝子とその頻度
左：LC-SCRUM-Asia のデータより（RET 肺癌 206 例）
右：Li らの報告より(Cancer Treat Rev. 2019;81:101911.)

考えられている．非小細胞肺癌で検出される *RET* 融合遺伝子のバリアントの多くは *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 [8,10]（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，非喫煙者で多いことが報告されている [11]．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≧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 [12]．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≧50%と高発現であったことを報告しており [13]，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，カボザンチニブ，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 [14-18]（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相バスケット試験（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 [19]．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 [20]．

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プラルセチニブ単剤療法の国際多施設共同第Ⅰ-Ⅱ相バスケット試験（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 [21]．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ラフェニブ+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* 融合遺伝子のバリアントは 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アント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ダンス [22]」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 [23]．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 [23]. 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等を用いた遺伝子パネル検査に基づくがん診療ガイダンス（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.

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

4-7. KRAS

（2024 年 4 月改訂 v2.0）

目　次

（1）*RAS* 遺伝子とその遺伝子変異 2
（2）*KRAS* 変異陽性肺癌の臨床病理学的特徴 4
（3）*KRAS* G12C 陽性肺癌に対する臨床試験 4
（4）*KRAS* 遺伝子 G12C 変異の検査 9
1．*therascreen* KRAS 変異検出キット RGQ 「キアゲン」 9
2．Guardant360 CDx がん遺伝子パネル 10
3．AmoyDx®肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル 10
4．その他のマルチ遺伝子検査 11
4-1．その他留意事項 12
4-1-1．検査実施時期および検査対象 12
おわりに 12
参考文献 13

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

清水 淳市, 荒金 尚子, 後藤 功一, 阪本 智宏, 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, 豊岡 伸一

Kristen rat sarcoma virus（*KRAS*）遺伝子は，1980 年代に発見された *RAS* がん遺伝子（*HRAS*, *NRAS*, *KRAS*）のうちの 1 つである [1]．*RAS* がん遺伝子は，ヒトがんにおいて最も高頻度にみられるがん遺伝子であり約 19%にみられる [2]．*KRAS* 遺伝子変異は欧米の肺腺癌の約 30%[2]，日本の肺腺癌の約 10%で見つかる [3]．他の Driver mutation とは基本的に相互排他的である．*KRAS* 遺伝子変異を標的とする治療開発は長く困難であったが [4]，*KRAS* G12C 変異を標的とした分子標的治療薬の有効性が示され [5]，ソトラシブが米国 FDA で 2021 年 5 月に，本邦で 2022 年 1 月に承認された．

（1）*RAS* 遺伝子とその遺伝子変異

RAS 蛋白ファミリーは 188-189 個のアミノ酸からなる，GTP（グアノシン三リン酸）を GDP（グアノシン二リン酸）に加水分解する低分子量（分子量 21kDa）の GTPase の 1 つであり細胞膜内面に単量体で存在する．GTP の結合した活性化状態と GDP の結合した不活性型が存在し，両者を行き来することで細胞内のシグナル伝達経路においてスイッチとしての役割をもつ（図 1）．上流からのシグナルにより活性化状態となり下流へシグナルを伝達し，細胞の増殖，分化などの調節を行う．スイッチのオンオフは，活性化を促進するグアニンヌクレオチド交換因子（Guanine nucleotide exchange factor; GEF）と，RAS の内因性 GTPase 活性を促進し，活性型から不活性型への変換を促進する GTPase 活性化蛋白質（GTPase activating protein; GAP）により調節される．*RAS* 遺伝子には *HRAS*，*KRAS*，*NRAS* の 3 種類が存在し，これらの配列は高い相同性をもっている．スイッチ I とスイッチ II，P ループからなり下流のエフェクター蛋白と結合する G ドメインと，C 末端の超可変領域（hypervariable regions; HVRs）からなる（図 2）．HVRs の CAAX（C；システイン，A；脂肪族アミノ酸，X；任意のアミノ酸）の 4 つのアミノ酸が，翻訳語修飾を受けることにより細胞膜内面と結合するようになり RAS 蛋白質の細胞膜内側への局在が決定される．RAS の下流シグナル伝達経路は，RAF-MEK-ERK 経路と PI3K-AKT-mTOR 経路など 10 種類以上が存在する．

RAS 遺伝子に点突然変異が生じると，RAS 蛋白質の GTPase 活性が減少するとともに，蛋白質の構造変化により GAP の結合も阻害される．これにより，活性型から不活性型への変換が阻害され，活性型 RAS 蛋白が蓄積することにより，癌細胞における増殖・生存シグナル伝達が増

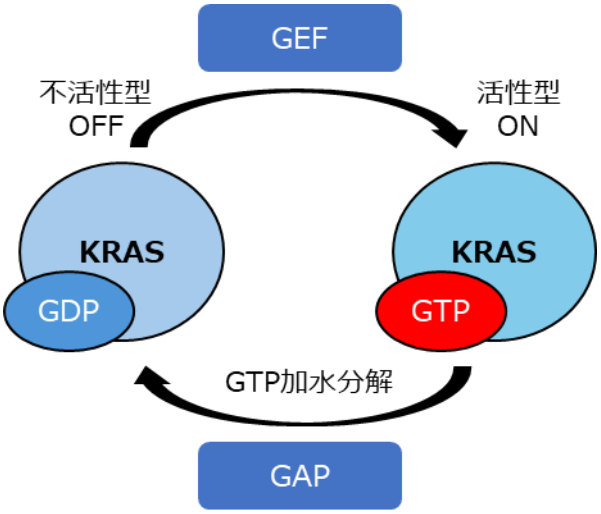


図 1． KRAS の活性型と不活性型
KRAS は活性型と不活性型を行き来することでスイッチの役割を果たしている

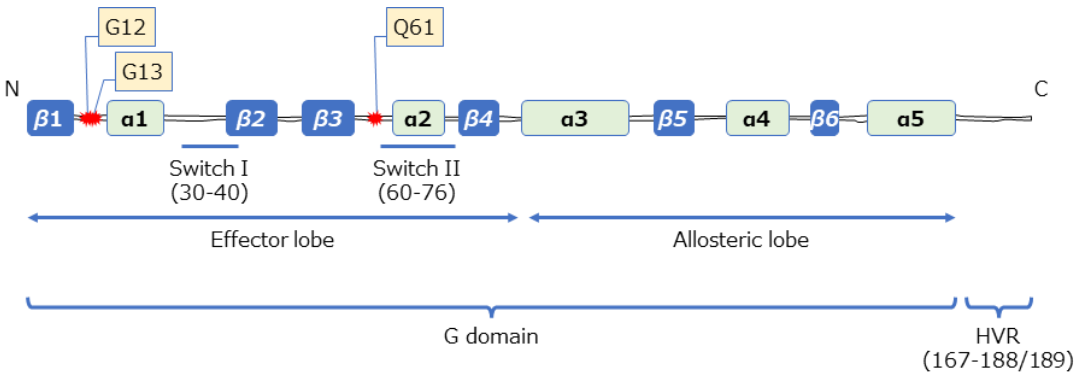


図 2． RAS 蛋白の構造

表1 G12の変化パターン*

KRAS G12 アミノ酸置換	塩基置換			バリアントタイプ	COSMIC 件数 (全臓器)
	c.34 G>	c.35 G>	c.36 T>		
G12C	T	G	T	c.34G>T	5462
				c.33_34delinsCT	3
				c.33_34delinsGT	1
	T	G	C	c.34_36delinsTGC	1
G12V	G	T	T	c.35G>T	10921
	G	T	C	c.35_36delinsTC	17
	G	T	G	c.35 36delinsTG	1
G12D	G	A	T	c.35G>A	16096
				C35_36inv	2
G12A	G	C	T	c.35G>C	2470
	G	C	A	c.35_36delinsCA	1
G12S	A	G	T	c.34G>A	2101
	T	C	T	c.34_35delinsTC	1
G12R	C	G	T	c.34G>C	1611
	A	G	A	c.34_36delingAGA	1
G12F	T	T	T	c.34_35delinsTT	62
G12L	C	T	T	c.34_35delinsCT	13
	C	T	G	c.34_36delinsTGC	1
G12I	A	T	T	c.34_35delinsAT	8
G12W	T	G	G	c.34_36delinsTGG	6
G12E	G	A	A	c.35_36delinsAA	4
	G	A	G	c.35_36delinsCA	1
G12Y	T	A	T	c.34_35delinsTA	3
G12N	A	A	T	c.34_35delinsAA	2
G12H	C	A	T	c.34_35delinsCA	1

*COSMIC v96 (2023/11/26参照)

強される．点突然変異には，G12，G13，Q61 の 3 カ所のホットスポットが存在し，全体の 96-98%を占める．*RAS* 遺伝子変異は様々な癌腫でみられ，臓器ごとに遺伝子変異の種類と頻度は異なっている．非小細胞肺癌では肺腺癌では *KRAS* 変異が最も多く，さらに G12 変異が 80%を占める．G12 に起きる点突然変異にはいくつかのパターンが存在し，肺腺癌では 34 番目のグアニンがチミンに置換することにより，アミノ酸がグリシンからシステインに変わる G12C が最も多く，次いで，35 番目のグアニンがチミンに置換して，アミノ酸がグリシンからバリンに変わる G12V が多い（表 1）．肺癌においては，発がんの原因として喫煙が最も重要な要因である．一般に点突然変異の起こり方は 12 通り存在し，アデニン，グアニンのプリン同士もしくはシトシン，チミンのピリミジン同士の変異は transition 変異と呼ばれ，プリンとピリミジンが入れ替わる変異が transversion 変異と呼ばれる（図 3）．喫煙による塩基置換は，G から T への transversion 変異が多いと

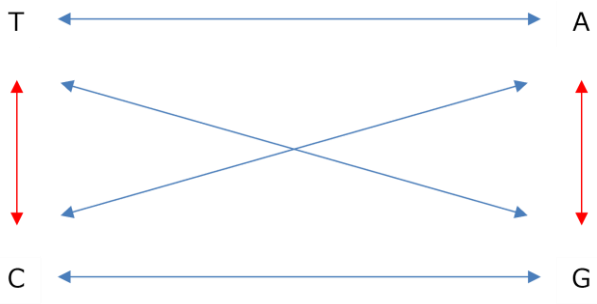


図 3． 点突然変異のパターン
Transition 変異（赤）：アデニン（A），グアニン（G）のプリン同士もしくはシトシン（C），チミン（T）のピリミジン同士の変異
Transversion 変異（青）：プリンとピリミジンが入れ替わる変異

されており[6]，G12 に起きる変異について，喫煙者と非喫煙者では傾向が異なっている．現喫煙者では G12C が最も多く，次いで G12V が多いが，非喫煙者では G12D が最も多い[7]（図 4）．G12D は 35 番目の塩基が G から A に transition 変異を起こすことによって生じる．

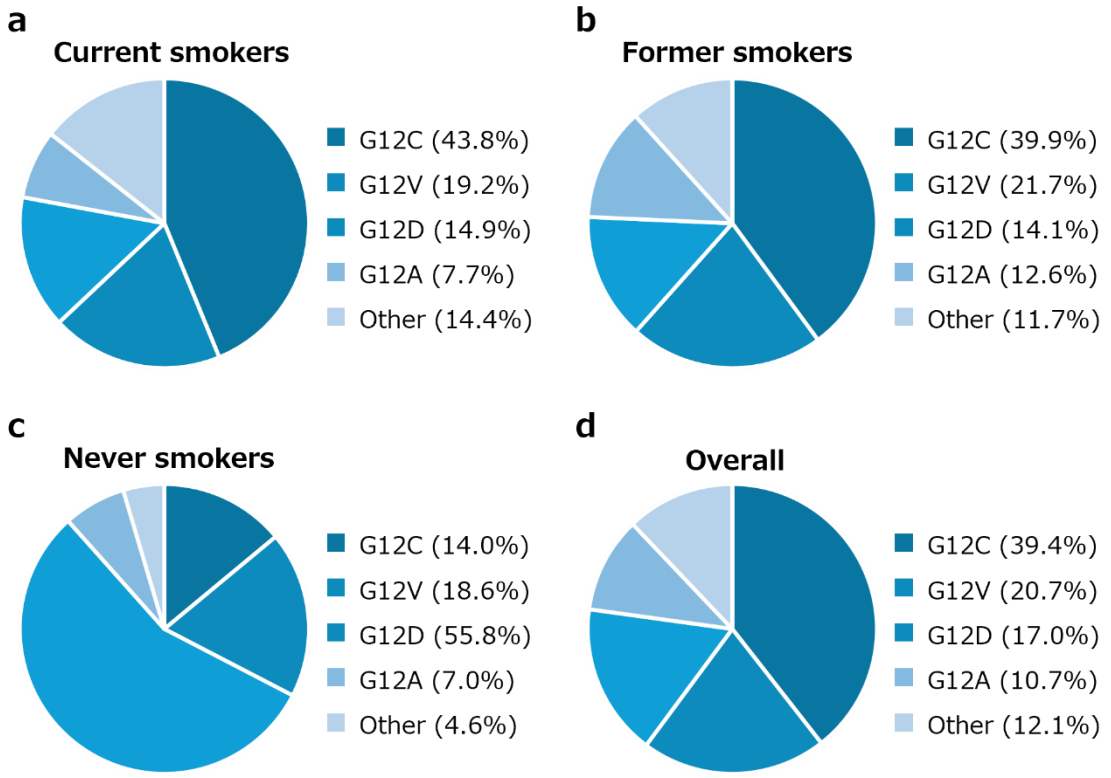


図 4.　*KRAS* 遺伝子変異と喫煙歴の関係
KRAS 変異のバリアントタイプの頻度は喫煙歴によって異なる [7]

（2）*KRAS* 変異陽性肺癌の臨床病理学的特徴

KRAS 遺伝子変異は，主として欧米のデータベースによると肺腺癌の約 30%，肺扁平上皮癌の約 4%にみられる [2]．本邦においては，肺腺癌の 9.7%にみられ，喫煙歴を有する男性に多い傾向がある [3]．*KRAS* 遺伝子変異の中で最も高頻度にみられる変異は G12C である．浸潤性粘液性腺癌（invasive mucinous adenocarcinoma; IMA）において，*KRAS* 遺伝子変異が多くみられることが報告されているが，90%以上を G12D もしくは G12V が占め，G12C の頻度は高くない [8]．*KRAS* G12C 陽性の進行非小細胞肺癌を対象としたソトラシブの治験（CodeBreaK100）に登録された患者の背景では，年齢中央値 63.5 歳，女性 50.0%，非喫煙者 4.8%，脳転移あり 20.6%，腺癌 95.2%・扁平上皮癌 0.8%・大細胞癌 2.4%・肺胞上皮癌 1.6%であった [9]．

KRAS 遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌の予後や化学療法の感受性については，悪いとするもの，変異の有無によって差がないとするものがあり一貫しない [7]．*KRAS* 遺伝子変異のサブタイプにより異なるとの報告もあり，サブタイプを区別した大規模な検討が必要であろう [10,11]．*KRAS* 遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌では，PD-L1 発現が変異陰性と比較して高い傾向にあり [12]，免疫チェックポイント阻害薬の有効性も示されている [13]．

（3）*KRAS* G12C 陽性肺癌に対する臨床試験

長らく KRAS を標的とした治療薬の開発が成功しなかったが，2013 年に不活性型 KRAS の Switch-Ⅱの近傍に薬剤が結合し得るポケットが見つかり，薬剤を結合させることで活性型への変換を阻害し得ることが報告された [5]．この Switch-Ⅱポケットへの薬剤結合の足掛かりとして，グアニンからシステインに変換した 12 番目のアミノ酸が利用された．ソトラシブ（AMG510）はこのシステインにおけるチオールと，アクリルアミド部位で共有結合を形成し結合する低分子化合物である（図 5）[14]．結果として，活性型への変換を阻害し，下流のシグナル伝達を阻害し，細胞増殖を抑制する．変異したシステインに結合するため，

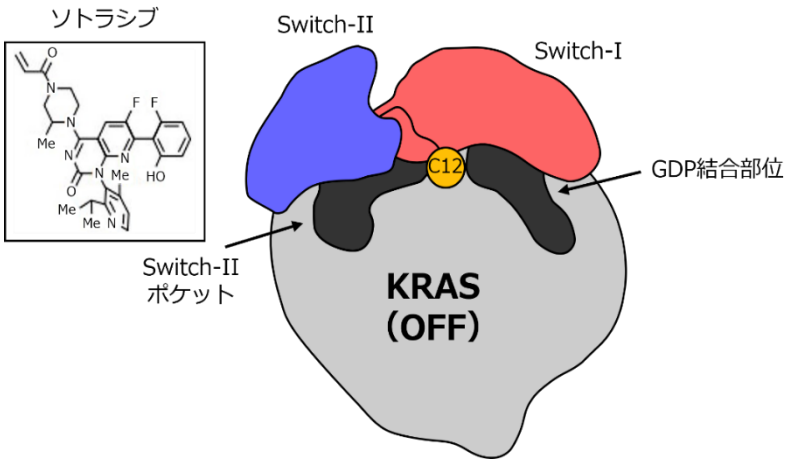


図5　KRAS 蛋白とソトラシブの結合
ソトラシブは非活性型 KRAS の Switch-Ⅱポケットに結合する

野生型の KRAS へは結合せず，選択性が高い．2018 年から *KRAS* G12C 変異を有する進行固形癌患者を対象とした国際共同第Ⅰ-Ⅱ相試験（CodeBreaK 100）が開始された．このⅡ相部分において既治療の非小細胞肺癌 126 例（日本人 11 例）にソトラシブが投与され，奏効率 37.1%，無増悪生存期間の中央値が 6.8 カ月，全生存期間中央値が 12.5 カ月（いずれもデータカットオフ日：2021 年 3 月 15 日）であった[9]．この結果を受けて，米国 FDA では 2021 年 5 月に，本邦では 2022 年 1 月に「がん化学療法後に増悪した *KRAS* G12C 変異陽性の切除不能な進行・再発非小細胞肺癌」に対する治療薬として承認された．さらに，既治療非小細胞肺癌を対象としてドセタキセルと比較する国際共同第Ⅲ相試験（CodeBreaK 200，NCG04303780）が実施され無増悪生存期間が有意に延長したことが報告された（HR: 0.66; 95%CI: 0.51-0.86; p=0.005. 1 年無増悪割合ソトラシブ 24.8%，ドセタキセル 10.1%）[15]．また，進行非小細胞肺癌の一次治療における第Ⅱ相無作為化試験（CodeBreaK 201，NCT04933695）が進行中である．また，様々な薬剤との併用療法についての検討も進んでいる（CodeBreaK 101，NCT04185883/ jRCT 2031210121）．

KRAS G12C を標的とした低分子化合物として，adagrasib（MRTX849，Krazati）も臨床開発が進んでいる．固形腫瘍を対象とした第Ⅰ-Ⅱ相試験が進行中であり（KRYSTAL-1，NCT03785249），Ⅱ相コホートにおいて非小細胞肺癌 116 例で奏効率が 42.9%，奏効期間中央値が 8.5 カ月，無増悪生存期間中央値が 6.5 カ月であったと報告され[16]，米国 FDA では 2022 年 12 月に迅速承認された．その他，Divarasib（GDC6036，NCT04449874），LY3499446（NCT04165031），JNJ74699157（NCT04006301），JDQ443（NCT）の臨床開発が進行している．

単剤のソトラシブ，adagrasib については，耐性変異の検討も報告されている[17-20]．KRAS の二次変異や，増幅，MET，NRAS，BRAF などのバイパス経路の活性化，他の Driver 変異の出現など，他の分子標的治療薬でみられるのと同様に種々の耐性メカニズムがある．

KRAS G12C 以外の変異に対する治療開発も始まっている．*KRAS* G12D に対する阻害薬である MRTX1133 が前臨床で有効であることが示された[21]．また，活性型の KRAS を阻害する薬剤についても，種々の化合物が開発されている（表 2，3）．

表 2.　KRAS G12C 変異を有する肺癌に対する主な臨床試験*

標的	薬剤 製薬企業	試験名	Phase	使用薬剤	患者数	結果概要もしくは発表学会
KRAS G12C (In-active)	ソトラシブ (AMG510) Amgen	CodeBreaK 101※1 NCT04185883	Ib/II	単剤，または MEK, PD-1, SHP2 , ErbB 阻害薬など併用	1054	・アファチニブ併用 Gandara et al. AACT2021 ・トラメチニブ併用 Ramalingam et al. AACR-NCI-EORTC2021 ・PD-1/PDL-1 併用 BT.Li et al. WCLC2022 ・SHP2 併用 Gerald S. Falchook　et al. WCLC2022 ・CBDCA＋PEM 併用　Ckarke et al. WCLC2023
		CodeBreaK 200 NCT04303780	III	単剤　対　ドセタキセル	345	PFS HR 0.66, p=0.002(de Langen et al. Lancet 2023[15])
		CodeBreaK 100 NCT03600883	I/II	単剤，または抗PD-1/L1 併用	793	・NSCLC N=126, 単剤, ORR 37.1%, mPFS 6.8 カ月（Skoulidis et al. NEJM 2021[9]）
		CodeBreaK 201 NCT04933695	II	２用量で検討（960mg, 240mg）	170	42 例で登録終了
		SCARLET WJOG14821L	II	Carboplatin+Pemetrexed 併用	27	ORR 88.9%, 6mPFS 61.2% (Akamatsu et al. ASCO2023)
		HERKURES-2※2 NCT04959981	Ib/II	ERAS601(SHP2i) 併用 ERSA007(ERKi) 併用	200	
	Adagrasib (MRTX849) Mirati	KRYSTAL-1 NCT03785249	I/II	単剤，またはペムブロリズマブ，アファチニブ併用	740	・単剤・耐性メカニズム (Awad et al. NEJM2021[17]) ・単剤・NSCLC N=112, ORR 42.9%, mPFS 6.5 カ月（Janne et al. NEJM 2022[16]） ・単剤・NSCLC 2年フォロー N=132,MST14.1カ月, N=128 mPFS6.9カ月（Gadgeel et al. WCLC2023）
		KRYSTAL-2※3 NCT04330664	I/II	TNO155 (SHP2i) 併用	86	
		KRYSTAL-7 NCT04613596	II/III	Pembrolizumab 併用	751	KRYSTAL-1とpIIの解析（Janne et al. ESMO IO 2022） pIIIはPD-L1 TPS≥50%
		KRYSTAL-12 NCT04685135	III	単剤　対　ドセタキセル	340	
		KRYSTAL-14※6 NCT04975256	I/Ib	BI1701963(SOS1i)併用	100	
		KRYSTAL-19※7 NCT05840510	I/II	Nab-Sirolimus 併用	79	
		KRYSTAL-21 NCT05853575	II	600mgBID vs 400mgBID	200	
		849-017 NCT05609578	II	プラチナ+ペメトレキセド+ペムブロリズマブ併用	90	
		Neo-Kan NCT05472623	II	単剤 対 ニボルマブ併用	42	
		NCT05848843	I	Durvalumab 併用	44	胃癌，NSCLC
		NCT06039384	I	INCB099280（PD-L1 阻害薬）併用	125	固形腫瘍
		ADEPPT NCT05673187	II	単剤．高齢者もしくは PS2	68	

KRAS G12C (In-active)	Divarasib GDC6036/ RG6330 Genentech/ Roche	GO42144 NCT04449874	I	単剤，またはアテゾリズマブ，エルロチニブ，GDC1971 などと併用	498	・NSCLC N=60, 単剤, ORR 53.4%, mPFS 13.1M（Sacher et al. NEJM2023）
	JDQ443 Novartis	KontRASt-01 ※4 NCT04699188	Ib/II	単剤，または TNO155(SHP2i), tislelizumab(anti-PD1)と併用	375	・NSCLC N=20, 単剤 200mgBID, ORR57%（Tan et al, AACR 2022）
		KontRASt-02 NCT05132075	III	単剤　対　ドセタキセル	360	
		NCT05445843	II	単剤．一次治療	120	PD-L 1 陰性もしくはSTK11 変異陽性
		STRIDER NCT05999357	II	単剤．脳転移あり	42	
	LY3537982 Eli Lilly	NCT04956640	I	単剤，他剤と併用	400	固形腫瘍 単剤，NSCLC =8, ORR38% (Yonina et al. AACR 2023)
		SUNRAY-01 NCT06119581	III	パートA：ペムブロリズマブ併用，パートB：ペムブロリズマブ＋化学療法併用	1016	
	D1553 InventisBio	D1553-101 KEYNOTE-C15 NCT04585035	I/II	単剤，または他剤と併用	200	・NSCLC N=6m, 単剤 600mgBID, ORR37.1%，（Shun Lu et al. WCLC2022）
		D1553-102 NCT05383898	I/II	単剤	203	
		D1553-105 NCT05492045	I/II	単剤，または他剤と併用	144	
	JAB21822 Jacobio	NCT05009329 NCT05002270	I/II	単剤 単剤，またはセツキシマブ併用	144 100	・NSCLC N=33, ORR 56.3%（Zhao et al. ASCO2022 abst.#3089）
		NCT05276726	I/II	単剤	104	STK11 変異あり，KEAP1 野生型
	<その他の薬剤：**薬剤名**（製薬企業）・試験名・Phase> **MK1084**(Merk Sharp & Dohme LLC)・NCT05067283・I 相，**BI1823911**(Boehringer Ingelheim)・NCT04973163・I 相，**GFH925**(GenFleet)・NCT05005234・I /II 相，YL15293(Shanghai YingLi)・NCT05173805・I /II 相，**GH35**(Suzhou Genhouse Bio)・NCT05010694・I 相，**HS10370**(Jiangsu Hansoh)・NCT05367778・I /II 相，**BPI421286**(Betta)・NCT05315180・I相					

ORR：奏効率，mPFS：無増悪生存期間中央値
※1-7　表 3 の試験と対応
※6 NSCLC を対象とした試験．他は NSCLC を含む固形腫瘍対象
＊肺癌を含むもの，2023/11Clinicaltrials.gov 検索

表 3.　KRAS に関連したその他の試験

薬剤 製薬企業	標的	試験名	対象疾患	対象遺伝子 異常	Phase	使用薬剤
RMC6291 Revolution	KRAS G12C, NRAS G12C Active	NCT05462717	Solid tumor	KRAS G12C	I	単剤
		NCT06128551	Solid tumor	KRAS G12C	I	RMC-6236併用
MRTX1133 Mirati	KRAS G12D	NCT05737706	Solid tumor	KRAS G12D	I/II	単剤
ASP3082 Astellas	KRAS G12D	NCT05382559	Solid tumor	KRAS G12D	I	単剤
RMC6236 Revolution	KRAS G12D, G12V Active	NCT05379985	Solid tumor	G12Cを除く KRAS G12X	I	単剤
ERAS601 Sarah Cannon	SHP2	FLAGSHP-1 NCT04670679	Solid tumor	変異によらず	I/Ib	単剤，またはセツキシマブ併用
		HERKULES-2 NCT04959981	NSCLC	Part3/6 KRAS G12C	I	Part3/6でソトラシブ併用
BI1701963 Boehringer Ingelheim	SOS1 In-active	NCT04111458	Solid tumor	KRAS	I	単剤，またはトラメチニブ併用
		※6 KRYSTAL-14 NCT04975256	Solid tumor	KRAS G12C	I	Adagrasib 併用
MRTX0902 Mirati	SOS1	NCT05578092	Solid tumor	KRAS 併用はG12C	I/II	単剤，または Adagrasib 併用
RMC4630 (SAR442720) Revolution	SHP2	NCT03634982	Solid tumor	KRAS G12C, KRAS amp 他	I	単剤
		NCT03989115	Solid tumor	KRAS mut and amp 他	Ib/II	コビメチニブ併用
		※1 CodeBreaK 101	Solid tumor	KRAS G12C	Ib	ソトラシブ併用 (Falchook et al. WCLC2022)
		NCT05054725	NSCLC	KRAS G12C	II	ソトラシブ併用
		NCT04418661	Solid tumor	KRAS G12C	I/II	パート3B　Adagrasib 併用
		SHERPA NCT04916236	Solid tumor	KRAS	I	LY3214996(ERK 阻害薬)併用
TNO155 Novartis	SHP2	NCT03114319	Solid tumor	KRAS G12	I	単剤
		※4 KontRASt-01	Solid tumor	KRAS G12C	Ib/II	JDQ443 併用 KRAS 阻害薬既治療 N=12, ORR33.3% (Negrao et al. WCLC2023)
		※1 CodeBreaK 101	Solid tumor	KRAS G12C	Ib	ソトラシブ併用
		※3 KRYSTAL-2	Solid tumor	KRAS G12C	I/II	Adagrasib 併用
		※5 NCT04956640	Solid tumor	KRAS G12C	I	LY3537982 併用
BMS-986466 BMS	SHP2	NCT06024174	Solid tumor	KRAS G12C	I/II	Adagrasib 併用 ±Cetuximab
LUNA18 Roche	ALL RAS GEF の相互作用を阻害	NCT05012618	Solid tumor	RAS alterations positive	I	単剤
RMC5552 Revolution	mTORC1/4EBP1	NCT04774952	Solid tumor	mTOR pathway	I	単剤
Nab-Sirolimus ABI-009	mTOR	※7 KRYSTAL-19 NCT05840510	Solid tumor	KRAS G12C	I/II	Adagrasib 併用
Olaparib	PARP	NCT06130254	Solid tumor	KRAS G12C	Ib	Adagrasib 併用 KEAP1 変異陽性

VS-6766 Avutometinib Verastem	RAF-MEK	NCT05375994	NSCLC	KRAS G12C	I/II	Atagrasib 併用 KRAS G12C 阻害薬耐性
		NCT05074810	NSCLC	KRAS G12C	I/II	ソトラシブ併用
		NCT02407509	Solid tumor/Myeloma	KRAS	I	エベロリムス併用 NSCLCコホートあり(Minchom et al. ASCO2022)
mRNA-5671/V941 Merck Sharp & Dohme LLC	mRNA based vaccine	NCT03948763	NSCLC他	KRAS G12D/V/C, G13D	I	単剤，またはペムブロリズマブ併用
Zotatifin(eFT226) Effector Therapeutics	eIF4	NCT04092673	Solid tumor	G12C以外の KRAS G12X	I / II	eFT226 (Zotatifin) alone
VIC-1911 Vitrac Therapeutics	Aurora kinase A inhibitor	NCT05374538	NSCLC	KRAS G12C	Ia/Ib	Sotorasib 併用
Palbociclib	CDK4/6	KRYSTAL-16 NCT05178888	Solid tumor	KRAS G12C	I	Adagrasib 併用
Tarloxotinib	Pan-EGFR TKI	NCT05313009	NSCLC	KRAS G12C	IB	Sotorasib 併用

※1-5, 7, 8　表２の試験と対応

（４）*KRAS* 遺伝子 G12C 変異の検査

ソトラシブの適応判定を目的とした *KRAS* 遺伝子の G12C 変異の検出には，当該薬剤のコンパニオン診断（CDx）薬/システムとして *therascreen* KRAS 変異検出キット RGQ「キアゲン」(以下 *therascreen*)，AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル（以下 AmoyDx)，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（以下，コンパクトパネル）および Guardant360 CDx がん遺伝子パネル（以下 G360CDx）（表４）が承認されている．このうち，G360CDx は，①検査費用と保険点数の乖離が大きいこと，②外注可能施設が限られること，③ *therascreen* に対する G360CDx の陽性一致率が 70%にとどまること（表 5）などから初回診断時にコンパニオン診断薬として使用することが難しい. 進行非小細胞肺癌においては，初回診断時に多数の遺伝子異常を調べる必要があるため複数の異常を一度に調べられるマルチ遺伝子検査が推奨される．AmoyDx やコンパクトパネルで *KRAS* G12C 陽性と診断された場合は，二次治療以降でソトラシブが使用可能であるが，オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム（以下，オンコマイン）を用いた場合，参考情報として事前に得られる *KRAS* 変異情報に基づいて，上記 CDx 薬を用いた検査が行われる場合が多いと想定され，これら検査法に関する分析性能などの情報把握も必要となる（2024 年 2 月の承認状況）（表７）.

