



West Japan Oncology Group  
西日本がん研究機構

## WJOG14420LTR

EGFR 遺伝子 L858R 変異陽性進行再発非扁平上皮非小細胞肺癌における  
TP53 遺伝子変異の意義および治療耐性メカニズムの検討

Treatment resistance mechanism and TP53 mutation in untreated advanced or recurrent non-small cell lung cancer with EGFR L858R mutation.

**【西日本がん研究機構 (WJOG) 理事長】**

中川 和彦 近畿大学病院 腫瘍内科

**【グループ代表者】**

山本 信之 和歌山県立医科大学附属病院 呼吸器内科・腫瘍内科

**【研究代表者】**

林秀敏

近畿大学病院腫瘍内科

〒589-8511 大阪狭山市大野東 377-2

Tel: 072-366-0221 Fax: 072-360-5000

E-mail: hidet31@med.kindai.ac.jp

**【研究事務局】**

阪本智宏

鳥取大学医学部附属病院呼吸器内科・膠原病内科

〒683-8504 鳥取県米子市西町 36 番地 1

Tel: 0859-38-6537 Fax: 0859-38-6539

E-mail: t-sakamoto@tottori-u.ac.jp

佐藤悠城

神戸市立医療センター中央市民病院呼吸器内科

〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 2 丁目 1-1

Tel: 078-302-4321 Fax: 078-302-7537

E-mail: sugar.you.castle@gmail.com

高森信吉

九州がんセンター呼吸器腫瘍科

〒811-1395 福岡県福岡市南区野多目 3 丁目 1-1

Tel: 092-541-3231 Fax: 092-551-4585

E-mail: shinkichi.takamori@gmail.com

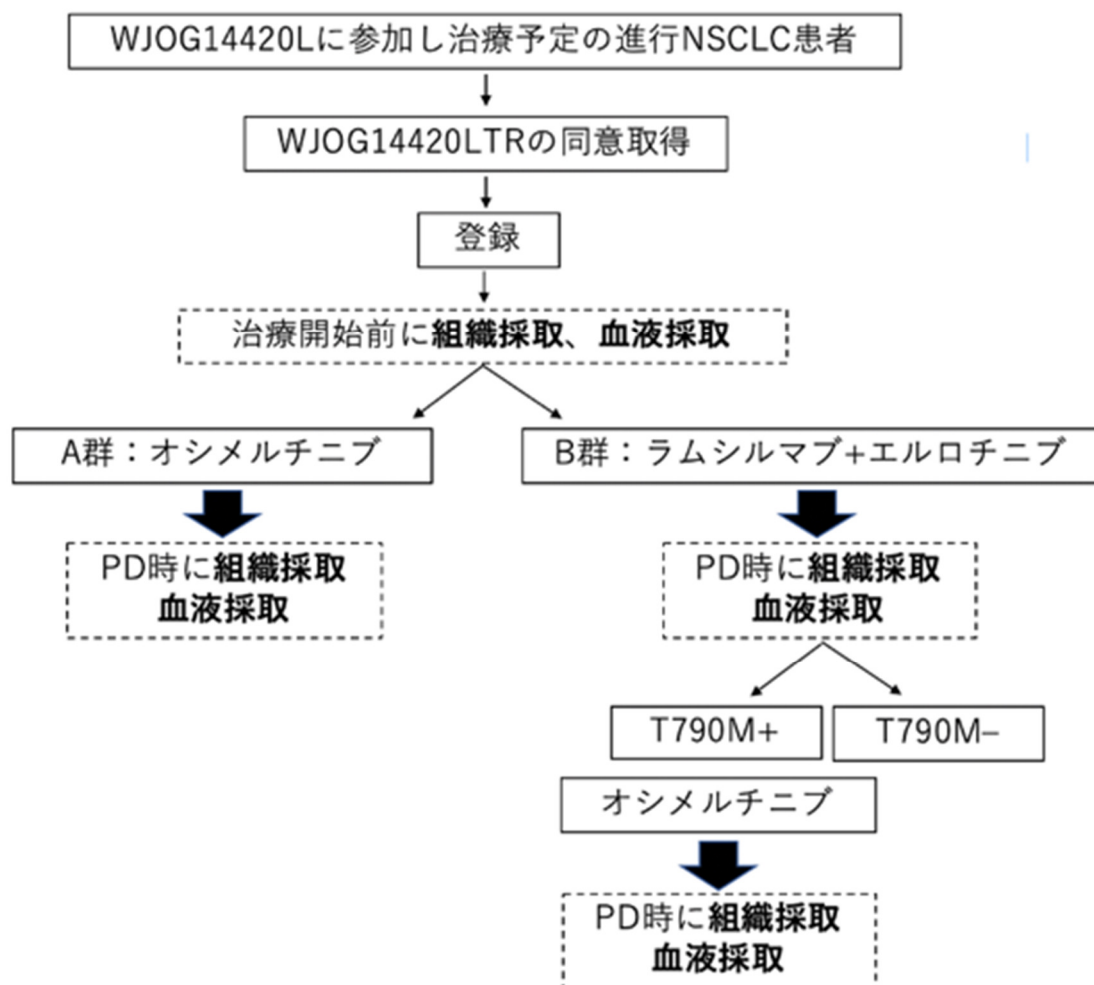
2021 年 10 月 29 日 常任理事会承認 (ver. 1.00)