１. *therascreen* KRAS 変異検出キット RGQ「キアゲン」

本法は，アレル特異的な ARMS プライマーと増幅された PCR 産物を蛍光プローブで検出する Scorpion 法を用いたリアルタイム PCR 法に基づくものであり，すでに CDx 承認 EGFR 変異検査法としても用いられている方法である．プライマー部の変異部位に特異的結合する PCR プライマーの 3’端をミスマッチな塩基に置換することで伸長反応をブロックする ARMS（amplification refractory mutation system)法と， 増幅された PCR 産物を検出する Scorpion 法により高感度高特異度に検出する． このプローブは蛍光色素と発色を減弱するクエンチャーを結合しており， プローブが PCR 産物に結合するとクエンチャーと蛍光色素が離れて発色反応が起こることを利用している．Scorpion-ARMS 法における検出感度（検出可能な変異 DNA の比率）は一般的に 1%程度とされており，細胞株のホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）検体を用いた CDx 承認 *therascreen* における *KRAS* G12C 変異の最小検出感度は 1.5%であることが示されている.

therascreen KRAS 変異検出キット RGQ を用いた検査では FFPE 組織検体が検査対象となっており，推奨される腫瘍細胞含有割合は 20%以上である．他の検体種

表 4.　ソトラシブの CDx 薬/システムとして承認されている *KRAS* 変異検査法

	therascreen KRAS 変異検出キット RGQ（キアゲン社）	AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル（理研ジェネシス社）	Guardant360 CDx がん遺伝子パネル*（ガーダントヘルス社）
承認形態	体外診断用医薬品	体外診断用医薬品	プログラム医療機器
検査種別	単一遺伝子検査	マルチPCRパネル検査	遺伝子パネル検査*
検査法	qPCR 法（Scorpion-ARMS 法）	Real-time PCR（ARMS法）	NGS 法（Digital Sequencing 法）
対象検体	FFPE 組織 (tissue DNA)	FFPE あるいは新鮮凍結組織（tissue DNA）	血漿 (cfDNA)
外注可能施設	すべての医療機関	すべての医療機関	がんゲノム医療指定病院**
外注時検査TAT	4～10 日	4～7 日	原則 14 日以内
院内検査実施	可能	可能	不可（原則）

＊肺癌 KRAS G12C 変異以外の CDx 承認項目； MSI-H：固形癌（ペムブロリズマブ）大腸癌（ニボルマブ）
IVD 承認 CGP 対象遺伝子数；SNV/INDEL：74 遺伝子，Amplification：18 遺伝子，Fusion：6 遺伝子
**がんゲノム医療中核拠点病院，拠点病院，連携病院

（新鮮凍結検体，LBC 検体を含む細胞検体など）での検査も原理上可能であることから，これら検体で提出を検討する場合は，検体受付の可否を検査機関へ事前確認する．なおこれら検体での検査が可能となった場合，データの取扱い（参考値扱いとなるかなど）について併せて確認する必要がある．これら検体で検査する場合であっても，20%以上の腫瘍細胞含有割合が推奨されるため必ず確認を行う（各組織・細胞検体提出の留意点は，別項を参照）．

2．Guardant360 CDx がん遺伝子パネル

本法は，digital sequencing 技術を用いたリキッドバイオプシー法による包括的ゲノムプロファイリング（CGP）検査であり，血中遊離 DNA（cfDNA）中の，循環腫瘍 DNA（ctDNA）を解析対象とする．解析対象遺伝子数は 74 遺伝子（塩基置換および挿入/欠失; 74 遺伝子，遺伝子増幅; 18 遺伝子，融合遺伝子; 6 遺伝子）であり，その他バイオマーカーとして，マイクロサテライト不安定性（MSI）の判定が可能となっている（表 4）．CDx 承認項目は，肺癌 *KRAS* G12C 変異（ソトラシブ）のほか，固形癌 MSI-H（ペムブロリズマブ），大腸癌 MSI-H（ニボルマブ）となっている．本検査は，ガーダントヘルス社が指定する CLIA 認証などの施設認定を取得した施設のみで実施され，医療機関からの検体提出は，指定の cfDNA 専用採血管（Streck Cell-Free DNA BCT® CE）により採血された血液検体により行われる．

本 digital sequencing 法における検出感度は，SNV では 1.8%，INDEL では 2.3%（いずれも cfDNA 5ng 使用時）と報告されているが [22, 23]，CDx 承認された G360CDx における *KRAS* G12C 変異の最小検出感度は 1.5%となっている．CodeBreaK100 試験の第Ⅱ相 NSCLC コホートで登録された 126 症例と感度分析のために追加された 132 症例のうち，組織と血漿検体での比較解析が可能であった 188 症例を用いた *KRAS* G12C 変異検出における *therascreen* と G360CDx 間の一致率に関する検討では，陰性一致率は 100.0%であった一方，陽性一致率は 69.8%にとどまっており，検査法の選択にあたっては留意が必要である（表 5）．

3．AmoyDx®肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル

KRAS G12C 変異に対するソトラシブの治験で用いられた検査は，therascreen であったが，AmoyDx についても 2023 年 2 月にソトラシブに対するコンパニオン診

表 5.　*therascreen* と G360CDx 間の一致率

		Therascreen		合計	
		陽性	陰性		
G360CDx	陽性	81	0	81	
	陰性	35	72	107	PPA: 69.8% (81/116)
合計		116	72	188	NPA: 100.0% (72/72)

表 6.　*therascreen* と AmoyDx 間の一致率

		Therascreen		合計	
		陽性	陰性		
AmoyCDx	陽性	31	1	32	
	陰性	1	85	86	PPA: 96.9% (31/32)
合計		32	86	118	NPA: 98.8% (85/86)

断薬として承認された．AmoyDx については CodeBreak100 試験からの *KRAS* G12C 陽性検体 32 例とバイオバンクから調達した陰性検体 86 例の計 118 検体を用いた一致率が示されており，全体一致率は 98.3%であった（表 6）．AmoyDx による *KRAS* G12C 変異の最小検出感度は 1%であることが示されている．AmoyDx を用いる場合の注意点として，G12C と G12R の交差反応性があり，検査実施施設においては検査試薬の取扱説明書に記載の判定基準に基づき適切に結果を判定するよう注意する必要がある（製造販売元の製品情報に基づく）．また，AmoyDx では G12F 変異の場合，G12C が陽性として判定される．この背景として，G12F の変異が存在する場合，G12V/G12A/G12R/G13C の判定結果*が G12C と同時に陽性となることが確認されており（製造販売元の製品情報に基づく），この場合は G12C の結果コメント欄に「偽陽性の可能性あり」と記載される．したがって，*KRAS* 変異の参考情報が確認できる場合は，*KRAS* G12V/G12A/G12R/G13C の判定結果をあわせて確認することが望ましい．一方で，両方が陽性の結果となった場合においては，*KRAS* G12C に加えて，G12V/G12A/G12R/G13C，G12F のいずれかの変異が両方存在する Co-mutation である可能性も否定はできない．G12C と G12F が両方存在する Co-mutation の可能性もあるが，G12F のバリアントのみを有する検体は，therascreen KRAS では G12C 変異陰性となる（非公開データ）．

＊これらの変異は薬事未承認であり，また検体中にどの変異が存在しているかの区別はできないが，研究目的の参考情報として，いずれかの変異が存在する場合に陽性または陰性の報告を受けることができる．

4．その他のマルチ遺伝子検査

コンパクトパネルは，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．その他に，進行非小細胞肺癌の初回診断時には，オンコマインを用いて分子診断が行われることもあるが，2024 年 2 月の段階ではソトラシブのコンパニオン診断薬にはなっておらず，*KRAS* G12C については参考情報として報告される．マルチ遺伝子検査において検査精度の確保は極めて重要となるため，マルチ遺伝子検査時に CDx 項目と同様に，参考情報項目についても，KRAS を含めドライバー変異陽性症例が擬陰性化しないよう，各検査法の長所・短所を十分把握し，検査法の選択を行うことが求められる（表 7）．

表 7.　日常診療下で *KRAS* 変異検出に用いられる主な検査法

	オンコマイン Dx Target Test マルチCDx システム	AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル	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	*therascreen* KRAS 変異検出キット RGQ
検査種別	マルチ遺伝子検査	マルチ遺伝子検査	マルチ遺伝子検査	単一遺伝子検査
KRAS G12C 変異の薬事上の取扱	未承認（RUO）	CDx 承認	CDx 承認	CDx 承認
KRAS G12C 変異の最小検出感度	未開示[*1]	1.0%	未開示[*1]	1.5%

[*1] 他遺伝子（EGFR や BRAF）の SNV の LOD を参考にすると，オンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システムでは 6%程度，コンパクトパネルでは 1%と推察される.

4-1．その他留意事項

4-1-1．検査実施時期および検査対象

ソトラシブは，化学療法既治療例が適応となり，上述のように二次治療以降で用いられることから，前治療中もしくは開始時に，*KRAS* G12C 変異検査を実施することが推奨される．上述のように，先行してコンパニオン診断薬ではないマルチプレックス遺伝子検査が行われている場合は，その参考情報にて *KRAS* G12C 変異陽性例を対象に行うことが望ましい．また過去に一部の単一遺伝子検査が実施され，それらすべてドライバー遺伝子（*EGFR* や *ALK* など）で変異陰性となった患者においても，当該検査を実施すべきである．

おわりに

長く治療標的とならなかった *KRAS* 遺伝子変異に対し，G12C 変異に限定されるものの有効な分子標的治療薬，ソトラシブが登場した．コンパニオン診断薬は *therascreen KRAS* 変異検出キット *RGQ*，AmoyDx®肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル，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の 3 つである．現在は，二次治療以降での承認であるが，*KRAS* G12C 変異を対象とした様々な試験が進行している．非小細胞肺癌の分子診断は，初回治療前に複数の遺伝子変異を含めて実施されるようになっており *KRAS* 変異についても初回診断前に診断することで，治験参加を含めて治療選択肢が広がることが期待される．すでに治療対象となる遺伝子変異陰性として治療されている非小細胞肺癌患者に対しても，*KRAS* G12C 検査は実施すべきである．検体採取とその処理に注意を払って適切に分子診断を行い，有効な分子標的治療薬を使用することは肺癌診療の基礎となっている．複雑化する分子診断の理解のために本手引きが活用されることを願う．

なお，KRAS 阻害薬とその CDx 薬に関する情報は今後更新されることが予想されるため，最新の情報については PMDA のウェブサイトに掲載されている「コンパニオン診断薬等の情報」を確認いただきたい (https://www.pmda.go.jp/review-services/drug-reviews/review-information/cd/0001.html)．

参考文献

1. Malumbres M, Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years. Nat Rev Cancer. 2003;3(6):459-465.

2. Prior IA, Hood FE, Hartley JL. The Frequency of Ras Mutations in Cancer. Cancer Res. 2020;80(14):2969-2974.

3. Saito M, Shiraishi K, Kunitoh H, Takenoshita S, Yokota J, Kohno T. Gene aberrations for precision medicine against lung adenocarcinoma. Cancer Sci. 2016;107(6):713-720.

4. Horio Y. KRAS 変異陽性肺がんの薬物療法は開発されるか？. 肺癌. 2018;58(7):953-958.

5. Ostrem JM, Peters U, Sos ML, Wells JA, Shokat KM. K-Ras(G12C) inhibitors allosterically control GTP affinity and effector interactions. Nature. 2013;503(7477):548-551.

6. Yoshida K, Gowers KHC, Lee-Six H, et al. Tobacco smoking and somatic mutations in human bronchial epithelium. Nature. 2020;578(7794):266-272.

7. Ghimessy A, Radeczky P, Laszlo V, et al. Current therapy of KRAS-mutant lung cancer. Cancer Metastasis Rev. 2020;39(4):1159-1177.

8. Buettner R. Invasive mucinous adenocarcinoma: genetic insights into a lung cancer entity with distinct clinical behavior and genomic features. Mod Pathol. 2022;35(2):138-139.

9. 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.

10. Izar B, Zhou H, Heist RS, et al. The prognostic impact of KRAS, its codon and amino acid specific mutations, on survival in resected stage I lung adenocarcinoma. J Thorac Oncol. 2014;9(9):1363-1369.

11. Mellema WW, Masen-Poos L, Smit EF, et al. Comparison of clinical outcome after first-line platinum-based chemotherapy in different types of KRAS mutated advanced non-small-cell lung cancer. Lung Cancer. 2015;90(2):249-254.

12. Schoenfeld AJ, Rizvi H, Bandlamudi C, et al. Clinical and molecular correlates of PD-L1 expression in patients with lung adenocarcinomas. Ann Oncol. 2020;31(5):599-608.

13. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2015;373(17):1627-1639.

14. 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.

15. de Langen AJ, Johnson ML, Mazieres J, et al. Sotorasib versus docetaxel for previously treated non-small-cell lung cancer with KRAS G12C mutation: a randomised, open-label, phase 3 trial. Lancet. 2023;401(10378):733-746.

16. 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;387:120-131.

17. 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.

18. 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.

19. 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.

20. Zhao Y, Murciano-Goroff YR, Xue JY, et al. Diverse alterations associated with resistance to KRAS(G12C) inhibition. Nature. 2021;599(7886):679-683.

21. Wang X, Allen S, Blake JF, et al. Identification of MRTX1133, a Noncovalent, Potent, and Selective KRAS(G12D) Inhibitor. J Med Chem. 2022;65(4):3123-3133.

22. Bauml JM, Li BT, Velcheti V, et al. Clinical validation of Guardant360 CDx as a blood-based companion diagnostic for sotorasib. Lung Cancer. 2022 Apr;166:270-278.

23. 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 Aug 1;24(15):3539-3549

24. オンコマイン™ Dx Target Test マルチ CDx システム添付文書 https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/bookSearch/01/04987837210139

25. AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル添付文書 https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/bookSearch/01/04582392472468

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

4-8. HER2

（2024 年 4 月改訂 v2.0）

目　次

はじめに 2
（１）*HER2/ERBB2* 遺伝子とその異常 2
（２）NSCLC でみられる *HER2* 遺伝子変異 2
（３）*HER2* 遺伝子変異の頻度と臨床的特徴 3
（４）*HER2* 遺伝子変異肺癌に対する治療法の開発 4
（５）耐性メカニズム 4
（６）*HER2* 遺伝子変異の検出法 5
おわりに 5
参考文献 9

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

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

はじめに

HER2 は human epidermal growth factor receptor 2（ヒト上皮成長因子受容体 2）の略であり，ERBB2 とも呼ばれる受容体型チロシンキナーゼ（RTK; receptor tyrosine kinase）である．HER2 は HER family の 1 つであり，HER family には他に EGFR（epidermal growth factor receptor），HER3，HER4 が含まれる．これらの RTK は構造的にも高い相同性を有しており，ホモダイマーやヘテロダイマーを形成することで活性化する [1]

HER family に属する RTK のうち，*EGFR* 遺伝子変異は肺腺癌において最も頻度の高い遺伝子異常の 1 つである．2004 年に発見されて以降，*EGFR* 変異肺癌に対する治療戦略は大いに発展した（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 4-1. EGFR」参照）．一方，*HER2* 遺伝子変異も 2004 年に発見されていたが [2]，*HER2* 変異肺癌に対する分子標的治療（主に第 2 世代の pan-HER 阻害剤）については，多少の臨床効果は認められるものの，承認に至るような十分が治療効果を有する薬剤はなかった [3-7]．この理由の 1 つとして，肺癌における *HER2* 変異で最も頻度が高いものが Exon 20 の挿入変異であり，*EGFR* での Exon 20 挿入変異と同様に，チロシンキナーゼ阻害剤（TKI; tyrosine kinase inhibitor）の効果が比較的乏しいことが挙げられる．しかし TKI ではなく，HER2 に対する抗体薬物複合体（ADC: antibody-drug conjugate）の 1 つであるトラスツズマブ デルクステカンが *HER2* 変異陽性肺癌治療に応用されたことで（2023 年 8 月に本邦でも承認），*HER2* 変異肺癌に対する個別化治療も大きく進み始めた．

（1）*HER2/ERBB2* 遺伝子とその異常

HER2/ERBB2 遺伝子は 17 番染色体長腕（17q11.2-q12）に存在する．HER2 タンパクはその他の RTK と同様，細胞外ドメイン，膜貫通ドメイン，細胞内ドメインからなる．しかしその他の HER family メンバーと異なり，HER2 はリガンドと結合することなくその他の HER family メンバーと 2 量体を形成し，下流経路を活性化させるという特徴を有する．また HER2 は内在化や分解を受けにくく，キナーゼの活性化と下流シグナルの伝達がより長く持続するとの報告もある．HER2 を含む HER family メンバーは，下流経路の活性化を経て，細胞増殖・アポトーシス抑制などに関するシグナルを活性化させる．

HER2 の異常活性化は様々な固形癌で認められ，活性化の機序として，遺伝子変異や遺伝子増幅，タンパク過剰発現が知られている．非小細胞肺癌（NSCLC）でもタンパク過剰発現や遺伝子増幅が低頻度ながら認められ，また *EGFR* 変異肺癌においては EGFR-TKI 獲得耐性機序として *HER2* 遺伝子増幅が生じることも報告されている [8]．しかし 2023 年 8 月現在，NSCLC において治療標的となる HER2 異常は，*HER2* 遺伝子変異のみである．*HER2* 遺伝子変異は，*EGFR* 遺伝子変異や *KRAS* 遺伝子変異，*ALK* や *ROS1* の融合遺伝子など，NSCLC のドライバー変異と基本的には相互に排他的な関係にあり [9]，同様に NSCLC におけるドライバー変異の 1 つとされている．

（2）NSCLC でみられる *HER2* 遺伝子変異

HER2 遺伝子変異は，乳癌，胃癌，子宮癌，胆道癌，結腸直腸癌，膀胱癌など様々な固形癌でみられる [10]．このうち NSCLC における *HER2* 遺伝子変異は，主に細胞内ドメイン内のキナーゼ領域を構成するエクソン 20 の挿入変異として生じ，その中でも A775_G776insYVMA の頻度が最も高い（図 1）．ただし挿入変異の場合は，同一の変異に対しいろいろな表現法があることに留意する必要がある．例えば，この A775_G776insYVMA については，Y772_A775dup，A771_M774dup，E770_A771insAYVM などと表記されている文献もあるが，実際にはすべて同じ変異を指している．

NSCLC でみられる *HER2* 遺伝子変異としては，図 1 に示す通り，A775_G776insYVMA 以外にも複数のエクソン 20 挿入変異が知られている．頻度の高いものとしては，P780_Y781insGSP や G776delinsVC などがあり，この他にもエクソン 20 の点突然変異である L755A/P などの報告がある [11]．さらに，チロシンキナーゼドメイン外の変異として，細胞外ドメインに生じる S310F 変異や膜貫通ドメインに生じる I655V 変異なども，NSCLC において複

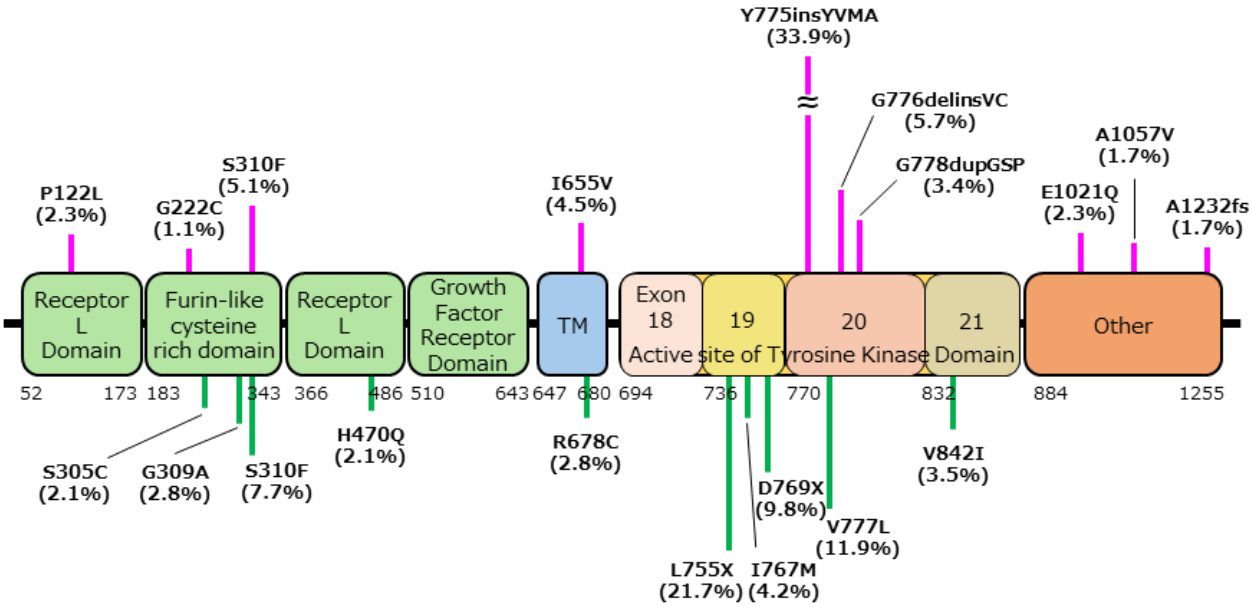


図１． 非小細胞肺癌における *HER2* 遺伝子変異の分布（乳癌における *HER2* 遺伝子変異の分布と対比しつつ示す）
Robichaux JP, et al. Cancer Cell 2019 より引用・改変. Reproduced with permission from Elsevier (2024)

数例の報告がある（図１）. 少数例の報告を含めると *HER2* 遺伝子のほぼ全長にわたって遺伝子変異が報告されているが，これらの遺伝子変異の多くは，未だ意義不明の変異（variants of unknown significance: VUS）に分類されている.

次項で述べるように，*HER2* 遺伝子変異も *EGFR* 遺伝子変異と同様，肺腺癌で頻度が高い遺伝子異常である．しかし，肺扁平上皮癌を対象とした Lux-Lung 8 試験の post-hoc 解析では，これまでに報告がほとんどなかった多数の *HER2* 遺伝子変異が同定され，これらの患者では afatinib の奏効期間が長かったことが報告された [12]．しかし，この報告をベースとして実施された Ba/F3 細胞株を用いた検討では，これらの *HER2* 遺伝子変異の多くには腫瘍形成能が認められず，扁平上皮癌で同定されたこれらの *HER2* 遺伝子変異の多くはドライバー変異ではないと推察されている [13].

（３）*HER2* 遺伝子変異の頻度と臨床的特徴

上述の通り，*HER2* 遺伝子変異は肺腺癌に多く認められ，肺腺癌の 2～3%に存在するとの報告が多い．肺腺癌における *HER2* 遺伝子変異と関連した患者背景として，人種の違いによる頻度の差（本邦を含む東アジア人と欧米人との差）はほとんどないと考えられているが，*EGFR* 遺伝子変異と同様，非喫煙者や女性で頻度が高いとされている.

HER2 遺伝子変異の予後因子としての意義については，予後良好との報告や予後不良の傾向との報告，A775_G776insYVMA など特定の変異が予後因子であるとの報告など，一貫した結果は得られていない．*EGFR* 変異陽性肺癌と同様，患者背景（非喫煙者が多い）やその他の予後因子（すりガラス陰影を有する肺癌の割合など）との関連など，複数の因子が絡んでいるためと考えられる．また *HER2* 遺伝子変異陽性患者の特徴として，*EGFR* 遺伝子変異と同様 [14]，脳転移のリスクが高い可能性も報告されている [15]．一方，治療効果予測因子としては，ペメトレキセドに対する感受性が低い可能性が報告されており [16]，この点でも *EGFR* 遺伝子変異肺癌との類似性が示唆される [17]．同様に，*HER2* 遺伝子変異肺癌はがん免疫治療薬に対する感受性も低い可能性が示唆されている [18,19].

（4）*HER2* 遺伝子変異肺癌に対する治療法の開発

HER2 異常に対する分子標的治療薬の開発では，乳癌や胃癌が先行していた．例えば乳癌では，免疫組織化学染色（IHC）検査での HER2 タンパク過剰発現ないし ISH 検査での *HER2* 遺伝子増幅のある乳癌が HER2 陽性乳癌と定義され，抗 HER2 療法が実臨床でも広く用いられている．

乳癌や胃癌以外の固形腫瘍では，HER2 陽性（IHC 1+ 以上または *HER2* 遺伝子変異陽性）かつ治療歴のある患者を対象に，トラスツズマブ・デルクステカンの有効性および安全性を検証する第Ⅰ相試験(NCT02564900)が実施された．その結果，*HER2* 変異陽性肺癌における高い奏効率（73%，8/11 例）が示されるとともに，HER2 タンパク陽性肺癌でも奏効例が認められた [20]．これを受けて，*HER2* 変異陽性肺癌および HER2 タンパク過剰発現（IHC 2+または 3+）を有する肺癌を対象に，DESTINY-Lung01 試験（NCT03505710)が計画・実施された．トラスツズマブ・デルクステカン 6.4mg/kg・3 週間毎が投与された本試験の中間解析において，*HER2* 変異陽性肺癌では奏効率 61.9%，PFS の中央値（推定）は 14.0 カ月と良好な治療成績が示された [21]．一方，HER2 タンパク過剰発現を有する肺癌では，奏効率 24.5%，PFS の中央値（推定）は 5.4 カ月であったものの，Grade 3 以上の副作用が 73.5%に認められ，間質性肺障害により 6%の患者が死亡するなど，治療効果の割に有害事象が目立つ結果であった [22]．これらの結果を受けて DESTINY-Lung01 試験は，*HER2* 変異陽性肺癌コホートについて登録患者数を拡大する形で進められた（HER2 タンパク過剰発現を有する肺癌コホートでは，投与量を 5.4mg/kg としたコホート 1a が設けられた [23]）．

2022 年の N Engl J Med 誌に掲載された DESTINY-Lung01 試験の報告では，91 名の既治療 *HER2* 遺伝子変異陽性肺癌患者において，トラスツズマブ・デルクステカン 6.4mg/kg 投与の奏効率は 55%（95%CI: 44-65%），PFS 中央値は 8.2 カ月（95%CI: 6.0-11.9 カ月），OS の中央値は 17.8 カ月（95%CI: 13.8-22.1 カ月）であった．本試験に登録された患者の 86%が *HER2* エクソン 20 挿入変異（このうち 80%が A775_G776insYVMA）を有していたが，エクソン 8，19 および 20 の点突然変異陽性の患者も一部含まれており（それぞれ 6.5%，4.4%および 3.3%），これらの患者においても治療効果が認められた．また，HER2 タンパク発現や *HER2* 遺伝子コピー数にかかわらず，ほとんどの患者においてトラスツズマブ・デルクステカンの治療効果が認められたことも特筆すべきことである．

このようにトラスツズマブ・デルクステカンは既治療 *HER2* 遺伝子変異陽性肺癌に対し高い治療効果を示したが，一方で 27.5%の患者において間質性肺障害を生じるなど，副作用リスクも問題となった．このため，トラスツズマブ・デルクステカン 6.4mg/kg 投与と 5.4mg/kg 投与の有効性・安全性を比較する第Ⅱ相試験（DESTINY-Lung02 試験，NCT04644237）が実施された [24]．この試験では，両群において治療効果はほぼ同等であったのに対し，間質性肺障害の発生率は 5.4mg/kg 投与群と 6.4mg/kg 投与群において，それぞれ 12.9%（95%CI: 7.0-21.0%）と 28.0%（16.2-42.5%）であったなど，5.4mg/kg 群において副作用の頻度が低いことが示された．この結果を受けて，本邦でも治療歴のある *HER2* 変異陽性肺癌に対し，5.4mg/kg の投与量にて承認されるに至った．DESTINY-Lung02 試験においても，*HER2* エクソン 20 挿入変異を有する患者に加え，*HER2* エクソン 8，19，20，21 の点突然変異を有する患者が含まれており，DESTINY-Lung01 試験と同様，遺伝子変異タイプにかかわらず，トラスツズマブ・デルクステカンの治療効果が示された．

（5）耐性メカニズム

HER2 遺伝子変異を有する肺癌に対しては，分子標的治療薬の候補として HER2 も阻害可能な第 2 世代 pan-HER チロシンキナーゼ阻害剤（TKI）の臨床開発がまず進められていたことより，TKI を用いた場合に生じ得る耐性メカニズムについては多くの探索的研究が行われてきた [5,11,25]．その結果，on target の耐性機序としては C805S 二次的変異（*EGFR* 遺伝子の C797 と相同部位）が，第二世代 pan-HER TKI に対する耐性変異として生じることが

繰り返し報告されている．しかし，*HER2* 遺伝子変異肺癌に対する治療薬として承認されたトラスツズマブ・デルクステカンは抗体薬物複合体であり，TKI とはまったく異なる耐性獲得をきたすことが想定され，今後の耐性機序探索が重要である．直近の報告において，トラスツズマブ・デルクステカン耐性獲得後の検体で，がん抑制遺伝子である *RB1* の欠失が生じていたことなどが示されている [26]．

（6）*HER2* 遺伝子変異の検出法

HER2 遺伝子変異を検出するコンパニオン診断薬として，本邦では組織検体を用いるオンコマイン Dx Target Test マルチ CDx システム（以下，オンコマイン DxTT）および血漿検体を用いる Guardant360 CDx がん遺伝子パネル（以下，G360CDx）が承認されている（オンコマイン DxTT の詳細や必要とされる検体取扱いなどについては，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」の項を参照）．ただし G360CDx については，①CGP としての検査費用と CDx としての保険点数の乖離が大きいこと，②CDx 対象ドライバー遺伝子が *HER2* と *KRAS* の 2 遺伝子のみであることから，実臨床においては，コンパニオン診断はオンコマイン DxTT での運用となる（G360CDx については後述）．

2023 年 11 月現在，オンコマイン DxTT では 54 種類の *HER2* 遺伝子変異が検出可能であるが，うち 48 種類がコンパニオン診断として使用可能であり，残りの 6 種類は参考情報として返却され，コンパニオン診断としては使用不可である（表 1）．54 種類の *HER2* 遺伝子変異のうち約半数がエクソン 20 の挿入変異であるが，エクソン 20 の点突然変異やその他のエクソンの遺伝子変異が残りの半数を占めている．一方，他のマルチ遺伝子検査である肺がんコンパクトパネル Dx や AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネルでも，*HER2* 遺伝子変異の結果が参考情報として返却される．この場合には，マルチ遺伝子検査法を用いた検査アルゴリズムの項（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」）で示されているように，確認検査としてオンコマイン DxTT を用いたコンパニオン診断を行い，その結果を確認する必要がある．2023 年 11 月現在，トラスツズマブ・デルクステカンは二次治療以降で承認されていることから，前治療中に確認検査を行うことも可能ではあるが，前治療開始時など早めの実施が推奨される．なお，これらのマルチ遺伝子検査でカバーされる *HER2* 遺伝子変異とオンコマイン DxTT でカバーされる *HER2* 遺伝子変異（表 1）は必ずしも一致していない可能性を念頭に置く必要がある．

血漿検体を用いる G360CDx は主に CGP 検査として実施されると想定されるが，*HER2* 遺伝子の全エクソン領域が解析対象となっているため，オンコマイン DxTT でカバーされていない *HER2* 遺伝子変異が同定される可能性がある．2023 年 11 月現在，DESTINY-Lung02 試験の inclusion criteria に含まれる *HER2* 遺伝子変異のうち，Gly776_Val777delinsCysValCysGly，Val777_Gly778insCysVal，Thr798Ile の 3 つのバリアントはオンコマイン DxTT には含まれていないが，G360CDx で検出された場合にはコンパニオン診断として使用可能である．また Ile767Phe 変異はオンコマイン DxTT では参考情報として返却されるものの，DESTINY-Lung02 試験の inclusion criteria には含まれており，G360CDx で検出された場合にはコンパニオン診断として使用可能となっている．

おわりに

HER2 遺伝子変異は *EGFR* 遺伝子変異と同様に 2004 年に発見され，乳癌や胃癌など他の癌腫でも抗 HER2 療法の開発が進んでいたが，本邦の *HER2* 遺伝子変異陽性肺癌患者が分子標的治療薬の恩恵を受けられるようになったのは，発見から約 20 年後の 2023 年 8 月のことである．組織検体を用いたコンパニオン診断薬としては，2023 年 11 月現在，オンコマイン DxTT のみが承認されているが，オンコマイン DxTT で検出可能な *HER2* 変異のうち，6 種類は参考情報として返却される（コンパニオン診断用には使用できない）ことに留意する必要がある．また他のマルチ遺伝子検査である肺がんコンパクトパネル Dx や AmoyDx 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネルでも *HER2* 遺伝子変異が参考情報として返却され，変異陽性の場合はコン

パニオン診断薬であるオンコマイン DxTT で結果を確認する必要がある.

しかし一方，非小細胞肺癌においては多岐にわたる *HER2* 遺伝子変異が報告されていることもまた事実である. *HER2* 遺伝子変異を含むドライバー変異陰性の患者においては，CGP 検査を治療の経過で取り入れることにより, 見落とされているドライバー変異の拾い上げに繋げられる可能性もある（上記 G360CDx に関する記述も参照）. しかし，稀な *HER2* 遺伝子変異が CGP 検査にて同定された場合，その多くは VUS に分類されると考えられ，当該患者の治療方針についてはエキスパートパネルなどにて十分に検討する必要がある.

HER2 変異肺癌に対するトラスツズマブ・デルクステカン治療は，その他の肺癌分子標的治療薬と異なり，HER2 タンパクを指標として標的細胞（がん細胞）に細胞傷害性抗癌薬（デルクステカン）を運搬する ADC 薬である．このため，多くの稀な *HER2* 遺伝子変異は VUS であるものの，（真のドライバー変異でなかったとしても）トラスツズマブ・デルクステカンの治療効果が期待できる可能性もある．今後は，各 *HER2* 変異（特にエクソン 20 挿入変異以外の稀な変異）について，本薬剤の治療効果に関するデータを蓄積していく必要がある.

表 1.　オンコマイン DxTT で検出可能な *HER2* 遺伝子変異一覧（2023 年 11 月現在）

① コンパニオン診断として使用可能な遺伝子変異		
エクソン	変異の詳細	ヌクレオチドの変化
8	p.S310Y	c.929C>A
8	p.S310F	c.929C>T
17	p.R678Q	c.2033G>A
18	p.T733I	c.2198C>T
19	p.L755P	c.2263_2264delTTinsCC
19	p.L755A	c.2263_2264delTTinsGC
19	p.L755M	c.2263T>A
19	p.L755S	c.2264T>C
19	p.L755W	c.2264T>G
19	p.I767M	c.2301C>G
19	p.D769N	c.2305G>A
19	p.D769H	c.2305G>C
19	p.D769Y	c.2305G>T
20	p.E770_A771insAYVM	c.2324_2325insATACGTGATGGC
20	p.Y772_V773insVMAT	c.2325_2326insACCGTGATGGCT
20	p.A771_Y772insYVMA	c.2325_2326insTACGTGATGGCT
20	p.G776delinsLC	c.2326_2326delGinsCTTT
20	p.G776delinsLC	c.2326_2326delGinsTTGT
20	p.A775_G776insV	c.2326_2327insTAG
20	p.G776delinsVC	c.2326_2327insTAT
20	p.A775_G776insV	c.2326_2327insTCG
20	p.G776delinsVC	c.2326_2327insTCT
20	p.A775_G776insV	c.2326_2327insTGG
20	p.G776delinsVC	c.2326_2327insTGT
20	p.A775_G776insV	c.2326_2327insTTG
20	p.G776delinsVC	c.2326_2327insTTT
20	p.G776S	c.2326G>A
20	p.G776C	c.2326G>T
20	p.G776V	c.2327G>T
20	p.G776_V777insL	c.2328_2329insCTT
20	p.V777M	c.2329G>A
20	p.V777L	c.2329G>C
20	p.V777L	c.2329G>T
20	p.G776_V777insVGC	c.2330_2331insAGGTTGTGT
20	p.V777_G778insCG	c.2331_2332insTGTGGG
20	p.G778_S779insLPS	c.2333_2334insGCTCCCCAG
20	p.V777_G778insG	c.2333_2334insGGG
20	p.V777_G778insGCP	c.2335_2336insGCCCAGGCT
20	p.G776_V777insVGS	c.2336_2337insTGTGGGCTC
20	p.V777_G778insGSP	c.2339_2340insCGGCTCCCC
20	p.V777_G778insGSP	c.2339_2340insGGGCTCCCC
20	p.V777_G778insGSP	c.2339_2340insTGGCTCCCC
20	p.V777_G778insGSP	c.2340_2341insGGCTCCCCA
21	p.V842I	c.2524G>A
21	p.T862I	c.2585C>T
21	p.L869R	c.2606T>G
22	p.R896C	c.2686C>T
22	p.R896H	c.2687G>A

② 参考情報として返却可能な遺伝子変異（コンパニオン診断には使用不可）		
エクソン	変異の詳細	ヌクレオチドの変化
19	p.L755_T759del	c.2264_2278delTGAGGGAAAACACAT
19	p.I767F	c.2299A>T
20	p.G776delinsCV	c.2326_2327delGGinsTGTGT
20	p.Y772_V773insVMAV	c.2326_2327insTCGTGATGGCTG
20	p.G778_S779insSR	c.2338_2339insGCTCCC
21	p.T862A	c.2584A>G

参考文献

1. Mitsudomi T, Yatabe Y. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene and related genes as determinants of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors sensitivity in lung cancer. Cancer Sci. 2007 Dec;98(12):1817-24.

2. Philip S, et al. Lung cancer: intragenic ERBB2 kinase mutations in tumours, Nature 2004, 30;431(7008):525-6.

3. Tomizawa K, et al. Prognostic and predictive implications of HER2/ERBB2/neu gene mutations in lung cancers. Lung Cancer. 2011 Oct;74(1):139-44.

4. Lai WV, et al. Afatinib in patients with metastatic or recurrent HER2-mutant lung cancers: a retrospective international multicentre study. Eur J Cancer. 2019 Mar;109:28-35.

5. Koga T, et al. Activity and mechanism of acquired resistance to tarloxotinib in HER2 mutant lung cancer: an in vitro study. Transl Lung Cancer Res. 2021 Aug;10(8):3659-3670.

6. Wang Y, et al. HER2 exon 20 insertions in non-small-cell lung cancer are sensitive to the irreversible pan-HER receptor tyrosine kinase inhibitor pyrotinib. Ann Oncol. 2019 Mar 1;30(3):447-455.

7. Han H, et al. Targeting HER2 Exon 20 Insertion-Mutant Lung Adenocarcinoma with a Novel Tyrosine Kinase Inhibitor Mobocertinib. Cancer Res. 2021 Oct 15;81(20):5311-5324.

8. Yu HA, 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 Apr 15;19(8):2240-7.

9. Shigematsu H, et al. Somatic mutations of the HER2 kinase domain in lung adenocarcinomas. Cancer Res. 2005 Mar 1;65(5):1642-6.

10. Oh DY, Bang YJ. HER2-targeted therapies - a role beyond breast cancer. Nat Rev Clin Oncol 2020; 17（1）, 33-48.

11. Koga T, 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 Dec;126:72-79.

12. Goss GD, et al. Association of ERBB Mutations With Clinical Outcomes of Afatinib- or Erlotinib-Treated Patients With Lung Squamous Cell Carcinoma: Secondary Analysis of the LUX-Lung8 Randomized Clinical Trial. JAMA Oncol. 2018 Sep 1;4(9):1189-1197.

13. Hamada A, et al. In vitro validation study of HER2 and HER4 mutations identified in an ad hoc secondary analysis of the LUX-Lung 8 randomized clinical trial. Lung Cancer. 2021 Dec;162:79-85.

14. Suda K, et al. Clinical Impacts of EGFR Mutation Status: Analysis of 5780 Surgically Resected Lung Cancer Cases. Ann Thorac Surg. 2021 Jan;111(1):269-276.

15. Offin M, et al. Frequency and outcomes of brain metastases i n patients with HER2-mutant lung cancers. Cancer. 2019;125(24):4380-4387.

16. Wang Y, et al. Outcomes of pemetrexed-based chemotherapies in HER2-mutant lung cancers. BMC Cancer. 2018;18(1):326.

17. Kenmotsu H, et al. Randomized Phase III Study of Pemetrexed Plus Cisplatin Versus Vinorelbine Plus Cisplatin for Completely Resected Stage II to IIIA Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. J Clin Oncol. 2020 Jul 1;38(19):2187-2196.

18. Guisier 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.

19. Mazieres J, 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.

20. Tsurutani J, et al. Targeting HER2 with Trastuzumab Deruxtecan: A Dose-Expansion, Phase I Study in Multiple Advanced Solid Tumors. Cancer Discov. 2020 May;10(5):688-701.

21. Egbert F, et al. Trastuzumab deruxtecan (T-DXd; DS-8201) in patients with HER2-mutated metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC): Interim results of DESTINY-Lung01. Journal of Clinical Oncology 38, no. 15_suppl (May 20, 2020) 9504-9504.

22. Nakagawa K, et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-overexpressing metastatic non-small cell lung cancer: interim results of DESTINYLung01. J Thorac Oncol 2021; 16: S109-S110. abstract.

23. Egbert FS, et al. Trastuzumab Deruxtecan in patients with HER2-overexpressing metastatic non-small cell lung cancer: Results from the Destiney-Lung01 trial. ESMO 2022.

24. Goto K, et al. Trastuzumab Deruxtecan in Patients With HER2-Mutant Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer: Primary Results From the Randomized, Phase II DESTINY-Lung02 Trial. J Clin Oncol. 2023 Nov 1;41(31):4852-4863.

25. Kosaka T, et al. Response Heterogeneity of EGFR and HER2 Exon 20 Insertions to Covalent EGFR and HER2 Inhibitors. Cancer Res. 2017 May 15;77(10):2712-2721.

26. Gupta A, et al. Loss of Rb1 Associated With the Onset of Acquired Resistance to Trastuzumab Deruxtecan in TP53-/HER2-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer: Case Series. JCO Precis Oncol. 2023 Feb;7:e2200476.

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

4-9. NTRK

（2024 年 4 月改訂 v2.0）

目　次

（1）*NTRK* 遺伝子 2
（2）*NTRK* 融合遺伝子陽性肺癌の臨床病理学的特徴 4
（3）*NTRK* 融合遺伝子陽性肺癌に対する臨床試験 4
（4）*NTRK* 融合遺伝子の診断 5
1．NGS 法 6
2．RT-PCR 法　(AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCR パネル) 7
3．FISH 法 7
4．IHC 法 7
参考文献 8

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

三窪 将史, 荒金 尚子, 後藤 功一, 阪本 智宏, 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, 谷田部 恭, 横内 浩, 清水 淳市, 豊岡 伸一

（1）*NTRK* 遺伝子

Neurotrophic tropomyosin receptor kinase (*NTRK*) 遺伝子は 1q21-22 に位置する *NTRK1*，9q22.1 に位置する *NTRK2*，15q25 に位置する *NTRK3* を含む癌原遺伝子ファミリーであり，トロポミオシン受容体キナーゼ（TRK）ファミリーに属する TRKA，TRKB，TRKC をコードしている．TRK は膜貫通型タンパク質チロシンキナーゼであり，神経栄養因子がリガンドとして結合することにより活性化し，細胞内の RAS/MAPK，PI3K/AKT，PKC シグナル伝達経路を介して神経細胞の発生，分化や生存維持に関わることが知られている [1,2]．TRK は成人では神経細胞と精巣に限定して発現している [3]．*NTRK* 融合遺伝子は，1986 年に Martin-Zanca らが大腸癌の細胞株から初めて同定し報告された [4]．以後，小児 fibrosarcoma や乳腺および唾液腺原発の分泌癌において *ETV6-NTRK3* 融合遺伝子が 90%以上の症例で認められることが明らかにされ [5-8]，現在まで様々な癌腫において *NTRK* 融合遺伝子が Oncogenic driver として腫瘍細胞の増殖・生存に関わることが報告されている．肺癌においては，2013 年に Vaishnavi らが *NTRK1* 融合遺伝子 (*MPRIP-NTRK1*，*CD74-NTRK1*，*TPM3-NTRK1*)を肺腺癌で同定し，これらの融合遺伝子が腫瘍の増殖に関与すること，TRKA キナーゼ活性を阻害することで融合遺伝子を有する細胞株の増殖が抑制されることが報告された [9]．

NTRK 融合遺伝子は *NTRK1/2/3* 遺伝子の 3'領域と，同一染色体内あるいは他の染色体に存在するパートナー遺伝子の 5'領域が融合することで生じる．遺伝子の融合により TRK 融合蛋白が生じることで，リガンド非依存性に TRK キナーゼが活性化され，腫瘍細胞の増殖・生存が促進される．*NTRK1/2/3* 融合遺伝子の分布は腫瘍タイプによって異なり，小児 fibrosarcoma や乳腺および唾液腺原発の分泌癌では *NTRK3* が，中枢神経系腫瘍では *NTRK2* が多い．肺癌では蓄積されたデータが少ないものの，*NTRK1* に次いで *NTRK3* が多く，*NTRK2* の報告例は少ない [10]．*NTRK* と融合するパートナー遺伝子は多彩で，これまでに 80 種類以上のパートナー遺伝子が様々な癌腫において報告されている．*ALK, ROS1, RET* 融合遺伝子と異なり，上述の乳腺・唾液腺分泌癌などの腫瘍特異的なバリアントを除き，その他の癌腫では融合パートナーに関する一定の傾向は認められていない．肺癌においては *NTRK1/2/3* 融合遺伝子含めてこれまでに 28 種類のパートナー遺伝子が報告されており，*TPM3-NTRK1* 融合遺伝子の報告例がやや目立つものの，遺伝子のバリエーションは豊富で *NTRK* 遺伝子側の break point も様々である（図 1，表 1）．しかし，いずれの融合遺伝子でも

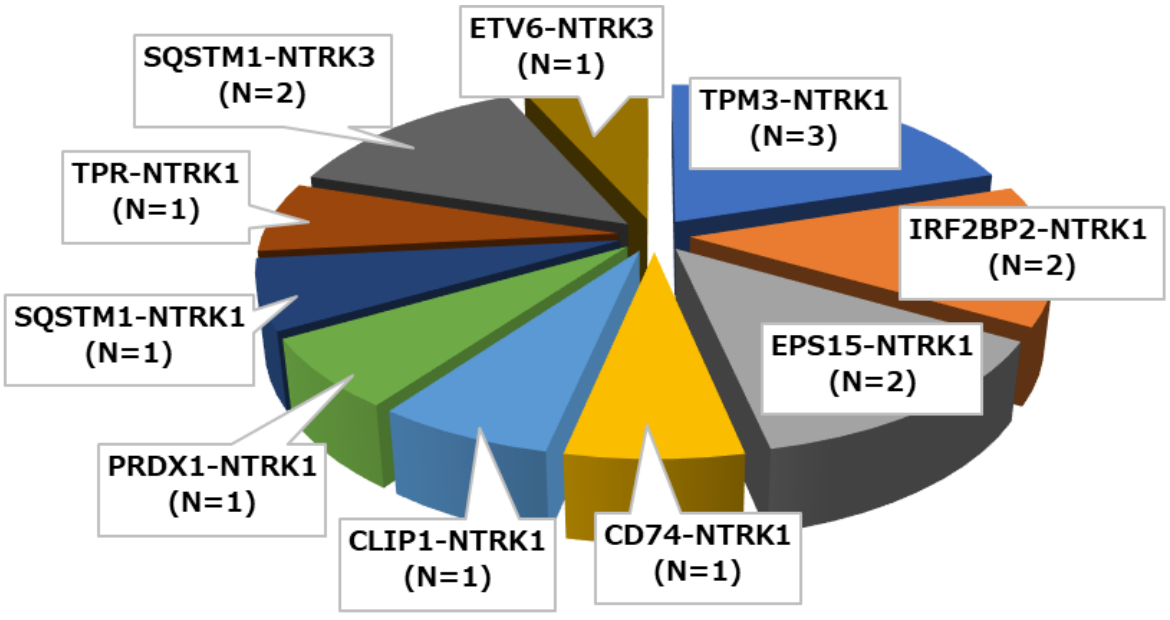


図 1． Larotrectinib に関する臨床試験 (LOXO-TRK-14001, SCOUT, NAVIGATE) に登録された肺癌における *NTRK* 融合遺伝子バリアント
(文献 10 を基に作図)

表 1． 肺癌における *NTRK* 融合遺伝子の報告例 (文献 9, 13, 20, 23, 25-28 から作成)

NTRK	融合パートナー	融合点	組織型	NTRK	融合パートナー	融合点	組織型
NTRK1	P2RY8	N5, P2	Ad	**NTRK1**	TPM3	N12, T8	Ad
	PHF20	N5, P2	Sarcomatoid		BCL9	N12, upstream BCL9	Ad
	LIPI	N8, L1	Ad		MPRIP	N14, M21	Ad
	TFG	N9, T4	Ad		CLIP1	NA	Ad
	SQSTM1	N10, S6	Ad		RFWD2	NA	NE
	TPR	N10, T21	Ad	**NTRK2**	TRIM24	N15, T12	Ad
	IRF2BP2	N10, I1	Ad		STRN	N16, S3	Ad
	EPS15	N10, E21	Ad		SQSTM1	N16, S4	Ad
	NCOR2	N10, N9	Ad	**NTRK3**	EML4	N14, E2	Ad
	F11R	N10, F4	NSCLC, Sq		ETV6	N14, E4	Ad
	GRIPAP1	N11, G22	Ad		RBPMS	N14, R5	Ad
	LMNA	N11, L7	Ad		AKAP13	N14, A3	Ad
	CD74	N12, C8	Ad		SQSTM1	N15, S5	Ad, NE
	PRDX1	N12, P5	Ad		ETV6	N15, E5	Ad, Sq

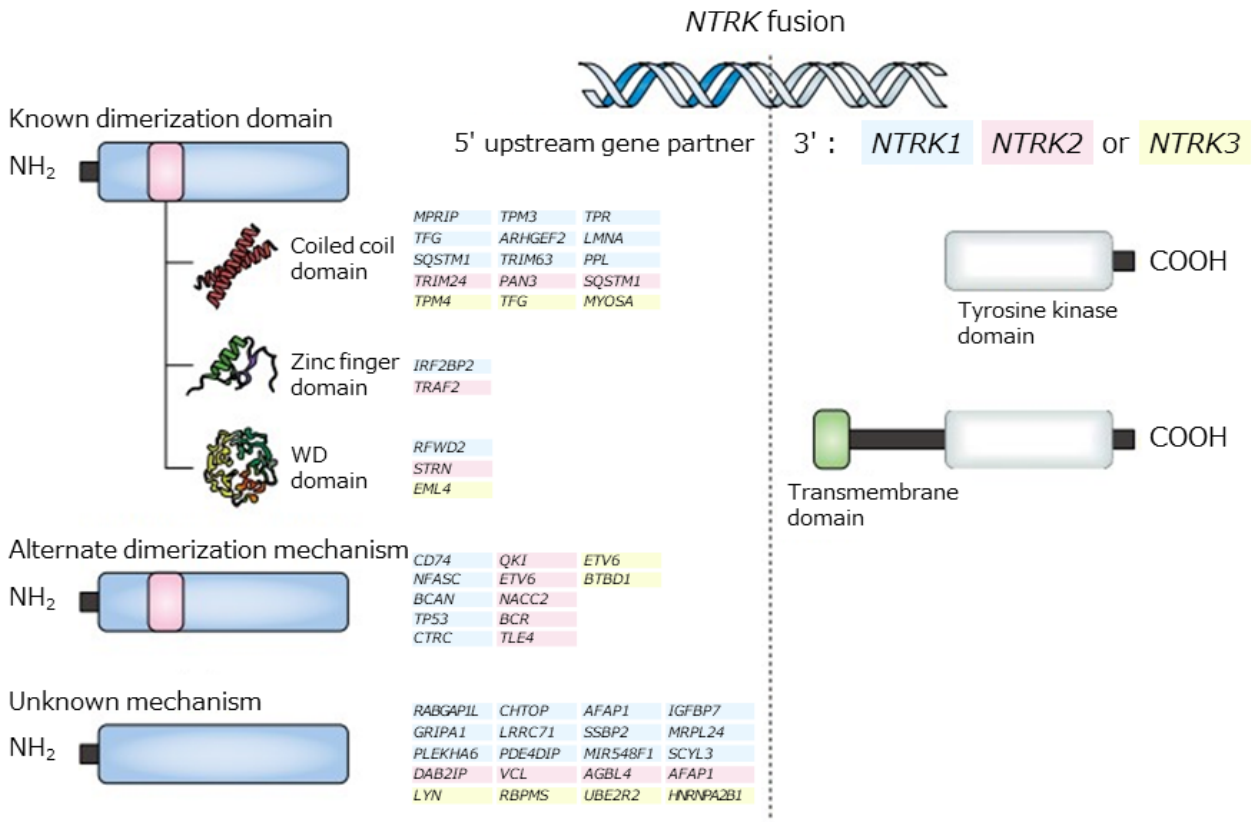


図 2． *NTRK* 融合遺伝子とその活性化メカニズム (文献 11 より引用). Reproduced with permission from Springer Nature (2024)

NTRK 遺伝子側の融合点はキナーゼ領域の上流にあり，キナーゼ領域が保持されたまま融合する．他の融合遺伝子と同様，coiled-coil ドメインなどの二量体化ドメインを有するパートナー遺伝子との融合においては，この領域による NTRK 融合タンパクの恒常的な二量体の形成によって TRK キナーゼの活性化がもたらされるが，二量体化ドメインを有さないパートナー遺伝子との融合パターンも多く，これらのバリアントにおけるキナーゼ活性化の機序は明らかにされていない (図 2)．パートナー遺伝子由来の配列が TRK タンパクの細胞外領域に存在する自

己阻害ドメインを置換することや，パートナー遺伝子によって融合タンパク質の細胞内局在が異なることなどが報告されており，パートナー遺伝子の違いによって，様々な異なる機序でキナーゼ活性化が生じるものと考えられている[11].

（2）*NTRK* 融合遺伝子陽性肺癌の臨床病理学的特徴

NTRK 融合遺伝子を有する肺癌は極めて稀であり，非小細胞肺癌の0.1-0.3%と報告されている[12]．臨床背景としては，*EGRF* 遺伝子変異，*ALK/ROS1/RET* 融合遺伝子陽性肺癌と同様に，若年～中年の軽喫煙あるいは非喫煙者に多い傾向にあるものの，高齢者や喫煙者の報告もあり，どの臨床背景の患者にも生じる可能性がある．組織型としては，これまでの報告例では大部分が肺線癌であるが，扁平上皮癌や神経内分泌癌などでも報告例がみられる[13]．*EGFR*，*ALK* をはじめとした他のドライバー遺伝子異常と相互排他的とされているが，*EGFR* 陽性肺癌に対する EGFR-TKI 後の耐性機序としての報告例もある[14].

（3）*NTRK* 融合遺伝子陽性肺癌に対する臨床試験

NTRK 融合遺伝子を有する腫瘍に対しては TRK 阻害活性を有する薬剤が有効であり，選択的 TRK 阻害剤や他の標的遺伝子も同時に阻害するマルチキナーゼ阻害剤の開発が進められている．希少な遺伝子異常であり，年齢や腫瘍タイプによらず横断的に認められるという特性から，*NTRK* 融合遺伝子に関する臨床試験の多くはバスケット試験として行われている．現在，*NTRK* 融合遺伝子陽性肺癌に対して承認されている TRK キナーゼ阻害薬はラロトレクチニブ (ヴァイトラックビ®) とエヌトレクチニブ (ロズリートレク®) の２つがある.

ラロトレクチニブは TRKA，TRKB，TRKC に選択的に作用する選択的 TRK 阻害剤である．ラロトレクチニブの有効性は，成人を対象とした第Ⅰ相試験（LOXO-TRK-14001 試験)，小児を対象とした第Ⅰ-Ⅱ相試験（SCOUT 試験)，青年期および成人を対象とした第Ⅱ相バスケット試験 (NAVIGATE 試験)によって検証された[15,16]．これらの試験には，NGS，FISH，RT-PCR のいずれかの方法で検出された *NTRK* 融合遺伝子陽性の固形腫瘍が組み入れられた．3 つの試験に登録されたはじめの 55 例の *NTRK* 融合遺伝子陽性腫瘍の統合解析では，画像中央判定において 7 例 (13%) で完全奏功 (CR)，34 例 (62%) で部分奏功が得られ，奏功割合（ORR) は 75% (95%信頼区間 [CI] 61-85%) と高い効果を示すことが報告された[15]．また，ラロトレクチニブの効果は患者の年齢や腫瘍タイプ，*NTRK* 遺伝子 (*NTRK1/2/3*)，融合パートナーにかかわらず得られることも示された．この結果をもとに，*NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発固形癌に対するラロトレクチニブ （ヴァイトラックビ®） が 2018 年 11 月に FDA で承認された．その後の拡大フォローアップで解析された 159 例の結果は，ORR 79% (95%CI 72-85%)，奏功期間中央値は 35.2 カ月 (95%CI 22.8 カ月-未到達)，無増悪生存期間中央値は 28.3 カ月 (95%CI 22.1 カ月-未到達)，全生存期間中央値は 44.4 カ月 (95%CI 36.5 カ月-未到達)であり，本邦ではこれらの結果をもとに 2021 年３月に承認が取得されている[16]．これらの臨床試験のうち，非小細胞肺癌は第Ⅰ相試験（LOXO-TRK-14001 試験)に 1 例，第Ⅱ相試験 (NAVIGATE 試験)に 19 例の計 20 例が含まれていた．組織型は 19 例が腺癌，1 例が神経内分泌癌であり，*NTRK1* 融合遺伝子が 16 例 (80%)，*NTRK3* 融合遺伝子が 4 例(20%)であった．1 例 (7%)で CR，10 例 (67%)で PR が得られ，ORR は 73% (95%CI 45-92%)であった．奏功期間中央値は 33.9 カ月 (95%CI 5.6-33.9 カ月)，無増悪生存期間中央値は 35.4 カ月 (95%CI 5.3-35.4 カ月)，全生存期間中央値は 40.7 カ月 (95%CI 17.2 カ月-未到達)であり，全体集団と変わらない効果が認められた[17].

エヌトレクチニブは，ROS1，ALK，TRK を阻害するマルチキナーゼ阻害薬である．NGS，FISH，RT-PCR のいずれかの方法で同定された *NTRK* 融合遺伝子陽性の固形癌を対象とする２つの第Ⅰ相試験（ALKA-372-001，STARTRK-1)および 1 つの第Ⅱ相試験 (STARTRK-2)においてその有効性が検証され，統合解析の結果が報告された[18]．54 例の *NTRK* 融合遺伝子陽性固形癌のうち，4 例 (7%)で CR，27 例 (50%)で PR が得られ，ORR は 57% (95%CI 43-71%)であった．奏功期間中央値は 10.4 カ月 (95%CI 7.1 カ月-未到達)，無増悪生存期間中央値は 11.2 カ月 (95%CI 8.0-14.9 カ月)であり，この結果に基づき，*NTRK* 融合遺伝子陽性の進行・再発固形癌に対す

表2． *NTRK* 融合遺伝子固形癌に対する臨床試験

薬剤	標的	試験名	phase	対象
Larotrectinib	TRK A/B/C	NCT02122913 (LOXO-TRK-14001)	1	TRK-TKI未治療
		NCT02637687 (SCOUT)	1/2	
		NCT02576431 (NAVIGATE)	2	
Entrectinib	TRK A/B/C ROS1 ALK	EudraCT,2012−000148−88 (ALKA-372-001)	1	TRK-TKI未治療
		NCT02097810 (STARTRK-1)	1	
		NCT02568267 (STARTRK-2)	2	
Taletrectinib (DS-6051b/AB-106)	TRK A/B/C ROS1	NCT02279433	1	TRK-TKI未治療
		NCT02675491	1	
Repotrectinib (TPX-0005)	TRK A/B/C ROS1 ALK	NCT03093116 (TRIDENT-1)	1/2	TRK-TKI未治療 TRK-TKI耐性後
Selirectinib (LOXO-195)	TRK A/B/C	NCT03215511	1	TRK-TKI耐性後

るエヌトレクチニブ（ロズリートレク®）の単独療法が2019年6月に本邦で，同年8月に米国FDAで承認された．これらの臨床試験には13例の非小細胞肺癌が登録された．組織型は腺癌9例，扁平上皮癌2例，NSCLC-NOS 2例であり，*NTRK1* 融合遺伝子が8例（62%），*NTRK2* 融合遺伝子が1例（7%），*NTRK3* 融合遺伝子が4例(31%)であった．1例（8%)でCR，8例（62%)でPRが得られ，ORRは69% (95%CI 39-91%)であった．無増悪生存期間中央値は14.9カ月 (95%CI 4.7カ月-未到達)，全生存期間中央値は14.9カ月 (95%CI 5.9カ月-未到達)であった[19]．

TRK阻害剤による治療後の耐性機序も報告されている．On-targetの耐性機序としては，NTRKキナーゼ領域の遺伝子変異 (TRKA G595R, F589L, G667C; TRKB G639R; TRKC G623R, G696A) が見つかっており，これらの耐性変異を有する腫瘍にも効果を示す第二世代TRK阻害剤 (Repotrectinib, Selitrectinib, Taletrectinib) の治療開発も進められている[20,21,22]．Off-targetの耐性機序としては，*KRAS G12D, BRAF V600E, MET* 増幅などのMAPK経路の遺伝子変異や増幅が関連するとされている[20]．

（4）*NTRK* 融合遺伝子の診断

NTRK 融合遺伝子の検出には，次世代シークエンス法（Next generation sequencing: NGS)，RT-PCR法（reverse transcription polymerase chain reaction)，蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法（Fluorescence in situ hybridization: FISH），免疫組織化学染色法（Immunohistochemistory: IHC) がある．このうち，エヌトレクチニブ（ロズリートレク®）のコンパニオン診断薬としてFoundationOne CDxがんゲノムプロファイル (F1CDx) とFoundationOne®Liquid CDxがんゲノムプロファイル（F1 Liquid CDx）が，ラロトレクチニブ(ヴァイトラックビ®）のコンパニオン診断薬としてF1CDxが承認されている．しかし，これらの検査は保険算定上の問題からコンパニオン診断薬としては利用しづらく，実際には包括的ゲノムプロファイリングComprehensive genome profile (CGP) 検査としてエキスパートパネルを経て薬剤の投与が行われることが多い．他のdriver遺伝子と異なり，他にコンパニオン診断薬として承認されている検査法がないため，*NTRK* 融合遺伝子陽性肺癌の治療はCGP検査の結果をもとに行う運用が中心となる．

表 3.　NTRK 融合遺伝子の検出に用いられる各種検査法の比較

方法	感度	特異度	全融合遺伝子の検出	融合パートナーの検出	発現の検出
IHC	高*	中～高	可能	不可	可能
FISH	高	高	プローブあたり１つ	不可	不可
RT-PCR	中	高	可能	可能	不可
DNA-seq NGS	中	高	可能 †	可能	不可
RNA-seq NGS	高 ‡	高	可能	可能	可能

＊ NTRK3 では中等度，† F1CDx では NTRK3 の掲載なし，‡ アンプリコンシークエンス法では中等度

1．NGS 法

NGS 法には検査対象として RNA と DNA のいずれを用いるか，シークエンス法としてアンプリコンシークエンス法とハイブリッドキャプチャー法のいずれを用いるかが検査法によって異なり，これらの違いが融合遺伝子の検出に影響する（検査法の詳細については，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」の項を参照）．

F1CDx はハイブリッドキャプチャー法を用いて腫瘍組織由来の DNA を解析する方法である．ハイブリッドキャプチャー法の特性上，未知の融合パートナーでも検出可能であるため，融合パートナーのバリエーションが豊富な *NTRK* 融合遺伝子の検出には優れている．しかし，*NTRK3* については *NTRK3* 自体の搭載がなくパートナー遺伝子側から検出するため，搭載遺伝子がパートナーであった場合のみ検出可能であることに注意が必要である．また，DNA ベースの検査であるため，イントロン領域に存在する転座点を検出するためには広い範囲をシークエンスする必要があり，そのすべてを網羅することは困難であるため，RNA ベースの検査に比較すると検出効率が低くなることが指摘されている．特に *NTRK2*，*NTRK3* はそれぞれ 350.7kb，379.2kb と *NTRK1* (20.7kb) に比べて遺伝子自体が大きいため偽陰性となる可能性に注意が必要である [23]．F1 Liquid CDx は血漿中の腫瘍由来 DNA を解析対象としているが，感度の問題があり，組織を用いた *NTRK* 融合遺伝子検査との陽性一致率は 47.4% にとどまるとされているため [24]，組織採取が困難な場合を除いては組織を用いた遺伝子検査が優先される．

その他の CGP 検査として，NCC オンコパネル，GenMineTOP がんゲノムプロファイリングシステムが使用可能である．NCC オンコパネルはハイブリッドキャプチャー法を用いた DNA ベースの検査である点で F1CDx と同様の特徴を有する．GenMineTOP がんゲノムプロファイリングシステムもハイブリッドキャプチャー法を用いているが，融合遺伝子の検出に RNA を使用することからエクソンのジャンクション配列を読み取ればよく，DNA ベースの検査より検出の効率が良いとされる．いずれも *NTRK*1/2/3 融合遺伝子を検出可能であり，それぞれの検査の特性に留意して検査法の選択や結果の解釈を行うことが求められる．

オンコマイン ™Dx Target test マルチ CDx システム (オンコマイン DxTT) は融合遺伝子の検出に RNA を用い，*NTRK1/2/3* のいずれも検出遺伝子として搭載されている．しかし，アンプリコンシークエンス法を用いるため，既知のパートナー遺伝子のみが検出可能であり，*NTRK* 融合遺伝子においてはパートナー遺伝子が多彩であることや，*NTRK* 遺伝子自体の break point にもバリエーションが多いことから検出感度に限界があることに留意が必要である．また，オンコマイン DxTT は TRK キナーゼ阻害薬のコンパニオン診断薬として承認されていないため，

NTRK 融合遺伝子が検出された場合においても薬剤の投与には CGP 検査での確認が必要である.

２．RT-PCR 法 （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 法を用いたマルチプレックス遺伝子検査であり，研究用の参考情報として*NTRK1/2/3*の解析が可能である．融合点をはさんで *NTRK* 側とパートナー遺伝子側のプライマー設定が必要であり，既知のパートナー遺伝子のみ検出可能である．乳腺・唾液腺分泌癌における *ETV6-NTRK3* 融合遺伝子など，融合遺伝子のパターンが限られている癌種では有効であるが，非小細胞肺癌での *NTRK* 融合遺伝子の検出は限られる.

３．FISH 法

融合遺伝子の検出に使用され，非小細胞肺癌においても主に *ALK* 融合遺伝子の検出に用いられている．パートナー遺伝子の種類が多い *NTRK* 融合遺伝子においても break apart プローブを用いることで理論的には検出可能である．しかし，*NTRK*1/2/3 のすべてについて検討するには 3 セットのプローブ設定が必要であることや，融合パートナーが *NTRK* と同一染色体内に存在する場合にはシグナルの判別が難しいことがあり，偽陰性となる可能性に留意する必要がある [23].

４．IHC 法

IHC 法は TRK タンパクの発現を検出するものであり，IHC 陽性例が必ずしも *NTRK* 融合遺伝子を有するわけでないため，TRK 阻害剤の適応を直接判断することはできない．しかし，安価で簡便な検査であり，非小細胞肺癌における *NTRK* 融合遺伝子の希少性を考慮すると，NGS 検査の前のスクリーニング検査としての使用は考慮される．最も広く使用されている市販の抗体は pan-TRK 抗体の clone EPR17341 (Abcam, Roche/Ventana) であり，報告にもよるが感度は 75-95%，特異度は 81-100%である [25-27]． しかし，NTRK3 では NTRK1/2 に比較して感度が低い (55-79%) ともされており注意を要する [25,27]. 面白いことに，IHC における陽性パターン (核，細胞質，細胞膜) は融合パートナーによって異なるとされており，パートナー遺伝子によって調整される融合タンパクの細胞内局在の違いに起因すると考えられている [11]．陽性のカットオフとして 1%を用いた報告が多いが，明確に定められたカットオフは存在せず，判定方法含めて今後の検討が求められる.

参考文献

1. Nakagawara A. Trk receptor tyrosine kinases: a bridge between cancer and neural development. Cancer Lett 2001; 169(2): 107–114.

2. Thiele CJ, et al. On Trk--the TrkB signal transduction pathway is an increasingly important target in cancer biology. Clin Cancer Res. 2009; 15（19）: 5962-5967. 19755385

3. Kheder ES, Hong DS. Emerging targeted therapy for tumors with *NTRK* fusion proteins. Clin Cancer Res. 2018;24(23):5807-5814.

4. Martin-Zanca D, Hughes SH, Barbacid M. A human oncogene formed by the fusion of truncated tropomyosin and protein tyrosine kinase sequences. Nature 1986; 319: 743–8.

5. Knezevich SR, McFadden DE, Tao W. et al. A novel ETV6-NTRK3 gene fusion in congenital fibrosarcoma. Nat Genet 1998; 18(2): 184–187.

6. Bourgeois JM, Knezevich SR, Mathers JA. et al. Molecular detection of the ETV6-NTRK3 gene fusion differentiates congenital fibrosarcoma from other childhood spindle cell tumors. Am J Surg Pathol 2000; 24(7): 937–946.

7. Vasudev P, Onuma K. Secretory breast carcinoma: unique, triple-negative carcinoma with a favorable prognosis and characteristic molecular expression. Arch Pathol Lab Med 2011; 135(12): 1606–1610.

8. Skalova A, Vanecek T, Sima R. et al. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands, containing the ETV6-NTRK3 fusion gene: a hitherto undescribed salivary gland tumor entity. Am J Surg Pathol 2010; 34(5): 599–608.

9. Vaishnavi A, Capelletti M, Le AT, et al. Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer. Nat Med. Nov 2013;19(11):1469–1472.

10. Rudzinski ER, Hechtman J, Roy-Chowdhuri S, et al. Diagnostic testing approaches for the identification of patients with TRK fusion cancer prior to enrollment in clinical trials investigating Larotrectinib. Cancer Genet 2022; 260-261:46-52.

11. Cocco E, Scaltriti M, Drilon A. NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy. Nat Rev Clin Oncol. 2018; 15: 731–747.

12. 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.

13. Farago AF, Taylor MS, Doebele RC, at al. Clinicopathologic Features of Non–Small-Cell Lung Cancer Harboring an NTRK Gene Fusion. JCO Precis Oncol 2018:2018:PO.18.00037.

14. 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, Clinical Lung Cancer 21 (3) (2020) 247–254.

15. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al, Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children, N. Engl. J. Med. 378 (8) (2018) 731–739.

16. 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;21:531-40.

17. 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 Jan:6:e2100418.

18. 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 Feb;21(2):271-282.

19. Drilon A, Paz-Ares L, Doebele RC, et al. Entrectinib in NTRK fusion-positive NSCLC: Updated integrated analysis of STARTRK-2, STARTRK-1 and ALKA-372-001, Ann. Oncol. 2020; 31 (2020) S474–S475. https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.657

20. Qin H, Patel MR. The challenge and opportunity of NTRK inhibitors in non-small cell lung cancer. Int J Mol Sci. 2022;23(6):2916.

21. Harada G, Santini FC, Wilhelm C, et al. NTRK fusions in lung cancer: From biology to therapy. Lung cancer 2021;161:108-113.

22. Haratake N, Seto T. NTRK Fusion-positive Non-small-cell Lung Cancer: The Diagnosis and Targeted Therapy. Clin Lung Cancer 2021;22:1-5.

23. Hsiao SJ, Zehir A, Sireci AN, et al. Detection of Tumor NTRK Gene Fusions to Identify Patients Who May Benefit from Tyrosine Kinase (TRK) Inhibitor Therapy. J Mol Diagn 2019;21:553-571.

24. Dziadziuszko R, Hung T, Wang K, et al. Pre- and post-treatment blood-based genomic landscape of patients with ROS1 or NTRK fusion-positive solid tumours treated with entrectinib. Mol Oncol. 2022 May;16(10):2000-2014.

25. Gatalica Z, Xiu J, Swensen J et al. Molecular characterization of cancers with NTRK gene fusions. Mod Pathol. 2019 ; 32（1）: 147-153.

26. 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.

27. 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.

28. Overbeck TR, Reiffert A, Schmitz K, et al. NTRK Gene Fusions in Non-Small-Cell Lung Cancer: Real-World Screening Data of 1068 Unselected Patients. Cancers (Basel) 2023;15(11):2966.