(プロトコール改訂履歴は最終頁に記載)

UMIN ID : UMIN000046441

## 0. 概要

### 0.1. シェーマ



### 0.2. 目的

WJOG14420L の登録患者において、以下について探索的に検討することを目的とする。

- ① *TP53* 遺伝子変異と *EGFR* 遺伝子変異を同時に有する患者における、エルロチニブ+ラムシルマブ群とオシメルチニブ単剤治療群の有効性の比較検討
- ② 治療開始前、病勢増悪時の血液/組織検体を用いた *EGFR*-TKI の耐性メカニズムの検討
- ③ 治療開始前および治療開始後の *VEGF* 血中濃度と耐性メカニズムの検討
- ④ 治療前の遺伝子発現プロファイルからのエルロチニブ+ラムシルマブおよびオ

シメルチニブの有効性の差異の検討

⑤EGFR-TKI 治療前後における遺伝子発現の差異の検討

⑥ddPCR 法による治療前検体の T790M 変異の有無によるエルロチニブ+ラムシルマブ群、オシメルチニブ単剤治療群の有効性の比較検討

### 0.3. 対象

以下のすべての条件を満たすものとする。

- ・WJOG14420L 試験に登録されている症例
- ・治療開始前に本附随研究への参加同意が得られている症例、または治療開始後に参加同意を得られた症例（死亡例はオプトアウト対応とする）