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

4-10. PD-L1

（2024 年 9 月改訂 v2.0）

目　次

（1）肺癌における免疫チェックポイント阻害薬の承認状況 3
（2）抗 PD-1 抗体薬／抗 PD-L1 抗体薬の臨床試験結果 3
1．周術期非小細胞肺癌 4
2．局所進行非小細胞肺癌 5
3．進行非小細胞肺癌（ファーストライン） 5
4．進行非小細胞肺癌（セカンドライン以降） 7
5．進展型小細胞肺癌 7
（3）PD-L1 発現の診断 7
1．22C3 抗体を用いた PD-L1 IHC 検査 9
2．28-8 抗体を用いた PD-L1 IHC 検査 10
3．SP142 抗体を用いた PD-L1 IHC 検査 13
4．SP263 抗体を用いた PD-L1 IHC 検査 15
5．PD-L1 測定における課題 16
5-1．検体による PD-L1 発現の相違 16
5-2．治療介入による PD-L1 発現の変化 17
5-3．抗体間のハーモナイゼーション 17
（4）結果の報告 17
1．解析前セクション 18
2．解析セクション 18
3．結果セクション 18
4．解釈/結論 18
5．標準的な結果様式 18
参考文献 20
追補 23

日本肺癌学会バイオマーカー委員会

清水 淳市，荒金 尚子，後藤 功一，阪本 智宏，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，豊岡 伸一

免疫チェックポイント阻害薬が固形腫瘍において長期に奏効することが示され，複数の薬剤が様々な適応疾患，治療ライン，併用にて承認された．有効な集団を選択する主要な因子として PD-L1 IHC 検査は，免疫チェックポイント阻害薬の開発において積極的に臨床治験に組み入れられコンパニオン診断検査として開発が進められてきた．そのため，薬剤毎に異なるコンパニオン診断テストが開発され，それらの診断基準も異なっている（表１）．たとえキットが同じであっても対象となる癌腫によってその診断基準が異なる場合もあり，どの癌腫でどの薬剤を用いるか区別して用いる必要がある．バイオマーカー委員会では，2017 年３月に「肺癌患者における PD-L1 検査の手引き」の第 1 版を，2020 年 10 月に第２版，2021 年２月に第２版の補遺を作成した．肺癌患者に対する免疫チェックポイント阻害薬を使用した治療レジメンは，非小細胞肺癌の周術期，局所進行期，進行期に広がっているが，治療選択のために PD-L1 検査は依然として有用である．

（１）肺癌における免疫チェックポイント阻害薬の承認状況（表 2）

非小細胞肺癌には，手術症例において術前治療としてニボルマブ（オプジーボ®）と化学療法併用が，術後治療として PD-L1 陽性例にアテゾリズマブ（テセントリク®）単剤が承認されており，さらに 2024 年８月には術前・術後補助療法としてペムブロリズマブ（キイトルーダ®，術前化学療法併用＋術後単剤）が承認された．局所進行例では，化学放射線療法後のデュルバルマブ（イミフィンジ®）単剤投与が承認されている．進行例の初回治療においては PD-L1 陽性例にペムブロリズマブ単剤が，PD-L1 高発現例にアテゾリズマブ単剤が承認されている．既治療では PD-L1 発現によらずニボルマブ単剤，アテゾリズマブ単剤が，PD-L1 陽性例にペムブロリズマブ単剤が承認されている．進行例の初回治療としては，PD-L1 発現によらず，ニボルマブ＋イピリムマブ（ヤーボイ®）併用が，化学療法との併用でニボルマブ※，アテゾリズマブ，ペムブロリズマブ，ニボルマブ＋イピリムマブ併用，デュルバルマブ＋トレメリムマブ（イジュド®）併用が承認されている．さらに，アテゾリズマブとデュルバルマブは化学療法との併用で進展型小細胞肺癌への使用が承認されている．

（２）抗 PD-1 抗体薬／抗 PD-L1 抗体薬の臨床試験結果

各薬剤における主要な臨床試験結果を示す．

表１． 治療薬とそれに対する PD-L1 診断薬の特徴

抗体クローン	Dako 28-8	Dako 22C3	Ventana SP142	Ventana SP263
対応する治療薬	Nivolumab	Pembrolizumab	Atezolizumab	Durvalumab
製造会社	BMS	MERCK	ROCHE	AstraZeneca
免疫染色プラットフォーム	Link 48	Link 48	BenchMark ULTRA	BenchMark ULTRA
評価細胞	腫瘍細胞	腫瘍細胞	腫瘍細胞および 腫瘍浸潤免疫細胞	腫瘍細胞
陽性細胞カットオフ値	≥ 1% ≥ 5% ≥ 10%	TPS≥ 50% ≥ 1%	TC1/2/3 or IC1/2/3 ≥ 1%	TC≥ 25% ≥ 1%
承認状況	体外診断薬	コンパニオン診断薬	コンパニオン診断薬 （進行非小細胞肺癌初回単剤治療）	コンパニオン診断薬 （術後アテゾリズマブ治療）
補足	頭頸部癌，悪性黒色腫，食道癌では腫瘍細胞の発現を，胃癌では CPS を用いる．いずれも体外診断薬	食道癌，乳癌でコンパニオン診断薬．頭頸部癌，子宮頸癌では体外診断薬．肺癌以外は CPS で評価する	乳癌ではコンパニオン診断薬，IC のみ評価する	Durvalumab に対しては体外診断薬

TPS: tumor proportion score, CPS: combined positive score, TC: tumor cell, IC: tumor-infiltrating immune cell（用語については各抗体の項を参照）

表２． 本邦における非小細胞肺癌に対する承認状況

	治療レジメン	承認された検査法	検査法の互換使用
PD-L1 検査が必須	術後 アテゾリズマブ単剤	SP263 TC≧1%	22C3
	一次治療 アテゾリズマブ単剤	SP142 TC3 or IC3	—
	一次治療 ペムブロリズマブ単剤 二次治療以降 ペムブロリズマブ単剤	22C3 TPS≧1%	—
	一次治療 ニボルマブ+化学療法※1	28-8※2 PD-L1<1%	22C3
PD-L1 検査を推奨	二次治療以降 アテゾリズマブ単剤（扁平上皮癌）	SP142※2 TC1/2/3 or IC1/2/3	22C3
	二次治療以降 ニボルマブ単剤（非扁平上皮癌）※3	28-8※2 PD-L1≧1%	
	局所進行，化学放射線療法後 デュルバルマブ単剤	SP263※2 PD-L1≧1%	
PD-L1 検査によらない	術前 ニボルマブ＋化学療法 術前・術後 術前ペムブロリズマブ＋化学療法，術後ペムブロリズマブ単剤 一次治療 ペムブロリズマブ+化学療法 アテゾリズマブ+化学療法（非扁平上皮癌） ニボルマブ+イピリムマブ ニボルマブ+イピリムマブ+化学療法 ニボルマブ+化学療法（ベバシズマブ併用，非扁平上皮癌）※1 デュルバルマブ+トレメリムマブ+化学療法 二次治療以降 ニボルマブ単剤（扁平上皮癌） アテゾリズマブ単剤（非扁平上皮癌）	—	—

※1 CM227 における化学療法併用は PD-L1 陰性例のみが対象であるが，TASUKI-52 における化学療法併用は PD-L1 によらない.
※2 コンパニオン診断薬ではなく，体外診断薬として承認されている.
※3 2023 年 11 月に簡略化して改定発表された二ボルマブの最適使用推進ガイドラインでは，記載されなくなった.

１．周術期非小細胞肺癌（表３）

切除可能な非小細胞肺癌〔AJCC 第７版に基づく IB（4cm 以上）～IIIA 期〕を対象とした，根治手術前の術前二ボルマブ＋化学療法３サイクルを化学療法単独３サイクルと比較する CheckMate 816 試験が行われ，無イベント生存期間の有意な延長が示され，承認された[1]．また，外科切除された非小細胞肺癌〔AJCC 第７版に基づく IB（4cm 以上）～IIIA 期〕に対し，プラチナ併用化学療法後のアテゾリズマブ単剤，３週毎 16 サイクル投与を対症療法と比較する IMpower010 試験が行われ，中間解析の結果 PD-L1 陽性の II または IIIA 期集団において，無病生存期間の有意な延長が認められ承認された[2,3]．IMpower010 試験では，層別化因子として用いられた PD-L1 発現は SP142 が用いられていたが，主要評価集団は SP263 を用いた TC 1%以上とされた．切除可能な非小細胞肺癌（AJCC 第８版に基づく II～IIIB[N2]期）を対象とした，術前ペムブロリズマブ＋化学療法 4 サイクルと術後ペムブロリズマブ 13 サイクルを術前プラセボ+化学療法 4 サイクルと術後プラセボ投与を比較する Keynote671 試験が行われ，無イベント生存期間の有意な延長が示され承認された[4,5]．

表 3．周術期非小細胞肺癌に対する臨床試験

試験名	試験の種類	対象（PD-L1 発現）	治療薬	例数	OS（月）	HR for OS（95% CI）	EFS/DFS（月）	HR for EFS/DFS（95% CI）
CM816	第III相試験	切除可能非小細胞肺癌 IB（4cm以上）～IIIA 期※1	P-併用+NIVO P-併用	179 179	NR NR	0.57 (0.30-1.07)	31.6 20.8	0.63 (0.43-0.91)
IMp010	第III相試験	切除後非小細胞肺癌 IB（4cm以上）～IIIA 期※1 （承認は TC≧1%、II-IIIA）	Atezo BSC	248 228	NR※2 NR	0.71※2 (0.49-1.03)	NR※2 35.3	0.66※2 (0.50-0.88)
KN671	第III相試験	切除後非小細胞肺癌 II～IIIB (N2) 期※3	術前P-併用+Pembro，術後Pembro 術前P-併用+Placebo，術後Placebo	397 400	NR 52.4	0.72 (0.56-0.93)	47.2 18.3	0.59 (0.48-0.72)

※1　AJCC 第 7 版に基づく，※2 PD-L1 陽性（TC≧1%）の II-IIIA 期のデータ，※3 AJCC 第 8 版に基づく
OS：全生存期間，EFS：無イベント生存期間（CM816），DFS：無病生存期間（IMp010），HR：ハザード比，CI：信頼区間，NR：未到達，TC：SP263 による腫瘍細胞における PD-L1 発現割合
P-併用：プラチナ製剤併用化学療法，NIVO：ニボルマブ，Atezo：アテゾリズマブ，Pembro：ペムブロリズマブ，Placebo：プラセボ，BSC：最良の対症療法

表 4．局所進行非小細胞肺癌に対する臨床試験

試験名（Update）	試験の種類	対象（PD-L1発現）	治療薬	例数	OS（月）	HR for OS（95% CI）	PFS（月）	HR for PFS（95% CI）
PACIFIC（4年）	第III相試験	切除不能 III 期非小細胞肺癌，化学放射線療法後増悪なし（All comers）	Durva Placebo	476 237	47.5 29.1	0.71 (0.57-0.88)	17.2 5.6	0.55 (0.44-0.67)

OS：全生存期間，PFS：無増悪生存期間，HR：ハザード比，Placebo：プラセボ，CI：信頼区間，NR：未到達
Durva：デュルバルマブ

2．局所進行非小細胞肺癌（表 4）

局所進行非小細胞肺癌に対する化学放射線療法後に，デュルバルマブ単剤を 1 年間投与する試験（PACIFIC）においてプラセボに対し生存期間の有意な延長が示され，承認された [6,7]．4 年フォローアップデータまで発表されている [8]．

3．進行非小細胞肺癌（ファーストライン）（表 5）

ペムブロリズマブ単剤をプラチナ併用化学療法と比較した KEYNOTE-024 試験では，PD-L1 が高発現（TPS≧50%）の進行非小細胞肺癌を対象としてペムブロリズマブ単剤が有意な生存期間の延長を示した [9,10]．同様の比較が KEYNOTE-042 試験において PD-L1 TPS1%以上の症例を対象として行われ，有意な生存期間の延長を示した [11,12]．これらの結果よりペムブロリズマブ単剤は本邦において PD-L1 が TPS 1%以上の非小細胞肺癌に対する初回治療としての使用が承認されている．ニボルマブ単剤は，プラチナ併用化学療法と比較して有意な生存期間の延長を示せなかった（CheckMate026）[13]．アテゾリズマブ単剤は IMpower110 において，PD-L1 が腫瘍細胞（TC）もしくは腫瘍浸潤免疫細胞（IC）で高発現である患者においてプラチナ併用化学療法と比較して有意に生存期間を延長することが報告され，これらの PD-L1 高発現症例に対して承認された [14,15]．

免疫チェックポイント阻害薬と化学療法の併用は，主として PD-L1 発現での患者選択は行わず実施された．非扁平上皮非小細胞肺癌を対象とした試験は，カルボプラチンもしくはシスプラチンとペメトレキセドへのペムブロリズマブの上乗せ（KEYNOTE-189），カルボプラチン，パクリタキセル，ベバシズマブへのアテゾリズマブの上乗せ（IMpower150），カルボプラチン，ナブパクリタキセルへのアテゾリズマブの上乗せ（IMpower130），プラチナ，ペメトレキセドへのアテゾリズマブの上乗せ

表 5. 進行非小細胞肺癌のファーストラインにおける試験局所進行非小細胞肺癌に対する臨床試験

試験名（Update）	試験の種類	対象（PD-L1発現）	治療薬	例数	OS（月）	HR for OS（95% CI）	PFS（月）	HR for PFS（95% CI）
KEYNOTE 024 (5年)	第III相試験	非小細胞肺癌※1（PD-L1≧50%）	Pembro P併用療法	154 151	26.3 13.4	0.62 (0.48-0.81)	7.7 5.5	0.50 (0.39-0.65)
KEYNOTE 042 (5年)	第III相試験	非小細胞肺癌※1（PD-L1≧1%）	Pembro P併用療法	637 637	16.4 12.1	0.79 (0.70-0.89)	5.6 6.8	1.03 (0.91-1.16)
IMpower 110 (2021)	第III相試験	非小細胞肺癌※1（PD-L1 TC3 or IC3）	Atezo P併用療法	107 98	20.2 14.7	0.76 (0.54-1.09)	8.2 5.0	0.59 (0.43-0.81)
KEYNOTE 189 (5年)	第III相試験	非扁平上皮非小細胞肺癌※1（All comers）	P併用＋Pembro P併用＋Placebo	410 206	22.0 10.6	0.60 (0.50-0.72)	9.0 4.9	0.50 (0.42-0.60)
KEYNOTE 407 (5年)	第III相試験	扁平上皮非小細胞肺癌（All comers）	P併用＋Pembro P併用＋Placebo	278 281	17.2 11.6	0.71 (0.59-0.85)	8.0 5.1	0.62 (0.52-0.74)
IMpower 150 (2021)	第III相試験	非扁平上皮非小細胞肺癌※1（All comers）	P併用＋Atezo P併用	356 336	19.5 14.7	0.80 (0.67-0.95)	8.4 6.8	0.57 (0.48-0.67)
IMpower 130	第III相試験	非扁平上皮非小細胞肺癌※1（All comers）	P併用＋Atezo P併用	451 228	18.6 13.9	0.79 (0.64-0.98)	7.0 5.5	0.64 (0.54-0.77)
IMpower 132	第III相試験	非扁平上皮非小細胞肺癌※1（All comers）	P併用＋Atezo P併用	292 286	17.5 13.6	0.86 (0.71-1.06)	7.6 5.2	0.60 (0.49-0.72)
TASUKI-52	第III相試験	非扁平上皮非小細胞肺癌※1（All comers）	P併用+Nivo P併用	275 275	25.4 24.7	0.85 (0.63-1.14)	12.1 8.1	0.56 (0.43-0.71)
CheckMate 227	第III相試験	非小細胞肺癌※1（PD-L1<1%）	Nivo+Ipi P併用+Nivo P併用	187 117 186	17.4 15.2 12.2	0.65※2 (0.52-0.81) 0.80※2 (0.64-1.00)	5.1 5.6 4.7	0.75※2 (0.59-0.95) 0.73※2 (0.58-0.93)
		非小細胞肺癌※1（PD-L1≧1%）	Nivo+Ipi P併用	396 397	17.1 14.9	0.77 (0.66-0.91)	5.1 5.6	0.79 (0.67-0.94)
CheckMate 9 LA	第III相試験	非小細胞肺癌※1（All comers）	P併用+Nivo＋Ipi P併用	361 358	15.6 10.9	0.66 (0.55-0.80)		
POSEIDON	第III相試験	非小細胞肺癌※1（All comers）	P併用 +Durva+Treme P併用	338 337	14.0 11.7	0.77 (0.62-0.92)	6.2 4.8	0.72 (0.60-0.86)

OS：全生存期間，PFS：無増悪生存期間，HR：ハザード比，Placebo：プラセボ，CI：信頼区間
Pembro：ペムブロリズマブ，Atezo：アテゾリズマブ，P：プラチナ製剤，Nivo：ニボルマブ，Ipi：イピリムマブ，Durva：デュルバルマブ，Treme：トレメリムマブ
※1 EGFR 遺伝子変異または ALK 融合遺伝子陽性の患者は除かれた
※2 プラチナ併用化学療法に対する HR

（IMpower132），カルボプラチン，パクリタキセル，ベバシズマブへのニボルマブの上乗せ（TASUKI-52）の 5 試験で有意な生存期間の延長が示され，いずれも承認されている[16-23]．扁平上皮非小細胞肺癌を対象とした試験は，カルボプラチン，パクリタキセルもしくは nab パクリタキセルへのペムブロリズマブの上乗せ（KEYNOTE-407）

において有意な生存期間の延長が示され，承認された[24,25]．カルボプラチン，nab パクリタキセルにアテゾリズマブを上乗せする試験（IMpower131）では生存期間の有意な延長が得られなかった[26]．抗 CTLA-4 抗体を併用する試験として，ニボルマブ＋イピリムマブ（CheckMate227），２サイクルの化学療法とイピリムマブ＋ニボルマブの併用（CheckMate 9LA），化学療法へのデュルバルマブ，トレメリムマブの上乗せをする試験（POSEIDON）においても有意な生存期間の延長が示され承認された[27-31]．

４．進行非小細胞肺癌（セカンドライン以降）（表 6）

既治療の進行非小細胞肺癌を対象として，単剤免疫チェックポイント阻害薬の効果をドセタキセルと比較する臨床試験が各薬剤について行われた．ニボルマブは PD-L1 発現で選択せずに扁平上皮癌（CheckMate017）と非扁平上皮癌（CheckMate057）の２試験に分けて，ペムブロリズマブは，PD-L1 TPS≧1%に絞って（KEYNOTE-010），アテゾリズマブは PD-L1 発現でも組織型でも対象を絞らずに（OAK）試験が行われ，いずれも生存期間の有意な延長を示した[32-38]．ペムブロリズマブは PD-L1 TPS≧1%に限って，ニボルマブ，アテゾリズマブは PD-L1 にかかわらず単剤での使用が承認されている．

５．進展型小細胞肺癌（表 7）

進展型小細胞肺癌を対象として，カルボプラチン，エトポシドへのアテゾリズマブの追加効果を検討した試験（IMpower133）で生存期間の有意な延長が示され，承認された[39]．デュルバルマブを用いた試験（CASPIAN）でもシスプラチンもしくはカルボプラチン，エトポシドへの上乗せ効果が検討され，生存期間の有意な延長が示され承認された[40,41]．

（３）PD-L1 発現の診断

既治療非小細胞肺癌に対する免疫チェックポイント阻害薬単剤治療では，約 20%の患者に効果がみられる．効果を予測するバイオマーカーの検討が多数行われているが，確立したものは存在しない．PD-L1 発現については，

表 6.　進行非小細胞肺癌のセカンドライン以降における試験

試験名 (Update)	試験の種類	対象 (PD-L1発現)	治療薬	例数	OS (月)	HR for OS (95% CI)	PFS (月)	HR for PFS (95% CI)
CheckMate 017 (5年)	第III相試験	扁平上皮癌 (All comers)	Nivo DTX	135 137	9.2 6.0	0.62 (0.48-0.79)	3.5 2.6	0.61 (0.47-0.80)
CheckMate 057 (5年)	第III相試験	非扁平上皮癌※ (All comers)	Nivo DTX	292 290	12.2 9.5	0.70 (0.58-0.83)	2.3 4.4	0.90 (0.75-1.08)
KEYNOTE 010 (5年)	第II/III相試験	非小細胞肺癌※ (PD-L1 ≧ 1%)	Pembro2mg/kg DTX	344 343	10.4 8.5	0.71 (0.58-0.88)	3.9 4.0	0.88 (0.74-1.23)
OAK (2021)	第III相試験	非小細胞肺癌※ (All comers)	Atezo DTX	613 612	13.3 9.8	0.78 (0.68-0.89)	2.8 4.0	0.95 (0.82-1.10)

OS：全生存期間，PFS：無増悪生存期間，HR：ハザード比，Placebo：プラセボ，CI：信頼区間
Nivo：ニボルマブ，Pembro：ペムブロリズマブ，Atezo：アテゾリズマブ，DTX：ドセタキセル
※ EGFR 遺伝子変異または ALK 融合遺伝子陽性の患者はそれぞれに対応する阻害薬の治療歴がある患者に限られた

表 7.　進展型小細胞肺癌に対する試験

試験名 (Update)	試験の種類	対象 (PD-L1発現)	治療薬	例数	OS (月)	HR for OS (95% CI)	PFS (月)	HR for PFS (95% CI)
IMpower 133	第III相試験	進展型小細胞肺癌 (All comers)	P 併用＋Atezo P 併用＋Placebo	201 202	12.3 10.3	0.70 (0.54-0.91)	5.2 4.3	0.77 (0.62-0.96)
CASPIAN (3年)	第III相試験	進展型小細胞肺癌 (All comers)	P＋ETP＋Durva P＋ETP	268 269	12.9 10.5	0.75 (0.62-0.91)	5.1 5.4	0.80 (0.66-0.96)

OS：全生存期間，PFS：無増悪生存期間，HR：ハザード比，Placebo：プラセボ，CI：信頼区間
P：プラチナ製剤，Atezo：アテゾリズマブ，ETP：エトポシド，Durva：デュルバルマブ

表 8． PD-L1 免疫染色に適した検体処理の条件

要素	最適な条件
検体の種類	FFPE生検検体，切除検体，（セルブロック）
スライド作成	3-5μm に薄切し陽性荷電したスライドもしくは ”adhesive coated slides” に載せる
寒冷虚血時間	30 分以内
固定液	10% 中性緩衝ホルマリン（SP263 では亜鉛ホルマリン固定液も使用可）
固定液の量	サンプル量の 10 倍
固定時間	生検検体・セルブロックでは 6-48 時間，切除検体では 24-48 時間（72 時間まで許容）
未染色スライドでの保管期間	2カ月（2-8℃では最長 12カ月）
パラフィンブロックでの保管期間	3 年（5 年までは許容）
保管条件	2-8℃（室温は許容），遮光，熱・高湿度を避ける

これらは理想的な条件であり，それぞれの検査室で検証し得るものである．
FFPE; Formalin fixed paraffin embedded，ホルマリン固定パラフィン包埋

各薬剤の開発段階から患者選択に用いられており，発現が高いほうが奏効が低い，もしくは発現がない場合よりも奏効する患者の割合が高くなることが示されている（表 9，10，12，13）．しかし，PD-L1 の発現は空間的に不均一性があること，経時的に変化することが報告されている．さらに，各薬剤の開発においてはそれぞれ異なる抗体，評価法，閾値が用いられており，同一の抗体であっても他臓器腫瘍においては評価法が異なることがあるため注意を要する（表 1）．

PD-L1 発現の染色性に影響する技術的な要因として，検体採取から固定液に入れるまでの時間（寒冷虚血時間，cold ischemia time; CIT），固定液の量と質，固定時間，保管条件，保管期間が挙げられている（表 8）．一般的な免疫組織化学的検索に適した標本管理が重要である．サンプル量の 10 倍以上の 10%中性緩衝ホルマリンを用い，採取後速やかに固定を始め，6～48 時間後に包埋処理を行う．薄切後長く室温で保存されていた未染色切片では発現が著しく低下して見える場合があり，偽陰性の要因となるため薄切後は 2 カ月以内に染色を行うことが推奨される [42]．従来，K-CX®などの強酸系脱灰剤で処理された組織における免疫染色は推奨されていないが，最近の 22C3 抗体を使用した研究では，小石灰化物に用いられるエチレンジアミン四酢酸（EDTA）による脱灰処理で，他の部位から採取した検体と比較して PD-L1 の染色性に有意な差がなかったことが報告されている [43]．骨転移巣からの針生検では脱灰処理をせず薄切可能である場合もあり，検体の状況を見極める必要がある．胸水などの体腔液セルブロック検体や，穿刺細胞診からのセルブロック検体を用いた検査に関しては，組織検体との比較検討が精力的に行われ，一定の一致率を見てはいるものの [44,45]，これまでの臨床試験では使用されておらず，組織標本の代替可能性についてはこれからの動向を見極める必要がある．

各抗体について概略を述べる．肺癌においてコンパニオン診断薬として承認された PD-L1 検査は依然としてペムブロリズマブ単剤投与に対する Dako 22C3 のみであり，その他の抗体は診療の参考とするためのコンプレメンタリー診断薬※1 として承認されている．現在は製薬会社も含め，それぞれウェブ上に e-learning サイトが存在し，

※1 コンプレメンタリー診断薬とは，CheckMate 017 試験の結果を受けて PD-L1 IHC 28-8 PharmDx に初めて与えられた診断薬カテゴリーであり，この臨床試験の結果によれば，この診断テストによる患者選択を行わなくともニボルマブの効果は期待できるが，患者選択を行えばより高い臨床的利益が得られる．このように，対象となる薬剤を投与するのに必須ではないが臨床的に有用な情報を与える診断テストが該当する．本邦ではこのカテゴリーがないために，体外診断薬として扱われる．これに対して，コンパニオン診断薬においては，診断テストによる患者選択が薬剤投与に対して必須となる点が異なる．

判定を行う際の有用な学習ツールとして用いることができる．サイトの情報を追補にまとめた．

１．22C3 抗体を用いた PD-L1 IHC 検査

本検査は，ペムブロリズマブの臨床試験において用いられた検査である．当初ペムブロリズマブ単剤療法は，ファーストラインでは KEYNOTE-024 の試験結果をもとに PD-L1 TPS≧50%に対して承認され，セカンドライン以降では KEYNOTE-010 の結果をもとに PD-L1 TPS≧1%に対して承認された．現在は，KEYNOTE-042 の結果をもとに，保険承認はファーストラインにおいても，PD-L1 TPS≧1%に拡大された．肺癌診療ガイドラインにおいては 50%以上の場合のみ単剤療法が推奨されている．化学療法併用においては PD-L1 発現にかかわらずペムブロリズマブ使用が承認されている．肺癌においては TPS を用いるが，肺癌以外では CPS〔Combined Positive Score，CPS＝（PD-L1 を発現した腫瘍細胞，リンパ球およびマクロファージ）/総腫瘍細胞数×100〕が用いられる．

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx，Dako（以下 22C3 キット）がペムブロリズマブのコンパニオン診断薬として承認されている．22C3 キットは PD-L1 の細胞外ドメインを認識する抗 PD-L1 マウスモノクローナル抗体を一次抗体として用いており，自動免疫染色機（Dako Autostainer Link 48）の専用試薬であり，この染色機での検査が必須である（Code No. SK006）．非小細胞肺癌に対しては，次世代染色プラットフォーム Dako Omnis 用のキット（Code No. GE006）も使用可能となった．診断キットを適正に用い，その使用方法や手技に習熟することで，技術的な要因による結果のばらつきを最小化し，精度を高めることが重要である．PD-L1 22C3 免疫染色に関しては，2017 年に日本病理学会より「進行肺癌に対する PD-L1 免疫染色についての留意事項について（その２）」が発表されており[46]，1.ペムブロリズマブに対する効果予測は PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」で行うこと，および 2. PD-L1 22C3 IHC の報告には，少なくとも 3 段階の発現判定結果を明記すること，が述べられている．

■免疫染色判定法

① 評価のためには 100 個以上の Viable な腫瘍細胞が必要とされており，まず HE 標本にて十分な腫瘍細胞が含まれていることを確認する必要がある．
② キット同梱の細胞株陽性コントロールスライドで細胞膜染色強度 2+の腫瘍細胞が 70%以上であること，陰性コントロールスライドで陽性細胞が 10 個以下であること，かついずれもバックグラウンドの染色強度が 1+未満であることを確認し，試薬の適切性を判定する．
③ 陽性コントロール組織を組織標準として用い，組織切片が適切に作製され，試薬が反応していることの確認を行う． 陽性コントロールとしては扁桃上皮が含まれた扁桃組織もしくは胎盤組織（図１）を用いることができる．
④ 対象腫瘍細胞の細胞膜における染色性を評価の対象とし，tumor proportion score（TPS，全腫瘍細胞に対して PD-L1 陽性細胞が占める割合）を指標として用いる．染色強度や細胞膜の染色が部分的か全周性かに関わらず，わずかでも染色されていれば陽性と判定する．TPS < 1%を陰性，1-49%を陽性(低発現，図２)，≧ 50%を陽性(高発現，図３)と定義している．治療ラインにかかわらず，TPS ≧ 1%がペムブロリズマブ単剤の治療

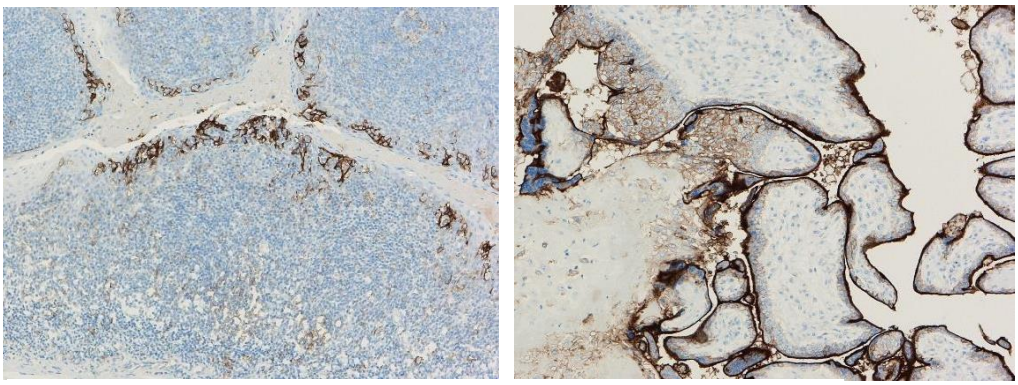


図１． 正常組織（左：扁桃上皮，右：胎盤組織）における PD-L1 発現

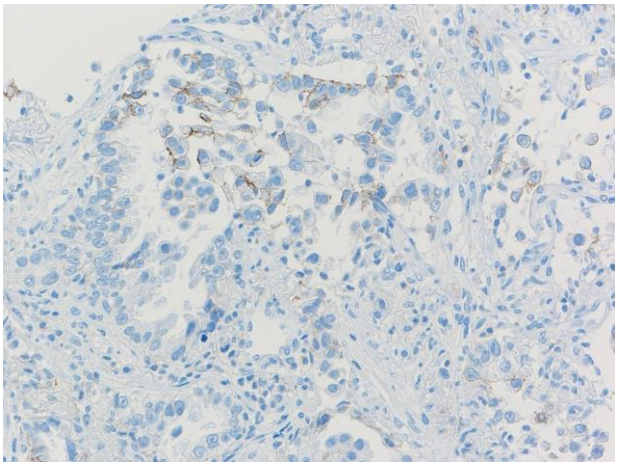


図2． PD-L1 IHC 22C3 1-49%例．TPS 10%程度であり，ペムブロリズマブ単剤治療の適応あり．

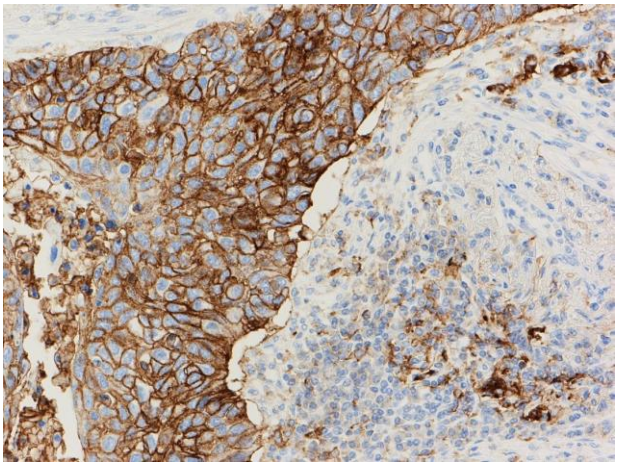


図3． PD-L1 IHC 22C3 ≥ 50%例．免疫細胞は TPS には含めない．

対象と判定される．PD-L1 はリンパ球やマクロファージなどにも陽性となるため，腫瘍細胞とこれらの免疫関連細胞が混在する症例では疑陽性となる可能性があり注意が必要である．細胞の形態を注意深く観察し，明確に区別することが重要である．

2．28-8 抗体を用いた PD-L1 IHC 検査

本検査は，ニボルマブの臨床試験において用いられた検査である．臨床試験においては，TPS 1%，5%，10%がカットオフとして用いられたが，扁平上皮癌を対象とした CheckMate 017 では PD-L1 発現にかかわらず（PD-L1 TPS<1%においても）ニボルマブによる生存期間の延長傾向が認められた．一方，非扁平上皮非小細胞肺癌を対象とした CheckMate 057 においては TPS<1%の群において生存期間はドセタキセル群とほぼ同様であったため，最適使用推進ガイドラインにおいては TPS<1%の場合には，原則，ドセタキセル等の投与を優先すると記載された（2023 年 11 月に改定された最適使用推進ガイドラインでは，記載されなくなった）．ニボルマブをアバスチン併用化学療法に上乗せした TASUKI-52 では，PD-L1 別の PFS が報告されており PD-L1 発現によらずニボルマブ上乗せの効果が示された．術前化学療法へのニボルマブの上乗せを検討した CheckMate816 においては，PD-L1 発現が高いほど DFS が延長することが示された．

28-8 抗体は，米国では，ニボルマブ効果予測のための補助的な検査（コンプレメンタリー診断薬）として承認されている．本邦においては PD-L1 IHC 28-8 pharmDx,

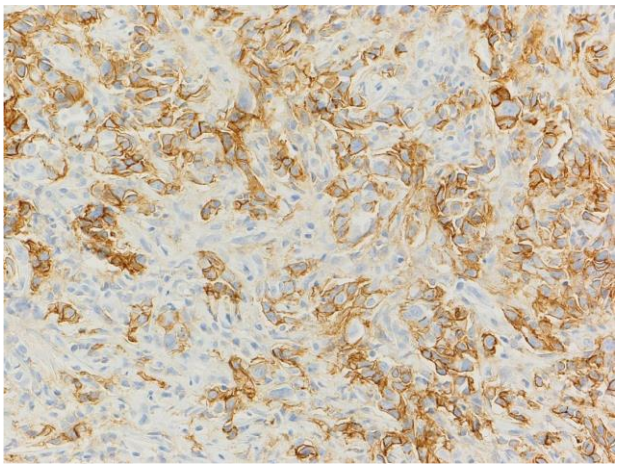


図4． PD-L1 IHC 28-8 TP > 10%であり，ニボルマブ単剤による一定の治療効果が期待できる．

Dako はニボルマブの体外診断薬と明記されて認可されているが，ニボルマブの添付文書上 PD-L1 28-8 免疫染色による患者選択は必要とされていないので，米国同様のコンプレメンタリー診断薬の位置付けとなる．28-8 IHC 検査キットは PD-L1 の細胞外ドメインを認識する抗 PD-L1 ラビットモノクローナル抗体を一次抗体として用いており，自動免疫染色機（Dako Autostainer Link 48）専用試薬であるため，この染色機で染色することで保険承認されている．

■免疫染色判定法

① PD-L1 28-8 免疫染色でも同様に，PD-L1 22C3 免疫染色の①-③の操作（9 ページ参照）を行う．ただし，②については 28-8 ではキット同梱の陽性細胞株で細胞膜染色強度 2+の腫瘍細胞が 80%以上である確認が

必要である．

② そののち，腫瘍細胞の細胞膜における染色性を評価し，その染色強度や染色範囲にかかわらず，わずかでも染色されていれば陽性と判定する．TPS ＜ 1%，≧ 1%，≧ 5%，≧ 10%で評価を行う（図４）が，前述のように二ボルマブの投与の可否は TPS によって規定されず，TPS はあくまで非扁平上皮癌における効果予測の参考として用いられる．