### 0.4. 予定登録数と研究期間

WJOG14420L 試験に登録された患者のうち、本付随研究に同意した患者が対象となるため目標症例数は設定しない。

登録期間、追跡期間は WJOG14420L 試験に準ずる。

解析期間は追跡期間終了の 1 年後までとする。

### 0.5. 連絡先

試験内容に関する連絡先

研究事務局

阪本智宏

鳥取大学医学部附属病院呼吸器内科・膠原病内科

〒683-8504 鳥取県米子市西町 36 番地 1

Tel: 0859-38-6537 Fax: 0859-38-6539

E-mail: t-sakamoto@tottori-u.ac.jp

佐藤悠城

神戸市立医療センター中央市民病院呼吸器内科

〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 2 丁目 1-1

Tel: 078-302-4321 Fax: 078-302-7537

E-mail: sugar.you.castle@gmail.com

高森信吉

九州がんセンター呼吸器腫瘍科

〒811-1395 福岡県福岡市南区野多目 3 丁目 1-1

Tel: 092-541-3231 Fax: 092-551-4585

E-mail: shinkichi.takamori@gmail.com

登録に関する連絡先と受付時間

WJOG データセンター

Tel : 06-6633-7400            Fax : 06-6633-7405

E-mail : datacenter@wjog.jp

受付時間：月～金 9 時～17 時（祝祭日，年末年始 12/29-1/3 を除く）

## 0.6. 試験運営費用

本試験の運営に要する費用は、日本イーライリリー株式会社からの援助を受ける。

## 目次

0. 概要	3
0.1. シェーマ	3
0.2. 目的	3
0.3. 対象	4
0.4. 予定登録数と研究期間	4
0.5. 連絡先	4
0.6. 試験運営費用	5
1. 目的	9
2. 背景	9
2.1. WJOG14420L の概要	9
2.2. TP53 遺伝子変異	9
2.3. EGFR-TKI に対する耐性機序	11
2.4. ddPCR 法による治療前検体の T790M 変異の有無による EGFR-TKI の有効性	11
3. 試験デザイン	12
4. 対象	12
5. 試験参加	12
5.1. 参加申し込みと必要書類提出	12
6. 登録	13
6.1. 登録手順	13
6.2. 登録に関する連絡先	13
6.3. 登録の完了	13
6.4. 保管書類	13
6.5. 注意事項	13
7. 研究の方法	14
7.1. 研究のフローチャート	14
7.2. 検体の採取ポイント	14
7.3. 腫瘍組織、血漿検体の必要量	15
7.4. 測定項目	15
7.4.1. Cell free DNA を用いた CAPP-sequence 遺伝子解析	15
7.4.2. Oncomine Tumor Mutation Load Assay を用いた遺伝子解析	16
7.4.3. Whole Transcriptome sequence 遺伝子発現解析	16
7.4.4. 血中 VEGF-A/C/D 濃度解析	16
7.4.5. Cell free DNA を用いた Droplet Digital PCR 解析	16
7.4.6. ddPCR 法による治療前検体の T790M 変異の解析	16
7.5. 腫瘍組織検体の処理・保管方法	17

7.6.	血液検体の処理・保管方法.....	18
7.7.	測定機関における検体の保存及び破棄.....	18
7.8.	余剰検体の 2 次利用について.....	19
7.9.	検体使用についての同意撤回.....	19
7.10.	遺伝子情報の開示.....	19
8.	検査結果収集方法.....	19
8.1.	患者基本情報.....	19
8.2.	プロトコール治療内容.....	20
8.3.	生存情報.....	20
8.4.	後治療.....	20
9.	統計解析.....	20
9.1.	解析対象.....	20
9.2.	データの取扱い.....	20
9.3.	統計解析手法.....	20
9.4.	症例数設定根拠.....	21
10.	予測される結果および危険.....	21
10.1.	予測される研究結果.....	21
10.2.	予測される危険・不利益.....	21
11.	倫理的事項.....	21
11.1.	個人情報等の取扱い.....	22
11.2.	インフォームドコンセント.....	22
11.2.1.	同意の取得.....	22
11.2.2.	患者への説明内容.....	22
11.2.3.	同意後の問い合わせ、相談等に対する対応.....	23
11.2.4.	同意の撤回.....	23
11.3.	測定結果の開示.....	23
11.4.	審査機関の承認.....	23
10.5.	施設承認の年次更新.....	23
11.6.	患者の健康被害に対する責任および補償.....	23
12.	データの取扱いおよび記録の保存.....	24
12.3.1.	データの取扱い.....	24
12.3.2.	記録の保存.....	24
13.	試験実施に関する変更、中止ならびに終了.....	24
13.1.	試験実施計画書の改訂.....	24
13.2.	メモランダム.....	24
13.3.	試験実施中止および中断.....	24

13. 4. 試験実施計画からの逸脱等.....	25
14. 試験終了の報告 .....	25
15. 試験の費用負担 .....	25
16. 利益相反 .....	25
17. 試験成果の帰属と結果の公表.....	26
17. 1. 結果の公表 .....	26
17. 2. 最終統括報告 .....	26
17. 3. データの提供 .....	26
17. 4. データの二次利用.....	26
17. 5. 知的財産権 .....	26
18. 試験計画の事前登録.....	26
19. 試験実施体制 .....	27
19. 1. 試験運営機関 .....	27
19. 2. 試験依頼者および研究実施責任者.....	27
19. 3. 研究事務局(実施計画書内容に関する問合せ先).....	27
19. 4. その他の研究実施体制.....	28
20. 引用文献 .....	28
21. 実施計画書改訂履歴.....	31