表 9.　22C3 で層別化された試験

試験名 (Update)	試験の種類	対象	カットオフ	治療薬	例数	OS（月）	HR for OS (95% CI)	PFS（月）	HR for PFS (95% CI)
KEYNOTE 671	第III相試験	非小細胞肺癌	≧ 50%	P 併用＋Pembro →Pembro P 併用＋Placebo →Placebo	132 134		0.55 (0.33-0.92)		HR for EFS 0.48 (0.33-0.71)
			1-49%	P 併用＋Pembro →Pembro P 併用＋Placebo →Placebo	127 115		0.69 (0.44-1.07)		0.52 (0.36-0.73)
			＜ 1%	P 併用＋Pembro →Pembro P 併用＋Placebo →Placebo	138 151		0.91 (0.63-1.32)		0.75 (0.56-1.01)
KEYNOTE 010 (5 年)	第II/III相試験	非小細胞肺癌	≧ 1%	Pembro DTX	690 343	11.8 8.4	0.70 (0.61-0.80)	4.0 4.1	0.84 (0.73-0.96)
			≧ 50%	Pembro DTX	290 152	16.9 8.2	0.55 (0.44-0.69)	5.3 4.2	0.57 (0.46-0.71)
KEYNOTE 024	第III相試験	非小細胞肺癌	≧ 50%	Pembro P 併用	154 151	30.0 14.2	0.63 (0.47-0.86)	10.3 6.0	0.50 (0.37-0.68)
KEYNOTE 042 (5 年)	第III相試験	非小細胞肺癌	≧ 1%	Pembro P 併用	637 637	16.4 12.1	0.79 (0.70-0.89)	5.6 6.8	1.03 (1.03-1.16)
			1-49%	Pembro P 併用	338 337	13.4 12.1	0.88 (0.75-1.04)		
			≧ 50%	Pembro P 併用	299 300	20.0 12.2	0.68 (0.57-0.81)	6.5 6.5	0.86 (0.72-1.02)
KEYNOTE 189 (5 年)	第III相試験	非扁平上皮非小細胞肺癌	＜ 1%	P 併用＋Pembro P 併用＋Placebo	127 63	17.2 10.2	0.55 (0.39-0.76)	6.2 5.1	0.67 (0.49-0.92)
			1-49%	P 併用＋Pembro P 併用＋Placebo	128 58	21.8 12.1	0.65 (0.46-0.90)	9.4 4.9	0.57 (0.41-0.80)
			≧ 50%	P 併用＋Pembro P 併用＋Placebo	132 70	27.7 10.1	0.68 (0.49-0.96)	11.3 4.8	0.35 (0.25-0.49)
KEYNOTE 407 (5 年)	第III相試験	扁平上皮非小細胞肺癌	＜ 1%	P 併用＋Pembro P 併用＋Placebo	95 99	15.0 11.0	0.83 (0.61-1.13)	6.3 5.9	0.70 (0.52-0.95)
			1-49%	P 併用＋Pembro P 併用＋Placebo	103 104	18.0 13.1	0.61 (0.45-0.83)	8.2 6.0	0.60 (0.45-0.81)
			≧ 50%	P 併用＋Pembro P 併用＋Placebo	73 73	19.9 11.5	0.68 (0.47-0.97)	8.3 4.2	0.48 (0.33-0.69)

OS：全生存期間，PFS：無増悪生存期間，HR：ハザード比，Placebo：プラセボ，CI：信頼区間，NR：未到達，EFS：無イベント生存期間
Pembro：ペムブロリズマブ，DTX：ドセタキセル，P：プラチナ製剤

表 10. 28-8 抗体で層別化された試験

試験名 (Update)	試験の種類	対象	カットオフ	治療薬	例数	OS (月)	HR for OS (95% CI)	PFS (月)	HR for PFS (95% CI)
CheckMate 057	第III相試験	非扁平上皮癌	＜ 1%	Nivo DTX	108 101	10.5 10.1	0.90 (0.66-1.24)	2.1 3.6	1.19 (0.88-1.61)
			≧ 1%	Nivo DTX	123 123	17.7 9.0	0.59 (0.43-0.82)	4.2 4.5	0.70 (0.53-0.94)
			≧ 5%	Nivo DTX	95 86	19.4 8.1	0.43 (0.30-0.63)	5.0 3.8	0.54 (0.39-0.76)
			≧ 10%	Nivo DTX	86 79	19.9 8.0	0.40 (0.26-0.59)	5.0 3.7	0.52 (0.37-0.75)
CheckMate 026	第III相試験	非小細胞肺癌	≧ 5%	Nivo DTX	211 212	14.4 13.2	1.03 (0.81-1.32)	4.2 5.9	1.18 (0.94-1.49)
			≧ 50%	Nivo DTX	88 126		0.90 (0.63-1.29)		1.07 (0.77-1.49)
CheckMate 026と057 統合 (5 年)	第III相	非小細胞肺癌	≧ 1%	Nivo DTX	185 179	13.4 8.5	0.61 (0.49-0.7)	3.8 3.6	0.66 (0.53-0.84)
			＜ 1%	Nivo DTX	163 153	9.7 7.8	0.76 (0.61-0.96)	2.1 3.5	0.99 (0.78-1.26)
TASUKI-51	第III相	非扁平上皮癌	＜ 1% 又は不明	P併用+Nivo P併用	120 120			13.6 8.4	0.55 (0.38-0.78)
			1-49%	P併用+Nivo P併用	82 81			11.0 8.4	0.63 (0.42-0.96)
			≧ 50%	P併用+Nivo P併用	73 74			9.9 6.9	0.55 (0.36-0.83)
CheckMate 227 (5 年)	第III相	非小細胞肺癌	＜ 1%	Nivo+Ipi P併用	187 186	17.4 12.2	0.65 (0.52-0.81)	5.1 4.7	0.75 (0.59-0.95)
			≧ 1%	Nivo+Ipi P併用	396 397	17.1 14.9	0.77 (0.66-0.91)	5.1 5.6	0.79 (0.67-0.94)
CheckMate 9LA (3 年)	第III相	非小細胞肺癌	＜ 1%	P併用+Nivo+Ipi P併用	135 129	17.7 9.8	0.67 (0.51-0.88)	5.8 5.0	0.69 (0.52-0.91)
			1-49%	P併用+Nivo+Ipi P併用	128 106	15.2 10.4	0.70 (0.53-0.93)	＞1% 9LA vs P併用 例数 204 vs 204 PFS 6.9 vs 4.7 HR 0.71 (0.57-0.88)	
			≧ 50%	P併用+Nivo+Ipi P併用	76 98	18.9 12.9	0.75 (0.53-1.07)		
CheckMate 816	第III相	非小細胞肺癌	＜ 1%	P-併用+NIVO P-併用	78 77			(EFS) 25.1 18.4	(EFS) 0.85 (0.41-1.32)
			1-49%	P-併用+NIVO P-併用	51 47			NR 26.7	0.58 (0.30-1.12)
			≧ 50%	P-併用+NIVO P-併用	38 42			NR 19.6	0.24 (0.10-0.61)

OS：全生存期間，PFS：無増悪生存期間，HR：ハザード比，Placebo：プラセボ，CI：信頼区間，NR：未到達
Nivo：ニボルマブ，DTX：ドセタキセル，P：プラチナ製剤，Ipi：イピリムマブ，EFS：無イベント生存期間

3．SP142 抗体を用いた PD-L1 IHC 検査

主に，アテゾリズマブの臨床試験において用いられる検査である．既治療進行非小細胞肺癌患者へのアテゾリズマブ単剤投与の適応を判断するための体外診断薬として承認されていたが，IMpower 110 の結果を受けて，未治療進行非小細胞肺癌患者へのアテゾリズマブ単剤投与の適応を判断するためのコンパニオン診断薬となった．一次抗体として抗 PD-L1 ウサギモノクローナル抗体（クローン SP142）を用い，ベンタナ　ベンチマーク ULTRA などの自動染色装置を用いて染色を行う．非小細胞肺癌における判定は，腫瘍細胞における PD-L1 発現率（TC）と腫瘍浸潤免疫細胞における PD-L1 発現率（IC）の両者の評価を行う．未治療の場合は，PD-L1 高発現，すなわち TC3 もしくは IC３の場合（表 11 参照）にアテゾリズマブ単剤投与が可能である．非小細胞肺癌のセカンドライン以降ではアテゾリズマブ単剤投与は PD-L1 発現にかかわらず承認されている．一方，最適使用推進ガイドラインにおいては，OAK 試験の扁平上皮癌の患者では，TC0 かつ IC0 群においてドセタキセル群と比較した際の効果の大きさが小さい傾向があるとの判断で，PD-L1 発現率を確認したうえで投与の可否を判断することが望ましいと記載されている．その際に，SP142 抗体での再検査が困難な場合には，22C3 による結果を参照できると記載されている．術後補助治療としてのアテゾリズマブ単剤投与を検討した IMpower 010 試験では，層別化因子として SP142 が用いられたが，主要解析は SP263 による PD-L1 が用いられたため SP263 がコンパニオン診断薬となった．

■免疫染色判定法

① まず HE 標本にて十分な腫瘍細胞が含まれていることを確認する．
② 精度管理用コントロールスライドおよび試薬対象スライドの染色に問題がないことを確認する．
③ 腫瘍細胞全体に対して，染色強度にかかわらず細胞膜に茶褐色の染色が認められる腫瘍細胞の割合を算出し，腫瘍細胞における PD-L1 発現率（TC）を測定する（表 11）．また，腫瘍領域に対して，染色強度にかかわらず茶褐色の染色が認められる腫瘍浸潤免疫細胞（腫瘍組

表 11.　SP142 を用いる場合の評価基準 [47]

腫瘍細胞における PD-L1 発現率（TC）	スコア
腫瘍細胞全体に対して，染色強度に関係なく，細胞膜に PD-L1 による陽性反応が認められる腫瘍細胞の割合が50%以上を占める	TC3
腫瘍細胞全体に対して，染色強度に関係なく，細胞膜に PD-L1 による陽性反応が認められる腫瘍細胞の割合が5%以上 50%未満を占める	TC2
腫瘍細胞全体に対して，染色強度に関係なく，細胞膜に PD-L1 による陽性反応が認められる腫瘍細胞の割合が1%以上 5%未満を占める	TC1
腫瘍細胞全体に対して，細胞膜に PD-L1 の陽性反応が認められない または，染色強度に関係なく，細胞膜に PD-L1 による陽性反応が認められる腫瘍細胞が 1%未満を占める	TC0
腫瘍浸潤免疫細胞における PD-L1 発現率（IC）	**スコア**
腫瘍領域※に対して，染色強度に関係なく，PD-L1 による陽性反応が認められる腫瘍浸潤免疫細胞の割合が10%以上を占める	IC3
腫瘍領域※に対して，染色強度に関係なく，PD-L1 による陽性反応が認められる腫瘍浸潤免疫細胞の割合が5%以上 10%未満を占める	IC2
腫瘍領域※に対して，染色強度に関係なく，PD-L1 による陽性反応が認められる腫瘍浸潤免疫細胞の割合が1%以上 5%未満を占める	IC1
腫瘍領域※に対して，PD-L1 の陽性反応が認められない または，染色強度に関係なく，PD-L1 による陽性反応が認められる腫瘍浸潤免疫細胞が 1%未満を占める	IC0

腫瘍領域：壊死していない腫瘍細胞および腫瘍細胞間に存在する腫瘍内間質と腫瘍の周囲に存在する腫瘍周囲間質により占められている領域

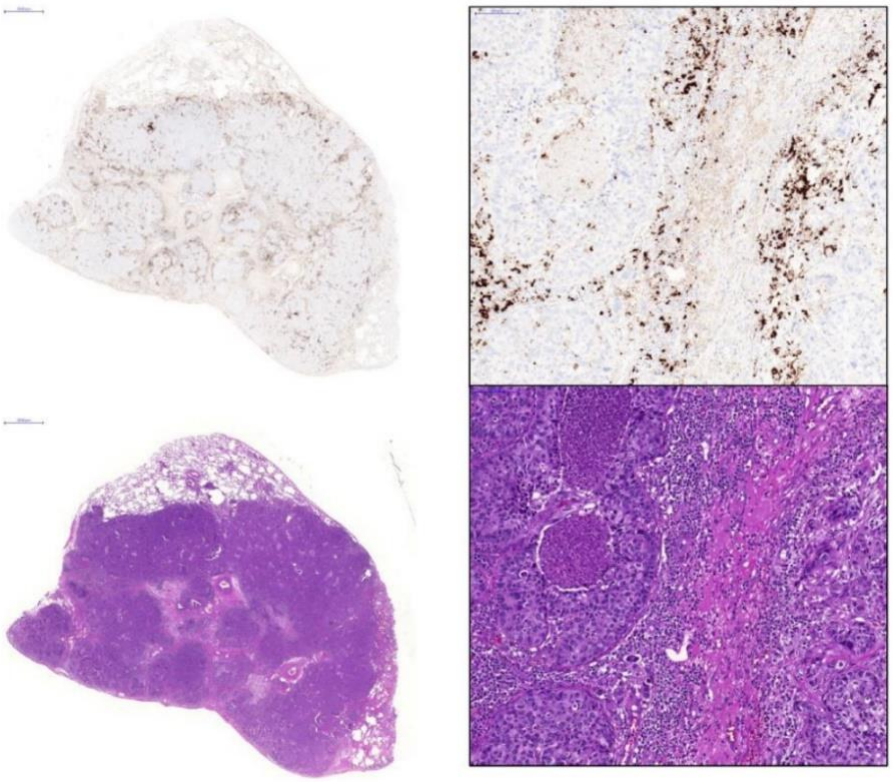


図５． PD-L1 SP142 による扁平上皮癌の免疫染色．腫瘍細胞は陰性だが，腫瘍胞巣を取り囲むように浸潤するリンパ球に陽性像を認め，IC３と評価される．

織内および腫瘍組織の辺縁部に局在する免疫細胞）の割合を算出し，腫瘍浸潤免疫細胞における PD-L1 発現率（IC）を測定する．なお，腫瘍領域以外の免疫細胞にも PD-L1 陽性となる可能性があるが，判定対象とはしない（図５）．

④ 注意：腫瘍細胞における細胞質染色については評価対象から除外する．正常粘液細胞や壊死部分においてもバックグラウンド染色が認められることがあり，これらの反応も判定対象から除外する．タンパク質または基質反応生成物の非免疫学的結合のために，偽陽性結果を示す場合があるので組織像との対比が必要である．

表 12．SP142 で層別化された試験

試験名（Update）	試験の種類	対象	カットオフ	治療薬	例数	OS（月）	HR for OS（95% CI）	PFS（月）	HR for PFS（95% CI）
OAK（OSのみ 2021）	第III相試験	非小細胞肺癌	TC3 or IC3	Atezo DTX	89 85	20.5 9.7	0.50 (0.36-0.71)	4.2 3.3	0.63
			TC2/3 or IC2/3	Atezo DTX	168 182	16.6 11.4	0.69 (0.54-0.87)	4.1 3.6	0.76
			TC1/2/3 or IC1/2/3	Atezo DTX	347 337	14.3 10.8	0.78 (0.66-0.93)	2.8 4.1	0.91
			TC0 and IC0	Atezo DTX	260 271	11.8 8.9	0.78 (0.65-0.94)	2.6 4.0	1.00
IMpower 110 (2021)	第III相試験	非小細胞肺癌	TC3 or IC3	Atezo P 併用療法	107 98	20.2 14.7	0.76 (0.54-1.09)	8.2 5.0	0.59 (0.43-0.81)
			TC2/3 or IC2/3	Atezo P 併用療法	166 162	19.9 16.1	0.87 (0.66-1.14)	7.3 5.5	0.64 (0.50-0.82)
			TC1/2/3 or IC1/2/3	Atezo P 併用療法	277 277	18.9 14.7	0.85 (0.69-1.04)	5.8 5.6	0.72 (0.60-0.86)
IMpower 150 (2021)	第III相試験	非扁平上皮非小細胞肺癌	TC3 or IC3	ABCP BCP	71 65	30.0 15.0	0.70 (0.46-1.08)	15.2 6.8	0.34 (0.23-0.50)
			TC1/2/3 or IC1/2/3	ABCP BCP	192 165	22.5 16.0	0.73 (0.57-0.94)	11.1 6.8	0.47 (0.38-0.60)
			TC0 and IC0	ABCP BCP	167 173	16.9 14.1	0.90 (0.71-1.14)	7.2 6.9	0.71 (0.57-0.89)
IMpower 130	第III相試験	非扁平上皮非小細胞肺癌	TC3 or IC3	P 併用＋Atezo P 併用	88 42	17.3 16.9	0.84 (0.51-1.39)	6.4 4.6	0.51 (0.34-0.77)
			TC1/2 or TC1/2	P 併用＋Atezo P 併用	128 65	23.7 15.9	0.70 (0.45-1.08)	8.3 6.0	0.61 (0.43-0.85)
			TC0 and IC0	P 併用＋Atezo P 併用	235 121	15.2 12.0	0.81 (0.61-1.08)	6.2 4.7	0.72 (0.56-0.91)
IMpower 132	第III相試験	非扁平上皮非小細胞肺癌	TC3 or IC3	P 併用＋Atezo P 併用	25 20			10.8 6.5	0.46 (0.22-0.96)
			TC1/2 or TC1/2	P 併用＋Atezo P 併用	63 73			6.2 5.7	0.80 (0.56-1.16)
			TC0 and IC0	P 併用＋Atezo P 併用	88 75			8.5 4.9	0.45 (0.31-0.64)

OS：全生存期間，PFS：無増悪生存期間，HR：ハザード比，Placebo：プラセボ，CI：信頼区間
Atezo：アテゾリズマブ，DTX：ドセタキセル，P：プラチナ製剤，ABCP：カルボプラチン＋パクリタキセル＋アバスチン＋アテゾリズマブ，BCP：カルボプラチン＋パクリタキセル＋アバスチン

4．SP263 抗体を用いた PD-L1 IHC 検査

主に，デュルバルマブの臨床試験において用いられる検査であり，デュルバルマブの投与可否を判断するにあたって用いる体外診断用医薬品として承認されていたが，IMpower 010 の結果を受けて術後補助治療としてのアテゾリズマブ単剤の適用を判定するためのコンパニオン診断薬となった．一次抗体として抗 PD-L1 ウサギモノクローナル抗体（クローン SP263）を用い，ベンタナ ベンチマーク ULTRA などの自動染色装置を用いて染色を行う．腫瘍細胞における PD-L1 発現率の評価を行う（TC）．術後補助治療のアテゾリズマブ単剤は，TC1%以上が適用となる．同等性が複数の試験（5-3 抗体間のハーモナイゼーションを参照）で示されていることから，最適使用推進ガイドラインでは 22C3 の結果を代用可能であると述べられている．

表 13．SP263 で層別化された試験

試験名 (Update)	試験の種類	対象	カットオフ	治療薬	例数	OS (月)	HR for OS (95% CI)	PFS (月)	HR for PFS (95% CI)
PACIFIC (4 年)	第III相試験	切除不能III期非小細胞肺癌，化学放射線療法後増悪なし	≧ 1%	Durva Placebo	212 91	57.4 29.6	0.60 (0.43-0.84)	23.9 5.6	0.49 (0.36-0.66)
			＜1%	Durva Placebo	90 58	33.9 43.0	1.05 (0.69-1.62)	10.7 5.6	0.79 (0.53-1.19)
			不明	Durva Placebo	174 88	44.2 23.5	0.67 (0.48-0.92)	15.6 6.0	0.58 (0.43-0.80)
IMpower 010	第III相試験	術後非小細胞肺癌 主要評価は病期II-IIIA(AJCC 7版)	≧50%	Atezo BSC	115 114	NE NE	0.43 (0.24-0.78)	NE※ 35.7	0.43※ (0.27-0.68)
			1-49%	Atezo BSC	133 114	NE NE	0.95 (0.59-1.54)	32.8※ 31.4	0.87※ (0.60-1.23)
			<1%	Atezo BSC	181 202	NE NE	1.36 (0.93-1.99)		

OS：全生存期間，PFS：無増悪生存期間，HR：ハザード比，Placebo：プラセボ，CI：信頼区間
Durva：デュルバルマブ，Atezo：アテゾリズマブ，BSC：最良の対症療法
※DFS：無病生存期間

■免疫染色判定法

① まず HE 標本にて十分な腫瘍細胞が含まれていることを確認する．
② 精度管理用（陽性）コントロールスライドおよび試薬対象（陰性コントロール）スライドの染色に問題がないことを確認する．
③ 腫瘍細胞全体に対して，染色強度にかかわらず（ただし，試薬対照スライドの背景染色よりも強い染色強度）細胞膜に茶褐色の陽性反応が認められる腫瘍細胞の割合を算出し，腫瘍細胞における PD-L1 発現率（TC）とする．

5．PD-L1 測定における課題

PD-L1 の評価において，空間的，時間的な Heterogeneity が存在することが報告されている．また，治療介入により発現が変化することも報告されており結果の解釈に注意を要する．治療方針を決定する際には，PD-L1 測定に用いた検体の種類と質，検体を採取したタイミングなどを考慮したうえで，PD-L1 発現を治療選択の参考に用いる必要がある．

5-1．検体による PD-L1 発現の相違

生検標本と手術標本の比較：SP142 を用いて 160 人の手術標本と対応する生検標本の PD-L1 発現を TC と IC の両者を評価して比較検討した報告では，手術標本と生検標本での一致率は 52%と低かった [48]．生検標本での PD-L1 発現が低く評価されていた．22C3 と SP124，SP263 をそれぞれ 26 人，20 人，46 人の手術標本と生検標本で評価比較した報告では，カットオフ 1%と 50%での一致率は，22C3 で 96%と 73%，SP142 で 70%と 80%，SP263 で 91%と 80%と比較的良好な一致率であった [49]．

細胞診標本と組織標本の比較：細胞診標本と組織標本の PD-L1 発現を比較検討した報告は複数あり，システマティックレビューが行われている．細胞診標本の 92.0%で PD-L1 発現の評価が可能であり，PD-L1 50%もしくは 1%をカットオフとしたときの一致率はそれぞれ 89.7%と 88.3%であり，細胞診標本が組織標本よりも PD-L1 発現の検討において劣っていることはないと結論付けられている [45]．細胞診標本が生検標本よりも有用である可能性が指摘されている．穿刺吸引細胞診では，穿刺時に前後に，さらに扇状に穿刺することで生検標本よりも広い範囲の腫瘍を反映し得る可能性があり，体腔液や肺胞洗浄液は生検とは違う部位の状態を反映することで腫瘍の不均一性に対応することが可能かもしれない．一方，注意点として検体が小さいため十分な腫瘍細胞があることを確認しなければならず，腫瘍細胞がマクロファージと類似した大きさで核の多型に乏しい場合にはマクロファージは PD-L1 で染色されるため注意を要する．さらに，免疫細胞につい

ての評価は組織検体と同様にはできないとされている．

病巣の部位による比較：原発巣と遠隔転移巣，リンパ節転移巣での PD-L1 の一致率は 67～90%と報告されている[50]．これらの違いの原因は評価対象の PD-L1 発現が異なる可能性のほかに，PD-L1 の評価法，カットオフ値，検体採取の時期の違いなどが考えられる．

5-2．治療介入による PD-L1 発現の変化

PD-L1 の発現は様々な治療介入の前後で変化することが報告されている[51]．術前化学療法を評価した試験において，PD-L1 発現は症例によって増加，減少または維持されており，PD-L1 発現が増加する群では予後が不良であった[52]．EGFR-TKI 治療前後での PD-L1 の発現については，増加するという報告がある一方，変化しないとの報告もある[53,54]．

5-3．抗体間のハーモナイゼーション

PD-L1 発現に応じて免疫チェックポイント阻害薬の使用を検討する場合に，それぞれ対応する抗体によって PD-L1 発現を検討することが最も正確であるが現実的ではない．進行非小細胞肺癌においては，複数の Driver mutation と同時に PD-L1 を測定することが推奨されており，この場合の PD-L1 はペムブロリズマブ単剤使用を検討することが目的であるため通常 22C3 によって評価される．したがって，以後の治療においても 22C3 による PD-L1 発現の結果を基に治療戦略が検討されるため，各抗体間のハーモナイゼーションが重要である．承認されている４つの抗体（22C3，28-8，SP142，SP263）の染色性能を比較した試験は複数報告されている[44,55,56]．SP142 は一貫して他の抗体と比較し TC，IC とも PD-L1 発現を検出する感度が低く，22C3 と 28-8 は良く一致し，一部の試験において SP263 が TC において 28-8，22C3 よりも感度が高かった（図６）．ペムブロリズマブ以外の薬剤を用いた試験においても，後解析として 22C3 による PD-L1 発現別の効果を報告しているものもあり，これらのデータを総合して治療選択を行うことが重要である．一例として，術後アテゾリズマブ単剤に対するコンパニオン診断薬は SP263 であるが，最適使用推進ガイドラインにおいて 22C3 で置き換えることが可能と記載されている．IMpower010 の検体を用いて 22C3 と SP263 の両者を検討した結果が報告され，PD-L1 1%以上をカットオフとした場合の一致率は 82.6%，50%以上では一致率 91.8%であり，いずれの抗体を用いても術後アテゾリズマブの有効性が期待できる患者群を選択することが可能であるとされた[57]．

（４）結果の報告

腫瘍の分子病理診断の標準的な報告と同様に，PD-L1 検査も解析前(preanalytical)，解析(analytic)，結果(result)，および解釈/結論(interpretation/conclusion)について以下の内容が記載されている必要がある．また，腫瘍細胞の同定には専門的な知識が必要であることから，結果は病理診断医によって評価され，記載される必要がある．

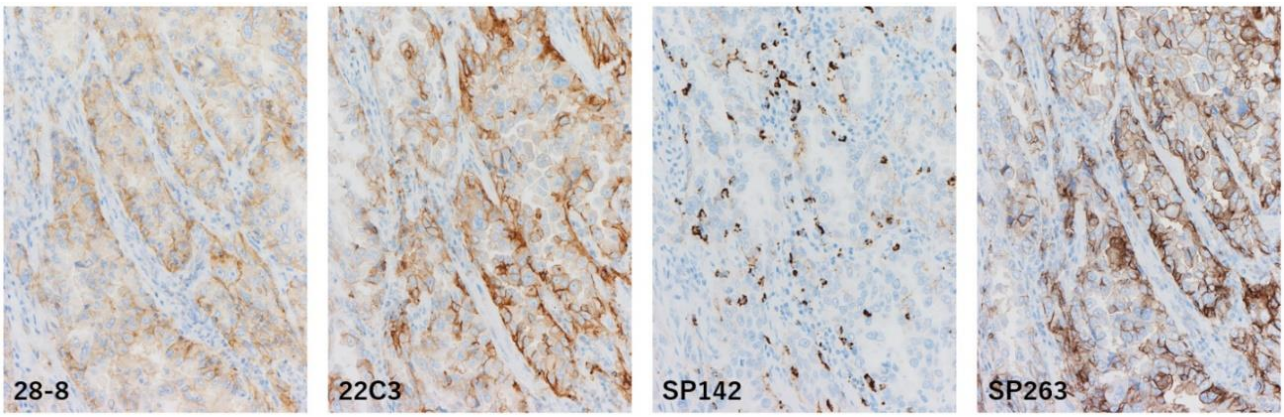


図６． それぞれの抗体クローンによる PD-L1 免疫染色．同一腫瘍の同一部分を同時に染色した．22C3 を標準とすると 28-8 は同等もしくは少し弱め，SP142 は明らかに発現態度が異なる．SP263 は，ほぼ同等もしくは強い強度を示す．

１．解析前セクション

患者情報，標本の種類および診断の概要が記載される必要がある.

標本の種類：切除標本，切開生検，生検組織（気管支/経気管支生検, 針生検), 提出組織：ホルマリン固定標本, 骨を含む標本では脱灰の有無と方法(酸脱灰，EDTA 脱灰), これらの未染標本（標本の種類を記載する）

標本作成時期：ブロック作成や薄切からの時間が結果に影響する可能性がある場合にはこれを記載する.

２．解析セクション

検査方法：使用した抗体の種類やキットの名称, その概要や基本的な操作手順などが記載される. 使用する抗体毎に異なるため，評価対象細胞(腫瘍細胞，腫瘍浸潤免疫細胞)および判定方法を明確に記載する必要がある．また，それぞれのキットには使用期限もあり, 施設内において十分なロット管理を行う必要がある.

３．結果セクション

総合的な標本の適切性：キット同梱のコントロールスライドや施設内コントロールの染色結果.「検査に最適」あるいは「不適（suboptimal)」の別．不適切であった場合はその理由を述べる.

■腫瘍細胞の評価

- 採取された検体中に，適正な評価のための十分量の腫瘍細胞があるか否かを評価するため，切片内でのおおよその腫瘍細胞数(< 100 個または ≥ 100)を記載する.
- 壊死やクラッシュ・アーチファクトを伴う細胞は評価対象外となるため，これが認められる場合にはその旨を記載する.

染色結果：陽性, 陰性もしくは発現の程度(高発現/低発現)について，それぞれの検査法で定められた基準に基づいて結果の報告を行う．また，陽性/陰性の評価だけでなく, 陽性細胞の割合を TPS(%)として記載する. 特に PD-L1 IHC 22C3 では IHC 28-8, SP142, SP263 の染色結果の代用として使用される場合があり，TPS として記載する必要がある. 評価不能の場合には, その理由について説明する.

４．解釈/結論

PD-L1 IHC の結果が免疫チェックポイント阻害薬の投与適応条件を満たすか否か, もしくはその治療効果が期待できるか否かについての臨床的解釈を説明する. 評価不能であった場合には, 他の標本を用いた再検査での検討の可能性についても記載するべきである.

５．標準的な結果様式

PD-L1 IHC には複数の検査方法があり，それぞれ異なる意義をもつ．混乱を防ぐためにも PD-L1 IHC の標準記載様式を提示する.

標本番号： XXXX
ID： XXXX　　患者氏名： XXXX　　年齢：65　　性別：男性

依頼の目的：　再発肺癌に対するペムブロリズマブ治療の適応確認のため
検体の種類：　経気管支生検
提出組織：　ホルマリン固定組織の未染標本（骨を含まず）
検体採取日：XXXX 年 X 月 X 日
固定時間：20 時間　　ホルマリンの種類：10%中性緩衝ホルマリン
標本作成時期：　新鮮薄切標本

検査方法：
使用検査薬　Dako PD-L1 22C3 PharmDX (Lot # 10121104A, Exp. 2017-10-31)
染色　Dako Autostainer Link 48 を用い，検査説明書に基づき施行
染色標本の適切性：
コントロール染色結果：
☑ 陽性コントロールで細胞膜染色強度 2+の腫瘍細胞が 70%以上
☑ 陰性コントロールスライドで陽性細胞が 10 個以下
☑ バックグラウンドの染色強度が 1+未満

腫瘍細胞数：　☑ 100 個以上

PD-L1 IHC 22C3 染色結果：

Tumor Proportion Score：	40%		
Expression status	High expression	≥ 50%	☐
	Low expression	1-49%	☑
	No expression	< 1%	☐

解釈：
PD-L1 IHC 22C3 において TPS 40%であり，Low expression (1-49%)と評価されるため，EGFR，ALK 陰性非小細胞肺癌の治療としてペムブロリズマブによる治療が選択肢として加えることができる.

評価年月日：XXXX 年 X 月 X 日　　病理医氏名： XXXX

参考文献

1. Forde PM, Spicer J, Lu S, Provencio M, Mitsudomi T, Awad MM, et al. Neoadjuvant Nivolumab plus Chemotherapy in Resectable Lung Cancer. N Engl J Med. 2022;386(21):1973-85.

2. Felip E, Altorki N, Zhou C, Csoszi T, Vynnychenko I, Goloborodko O, 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):1344-57.

3. Felip E, Altorki N, Zhou C, Vallieres E, Martinez-Marti A, Rittmeyer A, et al. Overall survival with adjuvant atezolizumab after chemotherapy in resected stage II-IIIA non-small-cell lung cancer (IMpower010): a randomised, multicentre, open-label, phase III trial. Ann Oncol. 2023;34(10):907-19.

4. Wakelee H, Liberman M, Kato T, Tsuboi M, Lee SH, Gao S, et al. Perioperative Pembrolizumab for Early-Stage Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2023;389(6):491-503.

5. J.D. Spicer, S. Gao, M. Liberman, T. Kato, M. Tsuboi, S. Lee KC, et al. Overall survival in the KEYNOTE-671 study of perioperative pembrolizumab for early-stage non-small-cell lung cancer (NSCLC). ELCC; 20 Oct2023 LBA56.

6. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, et al. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2017;377(20):1919-29.

7. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, et al. Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC. N Engl J Med. 2018;379(24):2342-50.

8. Faivre-Finn C, Vicente D, Kurata T, Planchard D, Paz-Ares L, Vansteenkiste JF, et al. Four-Year Survival With Durvalumab After Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC-an Update From the PACIFIC Trial. J Thorac Oncol. 2021;16(5):860-7.

9. Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csoszi T, Fulop A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2016;375(19):1823-33.

10. Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csoszi T, Fulop A, 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):2339-49.

11. Mok TSK, Wu Y-L, Kudaba I, Kowalski DM, Cho BC, Turna HZ, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. The Lancet. 2019;393(10183):1819-30.

12. de Castro G, Jr., Kudaba I, Wu YL, Lopes G, Kowalski DM, Turna HZ, et al. Five-Year Outcomes With Pembrolizumab Versus Chemotherapy as First-Line Therapy in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer and Programmed Death Ligand-1 Tumor Proportion Score >/= 1% in the KEYNOTE-042 Study. J Clin Oncol. 2023;41(11):1986-91.

13. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, Creelan B, Horn L, Steins M, et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2017;376(25):2415-26.

14. Herbst RS, Giaccone G, de Marinis F, Reinmuth N, Vergnenegre A, Barrios CH, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of PD-L1-Selected Patients with NSCLC. N Engl J Med. 2020;383(14):1328-39.

15. Jassem J, de Marinis F, Giaccone G, Vergnenegre A, Barrios CH, Morise M, et al. Updated Overall Survival Analysis From IMpower110: Atezolizumab Versus Platinum-Based Chemotherapy in Treatment-Naive Programmed Death-Ligand 1-Selected NSCLC. J Thorac Oncol. 2021;16(11):1872-82.

16. Gandhi L, Rodriguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2018;378(22):2078-92.

17. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, Nogami N, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. N Engl J Med. 2018;378(24):2288-301.

18. West H, McCleod M, Hussein M, Morabito A, Rittmeyer A, Conter HJ, et al. Atezolizumab in combination with carboplatin plus nab-paclitaxel chemotherapy compared with chemotherapy alone as first-line treatment for metastatic non-squamous non-small-cell lung cancer (IMpower130): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. The Lancet Oncology. 2019;20(7):924-37.

19. Garassino MC, Gadgeel S, Speranza G, Felip E, Esteban E, Domine M, et al. Pembrolizumab Plus Pemetrexed and Platinum in Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer: 5-Year Outcomes From the Phase 3 KEYNOTE-189 Study. J Clin Oncol. 2023;41(11):1992-8.