## 1. 目的

WJOG14420L「EGFR 遺伝子 L858R 変異陽性進行再発非扁平上皮非小細胞肺癌に対するエルロチニブ+ラムシルマブとオシメルチニブを比較する第 III 相臨床試験」の登録患者において、エルロチニブ+ラムシルマブ療法およびオシメルチニブの *TP53* 遺伝子変異別の有効性および治療耐性メカニズムを検討する。

## 2. 背景

### 2.1. WJOG14420L の概要

WJOG14420L「EGFR 遺伝子 L858R 変異陽性進行再発非扁平上皮非小細胞肺癌に対するエルロチニブ+ラムシルマブとオシメルチニブを比較する第 III 相臨床試験」は、EGFR 遺伝子の exon 21 L858R 変異陽性例を対象に、標準治療であるオシメルチニブ単剤療法と比較してエルロチニブ+ラムシルマブ併用療法の有効性および安全性を検証する第 III 相比較試験である。

### 2.2. *TP53* 遺伝子変異

*TP53* 遺伝子の変異は、ヒトがんの中で最も高頻度に見られる遺伝子異常であり、p53 がん抑制タンパク質経路の破綻ががんの進展に重要な役割を担っていることが報告されている。EGFR-TKI の治療期間に影響する因子として、獲得耐性因子の他に治療開始前の *TP53* 遺伝子の co-mutation が知られている。EGFR-TKI にて加療された *EGFR* 遺伝子変異を有する進行非扁平上皮非小細胞肺癌患者においては、*TP53* 遺伝子の複合変異は EGFR-TKI の効果不良因子であることが、複数の報告で示されている (表 2.2)。<sup>1-7</sup> しかし、国際共同第 III 相試験である RELAY 試験の付随研究において、*TP53* 遺伝子変異を有する患者に対してもラムシルマブをエルロチニブと併用すると、無増悪生存期間が延長すると示された。<sup>2</sup> すなわち、一般的にオシメルチニブを含む EGFR-TKI 治療の効果が低いとされる *TP53* 遺伝子<sup>1</sup> と *EGFR* 遺伝子の複合変異を有するサブグループにおいて、エルロチニブ+ラムシルマブとオシメルチニブの有効性が異なる可能性が示唆される。*TP53* 遺伝子変異陽性患者では、エルロチニブ+ラムシルマブの有効性がオシメルチニブを上回るという仮説が考えうる。<sup>8-10</sup>

(表 2. 2.) EGFR-TKI にて加療された *EGFR* 遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌患者における *TP53* 遺伝子変異の有無と無増悪生存期間に関する報告のまとめ.

文献	年	国	症例数	EGFR-TKI	ハザード比 (95%信頼区間)
Bria E et al.[1]	2015	英国	22	ゲフィチニブ	4.66 (1.12-19.37)
Canale M et al.[2]	2017	英国	136	第 1,2 世代 EGFR-TKI	1.74 (0.92-3.29)
Labbe C et al.[3]	2017	カナダ	105	エルロチニブ、ゲフィチニブ	1.74 (0.98-3.10)
VanderLaan et al.[4]	2017	米国	20	第 1 世代 EGFR-TKI	3.11 (0.84-11.56)
Tsui DWY et al.[5]	2018	英国	43	ゲフィチニブ	1.89 (0.86-4.17)
Kim Y et al.[6]	2019	韓国	①75 ②82	①第 1,2 世代 EGFR-TKI ②第 3 世代 EGFR-TKI	①2.02 (1.04-3.93) ②2.23 (1.16-4.29)
Rachiglio AM et al.[7]	2019	英国	133	第 1 世代 EGFR-TKI	1.29 (0.80-2.08)