20. Gadgeel S, Rodriguez-Abreu D, Speranza G, Esteban E, Felip E, Domine M, et al. Updated Analysis From KEYNOTE-189: Pembrolizumab or Placebo Plus Pemetrexed and Platinum for Previously Untreated Metastatic Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. J Clin Oncol. 2020;38(14):1505-17.

21. Socinski MA, Nishio M, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, et al. IMpower150 Final Overall Survival Analyses for Atezolizumab Plus Bevacizumab and Chemotherapy in First-Line Metastatic Nonsquamous NSCLC. J Thorac Oncol. 2021;16(11):1909-24.

22. Nishio M, Barlesi F, West H, Ball S, Bordoni R, Cobo M, et al. Atezolizumab Plus Chemotherapy for First-Line Treatment of Nonsquamous NSCLC: Results From the Randomized Phase 3 IMpower132 Trial. J Thorac Oncol. 2021;16(4):653-64.

23. Sugawara S, Lee JS, Kang JH, Kim HR, Inui N, Hida T, et al. Nivolumab with carboplatin, paclitaxel, and bevacizumab for first-line treatment of advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. Ann Oncol. 2021;32(9):1137-47.

24. Paz-Ares L, Luft A, Vicente D, Tafreshi A, Gumus M, Mazieres J, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy for Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2018;379(21):2040-51.

25. Novello S, Kowalski DM, Luft A, Gumus M, Vicente D, Mazieres J, et al. Pembrolizumab Plus Chemotherapy in Squamous Non-

Small-Cell Lung Cancer: 5-Year Update of the Phase III KEYNOTE-407 Study. J Clin Oncol. 2023;41(11):1999-2006.

26. Jotte R, Cappuzzo F, Vynnychenko I, Stroyakovskiy D, Rodriguez-Abreu D, Hussein M, et al. Atezolizumab in Combination With Carboplatin and Nab-Paclitaxel in Advanced Squamous NSCLC (IMpower131): Results From a Randomized Phase III Trial. J Thorac Oncol. 2020;15(8):1351-60.

27. Hellmann MD, Paz-Ares L, Bernabe Caro R, Zurawski B, Kim SW, Carcereny Costa E, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2019;381(21):2020-31.

28. Brahmer JR, Lee JS, Ciuleanu TE, Bernabe Caro R, Nishio M, Urban L, et al. Five-Year Survival Outcomes With Nivolumab Plus Ipilimumab Versus Chemotherapy as First-Line Treatment for Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer in CheckMate 227. J Clin Oncol. 2023;41(6):1200-12.

29. Paz-Ares L, Ciuleanu TE, Cobo M, Schenker M, Zurawski B, Menezes J, et al. First-line nivolumab plus ipilimumab combined with two cycles of chemotherapy in patients with non-small-cell lung cancer (CheckMate 9LA): an international, randomised, open-label, phase 3 trial. Lancet Oncol. 2021.

30. Paz-Ares LG, Ciuleanu T-E, Cobo M, Bennouna J, Schenker M, Cheng Y, et al. First-Line Nivolumab Plus Ipilimumab With Chemotherapy Versus Chemotherapy Alone for Metastatic NSCLC in CheckMate 9LA: 3-Year Clinical Update and Outcomes in Patients With Brain Metastases or Select Somatic Mutations. Journal of Thoracic Oncology. 2023;18(2):204-22.

31. Johnson ML, Cho BC, Luft A, Alatorre-Alexander J, Geater SL, Laktionov K, et al. Durvalumab With or Without Tremelimumab in Combination With Chemotherapy as First-Line Therapy for Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer: The Phase III POSEIDON Study. J Clin Oncol. 2023;41(6):1213-27.

32. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crino L, Eberhardt WE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2015;373(2):123-35.

33. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2015;373(17):1627-39.

34. Herbst RS, Baas P, Kim D-W, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han J-Y, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. The Lancet. 2016;387(10027):1540-50.

35. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. The Lancet. 2017;389(10066):255-65.

36. Borghaei H, Gettinger S, Vokes EE, Chow LQM, Burgio MA, de Castro Carpeno J, et al. Five-Year Outcomes From the Randomized, Phase III Trials CheckMate 017 and 057: Nivolumab Versus Docetaxel in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer. J Clin Oncol. 2021;39(7):723-33.

37. Herbst RS, Garon EB, Kim DW, Cho BC, Gervais R, Perez-Gracia JL, et al. Five Year Survival Update From KEYNOTE-010: Pembrolizumab Versus Docetaxel for Previously Treated, Programmed Death-Ligand 1-Positive Advanced NSCLC. J Thorac Oncol. 2021;16(10):1718-32.

38. Mazieres J, Rittmeyer A, Gadgeel S, Hida T, Gandara DR, Cortinovis DL, et al. Atezolizumab Versus Docetaxel in Pretreated Patients With NSCLC: Final Results From the Randomized Phase 2 POPLAR and Phase 3 OAK Clinical Trials. J Thorac Oncol. 2021;16(1):140-50.

39. Horn L, Mansfield AS, Szczesna A, Havel L, Krzakowski M, Hochmair MJ, et al. First-Line Atezolizumab plus Chemotherapy in Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2018;379(23):2220-9.

40. Paz-Ares L, Dvorkin M, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Trukhin D, et al. Durvalumab plus platinum-etoposide versus platinum-etoposide in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer (CASPIAN): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. Lancet. 2019;394(10212):1929-39.

41. Goldman JW, Dvorkin M, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Trukhin D, et al. Durvalumab, with or without tremelimumab, plus platinum-etoposide versus platinum-etoposide alone in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer (CASPIAN): updated results from a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. Lancet Oncol. 2021;22(1):51-65.

42. Lantuejoul S, Sound-Tsao M, Cooper WA, Girard N, Hirsch FR, Roden AC, et al. PD-L1 Testing for Lung Cancer in 2019: Perspective From the IASLC Pathology Committee. J Thorac Oncol. 2020;15(4):499-519.

43. O'Malley DP, Yang Y, Boisot S, Sudarsanam S, Wang JF, Chizhevsky V, et al. Immunohistochemical detection of PD-L1 among diverse human neoplasms in a reference laboratory: observations based upon 62,896 cases. Mod Pathol. 2019;32(7):929-42.

44. Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, Beasley MB, Borczuk AC, Botling J, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Comparability Study in Real-Life Clinical Samples: Results of Blueprint Phase 2 Project. J Thorac Oncol. 2018;13(9):1302-11.

45. Gosney JR, Boothman AM, Ratcliffe M, Kerr KM. Cytology for PD-L1 testing: A systematic review. Lung Cancer. 2020;141:101-6.

46. 進行肺癌に対する PD-L1 免疫染色についての留意事項について. https://pathology.or.jp/news/whats/PD-L1-170124.html

47. ベンタナ OptiView PD-L1(SP142). https://www.info.pmda.go.jp/downfiles/ivd/PDF/700025_23000EZX00005000_A_04_02.pdf

48. Ilie M, Long-Mira E, Bence C, Butori C, Lassalle S, Bouhlel L, et al. Comparative study of the PD-L1 status between surgically resected specimens and matched biopsies of NSCLC patients reveal major discordances: a potential issue for anti-PD-L1 therapeutic strategies. Ann Oncol. 2016;27(1):147-53.

49. Kim I, Kim A, Lee CH, Lee G, Kim A, Jo EJ, et al. Reliability of PD-L1 assays using small tissue samples compared with surgical specimens. Medicine (Baltimore). 2019;98(14):e14972.

50. Liu Y, Dong Z, Jiang T, Hou L, Wu F, Gao G, et al. Heterogeneity of PD-L1 Expression Among the Different Histological Components and Metastatic Lymph Nodes in Patients With Resected Lung Adenosquamous Carcinoma. Clin Lung Cancer. 2018;19(4):e421-e30.

51. Sheng J, Fang W, Yu J, Chen N, Zhan J, Ma Y, et al. Expression of programmed death ligand-1 on tumor cells varies pre and post chemotherapy in non-small cell lung cancer. Sci Rep. 2016;6:20090.

52. Zhang P, Ma Y, Lv C, Huang M, Li M, Dong B, et al. Upregulation of programmed cell death ligand 1 promotes resistance response in non-small-cell lung cancer patients treated with neo-adjuvant chemotherapy. Cancer Sci. 2016;107(11):1563-71.

53. Omori S, Kenmotsu H, Abe M, Watanabe R, Sugino T, Kobayashi H, et al. Changes in programmed death ligand 1 expression in non-small cell lung cancer patients who received anticancer treatments. Int J Clin Oncol. 2018;23(6):1052-9.

54. Boothman AM, Scott M, Ratcliffe M, Whiteley J, Dennis PA, Wadsworth C, et al. Impact of Patient Characteristics, Prior Therapy, and Sample Type on Tumor Cell Programmed Cell Death Ligand 1 Expression in Patients with Advanced NSCLC Screened for the ATLANTIC Study. J Thorac Oncol. 2019;14(8):1390-9.

55. Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, Ranger-Moore J, Jansson M, Kulangara K, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Assays for Lung Cancer: Results from Phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. J Thorac Oncol. 2017;12(2):208-22.

56. Fujimoto D, Sato Y, Uehara K, Ishida K, Fukuoka J, Morimoto T, et al. Predictive Performance of Four Programmed Cell Death Ligand 1 Assay Systems on Nivolumab Response in Previously Treated Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. J Thorac Oncol. 2018;13(3):377-86.

57. Zhou C, Srivastava MK, Xu H, Felip E, Wakelee H, Altorki N, et al. Comparison of SP263 and 22C3 immunohistochemistry PD-L1 assays for clinical efficacy of adjuvant atezolizumab in non-small cell lung cancer: results from the randomized phase III IMpower010 trial. J Immunother Cancer. 2023;11(10).

2024 年 4 月改訂 ・ 2024 年 9 月改訂

追補

PD-L1 IHC の評価に関する e-learning サイトのまとめ

Agilent Dako： PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」検査の染色結果判定トレーニングプログラム

https://pdl122c3-learning.dako.com/jp/

PD-L1 22C3 について，病理診断の概要，高度な分析および解釈，習熟度の評価の 3 つに分けて学習できる．

Roche Ventana：

Roche Academy e-Learning

https://dianews.roche.com/elearning-jptd.html

SP142，SP263 の具体的な判定方法の解説やバーチャルスライドによる実地問題が掲載されている．このサイトにアクセスするためには，メールマガジンへの登録が必要．

MSD：Biomarker Image Bank

https://www.msdconnect.jp/products/keytruda/biomarker-image-bank/test-your-knowledge/#/

22C3 を用いた PD-L1 発現率についてバーチャルスライドを用いた学習ができる．アクセスには医療関係者として登録する必要がある．

表　バイオマーカー検査の保険点数について

製品名 (略　称) 検出法		シングルCDx					マルチCDx			CDx機能付きCGP		
		therascreen® EGFR 変異検出キット RGQ「キアゲン」 (therascreenEGFR) PCR法	コバス® EGFR 変異 検出キット v2.0 (コバスEGFR) PCR法	EGFRリキッド 遺伝子解析 ソフトウェア (EGFRリキッド) NGS法 (アンプリコン)	therascreen® KRAS 変異 検出キット RGQ「キアゲン」 (therascreenKRAS) PCR法	OncoGuide® AmoyDx® ROS1 融合遺伝子検出キット (AmoyDxROS1) PCR法	オンコマイン™ Dx Target Test マルチCDx システム (ODxTTマルチ) NGS法 (アンプリコン)	AmoyDx® 肺癌マルチ遺伝子 PCRパネル (AmoyDxマルチ) PCR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 (コンパクトPマルチ) NGS法 (アンプリコン)	FoundationOne® CDx がんゲノム プロファイル (F1CDx) NGS法 (キャプチャー)	FoundationOne® Liquid CDx がんゲノムプロファイル (F1LiquidCDx) NGS法 (キャプチャー)	Guardant360® CDx がん遺伝子パネル (G360CDx) NGS法 (キャプチャー)
使用可能検体種	FFPE組織検体	●	●		●	●	●	●	●	●		
	新鮮凍結組織検体			●			●	●	●			
	細胞検体						●		●			
	血漿検体		●	●							●	●
肺癌CDx対象遺伝子	EGFR遺伝子変異 (イ)	✓(D)	✓(D)	✓(D)			✓(D)	✓(D)	✓(D)	✓(D)	✓(D)	
	BRAF遺伝子変異 (ロ)						✓(D)	✓(D)	✓(D)			
	KRAS遺伝子変異 (イ)*1				✓(D)			✓(D)	✓(D)			✓(D)
	HER2遺伝子変異 (ロ)*2						✓(D)					✓(D)
	ALK融合遺伝子 (イ)						✓(R)	✓(R)	✓(R)	✓(D)	✓(D)	
	ROS1融合遺伝子 (イ)					✓(R)	✓(R)	✓(R)	✓(R)	✓(D)	✓(D)	
	RET融合遺伝子 (ロ)						✓(R)	✓(R)	✓(R)	✓(D)		
	METex14スキッピング変異 (ロ)						✓(R)*3	✓(R)	✓(R[+D])	✓(D)	✓(D)	
臓器横断CDx対象遺伝子	NTRK融合遺伝子 (ロ)									✓(D)	✓(D)	
	MSI (イ)									✓(D)		✓(D)
	TMB (ロ)									✓(D)		
保険点数	【組織検体】 D004-2 悪性腫瘍組織検体 1 悪性腫瘍遺伝子検査	2,500点 処理が容易なもの 2,500点	2,500点 処理が容易なもの 2,500点	2,500点 処理が容易なもの 2,500点	2,500点 処理が容易なもの 2,500点	2,500点 処理が容易なもの 2,500点	18,000点*3 イ 3項目 6,000点 ロ 3項目以上 12,000点		20,000 点 イ 4項目 8,000点 ロ 3項目以上 12,000点	20,000点 イ 4項目 8,000点 ロ 3項目以上 12,000点		
	【組織検体】 D006-24 肺癌関連遺伝子 多項目同時検査							12,500点 –				
	【血漿検体】 D006-27 悪性腫瘍遺伝子検査 (血液・血漿)										14,000点 イ$ 3項目 6,000点 ロ$ 2項目 8,000点	9,000点 イ$ 2項目 4,000点 ロ$ 1項目 5,000点
	【血漿検体】 D006-12 EGFR遺伝子検査 (血漿)		2,100点 –									
	説　明 (積算方式のマルチCDx関連)	D004-2　悪性腫瘍組織検査 ・シングルCDx：イ　処理が容易なもの 2500点(NGSを除く) [EGFR，ROS1，ALK，KRAS G12C, MSI]，ロ　処理が複雑なもの5000点 [BRAF，METex14，RET，HER2，NTRK，TMB] ・マルチCDx：イ　処理が容易なもの 2項目 4000点，3項目 6000点，4項目以上 8000点，　ロ　処理が複雑なもの2項目 8000点，3項目以上 12000点 D006-27 悪性腫瘍遺伝子検査 (血液・血漿) ・シングルCDx：ROS1，ALK 2500点 (D004-2のイに相当)，METex14，NTRK 5000点 (D004-2のロに相当) ・マルチCDx：イ相当のもの（D006-12 EGFR含む）2項目 4000点，3項目 6000点，ロ相当のもの2項目 8000点										

✓(D); DNAを用いて検出，✓(R); RNAを用いて検出

イ・ロ; D004-2の処理に関する区分（イ　処理が容易なもの，ロ 処理が複雑なもの）．$D006-12にはイ・ロの分類はないが，D004-2に対応する分類に相当するものとして記載

*1; KRASG12C変異のみが対象　　*2; HER2の正式な遺伝子名はERBB2　　*3; 2024年4月30日時点においてCDx承認・保険未収載.

付表1-1　各コンパニオン診断法における報告対象バリアント：遺伝子変異

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	シングルCDx				マルチCDx			CDx機能付CGP		
					thera screen EGFR	コバス EGFR	EGFR リキッド	thera screen KRAS	ODxTT マルチ	AmoyDx マルチ	コンパクトP マルチ	F1CDx	F1Liquid CDx	G360 CDx
EGFR	3	COSM1451536	c.322A>G	p.R108G	C	C	C		B2	C	C	B1	B1	B1
EGFR	3	COSM21683	c.323G>A	p.R108K	C	C	C		B2	C	C	B1	B1	B1
EGFR	7	COSM21686	c.865G>A	p.A289T	C	C	C		B2	C	C	B1	B1	B1
EGFR	7	COSM21685	c.866C>A	p.A289D	C	C	C		B2	C	C	B1	B1	B1
EGFR	7	COSM21687	c.866C>T	p.A289V	C	C	C		B2	C	C	B1	B1	B1
EGFR	12	COSM236671	c.1474A>C	p.S492R	C	C	C		B2	C	C	B1	B1	B1
EGFR	12	COSM236670	c.1476C>A	p.S492R	C	C	C		B2	C	C	B1	B1	B1
EGFR	15	COSM3412196	c.1793G>C	p.G598A	C	C	C		B2	C	C	B1	B1	B1
EGFR	15	COSM21690	c.1793G>T	p.G598V	C	C	C		B2	C	C	B1	B1	B1
EGFR	18	COSM12988	c.2125G>A	p.E709K	C	C	C		A	C	A	A	A	B1
EGFR	18	COSM116882	c.2125G>C	p.E709Q	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	18	COSM12428	c.2125_2127delinsCAT	p.E709H	C	C	C		C	C	B2	A	A	B1
EGFR	18	COSM13427	c.2126A>C	p.E709A	C	C	C		A	C	A	A	A	B1
EGFR	18	COSM13009	c.2126A>G	p.E709G	C	C	C		A	C	A	A	A	B1
EGFR	18	COSM12371	c.2126A>T	p.E709V	C	C	C		A	C	A	A	A	B1
EGFR	18	COSM1169617	c.2152C>G	p.L718V	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	18	COSM6503269	c.2153T>A	p.L718Q	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	18	COSM1716255	c.2152C>A	p.L718M	C	C	C		C	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	18	COSM41904	c.2153T>C	p.L718P	C	C	C		C	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	18	COSM6252	c.2155G>A	p.G719S	A	A	C		A	A	A	A	A	B1
EGFR	18	COSM6253	c.2155G>T	p.G719C	A	A	C		A	A	A	A	A	B1
EGFR	18	COSM18441	c.2154_2155delinsTT	p.G719C	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	18	COSM18425	c.2156G>A	p.G719D	C	C	C		A	C	A	A	A	B1
EGFR	18	COSM6239	c.2156G>C	p.G719A	A	A	C		A	A	A	A	A	B1
EGFR	18	COSM13979	c.2170G>A	p.G724S	C	C	C		B2	C	C	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM12423	c.2214_2231dup	p.I740_K745dup	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM51504	c.2217_2234dup	p.I740_K745dup	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM4386694	c.2218_2235dup	p.I740_K745dup	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM26444	c.2219_2236dup	p.K745_E746insVPVAIK	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM12404	c.2229_2252delins8	p.E746Nfs*15	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM87245	c.2231T>C	p.I744T	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM9233243	c.2230A>T	p.I744F	C	C	C		C	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM28512	c.2230A>V	p.I744V	C	C	C		C	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM133186	c.2230_2246delins8	p.I744_E749delinsLKR	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM85798	c.2230_2249delins5	p.I744_A750delinsVK	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM28602	c.2232C>G	p.I744M	C	C	C		C	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM221565	c.2232_2249del	p.K745_A750del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM3734668	c.2232_2249delinsAAA	p.E746_A750del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM26038	c.2233_2247delAAGGAATTAAGAGAA	p.K745_E749del	C	A	B2		A	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM255152	c.2234_2235ins18	p.K745_E746insTPVAIK	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM1190791	c.2234_2248delAGGAATTAAGAGAAG	p.K745_A750delinsT	C	C	B2		A	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM18420	c.2235_2237del	p.E746del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM28517	c.2235_2246delGGAATTAAGAGA	p.E746_E749del	C	C	B2		A	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM13550	c.2235_2248delinsAATTC	p.E746_A759deinsIP	C	A	B2		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6223	c.2235_2249delGGAATTAAGAGAAGC	p.E746_A750del	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM13549	c.2235_2251delinsAG	p.E746_T751delinsA	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM13552	c.2235_2251delinsAATTC	p.E746_T751delinsIP	C	A	B2		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6506513	c.2235_2251delins8	p.E746_T751delinsFPS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM13551	c.2235_2252delGGAATTAAGAGAAGCAACinsAAT	p.E746_T751delinsI	A	A	B2		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM24869	c.2235_2252del	p.E746_T751del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12385	c.2235_2255delinsAAT	p.E746_S752delinsI	C	A	B2		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM3727812	c.2236_2241delins6	p.E746_L747delinsNY	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12413	c.2236_2248delins4	p.E746_A750delinsRP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM13557	c.2236_2248delins4	p.E746_A750delinsQP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6966471	c.2236_2248delins4	p.E746_A750delinsIP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	Su2017	c.2236_2249del	p.E746_A751delins*fs	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM6225	c.2236_2250delGAATTAAGAGAAGCA	p.E746_A750del	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6947327	c.2236_2250delinsCCT	p.E746_A750delinsP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM26513	c.2236_2251delinsT	p.E746_T751delinsS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM26680	c.2236_2252delinsAT	p.E746_T751delinsI	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM22999	c.2236_2252delinsCA	p.E746_T751delinsQ	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM133187	c.2236_2252delinsCT	p.E746_T751delinsL	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12728	c.2236_2253delGAATTAAGAGAAGCAACA	p.E746_T751del	A	A	B2		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM51526	c.2236_2253delins6	p.E746_T751delinsIP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM133188	c.2236_2255delinsAT	p.E746_S752delinsI	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM133189	c.2236_2256del	p.E746_S752del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM133190	c.2236_2256delinsATC	p.E746_S752delinsI	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM133191	c.2236_2257delins4	p.E746_P753delinsIS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM13200	c.2236_2257delins4	p.E746_P753delinsLS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM144207	c.2237_2248delinsCAC	p.E746_A750delinsAP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM28623	c.2237_2250delins5	p.E746_A750delinsVP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12678	c.2237_2251delAATTAAGAGAAGCAA	p.E746_T751delinsA	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM18421	c.2237_2251delinsTTC	p.E746_T751delinsVP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM53205	c.2237_2251delinsTGG	p.E746_T751delinsVA	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6924852	c.2237_2251delins6	p.E746_T751delinsAPS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6968288	c.2237_2251delinsTCC	p.E746_T751delinsVP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6980200	c.2237_2251delinsTTT	p.E746_T751delinsVS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12386	c.2237_2252delinsT	p.E746_T751delinsV	C	A	B2		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12416	c.2237_2253delAATTAAGAGAAGCAACAinsTTGCT	p.E746_T751delinsVA	C	A	A		A	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM133193	c.2237_2253delinsTC	p.E746_T751delinsV	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM52935	c.2237_2253delins5	p.E746_T751delinsVP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12367	c.2237_2254del18	p.E746_S752>A	A	A	B2		C	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12384	c.2237_2255delAATTAAGAGAAGCAACATCinsT	p.E746_S752delinsV	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM18426	c.2237_2256delinsTC	p.E746_S752delinsV	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM674057	c.2237_2256delinsTG	p.E746_S752delinsV	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM18427	c.2237_2257delinsTCT	p.E746_P753delinsVS	C	A	A		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM51524	c.2237_2258delins4	p.E746_P753delinsVQ	C	C	C		C	C	A	A	A	B1

付表1-1　各コンパニオン診断法における報告対象バリアント：遺伝子変異

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	シングルCDx				マルチCDx			CDx機能付CGP		
					thera screen EGFR	コバス EGFR	EGFR リキッド	thera screen KRAS	ODxTT マルチ	AmoyDx マルチ	コンパクトP マルチ	F1CDx	F1Liquid CDx	G360 CDx
EGFR	19	COSM6978341	c.2238_2247del	p.L747Qfs*16	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM12422	c.2238_2248delATTAAGAGAAGinsGC	p.L747_A750delinsP	A	A	B2		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM18428	c.2238_2248delinsTC	p.E746_A750delinsDP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6974307	c.2238_2250delinsC	p.E746_A750delinsD	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM22944	c.2238_2251delinsGC	p.L747_T751del insP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12419	c.2238_2252delATTAAGAGAAGCAACinsGCA	p.L747_T751delinsQ	A	A	B2		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12421	c.2238_2255delins6	p.L747_S752delinsQH	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6220	c.2238_2255delATTAAGAGAAGCAACATC	p.E746_S752delinsD	A	A	B2		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM26441	c.2238_2256delins4	p.L747_S752delinsQ	C	C	B2		C	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM255211	c.2238_2258del	p.L747_P753del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM24267	c.2239_2240delinsCC	p.L747P	C	C	C		C	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM6218	c.2239_2247delTTAAGAGAA	p.E746_R748del	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6952818	c.2239_2247delinsC	p.L747Rfs*13	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM12382	c.2239_2248delTTAAGAGAAGinsC	p.L747_A750delinsP	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM4170220	c.2239_2250delinsCCG	p.L747_A750delinsP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM9179903	c.2239_2250del	p.L747_A750del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12383	c.2239_2251delTTAAGAGAAGCAAinsC	p.L747_T751delinsP	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12420	c.2239_2252delinsCA	p.L747_T751delinsQ	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM23572	c.2239_2253delinsGCT	p.L747_T751delinsA	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6254	c.2239_2253del15	p.L747_T751del	A	A	C		C	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM51503	c.2239_2253delinsAAT	p.L747_T751delinsN	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM133196	c.2239_2255delins5	p.L747_S752delinsQH	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6255	c.2239_2256delTTAAGAGAAGCAACATCT	p.L747_S752del	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12403	c.2239_2256delinsCAA	p.L747_S752delinsQ	C	A	B2		C	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12387	c.2239_2258delTTAAGAGAAGCAACATCTCCinsCA	p.L747_P753delinsQ	A	A	B2		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM51501	c.2239_2259delinsCAA	p.L747_P753delinsQ	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM1667023	c.2239_2261delins11	p.L747_K754delinsANKG	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM24970	c.2239_2262del	p.L747_K754del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM85891	c.2239_2264delins5	p.L747_A755delinsAN	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM7410537	c.2240delins12	p.L747*	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM4170221	c.2240_2248del	p.L747_A750delinsS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6210	c.2240_2251delTAAGAGAAGCAA	p.L747_T751delinsS	A	A	B2		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12369	c.2240_2254delTAAGAGAAGCAACAT	p.L747_T751del	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12370	c.2240_2257delTAAGAGAAGCAACATCTC	p.L747_P753delinsS	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM20883	c.2240_2261delins4	p.L747_K754delinsST	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6933365	c.2240_2263delins6	p.L747_A755delinsSMS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM1667026	c.2240_2264delins7	p.L747_A755delinsSKG	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM18442	c.2241_2244delins4	p.L747_R748delinsFP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM26440	c.2248_2273delinsCC	p.A750_E758delinsP	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM26439	c.2248_2274del	p.A750_E758del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM5023004	c.2248_2276delins5	p.A750_I759delinsPT	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM5023005	c.2249_2277delins5	p.A750_I759delinsGS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM26718	c.2250_2264del	p.T751_A755del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM1667024	c.2250_2276delinsCAA	p.T751_I759delinsN	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM22945	c.2251_2277delinsTCT	p.T751_I759delinsS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM133200	c.2251_2276delinsTC	p.T751_I759delinsS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM23634	c.2252_2275del	p.T751_E758del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM12410	c.2252_2275delinsG	p.T751Sfs*4	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM96856	c.2252_2276delinsA	p.T751_I759delinsN	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM1667027	c.2252_2276delinsG	p.T751_I759delinsS	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM24270	c.2252_2277delinsAT	p.T751_I759delinsN	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM22956	c.2252_2277delins8	p.T751_I759delinsREA	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6978342	c.2253_2257del	p.S752Efs*9	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	19	COSM13556	c.2253_2276del	p.S752_I759del	C	A	B2		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM6256	c.2254_2277del	p.S752_I759del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM24269	c.2258_2278del	p.P753_I759del	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	19	COSM24972	c.2268_2270dup	p.N756dup	C	C	C		C	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM26720	c.2284-5_2290dup	p.A763_Y764insFQEA	C	C	C		B2	C	A	A	A	B1
EGFR	20	COSM1651740	c.2301_2302insTACGTGATG	p.A767_S768insYVM	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM12425	c.2302_2303insCGCTGGCCA	p.M766_A767insATL	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM13559	c.2302_2303insTAGCCA	p.M766_A767insAI	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1651741	c.2303_2304insTGTGGCCAA	p.S768_V769insVAN	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM20884	c.2303_2304insTGTGGCCAG	p.M766_A767insASV	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6984779	c.2303_2305delGCGinsTCC	p.S768_V769delinsIL	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM85750	c.2303_2305delGCGinsTCT	p.S768_V769delinsIL	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6241	c.2303G>T	p.S768I	A	A	C		A	A	A	A	A	B1
EGFR	20	COSM28638	c.2307_2308insATGGCCAGCGTGGAC	p.V769_D770insMASVD	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM12379	c.2307_2308insTGCGTG	p.S768_V769insVC	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM20885	c.2307_2308insGACAACGTG	p.N771_P772insVDN	C	C	C		C	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	—	c.2308_2308delGinsAACAACCCCC	p.D770delinsNNPH	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM12376	c.2308_2309insCCAGCGTGG	p.M766_A767insASV	A	A	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6983510	c.2308_2309insGCACAC	p.D770delinsGTH	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM18429	c.2308_2309insGCAGCGTGG	p.A767_S768insSVG	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1235344	c.2308_2309insGGAGCGTGG	p.A767_S768insSVG	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	—	c.2308_2309insGGGGGG	p.V769_D770insGG	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM18430	c.2308_2309insGGGTCGTGG	p.S768_V769insVGV	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM12427	c.2308_2309insGTT	p.D770delinsGY	C	C	C		B2	A	A	A	B1	B1
EGFR	20	COSM6506514	c.2308_2309insTGG	p.S768_V769insV	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM13558	c.2309_2310delACinsCCAGCGTGGAT	p.A767_V769dup	C	A	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1651742	c.2309_2310insGCGTGGAGA	p.V769_D770insERG	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	—	c.2309_2311delACAinsCTGGCC	p.D770_N771delinsAGH	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM12737	c.2309_2312delACAAinsCTGGTGG	p.D770_N771delinsAGG	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	—	c.2310_2311insCAC	p.D770_N771insH	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM4970107	c.2310_2311insCAGCGTGGC	p.D770_N771insQRG	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM20886	c.2310_2311insGCACCGTGG	p.D770_N771insAPW	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM13004	c.2310_2311insGGC	p.D770_N771insG	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1238029	c.2310_2311insGGCACA	p.D770_N771insGT	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1

付表1-1　各コンパニオン診断法における報告対象バリアント：遺伝子変異

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	シングルCDx				マルチCDx			CDx機能付CGP		
					thera screen EGFR	コバス EGFR	EGFR リキッド	thera screen KRAS	ODxTT マルチ	AmoyDx マルチ	コンパクトP マルチ	F1CDx	F1Liquid CDx	G360 CDx
EGFR	20	COSM22955	c.2310_2311insGGCGAC	p.V769_D770insDG	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2310_2311insGGG	p.D770_N771insG	C	C	C		B2	A	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM85795	c.2310_2311insGGGGAC	p.V769_D770insDG	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM48921	c.2310_2311insGGGTTA	p.D770_N771insGL	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM655155	c.2310_2311insGGGTTT	p.D770_N771insGF	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM12378	c.2310_2311insGGT	p.D770_N771insG	A	A	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1238030	c.2310_2311insTAC	p.D770_N771insY	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6962256	c.2310_2311insTACGTGATGGCCAGCGTGGAC	p.A763_Y764insYVMASVD	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2311_2311delAinsCCCC	p.N771delinsPH	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM53189	c.2311_2311delAinsGGTT	p.N771delinsGY	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM5023007	c.2311_2311delAinsGTCC	p.N771delinsVH	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM18431	c.2311_2312delAAinsGGGTT	p.N771delinsGF	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM22946	c.2311_2312insCAC	p.N771delinsTH	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM5023008	c.2311_2312insCCA	p.D770_N771insT	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6920147	c.2311_2312insGCACCC	p.N771delinsSTH	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1651743	c.2311_2312insGCGTCGAAA	p.D770_N771insSVE	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM13428	c.2311_2312insGCGTGGACA	p.A767_S768insSVD	C	A	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM24434	c.2311_2312insGTC	p.N771delinsSH	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1651744	c.2311_2312insGTGGCC	p.N771delinsSGH	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM26719	c.2311_2312insTGGCCACCCCCA	p.D770_N771insMATP	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2312_2313insACA	p.N771delinsKH	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6438147	c.2312_2313insACT	p.N771delinsKL	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2312_2313insGGACAA	p.V769_D770insDK	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM13554	c.2312_2315delinsGCGTGGACAACCG	p.N771_P772delinsSVDNR	C	C	C		C	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2313_2313delCinsGGGG	p.N771delinsKG	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM13003	c.2313_2314insAAC	p.D770_N771insN	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2313_2314insACA	p.N771_P772insT	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6922328	c.2313_2314insGTC	p.N771_P772insV	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2313_2314insTTG	p.N771_P772insL	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2314_2315insACAACC	p.D770_N771insNH	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1238031	c.2314_2315insACC	p.N771_P772insH	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6931207	c.2314_2315insACCACC	p.N771_P772insHH	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM166390	c.2314_2315insGGCACC	p.N771_P772insRH	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2314_2315insTCC	p.N771_P772insL	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM48923	c.2315_2316insGACACACCC	p.N771_P772insPTH	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6845099	c.2315_2316insGGACAACCC	p.V769_D770insDNP	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM12388	c.2316_2316delCinsAACCCCT	p.P772_H773insTP	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2316_2316delCinsTCACCCTCACCCT	p.P772_H773insHPHP	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2316_2317insAACCCC	p.D770_N771insNP	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6977296	c.2316_2317insACACCCAACCCC	p.D770_N771insNPTP	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1651745	c.2316_2317insGACAACCCC	p.V769_D770insDNP	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2316_2317insGGAAACCCC	p.D770_N771insNPG	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2316_2317insGGCAACCCC	p.D770_N771insNPG	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2316_2317insGGCACC	p.P772_H773insGT	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2316_2317insGTGGACAACCCC	p.S768_V769insVDNP	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM255205	c.2316_2317insGTT	p.P772_H773insV	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2317_2317delCinsAACCCCT	p.H773delinsNPY	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2317_2318insCCAACCCCC	p.D770_N771insNPP	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1735761	c.2317_2318insCTAACCCCT	p.H773delinsPNPY	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2317_2318insGTT	p.H773delinsRY	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM5023006	c.2319_2320insAACCAC	p.P772_H773insHN	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM12381	c.2319_2320insAACCCCCAC	p.D770_N771insNPH	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM3727813	c.2319_2320insACACAACCCCCC	p.H773_V774insTQPP	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM12377	c.2319_2320insCAC	p.P772_H773insH	A	A	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM131552	c.2319_2320insCAG	p.H773_V774insQ	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM12380	c.2319_2320insCCCCAC	p.N771_P772insPH	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM1238028	c.2320_2321insCCCACG	p.P772_H773insHA	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM51544	c.2320_2321insGCAACCCCCACG	p.D770_N771insNPHG	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM18432	c.2321_2322insCCACGT	p.P772_H773insHV	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM22948	c.2322_2323insCACGTG	p.P772_H773insHV	C	C	C		B2	A	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM4170223	c.2322_2323insCCACGT	p.V774_C775insPR	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6845098	c.2322_2323insCCCCACGTG	p.N771_P772insPHV	C	C	C		B2	C	A	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM22954	c.2324G>A	p.C775Y	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6240	c.2369C>T	p.T790M	A	A	B2		A	A	B2	A	A	B1
EGFR	20	ー	c.2374C>G	p.L792V	C	C	B2		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6493934	c.2375T>A	p.L792H	C	C	B2		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM20891	c.2386G>A	p.G796S	C	C	B2		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6493935	c.2386G>C	p.G796R	C	C	B2		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	ー	c.2386G>T	p.G796C	C	C	B2		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM6493937	c.2389T>A	p.C797S	C	C	B2		B2	A	B2	B1	B1	B1
EGFR	20	COSM5945664	c.2390G>C	p.C797S	C	C	B2		B2	A	B2	B1	B1	B1
EGFR	21	COSM13424	c.2497T>G	p.L833V	C	C	C		C	C	B2	A	A	B1
EGFR	21	COSM13426	c.2512C>G	p.L838V	C	C	C		C	C	B2	A	A	B1
EGFR	21	COSM87246	c.2561C>T	p.T854I	C	C	C		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	21	COSM12366	c.2572C>A	p.L858M	C	C	B2		B2	C	B2	B1	B1	B1
EGFR	21	COSM6224	c.2573T>G	p.L858R	A	A	A		A	A	A	A	A	B1
EGFR	21	COSM12429	c.2573_2574delinsGT	p.L858R	C	A	A		C	C	A	A	A	B1
EGFR	21	COSM133630	c.2573_2574delinsGA	p.L858R	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	21	COSM13553	c.2572_2573inv	p.L858R	C	C	C		C	C	A	A	A	B1
EGFR	21	COSM6213	c.2582T>A	p.L861Q	A	A	B2		A	A	A	A	A	B1
EGFR	21	COSM12374	c.2582T>G	p.L861R	C	C	B2		A	C	A	A	A	B1
BRAF	11	COSM453	c.1397G>A	p.G466E					B2	C	C	B1	B1	B1
BRAF	11	COSM451	c.1397G>T	p.G466V					B2	C	C	B1	B1	B1
BRAF	11	COSM457	c.1405G>A	p.G469R					B2	C	C	B1	B1	B1
BRAF	11	COSM460	c.1406G>C	p.G469A					B2	C	C	B1	B1	B1
BRAF	11	COSM459	c.1406G>T	p.G469V					B2	C	C	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM27639	c.1780G>A	p.D594N					B2	C	B2	B1	B1	B1

付表1-1　各コンパニオン診断法における報告対象バリアント：遺伝子変異

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	シングルCDx				マルチCDx			CDx機能付CGP		
					thera screen EGFR	コバス EGFR	EGFR リキッド	thera screen KRAS	ODxTT マルチ	AmoyDx マルチ	コンパクトP マルチ	F1CDx	F1Liquid CDx	G360 CDx
BRAF	15	COSM467	c.1781A>G	p.D594G					B2	C	B2	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM469	c.1786G>C	p.G596R					C	C	B2	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM7807516	c.1786G>A	p.G596S					C	C	B2	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM6936824	c.1786G>T	p.G596C					C	C	B2	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM9145962	c.1787G>T	p.G596V					C	C	B2	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM26506	c.1787G>A	p.G596D					C	C	B2	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM473	c.1798_1799delGTinsAA	p.V600K					B2	C	B2	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM474	c.1798_1799delGTinsAG	p.V600R					B2	C	B2	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM475	c.1799_1800delTGinsAA	p.V600E					A	C	A	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM1133	c.1799_1801delTGA	p.V600_K601delinsE					B2	C	B2	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM476	c.1799T>A	p.V600E					A	A	A	B1	B1	B1
BRAF	15	COSM478	c.1801A>G	p.K601E					B2	C	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM512	c.34_35delGGinsTT	p.G12F				C	B2	C	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM517	c.34G>A	p.G12S				C	B2	B2	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM518	c.34G>C	p.G12R				C	B2	B2	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM516	c.34G>T	p.G12C				A	B2	A	B2	B1	B1	A
KRAS	2	COSM521	c.35G>A	p.G12D				C	B2	B2	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM522	c.35G>C	p.G12A				C	B2	B2	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM520	c.35G>T	p.G12V				C	B2	B2	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM528	c.37G>A	p.G13S				C	B2	C	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM529	c.37G>C	p.G13R				C	B2	C	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM527	c.37G>T	p.G13C				C	B2	B2	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM531	c.38_39delGCinsAT	p.G13D				C	B2	C	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM532	c.38G>A	p.G13D				C	B2	C	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM533	c.38G>C	p.G13A				C	B2	C	B2	B1	B1	B1
KRAS	2	COSM534	c.38G>T	p.G13V				C	B2	C	B2	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM546	c.175G>A	p.A59T				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM547	c.176C>A	p.A59E				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM28518	c.176C>G	p.A59G				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM87298	c.180_181delTCinsAA	p.Q61K				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM549	c.181C>A	p.Q61K				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM550	c.181C>G	p.Q61E				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM551	c.182A>C	p.Q61P				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM552	c.182A>G	p.Q61R				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM553	c.182A>T	p.Q61L				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM554	c.183A>C	p.Q61H				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	3	COSM555	c.183A>T	p.Q61H				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	4	COSM19940	c.351A>C	p.K117N				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	4	COSM28519	c.351A>T	p.K117N				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	4	COSM19404	c.436G>A	p.A146T				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	4	COSM19905	c.436G>C	p.A146P				C	B2	C	C	B1	B1	B1
KRAS	4	COSM19900	c.437C>T	p.A146V				C	B2	C	C	B1	B1	B1
ERBB2	8	COSM94225	c.929C>A	p.S310Y					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	8	COSM48358	c.929C>T	p.S310F					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	8	COSM6906440	c.929_930delinsAT	p.S310Y					C	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	17	COSM1756937	c.1967C>T	p.S656F					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM1382870	c.1970C>T	p.A657V					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM6503261	c.1976T>A	p.V659D					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM3724566	c.1976_1977inv	p.V659E					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM6503262	c.1976_1977delinsAG	p.V659E					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM4849559	c.1978G>C	p.G660R					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM4681497	c.1979G>A	p.G660D					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM6986868	c.1981A>G	p.I661V					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM6352924	c.1984C>G	p.L662V					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM978667	c.1988T>C	p.L663P					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM7347803	c.2009T>G	p.V670G					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM6854377	c.2017A>T	p.I673F					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM7339427	c.2024T>C	p.I675T					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM4958454	c.2030G>A	p.R677Q					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM6965226	c.2032C>T	p.R678W					C	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	17	COSM436498	c.2033G>A	p.R678Q					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	18	COSM14059	c.2198C>T	p.T733I					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	19	COSM683	c.2263_2264delTTinsCC	p.L755P					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	19	COSM6906940	c.2263_2264delTTinsGC	p.L755A					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	19	COSM1205571	c.2263T>A	p.L755M					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	19	COSM5029269	c.2264_2278delTGAGGGAAAACACAT	p.L755_T759del					B2	C	C	B1	B1	B1
ERBB2	19	COSM14060	c.2264T>C	p.L755S					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	19	COSM436499	c.2264T>G	p.L755W					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	19	COSM7706857	c.2299A>T	p.I767F					B2	C	C	B1	B1	A
ERBB2	19	COSM51317	c.2301C>G	p.I767M					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	19	COSM1302747	c.2305G>A	p.D769N					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	19	COSM13170	c.2305G>C	p.D769H					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	19	COSM1251412	c.2305G>T	p.D769Y					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM20959	c.2324_2325insATACGTGATGGC	p.E770_A771insAYVM					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	ー	c.2325_2326insACCGTGATGGCT	p.Y772_V773insVMAT					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM12558	c.2325_2326insTACGTGATGGCT	p.A771_Y772insYVMA					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM12554	c.2326_2326delGinsCTTT	p.G776delinsLC					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM19875	c.2326_2326delGinsTTGT	p.G776delinsLC					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	ー	c.2326_2327delGGinsTGTGT	p.G776delinsCV					B2	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	20	ー	c.2326_2327insTAG	p.A775_G776insV					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	ー	c.2326_2327insTAT	p.G776delinsVC					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	ー	c.2326_2327insTCG	p.A775_G776insV					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	ー	c.2326_2327insTCGTGATGGCTG	p.Y772_V773insVMAV					B2	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	20	COSM85995	c.2326_2327insTCT	p.G776delinsVC					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	ー	c.2326_2327insTGG	p.A775_G776insV					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM12553	c.2326_2327insTGT	p.G776delinsVC					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	ー	c.2326_2327insTTG	p.A775_G776insV					A	C	B2	B1	B1	A

付表1-1　各コンパニオン診断法における報告対象バリアント：遺伝子変異

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	シングルCDx				マルチCDx			CDx機能付CGP		
					thera screen EGFR	コバス EGFR	EGFR リキッド	thera screen KRAS	ODxTT マルチ	AmoyDx マルチ	コンパクトP マルチ	F1CDx	F1Liquid CDx	G360 CDx
ERBB2	20	COSM12552	c.2326_2327insTTT	p.G776delinsVC					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM685	c.2326G>A	p.G776S					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM303938	c.2326G>T	p.G776C					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM20895	c.2326delinsTTAT	p.G776delinsLC					C	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM18609	c.2327G>T	p.G776V					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM6438151	c.2328_2329insCTT	p.G776_V777insL					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM14064	c.2329G>A	p.V777M					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM436500	c.2329G>C	p.V777L					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM14062	c.2329G>T	p.V777L					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	ー	c.2330_2331insAGGTTGTGT	p.G776_V777insVGC					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20			G776_V777delinsCVCG					C	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20			G776_V777insVC					C	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM303939	c.2331_2332insTGTGGG	p.V777_G778insCG					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM5802314	c.2333_2334insGCTCCCCAG	p.G778_S779insLPS					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM26681	c.2333_2334insGGG	p.V777_G778insG					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	ー	c.2335_2336insGCCCAGGCT	p.V777_G778insGCP					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM681	c.2336_2337insTGTGGGCTC	p.G776_V777insVGS					A	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	ー	c.2338_2339insGCTCCC	p.G778_S779insSR					B2	C	B2	B1	B1	B1
ERBB2	20	COSM6865893	c.2339_2340insCGGCTCCCC	p.V777_G778insGSP					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM12555	c.2339_2340insGGGCTCCCC	p.V777_G778insGSP					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM303948	c.2339_2340insTGGCTCCCC	p.V777_G778insGSP					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20	COSM12556	c.2340_2341insGGCTCCCCA	p.V777_G778insGSP					A	B2	B2	B1	B1	A
ERBB2	20			T798I					C	C	B2	B1	B1	A
ERBB2	21	COSM14065	c.2524G>A	p.V842I					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	21	ー	c.2584A>G	p.T862A					B2	C	C	B1	B1	B1
ERBB2	21	ー	c.2585C>T	p.T862I					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	21	COSM249793	c.2606T>G	p.L869R					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	22	COSM14066	c.2686C>T	p.R896C					A	C	C	B1	B1	A
ERBB2	22	COSM119971	c.2687G>A	p.R896H					A	C	C	B1	B1	A

付表1-2　肺癌コンパクトパネルにおける報告対象バリアント：遺伝子変異（付表1-1以外*）

*; 本リストは，コンパクトPにおいて2024年3月以降に新たに追加報告のあったバリアント

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID等 (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	マルチCDx コンパクトP マルチ
EGFR	18	COSM116797	c.2147A>G	p.K716R	B2
EGFR	18	COSM12372	c.2144T>G	p.I715S	B2
EGFR	18	COSM12373	c.2159C>T	p.S720F	B2
EGFR	18	COSM1238071	c.2113A>G	p.R705G	B2
EGFR	18	COSM133148	c.2128A>G	p.T710A	B2
EGFR	18	COSM133149	c.2120T>C	p.L707S	B2
EGFR	18	COSM133182	c.2098A>G	p.N700D	B2
EGFR	18	COSM133183	c.2142G>C	p.K714N	B2
EGFR	18	COSM133184	c.2150T>C	p.V717A	B2
EGFR	18	COSM20817	c.2107C>G	p.L703V	B2
EGFR	18	COSM20848	c.2156del	p.G719Afs*29	B2
EGFR	18	COSM22992	c.2161G>A	p.G721S	B2
EGFR	18	COSM22993	c.2162G>A	p.G721D	B2
EGFR	18	COSM24435	c.2125_2129del	p.E709*	B2
EGFR	18	COSM24671	c.2104G>A	p.A702T	B2
EGFR	18	COSM249886	c.2096C>T	p.P699L	B2
EGFR	18	COSM28508	c.2104G>T	p.A702S	B2
EGFR	18	COSM28509	c.2123A>T	p.K708M	B2
EGFR	18	COSM28510	c.2162G>C	p.G721A	B2
EGFR	18	COSM28511	c.2108T>C	p.L703P	B2
EGFR	18	COSM28601	c.2135T>C	p.F712S	B2
EGFR	18	COSM3266631	c.2105C>A	p.A702D	B2
EGFR	18	COSM329080	c.2101C>T	p.Q701*	B2
EGFR	18	COSM41603	c.2134T>C	p.F712L	B2
EGFR	18	COSM4424126	c.2105C>T	p.A702V	B2
EGFR	18	COSM4680400	c.2141dup	p.I715Dfs*14	B2
EGFR	18	COSM48981	c.2126_2129delinsG	p.E709_T710delinsG	B2
EGFR	18	COSM51496	c.2158T>A	p.S720T	B2
EGFR	18	COSM51525	c.2127_2129del	p.E709_T710delinsD	B2
EGFR	18	COSM53214	c.2160C>A	p.S720S	B2
EGFR	18	COSM53225	c.2112G>A	p.L704L	B2
EGFR	18	COSM53226	c.2099A>G	p.N700S	B2
EGFR	18	COSM53228	c.2123A>G	p.K708R	B2
EGFR	18	COSM53232	c.2122A>G	p.K708E	B2
EGFR	18	COSM53234	c.2136C>T	p.F712F	B2
EGFR	18	COSM53286	c.2098A>T	p.N700Y	B2
EGFR	18	COSM53287	c.2131G>A	p.E711K	B2
EGFR	18	COSM5632947	c.2141A>C	p.K714T	B2
EGFR	18	COSM5967282	c.2155_2156dup	p.S720Afs*29	B2
EGFR	18	COSM6005743	c.2108T>A	p.L703H	B2
EGFR	18	COSM6008913	c.2118C>A	p.I706I	B2
EGFR	18	COSM6208	c.2121G>A	p.L707L	B2
EGFR	18	COSM6506511	c.2132A>G	p.E711G	B2
EGFR	18	COSM6506512	c.2140A>G	p.K714E	B2
EGFR	18	COSM6506515	c.2142G>T	p.K714N	B2
EGFR	18	COSM6959367	c.2120T>G	p.L707W	B2
EGFR	18	COSM7168868	c.2157C>A	p.G719G	B2
EGFR	18	COSM747426	c.2159C>G	p.S720C	B2
EGFR	18	COSM7506552	c.2130T>A	p.T710T	B2
EGFR	18	COSM8368660	c.2136C>G	p.F712L	B2
EGFR	18	COSM85796	c.2126_2128del	p.E709_T710delinsA	B2
EGFR	18	COSM88729	c.2158T>C	p.S720P	B2
EGFR	18	COSM9233242	c.2146A>G	p.K716E	B2
EGFR	19	COSM1140059	c.2261A>T	p.K754I	B2
EGFR	19	COSM1168015	c.2258C>T	p.P753L	B2
EGFR	19	COSM13184	c.2236G>A	p.E746K	B2
EGFR	19	COSM13185	c.2252C>T	p.T751I	B2
EGFR	19	COSM13186	c.2255C>A	p.S752Y	B2
EGFR	19	COSM133198	c.2243G>A	p.R748K	B2
EGFR	19	COSM133199	c.2246A>G	p.E749G	B2
EGFR	19	COSM133588	c.2270A>G	p.K757R	B2
EGFR	19	COSM14243	c.2234A>G	p.K745R	B2
EGFR	19	COSM1716256	c.2228C>T	p.A743V	B2
EGFR	19	COSM18424	c.2265C>T	p.A755A	B2
EGFR	19	COSM18489	c.2259G>A	p.P753P	B2
EGFR	19	COSM22995	c.2262A>G	p.K754K	B2
EGFR	19	COSM23633	c.2276T>A	p.I759N	B2
EGFR	19	COSM25861	c.2274A>C	p.E758D	B2
EGFR	19	COSM26435	c.2267A>G	p.N756S	B2
EGFR	19	COSM26704	c.2240T>C	p.L747S	B2
EGFR	19	COSM29274	c.2254T>C	p.S752P	B2
EGFR	19	COSM3734671	c.2263G>A	p.A755T	B2
EGFR	19	COSM4170219	c.2255C>T	p.S752F	B2
EGFR	19	COSM4362784	c.2237A>C	p.E746A	B2
EGFR	19	COSM52932	c.2266A>T	p.N756Y	B2
EGFR	19	COSM53195	c.2243G>T	p.R748I	B2
EGFR	19	COSM53229	c.2232C>A	p.I744I	B2
EGFR	19	COSM5608354	c.2272G>A	p.E758K	B2
EGFR	19	COSM5991529	c.2278C>T	p.L760F	B2
EGFR	19	COSM6110415	c.2259G>T	p.P753P	B2
EGFR	19	COSM6196863	c.2264C>T	p.A755V	B2
EGFR	19	COSM6219	c.2248G>C	p.A750P	B2
EGFR	19	COSM6268	c.2257C>T	p.P753S	B2
EGFR	19	COSM6849765	c.2237A>G	p.E746G	B2
EGFR	19	COSM6849768	c.2246A>T	p.E749V	B2
EGFR	19	COSM6849769	c.2234A>C	p.K745T	B2
EGFR	19	COSM6851615	c.2274A>G	p.E758E	B2

付表1-2　肺癌コンパクトパネルにおける報告対象バリアント：遺伝子変異（付表1-1以外*）

*; 本リストは，コンパクトPにおいて2024年3月以降に新たに追加報告のあったバリアント

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID等 (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	マルチCDx
					コンパクトP マルチ
EGFR	19	COSM6851641	c.2238A>G	p.E746E	B2
EGFR	19	COSM6921640	c.2279T>C	p.L760P	B2
EGFR	19	COSM6954013	c.2264C>G	p.A755G	B2
EGFR	19	COSM6964726	c.2241A>C	p.L747F	B2
EGFR	19	COSM707173	c.2273A>G	p.E758G	B2
EGFR	19	COSM85960	c.2261A>G	p.K754R	B2
EGFR	19	COSM85993	c.2260A>G	p.K754E	B2
EGFR	19	COSM8861640	c.2256T>C	p.S752S	B2
EGFR	19	COSM9179905	c.2251A>G	p.T751A	B2
EGFR	19	COSM94183	c.2270A>T	p.K757M	B2
EGFR	20	COSM115794	c.2315C>G	p.P772R	B2
EGFR	20	COSM1168016	c.2373del	p.Q791Hfs*35	B2
EGFR	20	COSM1235323	c.2392C>G	p.L798V	B2
EGFR	20	COSM1272071	c.2368A>G	p.T790A	B2
EGFR	20	COSM12989	c.2303G>A	p.S768N	B2
EGFR	20	COSM13005	c.2318A>T	p.H773L	B2
EGFR	20	COSM13006	c.2320G>A	p.V774M	B2
EGFR	20	COSM13189	c.2351C>T	p.S784F	B2
EGFR	20	COSM13190	c.2375T>C	p.L792P	B2
EGFR	20	COSM13191	c.2392C>T	p.L798F	B2
EGFR	20	COSM133202	c.2336G>A	p.G779D	B2
EGFR	20	COSM133563	c.2294T>G	p.V765G	B2
EGFR	20	COSM133565	c.2387G>A	p.G796D	B2
EGFR	20	COSM133627	c.2339T>G	p.I780S	B2
EGFR	20	COSM133628	c.2353A>C	p.T785P	B2
EGFR	20	COSM13401	c.2292C>T	p.Y764Y	B2
EGFR	20	COSM13425	c.2305G>A	p.V769M	B2
EGFR	20	COSM13433	c.2318A>G	p.H773R	B2
EGFR	20	COSM13434	c.2316C>T	p.P772P	B2
EGFR	20	COSM13554	c.2312_2315delinsGCGTGGACAACCG	p.N771_P772delinsSVDNR	B2
EGFR	20	COSM13555	c.2308_2315delinsCCAGCGTGGATAACCG	p.D770Pfs*59	B2
EGFR	20	COSM14068	c.2308G>A	p.D770N	B2
EGFR	20	COSM1451600	c.2361G>A	p.Q787Q	B2
EGFR	20	COSM1568919	c.2385C>T	p.F795F	B2
EGFR	20	COSM1635349	c.2284-6C>T	p.?_splice_site_intron	B2
EGFR	20	COSM1716257	c.2326C>A	p.R776S	B2
EGFR	20	COSM18422	c.2360A>G	p.Q787R	B2
EGFR	20	COSM20885	2307_2308insGACAACGTG	p.N771_P772insVDN	B2
EGFR	20	COSM214351	c.2339T>C	p.I780T	B2
EGFR	20	COSM22940	c.2327G>A	p.R776H	B2
EGFR	20	COSM22941	c.2334G>T	p.L778L	B2
EGFR	20	COSM22942	c.2335G>T	p.G779C	B2
EGFR	20	COSM22950	c.2351C>A	p.S784Y	B2
EGFR	20	COSM22951	c.2384T>C	p.F795S	B2
EGFR	20	COSM22991	c.2330T>A	p.L777Q	B2
EGFR	20	COSM244213	c.2381C>A	p.P794H	B2
EGFR	20	COSM24436	c.2296_2309dup	p.D770Efs*61	B2
EGFR	20	COSM25016	c.2335G>A	p.G779S	B2
EGFR	20	COSM25090	c.2320G>T	p.V774L	B2
EGFR	20	COSM26445	c.2300C>T	p.A767V	B2
EGFR	20	COSM27110	c.2356G>A	p.V786M	B2
EGFR	20	COSM27568	c.2387G>C	p.G796A	B2
EGFR	20	COSM28603	c.2293G>A	p.V765M	B2
EGFR	20	COSM28608	c.2393T>A	p.L798H	B2
EGFR	20	COSM28930	c.2354C>A	p.T785N	B2
EGFR	20	COSM28943	c.2297T>C	p.M766T	B2
EGFR	20	COSM291998	c.2303G>C	p.S768T	B2
EGFR	20	COSM3736992	c.2306T>C	p.V769A	B2
EGFR	20	COSM3833028	c.2376C>G	p.L792L	B2
EGFR	20	COSM4601600	c.2317C>T	p.H773Y	B2
EGFR	20	COSM4745530	c.2301_2302delinsGG	p.S768G	B2
EGFR	20	COSM4826400	c.2367C>G	p.I789M	B2
EGFR	20	COSM4992971	c.2288C>T	p.A763V	B2
EGFR	20	COSM53103	c.2353A>G	p.T785A	B2
EGFR	20	COSM53104	c.2390G>A	p.C797Y	B2
EGFR	20	COSM53288	c.2354C>T	p.T785I	B2
EGFR	20	COSM5557485	c.2338A>G	p.I780V	B2
EGFR	20	COSM5991527	c.2381C>T	p.P794L	B2
EGFR	20	COSM5991528	c.2315C>T	p.P772L	B2
EGFR	20	COSM6005741	c.2298G>A	p.M766I	B2
EGFR	20	COSM6040422	c.2379G>T	p.M793I	B2
EGFR	20	COSM6191488	c.2318A>C	p.H773P	B2
EGFR	20	COSM6226	c.2326C>T	p.R776C	B2
EGFR	20	COSM6242	c.2305G>T	p.V769L	B2
EGFR	20	COSM6348843	c.2342G>T	p.C781F	B2
EGFR	20	COSM6493927	c.2284-5_2290del	p.?_splice_site_intron	B2
EGFR	20	COSM6493933	c.2374C>T	p.L792F	B2
EGFR	20	COSM6493936	c.2389T>G	p.C797G	B2
EGFR	20	COSM6652287	c.2355C>T	p.T785T	B2
EGFR	20	COSM6652288	c.2302A>G	p.S768G	B2
EGFR	20	COSM6652289	c.2301C>G	p.A767A	B2
EGFR	20	COSM6861620	c.2284-5T>A	p.?_splice_site_intron	B2
EGFR	20	COSM6908551	c.2311_2313del	p.N771del	B2
EGFR	20	COSM6936113	c.2293G>T	p.V765L	B2
EGFR	20	COSM6944131	c.2354C>G	p.T785S	B2
EGFR	20	COSM6962050	2307_2308insGACAACCCC	p.P772_H773insDNP	B2
EGFR	20	COSM6963572	2311_2312insACC	p.N771_P772insH	B2

付表1-2　肺癌コンパクトパネルにおける報告対象バリアント：遺伝子変異（付表1-1以外*）

*; 本リストは，コンパクトPにおいて2024年3月以降に新たに追加報告のあったバリアント

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID等 (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	マルチCDx
					コンパクトP マルチ
EGFR	20	COSM6978402	c.2318_2320delinsTCA	p.H773_V774delinsLM	B2
EGFR	20	COSM6979164	c.2360A>T	p.Q787L	B2
EGFR	20	COSM7648825	c.2284-8C>A	p.?_splice_site_intron	B2
EGFR	20	COSM7997831	c.2344C>T	p.L782F	B2
EGFR	20	COSM9120819	c.2294T>A	p.V765E	B2
EGFR	20	COSM9233187	c.2296A>T	p.M766L	B2
EGFR	20	COSM9263867	c.2359C>A	p.Q787K	B2
EGFR	20	COSM9267426	c.2289C>G	p.A763A	B2
EGFR	20	COSM9274591	c.2388C>T	p.G796G	B2
EGFR	21	COSM116668	c.2516C>T	p.A839V	B2
EGFR	21	COSM1235378	c.2560A>T	p.T854S	B2
EGFR	21	COSM12675	c.2575G>A	p.A859T	B2
EGFR	21	COSM12727	c.2551G>A	p.V851I	B2
EGFR	21	COSM12764	c.2569G>A	p.G857R	B2
EGFR	21	COSM13187	c.2548C>A	p.H850N	B2
EGFR	21	COSM13194	c.2540C>T	p.T847I	B2
EGFR	21	COSM13195	c.2552T>C	p.V851A	B2
EGFR	21	COSM13196	c.2558T>C	p.I853T	B2
EGFR	21	COSM13197	c.2590G>A	p.A864T	B2
EGFR	21	COSM133204	c.2498T>G	p.L833W	B2
EGFR	21	COSM133205	c.2510A>G	p.D837G	B2
EGFR	21	COSM133206	c.2530C>G	p.L844V	B2
EGFR	21	COSM133566	c.2507G>A	p.R836H	B2
EGFR	21	COSM133590	c.2574G>A	p.L858L	B2
EGFR	21	COSM13424	c.2497T>G	p.L833V	B2
EGFR	21	COSM13426	c.2512C>G	p.L838V	B2
EGFR	21	COSM13430	c.2515G>A	p.A839T	B2
EGFR	21	COSM13431	c.2537A>G	p.K846R	B2
EGFR	21	COSM14070	c.2588G>A	p.G863D	B2
EGFR	21	COSM1651735	c.2555A>G	p.K852R	B2
EGFR	21	COSM1717823	c.2585T>G	p.L862R	B2
EGFR	21	COSM18423	c.2500G>T	p.V834L	B2
EGFR	21	COSM20893	c.2522G>A	p.R841K	B2
EGFR	21	COSM20896	c.2500G>A	p.V834M	B2
EGFR	21	COSM211635	c.2548C>T	p.H850Y	B2
EGFR	21	COSM219794	c.2499G>T	p.L833F	B2
EGFR	21	COSM219795	c.2591C>T	p.A864V	B2
EGFR	21	COSM22943	c.2543C>T	p.P848L	B2
EGFR	21	COSM22949	c.2585T>C	p.L862P	B2
EGFR	21	COSM24268	c.2572_2573delinsAA	p.L858K	B2
EGFR	21	COSM24272	c.2589T>G	p.G863G	B2
EGFR	21	COSM24845	c.2487G>A	p.E829E	B2
EGFR	21	COSM24846	c.2491C>T	p.R831C	B2
EGFR	21	COSM24848	c.2581C>G	p.L861V	B2
EGFR	21	COSM24971	c.2513T>C	p.L838P	B2
EGFR	21	COSM250050	c.2570G>A	p.G857E	B2
EGFR	21	COSM26035	c.2591C>A	p.A864E	B2
EGFR	21	COSM26129	c.2572C>T	p.L858L	B2
EGFR	21	COSM26351	c.2575dup	p.A859Gfs*38	B2
EGFR	21	COSM26436	c.2534T>C	p.V845A	B2
EGFR	21	COSM26437	c.2567T>C	p.F856S	B2
EGFR	21	COSM26446	c.2524A>G	p.N842D	B2
EGFR	21	COSM26717	c.2579A>T	p.K860I	B2
EGFR	21	COSM28286	c.2494C>T	p.R832C	B2
EGFR	21	COSM28514	c.2495G>T	p.R832L	B2
EGFR	21	COSM28537	c.2560A>G	p.T854A	B2
EGFR	21	COSM28604	c.2506C>T	p.R836C	B2
EGFR	21	COSM28606	c.2564A>G	p.D855G	B2
EGFR	21	COSM28931	c.2533G>A	p.V845M	B2
EGFR	21	COSM291680	c.2524A>C	p.N842H	B2
EGFR	21	COSM29577	c.2563G>A	p.D855N	B2
EGFR	21	COSM29578	c.2573T>A	p.L858Q	B2
EGFR	21	COSM3366978	c.2495G>A	p.R832H	B2
EGFR	21	COSM3366979	c.2512C>A	p.L838M	B2
EGFR	21	COSM3394833	c.2526C>T	p.N842N	B2
EGFR	21	COSM3412202	c.2527G>C	p.V843L	B2
EGFR	21	COSM3639751	c.2505C>T	p.H835H	B2
EGFR	21	COSM3639752	c.2523G>A	p.R841R	B2
EGFR	21	COSM370916	c.2570G>T	p.G857V	B2
EGFR	21	COSM41665	c.2501T>C	p.V834A	B2
EGFR	21	COSM4302134	c.2581C>T	p.L861L	B2
EGFR	21	COSM4384126	c.2548C>G	p.H850D	B2
EGFR	21	COSM5046159	c.2560A>C	p.T854P	B2
EGFR	21	COSM52933	c.2531T>C	p.L844P	B2
EGFR	21	COSM53105	c.2492G>A	p.R831H	B2
EGFR	21	COSM53201	c.2546A>G	p.Q849R	B2
EGFR	21	COSM53227	c.2506C>A	p.R836S	B2
EGFR	21	COSM53231	c.2559C>T	p.I853I	B2
EGFR	21	COSM53265	c.2556G>T	p.K852N	B2
EGFR	21	COSM5967252	c.2588G>T	p.G863V	B2
EGFR	21	COSM6178051	c.2568T>G	p.F856L	B2
EGFR	21	COSM6191493	c.2576C>T	p.A859V	B2
EGFR	21	COSM6227	c.2504A>T	p.H835L	B2
EGFR	21	COSM6652255	c.2544G>A	p.P848P	B2
EGFR	21	COSM6909316	c.2534T>A	p.V845E	B2
EGFR	21	COSM6910210	c.2509G>A	p.D837N	B2
EGFR	21	COSM6910370	c.2497T>A	p.L833M	B2

付表1-2　肺癌コンパクトパネルにおける報告対象バリアント：遺伝子変異（付表1-1以外*）

*; 本リストは，コンパクトPにおいて2024年3月以降に新たに追加報告のあったバリアント

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID等 (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	マルチCDx
					コンパクトP マルチ
EGFR	21	COSM6965217	c.2539A>T	p.T847S	B2
EGFR	21	COSM6978158	c.2499_2500delinsTT	p.L833_V834delinsFL	B2
EGFR	21	COSM6985388	c.2514_2536del	p.A839Nfs*50	B2
EGFR	21	COSM707247	c.2520C>T	p.A840A	B2
EGFR	21	COSM7339051	c.2505C>A	p.H835Q	B2
EGFR	21	COSM747424	c.2527G>T	p.V843L	B2
EGFR	21	COSM7674140	c.2540C>A	p.T847K	B2
EGFR	21	COSM85893	c.2508C>T	p.R836R	B2
EGFR	21	COSM85894	c.2527G>A	p.V843I	B2
EGFR	21	COSM85961	c.2518G>A	p.A840T	B2
EGFR	21	COSM85994	c.2576C>A	p.A859D	B2
EGFR	21	COSM87247	c.2587G>A	p.G863S	B2
EGFR	21	COSM88211	c.2549A>G	p.H850R	B2
EGFR	21	COSM8830926	c.2555A>C	p.K852T	B2
EGFR	21	COSM96398	c.2585T>A	p.L862Q	B2
KRAS	2	COSM110699	c.29G>A	p.G10E	B2
KRAS	2	COSM1159169	c.36T>G	p.G12G	B2
KRAS	2	COSM12654	c.29_31dup	p.G10dup	B2
KRAS	2	COSM12655	c.36_38dup	p.G13dup	B2
KRAS	2	COSM12657	c.35del	p.G12Vfs*3	B2
KRAS	2	COSM12705	c.28_29insTAG	p.V9dup	B2
KRAS	2	COSM12721	c.38_39delinsTT	p.G13V	B2
KRAS	2	COSM12722	c.40G>A	p.V14I	B2
KRAS	2	COSM132886	c.13A>G	p.K5E	B2
KRAS	2	COSM1360887	c.28G>A	p.G10R	B2
KRAS	2	COSM13643	c.34_35delinsAA	p.G12N	B2
KRAS	2	COSM14209	c.35_36inv	p.G12D	B2
KRAS	2	COSM1562183	c.25G>A	p.V9I	B2
KRAS	2	COSM1605973	c.30A>C	p.G10G	B2
KRAS	2	COSM1666974	c.37_38delinsTA	p.G13Y	B2
KRAS	2	COSM1685355	c.37_38delinsTT	p.G13F	B2
KRAS	2	COSM1716372	c.34_36delinsCTG	p.G12L	B2
KRAS	2	COSM219781	c.38_40dup	p.G13dup	B2
KRAS	2	COSM24602	c.15A>T	p.K5N	B2
KRAS	2	COSM249887	c.41T>G	p.V14G	B2
KRAS	2	COSM249888	c.34_36delinsAGA	p.G12R	B2
KRAS	2	COSM25081	c.34_35delinsTA	p.G12Y	B2
KRAS	2	COSM303833	c.37_38insCGG	p.G12_G13insA	B2
KRAS	2	COSM30566	c.35_36delinsAG	p.G12E	B2
KRAS	2	COSM30567	c.38_39delinsAG	p.G13E	B2
KRAS	2	COSM30568	c.38_40delinsACA	p.G13_V14delinsDI	B2
KRAS	2	COSM30620	c.19G>A	p.V7M	B2
KRAS	2	COSM328030	c.33T>C	p.A11A	B2
KRAS	2	COSM3384259	c.31G>A	p.A11T	B2
KRAS	2	COSM34144	c.34_35delinsAT	p.G12I	B2
KRAS	2	COSM36281	c.34_36delinsTGG	p.G12W	B2
KRAS	2	COSM4387521	c.35_36delinsTG	p.G12V	B2
KRAS	2	COSM4589939	c.7_8insT	p.E3Vfs*3	B2
KRAS	2	COSM4745556	c.36_37delinsAC	p.G13R	B2
KRAS	2	COSM506	c.15A>C	p.K5N	B2
KRAS	2	COSM507	c.24A>G	p.V8V	B2
KRAS	2	COSM509	c.27T>C	p.V9V	B2
KRAS	2	COSM510	c.31G>C	p.A11P	B2
KRAS	2	COSM511	c.32C>T	p.A11V	B2
KRAS	2	COSM513	c.34_36delinsTGC	p.G12C	B2
KRAS	2	COSM514	c.34_35delinsCT	p.G12L	B2
KRAS	2	COSM515	c.35_36delinsTC	p.G12V	B2
KRAS	2	COSM519	c.35_36delinsAA	p.G12E	B2
KRAS	2	COSM523	c.36T>C	p.G12G	B2
KRAS	2	COSM524	c.36T>A	p.G12G	B2
KRAS	2	COSM525	c.37_38delinsAT	p.G13I	B2
KRAS	2	COSM526	c.37_39delinsCGT	p.G13R	B2
KRAS	2	COSM530	c.38_39delinsTG	p.G13V	B2
KRAS	2	COSM53283	c.37_38delinsAA	p.G13N	B2
KRAS	2	COSM5347014	c.20T>G	p.V7G	B2
KRAS	2	COSM535	c.39C>G	p.G13G	B2
KRAS	2	COSM536	c.39C>T	p.G13G	B2
KRAS	2	COSM5369708	c.32_34delinsTTT	p.A11_G12delinsVC	B2
KRAS	2	COSM537	c.39C>A	p.G13G	B2
KRAS	2	COSM5413585	c.35_36delinsCA	p.G12A	B2
KRAS	2	COSM5415923	c.37_39delinsAAG	p.G13K	B2
KRAS	2	COSM5546585	c.40G>T	p.V14L	B2
KRAS	2	COSM5751774	c.34_35insA	p.G12Efs*22	B2
KRAS	2	COSM5752015	c.33_34insA	p.G12Rfs*22	B2
KRAS	2	COSM5945943	c.29del	p.G10Efs*5	B2
KRAS	2	COSM5985091	c.37_38inv	p.G13P	B2
KRAS	2	COSM6009012	c.2T>C	p.M1I	B2
KRAS	2	COSM6022433	c.32_37dup	p.A11_G12dup	B2
KRAS	2	COSM6024195	c.29G>T	p.G10V	B2
KRAS	2	COSM6238198	c.3G>T	p.M1I	B2
KRAS	2	COSM6269667	c.26T>A	p.V9D	B2
KRAS	2	COSM6438039	c.22G>A	p.V8I	B2
KRAS	2	COSM6438040	c.3G>A	p.M1I	B2
KRAS	2	COSM6438042	c.17T>A	p.L6H	B2
KRAS	2	COSM6474352	c.8A>G	p.E3G	B2
KRAS	2	COSM6853641	c.34_35insTGG	p.A11_G12insV	B2
KRAS	2	COSM6903499	c.5C>T	p.T2I	B2

付表1-2　肺癌コンパクトパネルにおける報告対象バリアント：遺伝子変異（付表1-1以外*）

*; 本リストは，コンパクトPにおいて2024年3月以降に新たに追加報告のあったバリアント

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID等 (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	マルチCDx
					コンパクトP マルチ
KRAS	2	COSM6934710	c.7G>T	p.E3*	B2
KRAS	2	COSM6948220	c.31_35delinsACTGA	p.A11_G12delinsTD	B2
KRAS	2	COSM6950486	c.33_34delinsCT	p.G12C	B2
KRAS	2	COSM6959652	c.34_35delinsTC	p.G12S	B2
KRAS	2	COSM7335302	c.41T>C	p.V14A	B2
KRAS	2	COSM7335307	c.34_35delinsCA	p.G12H	B2
KRAS	2	COSM7335309	c.14A>G	p.K5R	B2
KRAS	2	COSM7848872	c.21G>T	p.V7V	B2
KRAS	2	COSM87280	c.38_39delinsAA	p.G13E	B2
KRAS	2	COSM87281	c.36_37delinsAT	p.G13C	B2
KRAS	2	COSM87301	c.30_35dup	p.A11_G12dup	B2
KRAS	2	COSM8770657	c.7G>A	p.E3K	B2
KRAS	2	COSM9114153	c.31_32insAGG	p.G10_A11insE	B2
BRAF	15	COSM1116	c.1749T>C	p.F583F	B2
BRAF	15	COSM1117	c.1752T>C	p.L584L	B2
BRAF	15	COSM1118	c.1758A>G	p.E586E	B2
BRAF	15	COSM1119	c.1776A>G	p.I592M	B2
BRAF	15	COSM1120	c.1774A>G	p.I592V	B2
BRAF	15	COSM1121	c.1782T>A	p.D594E	B2
BRAF	15	COSM1123	c.1784T>C	p.F595S	B2
BRAF	15	COSM1124	c.1791A>G	p.L597L	B2
BRAF	15	COSM1125	c.1790T>A	p.L597Q	B2
BRAF	15	COSM1126	c.1789_1790delinsTC	p.L597S	B2
BRAF	15	COSM1127	c.1797_1799delinsGAG	p.V600R	B2
BRAF	15	COSM1128	c.1797delinsTACTACG	p.T599_V600insTT	B2
BRAF	15	COSM1130	c.1798G>A	p.V600M	B2
BRAF	15	COSM1132	c.1803A>C	p.K601N	B2
BRAF	15	COSM1159850	c.1798delinsTACA	p.V600delinsYM	B2
BRAF	15	COSM1168053	c.1799_1800del	p.V600Efs*11	B2
BRAF	15	COSM1169497	c.1794_1796del	p.T599del	B2
BRAF	15	COSM133632	c.1789C>T	p.L597L	B2
BRAF	15	COSM144576	c.1780G>C	p.D594H	B2
BRAF	15	COSM1448591	c.1797A>G	p.T599T	B2
BRAF	15	COSM1448592	c.1794T>A	p.A598A	B2
BRAF	15	COSM1448593	c.1790T>C	p.L597P	B2
BRAF	15	COSM144982	c.1795_1797dup	p.T599dup	B2
BRAF	15	COSM1578949	c.1800G>T	p.V600V	B2
BRAF	15	COSM1583010	c.1781A>C	p.D594A	B2
BRAF	15	COSM1583011	c.1798_1799delinsCG	p.V600R	B2
BRAF	15	COSM1735763	c.1796_1799delinsTAAA	p.T599_V600delinsIK	B2
BRAF	15	COSM18443	c.1799T>C	p.V600A	B2
BRAF	15	COSM21493	c.1766C>T	p.T589I	B2
BRAF	15	COSM21545	c.1770A>G	p.V590V	B2
BRAF	15	COSM21547	c.1755T>C	p.H585H	B2
BRAF	15	COSM21548	c.1763T>G	p.L588R	B2
BRAF	15	COSM21549	c.1793C>T	p.A598V	B2
BRAF	15	COSM21608	c.1759G>A	p.D587N	B2
BRAF	15	COSM21609	c.1761C>A	p.D587E	B2
BRAF	15	COSM21610	c.1763T>C	p.L588P	B2
BRAF	15	COSM21612	c.1783T>C	p.F595L	B2
BRAF	15	COSM219798	c.1798G>C	p.V600L	B2
BRAF	15	COSM231846	c.1777G>A	p.G593S	B2
BRAF	15	COSM24963	c.1797A>T	p.T599T	B2
BRAF	15	COSM249889	c.1798_1799delinsCA	p.V600Q	B2
BRAF	15	COSM249890	c.1800G>A	p.V600V	B2
BRAF	15	COSM250031	c.1782T>C	p.D594D	B2
BRAF	15	COSM253330	c.1782T>G	p.D594E	B2
BRAF	15	COSM25700	c.1769del	p.V590Efs*3	B2
BRAF	15	COSM26491	c.1802A>T	p.K601I	B2
BRAF	15	COSM26504	c.1781_1798dup	p.D594_T599dup	B2
BRAF	15	COSM26625	c.1794_1795insGTT	p.A598_T599insV	B2
BRAF	15	COSM28010	c.1750C>T	p.L584F	B2
BRAF	15	COSM28505	c.1792G>A	p.A598T	B2
BRAF	15	COSM28507	c.1803A>G	p.K601K	B2
BRAF	15	COSM30594	c.1801_1803del	p.K601del	B2
BRAF	15	COSM30671	c.1778G>A	p.G593D	B2
BRAF	15	COSM30730	c.1794_1796dup	p.T599dup	B2
BRAF	15	COSM33728	c.1772A>G	p.K591R	B2
BRAF	15	COSM33780	c.1796_1798delinsTAGCTT	p.T599_V600delinsIAL	B2
BRAF	15	COSM33808	c.1798G>T	p.V600L	B2
BRAF	15	COSM3634274	c.1797A>C	p.T599T	B2
BRAF	15	COSM36922	c.1787del	p.G596Vfs*2	B2
BRAF	15	COSM3737041	c.1762C>T	p.L588F	B2
BRAF	15	COSM3878760	c.1802A>C	p.K601T	B2
BRAF	15	COSM4166148	c.1798_1799insAGGCTACAG	p.T599_V600insEAT	B2
BRAF	15	COSM4172018	c.1798_1799insAGACTACAG	p.T599_V600insETT	B2
BRAF	15	COSM4172020	c.1796C>G	p.T599R	B2
BRAF	15	COSM4172575	c.1795_1796insAAAAAATAGGTGATTTTGGTCTAGCTA	p.A598_T599insKKIGDFGLA	B2
BRAF	15	COSM4389226	c.1797_1803delinsTGAGAAT	p.V600_K601delinsEN	B2
BRAF	15	COSM463	c.1756G>A	p.E586K	B2
BRAF	15	COSM464	c.1760A>C	p.D587A	B2
BRAF	15	COSM465	c.1761C>G	p.D587E	B2
BRAF	15	COSM466	c.1781A>T	p.D594V	B2
BRAF	15	COSM468	c.1785T>G	p.F595L	B2
BRAF	15	COSM470	c.1789C>G	p.L597V	B2
BRAF	15	COSM471	c.1790T>G	p.L597R	B2
BRAF	15	COSM472	c.1796C>T	p.T599I	B2

付表1-2　肺癌コンパクトパネルにおける報告対象バリアント：遺伝子変異（付表1-1以外*）

*; 本リストは，コンパクトPにおいて2024年3月以降に新たに追加報告のあったバリアント

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む），ー; 本リスト作成時点でCOSMICで登録されていないバリアント

遺伝子	エクソン	COSMIC ID等 (mutation)	塩基変化	アミノ酸変化	マルチCDx コンパクトP マルチ
BRAF	15	COSM477	c.1799_1800delinsAT	p.V600D	B2
BRAF	15	COSM51383	c.1768G>A	p.V590I	B2
BRAF	15	COSM53198	c.1785T>A	p.F595L	B2
BRAF	15	COSM5881461	c.1795_1796insTAA	p.A598_T599insI	B2
BRAF	15	COSM5982023	c.1799_1803delinsAT	p.V600_K601delinsD	B2
BRAF	15	COSM5985086	c.1798_1799inv	p.V600T	B2
BRAF	15	COSM6005495	c.1753C>T	p.H585Y	B2
BRAF	15	COSM6137	c.1799T>G	p.V600G	B2
BRAF	15	COSM6265	c.1803A>T	p.K601N	B2
BRAF	15	COSM6475279	c.1771A>G	p.K591E	B2
BRAF	15	COSM6475307	c.1764C>T	p.L588L	B2
BRAF	15	COSM6854134	c.1750C>A	p.L584I	B2
BRAF	15	COSM6928839	c.1780G>T	p.D594Y	B2
BRAF	15	COSM6949729	c.1783T>A	p.F595I	B2
BRAF	15	COSM6973064	c.1748T>G	p.F583C	B2
BRAF	15	COSM6979209	c.1773_1793dup	p.I592_A598dup	B2
BRAF	15	COSM6995465	c.1756G>C	p.E586Q	B2
BRAF	15	COSM7335303	c.1751T>C	p.L584P	B2
BRAF	15	COSM7351000	c.1798_1800dup	p.V600dup	B2
BRAF	15	COSM7439514	c.1774del	p.I592*	B2
ERBB2	8	COSM2838116	c.955A>T	p.N319Y	B2
ERBB2	8	COSM417561	c.937C>G	p.L313V	B2
ERBB2	8	COSM436496	c.926G>C	p.G309A	B2
ERBB2	8	COSM5504302	c.934A>G	p.T312A	B2
ERBB2	8	COSM5824892	c.952C>A	p.H318N	B2
ERBB2	8	COSM5852397	c.970G>A	p.A324T	B2
ERBB2	8	COSM6655711	c.969A>G	p.T323T	B2
ERBB2	8	COSM6655713	c.930C>A	p.S310S	B2
ERBB2	8	COSM6906499	c.955A>G	p.N319D	B2
ERBB2	8	COSM6961986	c.983C>T	p.T328I	B2
ERBB2	8	COSM7351396	c.950T>C	p.L317P	B2
ERBB2	8	COSM7516564	c.928T>G	p.S310A	B2
ERBB2	8	COSM8359038	c.936C>G	p.T312T	B2
ERBB2	8	COSM8811752	c.986A>T	p.Q329L	B2
ERBB2	8	COSM94224	c.926G>A	p.G309E	B2
ERBB2	8	ー	c.928T>C	p.S310P	B2
ERBB2	17	COSM4000121	c.1963A>G	p.I655V	B2
ERBB2	17	COSM7476115	c.1992C>T	p.V664V	B2
ERBB2	17	COSM8318384	c.2004G>T	p.G668G	B2
ERBB2	20	COSM14244	c.2318T>C	p.V773A	B2
ERBB2	20	COSM1470873	c.2343T>C	p.Y781Y	B2
ERBB2	20	COSM20895	c.2326_2326delGinsTTAT	p.G776delinsLC	B2
ERBB2	20	COSM24613	c.2350C>T	p.R784C	B2
ERBB2	20	COSM2838161	c.2316C>T	p.Y772Y	B2
ERBB2	20	COSM3734757	c.2351G>A	p.R784H	B2
ERBB2	20	COSM5731177	c.2317G>A	p.V773M	B2
ERBB2	20	COSM5784046	c.2366G>A	p.C789Y	B2
ERBB2	20	COSM5967126	c.2338C>A	p.P780T	B2
ERBB2	20	COSM6191358	c.2335T>C	p.S779P	B2
ERBB2	20	COSM6197839	c.2338C>T	p.P780S	B2
ERBB2	20	COSM6197843	c.2350C>A	p.R784S	B2
ERBB2	20	COSM6865891	c.2321_2326dup	p.A775_G776insVA	B2
ERBB2	20	COSM6906977	c.2356C>G	p.L786V	B2
ERBB2	20	COSM6907033	c.2326_2327insCTGTGGGCT	p.G776delinsAVGC	B2
ERBB2	20	COSM6943230	c.2353C>T	p.L785F	B2
ERBB2	20	COSM6956133	c.2314del	p.Y772Tfs*2	B2
ERBB2	20	COSM6977433	c.2327delinsTTGT	p.G776delinsVV	B2
ERBB2	20	COSM7335304	c.2308-3del	p.?	B2
ERBB2	20	COSM7343983	c.2356C>A	p.L786M	B2
ERBB2	20	COSM7418750	c.2330T>A	p.V777E	B2
ERBB2	20	COSM7449692	c.2311_2312insGCATACGTGATG	p.E770_A771insGIRD	B2
ERBB2	20	COSM7449770	c.2333_2334insGCTCCCCGG	p.G778_S779insLPG	B2
ERBB2	20	COSM7774585	c.2326_2327insTAT	p.G776delinsVC	B2
ERBB2	20	COSM85895	c.2342A>G	p.Y781C	B2
ERBB2	20	COSM9102602	c.2333G>A	p.G778D	B2
ERBB2	20	COSM9179427	c.2364C>T	p.I788I	B2
ERBB2	20	COSM9233268	c.2339C>T	p.P780L	B2
ERBB2	20	ー	c.2313_2314insTACATGATGGCT	p.Y772_V773insMMAY	B2
ERBB2	20	ー	c.2325_2326insTCCGTGATGGCT	p.A775_G776insSVMA	B2
ERBB2	20	ー	c.2325_2326insGTGGTGATGGCT	p.A775_G776insVVMA	B2
ERBB2	20	ー	c.2324_2325insATACGTGATGTC	p.A775_G776insYVMS	B2
ERBB2	20	ー	c.2326_2327delinsTGTGT	p.A775_G776insC	B2
ERBB2	20	ー	c.2326_2326delinsATAT	p.G776delinsIC	B2
ERBB2	20	ー	c.2326_2331delinsGGTGTG	p.G776_V777delinsCVC	B2
ERBB2	20	ー	c.2335_2336insTGCCCAGGC	p.S779delinsLPRP	B2
ERBB2	20	ー	c.2327_2328insAGGTTGTGT	p.G776_V777insGCV	B2

付表2-1　各コンパニオン診断法における報告対象バリアント：融合遺伝子

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む）※，B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント※，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む）

※すべての融合遺伝子バリアントの検出が可能であることを示すものではない

遺伝子	融合遺伝子	シングルCDx	マルチCDx			CDx機能付CGP		
		AmoyDx ROS1	ODxTT マルチ	AmoyDx マルチ	コンパクトP マルチ	F1CDx	F1Liquid CDx	G360 CDx
ALK	A2M-ALK		A	C	C	A	A	C
ALK	ATIC-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	C2orf44-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	CARS-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	CLTC-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	DCTN1-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	EML4-ALK		A	A	A	A	A	B1
ALK	GTF2IRD1-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	HIP1-ALK		A	C	A	A	A	B1
ALK	KIF5B-ALK		A	A	A	A	A	B1
ALK	KLC1-ALK		A	A	A	A	A	B1
ALK	PPP4R3B-ALK		A	C	C	A	A	C
ALK	PRKAR1A-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	RANBP2-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	SEC31A-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	STRN-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	TFG-ALK		A	A	A	A	A	B1
ALK	TPM1-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	TPM3-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	TPM4-ALK		A	C	C	A	A	B1
ALK	TPR-ALK		A	C	C	A	A	C
ALK	TRAF1-ALK		A	C	C	A	A	C
ALK	VCL-ALK		A	C	C	A	A	B1
ROS1	CCDC6-ROS1	C	A	C	A	A	A	B1
ROS1	CD74-ROS1	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	CEP85L-ROS1	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	CLIP1-ROS1	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	CLTC-ROS1	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	ERC1-ROS1	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	EZR-ROS1	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	GOPC-ROS1	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	HLA_A-ROS1	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	KDELR2-ROS1	C	A	C	A	A	A	B1
ROS1	LRIG3-ROS1	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	MSN-ROS1	C	A	C	C	A	A	C
ROS1	KDELR2-ROS1	C	A	C	A	A	A	B1
ROS1	MYO5A-ROS1	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	PPFIBP1-ROS1	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	PWWP2A-ROS1	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	SDC4-ROS1	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	SHTN1-ROS1	C	A	C	C	A	A	C
ROS1	SLC34A2-ROS1	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	TFG-ROS1	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	TPM3-ROS1	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	ZCCHC8-ROS1	C	A	C	C	A	A	B1
MET ex14skp	MET-MET		A	A	A	A	A	B1
RET	ACBD5-RET		A	C	C	A	B1	C
RET	AFAP1-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	AKAP13-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	CCDC6-RET		A	A	A	A	B1	B1
RET	CUX1-RET		A	A	C	A	B1	C
RET	ERC1-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	FKBP15-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	GOLGA5-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	HOOK3-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	KIAA1468-RET		A	A	C	A	B1	C
RET	KIF5B-RET		A	A	A	A	B1	B1
RET	KTN1-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	NCOA4-RET		A	A	A	A	B1	B1
RET	PCM1-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	PRKAR1A-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	RUFY2-RET		A	A	C	A	B1	C
RET	SPECC1L-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	TBL1XR1-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	TRIM24-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	TRIM27-RET		A	C	C	A	B1	B1
RET	TRIM33-RET		A	A	C	A	B1	B1
NTRK1	BCAN-NTRK1		B2	C	C	A	A	C
NTRK1	CD74-NTRK1		B2	B2	C	A	A	B1
NTRK1	IRF2BP2-NTRK1		B2	B2	C	A	A	B1
NTRK1	LMNA-NTRK1		B2	C	C	A	A	B1
NTRK1	MPRIP-NTRK1		B2	B2	C	A	A	B1
NTRK1	NFASC-NTRK1		B2	C	C	A	A	B1
NTRK1	RNF213-NTRK1		B2	C	C	A	A	C
NTRK1	SQSTM1-NTRK1		B2	B2	C	A	A	B1
NTRK1	SSBP2-NTRK1		B2	B2	C	A	A	B1
NTRK1	TFG-NTRK1		B2	B2	C	A	A	B1
NTRK1	TPM3-NTRK1		B2	B2	C	A	A	B1
NTRK1	TPR-NTRK1		B2	B2	C	A	A	C
NTRK2	AFAP1-NTRK2		B2	C	C	A	A	C
NTRK2	AGBL4-NTRK2		B2	C	C	A	A	C
NTRK2	NACC2-NTRK2		B2	C	C	A	A	C
NTRK2	SQSTM1-NTRK2		B2	B2	C	A	A	C
NTRK2	TRIM24-NTRK2		B2	B2	C	A	A	C
NTRK2	VCL-NTRK2		B2	C	C	A	A	C
NTRK3	BTBD1-NTRK3		B2	C	C	A	A	C
NTRK3	COX5A-NTRK3		B2	C	C	A	A	C
NTRK3	ETV6-NTRK3		B2	B2	C	A	A	C

付表2-2　各コンパニオン診断法における報告対象バリアント：融合遺伝子（主要なCOSMIC登録バリアント[COSF]）

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む）．

遺伝子	COSMIC ID (fusion)	融合遺伝子	exon-exon junction	シングルCDx	マルチCDx			CDx機能付CGP		
				AmoyDx ROS1	ODxTT マルチ	AmoyDx マルチ	コンパクトP マルチ	F1CDx	F1Liquid CDx	G360 CDx
ALK	COSF444	ATIC-ALK	A7::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF437	CARS-ALK	C17::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF434	CLTC-ALK	C31::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF1625	DCTN1-ALK	D26::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF478.1	EML4-ALK	E2::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF479.1	EML4-ALK	E2::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF1296.1	EML4-ALK	E6::A19		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF411	EML4-ALK	E6::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF474	EML4-ALK	E6::A20;ins33		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF1544	EML4-ALK	E6::A20;ins18		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF1062.2	EML4-ALK	E13::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF408.1	EML4-ALK	E13::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF1539	EML4-ALK	E13::A20;ins90		A	A	B2	A	A	B1
ALK	COSF1064.1	EML4-ALK	E14::A20		A	C	A	A	A	B1
ALK	COSF477.1	EML4-ALK	E14::A20		A	C	A	A	A	B1
ALK	COSF1541	EML4-ALK	E14::A20;ins124		A	C	B2	A	A	B1
ALK	COSF413.1	EML4-ALK	E15::A20		A	C	A	A	A	B1
ALK	COSF1366.2	EML4-ALK	E17::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF1367.2	EML4-ALK	E17::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF732	EML4-ALK	E17::A20;ins68		A	A	B2	A	A	B1
ALK	COSF487.1	EML4-ALK	E18::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF409.1	EML4-ALK	E20::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF730.1	EML4-ALK	E20::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF1614	HIP1-ALK	H21::A20		A	C	A	A	A	B1
ALK	COSF1615	HIP1-ALK	H21::A20		C	C	A	A	A	B1
ALK	COSF1620	HIP1-ALK	H28::A20		A	C	A	A	A	B1
ALK	COSF1712	HIP1-ALK	H30::A20		C	C	A	A	A	B1
ALK	COSF1060.1	KIF5B-ALK	K15::A20		A	C	A	A	A	B1
ALK	COSF1381	KIF5B-ALK	K15::A20		A	C	A	A	A	B1
ALK	COSF1257	KIF5B-ALK	K17::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF1058	KIF5B-ALK	K24::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF1276	KLC1-ALK	K9::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF415	RANBP2-ALK	R18::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF460	SEC31A-ALK	S21::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF459	SEC31A-ALK	S22::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF1430	STRN-ALK	S3::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF424	TFG-ALK	T4::A20		A	A	A	A	A	B1
ALK	COSF426	TFG-ALK	T5::A20		A	C	A	A	A	B1
ALK	COSF428	TFG-ALK	T6::A20		A	C	A	A	A	B1
ALK	COSF439	TPM3-ALK	T7::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF441	TPM4-ALK	T7::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF1612	TPR-ALK	T15::A20		A	C	C	A	A	C
ALK	COSF1056	VCL-ALK	V16::A20		A	C	C	A	A	B1
ALK	COSF1264	WDCP-ALK	W4::A20		A	C	C	A	A	C
ROS1	COSF1202	CD74-ROS1	C6::R32	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1200	CD74-ROS1	C6::R34	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1478	CD74-ROS1	C6::R35	C	A	C	B2	A	A	B1
ROS1	COSF1643	CLIP1-ROS1	C19::R36	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	COSF1627	ERC1-ROS1	E11::R36	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	COSF1267	EZR-ROS1	E10::R34	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1188	GOPC-ROS1	G4::R36	C	A	C	A	A	A	B1
ROS1	COSF1139	GOPC-ROS1	G8::R35	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1637	HLA-A-ROS1	H7::R34	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	COSF1269	LRIG3-ROS1	L16::R35	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1639	MYO5A-ROS1	M23::R35	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	COSF1631	PPFIBP1-ROS1	P9::R35	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	COSF1641	PWWP2A-ROS1	P1::R36	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	COSF1265	SDC4-ROS1	S2::R32	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1278	SDC4-ROS1	S4::R32	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1280	SDC4-ROS1	S4::R34	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1671	SDC4-ROS1	S2::R34	C	A	A	B2	A	A	B1
ROS1	COSF1647	SHTN1-ROS1	S11::R36	C	A	C	C	A	A	C
ROS1	COSF1259	SLC34A2-ROS1	S13::R32	A	A	A	B2	A	A	B1
ROS1	COSF1261	SLC34A2-ROS1	S13::R34	A	A	A	B2	A	A	B1
ROS1	COSF1196	SLC34A2-ROS1	S4::R32	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1198	SLC34A2-ROS1	S4::R34	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1663	TPM3-ROS1	T3::R36	C	A	C	C	A	A	B1
ROS1	COSF1273	TPM3-ROS1	T8::R35	A	A	A	A	A	A	B1
ROS1	COSF1645	ZCCHC8-ROS1	Z2::R36	C	A	C	C	A	A	B1
RET	COSF1271	CCDC6-RET	C1::R12		A	A	B2	A	B1	B1
RET	COSF1507	ERC1-RET	E11::R12		A	C	C	A	B1	B1
RET	COSF1503	GOLGA5-RET	G7::R12		A	C	C	A	B1	B1
RET	COSF1509	HOOK3-RET	H11::R12		A	C	C	A	B1	B1
RET	COSF1255.1	KIF5B-RET	K15::R11		A	C	B2	A	B1	B1
RET	COSF1232	KIF5B-RET	K15::R12		A	A	B2	A	B1	B1
RET	COSF1230	KIF5B-RET	K16::R12		A	A	B2	A	B1	B1
RET	COSF1253	KIF5B-RET	K22::R12		A	A	B2	A	B1	B1
RET	COSF1234	KIF5B-RET	K23::R12		A	A	B2	A	B1	B1
RET	COSF1262	KIF5B-RET	K24::R11		A	C	B2	A	B1	B1
RET	COSF1236	KIF5B-RET	K24::R8		A	C	B2	A	B1	B1
RET	COSF1513	KTN1-RET	K29::R12		A	C	C	A	B1	B1
RET	COSF1340	NCOA4-RET	N6::R12		A	A	C	A	B1	B1
RET	COSF1491	NCOA4-RET	N7::R12		A	C	C	A	B1	B1
RET	COSF1492	NCOA4-RET	N9::R12		C	C	B2	A	B1	B1
RET	COSF1481	PCM1-RET	P29::R12		A	C	C	A	B1	B1
RET	COSF1511	PRKAR1A-RET	P7::R12		A	C	C	A	B1	B1
RET	COSF1687	RELCH-RET	R10::R12		A	C	C	A	B1	C
RET	COSF1521	TRIM24-RET	T9::R12		A	C	C	A	B1	B1

付表2-2　各コンパニオン診断法における報告対象バリアント：融合遺伝子（主要なCOSMIC登録バリアント[COSF]）

A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む）．

遺伝子	COSMIC ID (fusion)	融合遺伝子	exon-exon junction	シングルCDx	マルチCDx			CDx機能付CGP		
				AmoyDx ROS1	ODxTT マルチ	AmoyDx マルチ	コンパクトP マルチ	F1CDx	F1Liquid CDx	G360 CDx
RET	COSF1519	TRIM27-RET	T3::R12		A	C	C	A	B1	B1
RET	COSF1525	TRIM33-RET	T16::R12		A	C	C	A	B1	B1
NTRK1	COSF1329	TPM3-NTRK1	T7::N10		B2	C	C	A	A	B1
NTRK1	COSF1326	TPR-NTRK1	T21::N10		B2	B2	C	A	A	C
NTRK2	COSF1448	NACC2-NTRK2	N4::N13		B2	C	C	A	A	C
NTRK3	COSF1534	ETV6-NTRK3	E4::N14		B2	B2	C	A	A	C
NTRK3	COSF823.1	ETV6-NTRK3	E4::N15		B2	B2	C	A	A	C
NTRK3	COSF1536	ETV6-NTRK3	E5::N14		B2	B2	C	A	A	C
NTRK3	COSF571.1	ETV6-NTRK3	E5::N15		B2	B2	C	A	A	C

付表2-3　オンコマインDxTTにおける報告対象バリアント：融合遺伝子（付表2-2以外*）

*; 本リストはオンコマインDxTTにおいて検出可能とされているバリアントのうちCOSMIC登録されていないもの.
A; CDx承認対象のバリアント，B1; 網羅的ゲノムプロファイリング（CGP）検査として検出可能な薬事承認範囲内のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出可能と推定されるものも含む），B2; 薬事承認対象外の参考情報として入手可能なバリアント※，C; 検出不可のバリアント（実際に検出確認はされていないが設計上検出不可と推定されるものも含む）
※すべての融合遺伝子バリアントの検出が可能であることを示すものではない

遺伝子	COSMIC ID (fusion)	融合遺伝子	exon-exon junction	マルチCDx
				ODxTT マルチ
ALK	ー	A2M-ALK	A22::A19	A
ALK	ー	CLTC-ALK	C31::A19	A
ALK	ー	EML4-ALK	E14::A20;del36	A
ALK	ー	EML4-ALK	E14::A20;ins2;del52	A
ALK	ー	EML4-ALK	E17::A20;ins30	A
ALK	ー	EML4-ALK	E17::A20;ins65	A
ALK	ー	EML4-ALK	E21::A20	A
ALK	ー	EML4-ALK	E3::A20	A
ALK	ー	EML4-ALK	E6::A17	A
ALK	ー	EML4-ALK	E6::A18	A
ALK	ー	EML4-ALK	E7::A20	A
ALK	ー	GTF2IRD1-ALK	G7::A20	A
ALK	ー	PPP4R3B-ALK	P9::A2	A
ALK	ー	PRKAR1A-ALK	P2::A20	A
ALK	ー	TPM1-ALK	T8::A20	A
ALK	ー	TRAF1-ALK	T6::A20	A
ROS1	ー	CCDC6-ROS1	C5::R35	A
ROS1	ー	CD74-ROS1	C4::R33	A
ROS1	ー	CD74-ROS1	C7::R34	A
ROS1	ー	CEP85L-ROS1	C8::R36	A
ROS1	ー	CLTC-ROS1	C31::R35	A
ROS1	ー	EZR-ROS1	E10::R35	A
ROS1	ー	KDELR2-ROS1	K5::R35	A
ROS1	ー	MSN-ROS1	M9::R34	A
ROS1	ー	TFG-ROS1	T4::R35	A
RET	ー	ACBD5-RET	A11::R12	A
RET	ー	AFAP1-RET	A3::R12	A
RET	ー	AKAP13-RET	A35::R12	A
RET	ー	AKAP13-RET	A36::R12	A
RET	ー	CCDC6-RET	C1::R11;del17;del117	A
RET	ー	CCDC6-RET	C1::R11;del107	A
RET	ー	CCDC6-RET	C1::R12;del19;del7	A
RET	ー	CCDC6-RET	C2::R12	A
RET	ー	CCDC6-RET	C8::R11	A
RET	ー	CCDC6-RET	C8::R12	A
RET	ー	CUX1-RET	C10::R12	A
RET	ー	ERC1-RET	E12::R12	A
RET	ー	ERC1-RET	E17::R12	A
RET	ー	ERC1-RET	E7::R12	A
RET	ー	FKBP15-RET	F25::R12	A
RET	ー	KIF5B-RET	K18::R12	A
RET	ー	KIF5B-RET	K23::R11	A
RET	ー	KIF5B-RET	K23::R11;del117	A
RET	ー	KIF5B-RET	K24::R10	A
RET	ー	RUFY2-RET	R9::R12	A
RET	ー	SPECC1L-RET	S10::R11	A
RET	ー	SPECC1L-RET	S10::R12	A
RET	ー	TBL1XR1-RET	T9::R11	A
RET	ー	TBL1XR1-RET	T9::R12	A
MET ex14skp	ー	MET-MET	M13::M15	A
NTRK1	ー	BCAN-NTRK1	B13::N11	B2
NTRK1	ー	CD74-NTRK1	C7::N10	B2
NTRK1	ー	IRF2BP2-NTRK1	I1::N10	B2
NTRK1	ー	LMNA-NTRK1	L2::N11	B2
NTRK1	ー	MPRIP-NTRK1	M14::N12	B2
NTRK1	ー	MPRIP-NTRK1	M18::N12	B2
NTRK1	ー	MPRIP-NTRK1	M21::N12	B2
NTRK1	ー	NFASC-NTRK1	N20::N10	B2
NTRK1	ー	RNF213-NTRK1	R15::N12	B2
NTRK1	ー	SQSTM1-NTRK1	S5::N10	B2
NTRK1	ー	SSBP2-NTRK1	S12::N12	B2
NTRK1	ー	TFG-NTRK1	T6::N10	B2
NTRK1	ー	TPR-NTRK1	T21::N9	B2
NTRK1	ー	TPR-NTRK1	T6::N12;del70;del47	B2
NTRK1	ー	TPR-NTRK1	T6::N12;del121;del100	B2
NTRK2	ー	AFAP1-NTRK2	A14::N12	B2
NTRK2	ー	AGBL4-NTRK2	A6::N16	B2
NTRK2	ー	SQSTM1-NTRK2	S5::N17	B2
NTRK2	ー	TRIM24-NTRK2	T12::N15	B2
NTRK2	ー	VCL-NTRK2	V16::N12	B2
NTRK3	ー	BTBD1-NTRK3	B4::N14	B2
NTRK3	ー	COX5A-NTRK3	C1::N15	B2