加えて、*TP53* 遺伝子変異のサブタイプによって腫瘍の生物学的特徴が異なる事が報告されている。<sup>11</sup> 例えば、ミスセンス変異を有する腫瘍ではナンセンス変異を有する腫瘍と比べて Tumor mutation burden が高く、腫瘍浸潤リンパ球のプロファイルも異なる事が示された。<sup>12</sup> また、EGFR-TKI で加療された *EGFR* 遺伝子変異を有する非小細胞肺癌患者において、exon 8 領域の *TP53* 遺伝子変異を有する患者の病勢コントロール率は、exon 8 領域以外の *TP53* 遺伝子変異を有する患者と比べて有意に低い事が報告された (41.7% vs 87.3%)。<sup>2</sup> *TP53* 遺伝子変異のサブタイプ別にエルロチニブ+ラムシルマブとオシメルチニブの有効性を比べる事で、エルロチニブ+ラムシルマブがオシメルチニブの有効性を上回る、特定の *TP53* 遺伝子変異のサブタイプを明らかにできる可能性がある。

治療前の *TP53* 遺伝子変異の有無に加えて、治療開始後の *TP53* 遺伝子変異陰転化の臨床的意義が報告されている。<sup>12</sup> *TP53* 遺伝子変異を標的として開発された薬物治療 (Eprenetapopt) を受けた *TP53* 遺伝子変異陽性の骨髄異形成症候群の患者において、*TP53* 遺伝子が陰転化した患者群は、*TP53* 遺伝子が陰転化しなかった患者群と比べて有意に完全奏効率が高い事が示された。<sup>8</sup> しかし、*EGFR* 遺伝子変異を有する進行非扁平上皮非小細胞肺癌患者において、治療開始後の *TP53* 遺伝子変異陰転化の有無が治療効果と関係するかは明らかではない。EGFR-TKI によって *TP53* 遺伝子変異が陰転化した患者群では、*TP53* 遺伝子変異が陰転化しなかった患者群と比べて治療の有効性が低いという仮説が考えうる。

### 2.3. EGFR-TKI に対する耐性機序

第 1/2 世代 EGFR-TKI 後の T790M 陽性例に対してはオシメルチニブが標準治療として確立されている一方、オシメルチニブ耐性例への標準治療は確立しておらず、耐性メカニズムの解明は急務である。また、エルロチニブ+ラムシルマブ群における T790M 変異以外の機序での耐性化はオシメルチニブ使用機会を逸することになるため、その耐性機序の解明と耐性克服が課題である。EGFR-TKI の耐性機序として、①二次性耐性変異によるもの、②MET 等の bypass pathway の活性化によるもの、③小細胞肺癌への形質転換や EMT (Epithelial-mesenchymal transition) によるもの、などが報告されている。<sup>13,14</sup> オシメルチニブ耐性に関して世界的に liquid biopsy を用いた研究が進められているが、<sup>15,16</sup> 日本人における 1 次治療オシメルチニブの耐性機序は現時点では報告されていない。加えて、血管新生阻害薬と EGFR-TKI 併用における耐性機序については、RELAY 試験においてエルロチニブ群とエルロチニブ+ラムシルマブ群で T790M の出現頻度に差がなかったことが報告されているが、<sup>17</sup>T790M 以外の機序について包括的に検討したデータはない。そのために REVOL858R 試験において ctDNA や腫瘍組織からそれらの耐性機序を検討することは意義があると考えられる。また、EGFR 変異陽性肺癌の遺伝子発現についてもほとんど検討が行われていない。前述の MET や HER2 の遺伝子増幅が遺伝子発現の上昇に繋がっているかなどの報告は関心のあるところであり、EGFR-TKI 治療後の遺伝子発現の変化をについても検討する意義があると考えられる。

### 2.4. ddPCR 法による治療前検体の T790M 変異の有無による EGFR-TKI の有効性

Exon 20 T790M 変異は、EGFR-TKI 投与前にも認められる症例が 0.5-8.0%存在することが報告されている。<sup>14,15</sup> これらの症例に第 1 世代の EGFR-TKI を投与した場合は、T790M 変異を持たない場合に比べて PFS が短くなることがメタアナリシスにより示されている。

<sup>16</sup>

Droplet digital (dd) PCR 法は高い検出感度を持ち、ごく微少しか存在しない遺伝子変異アレルを検出でき、サンプル中のターゲット遺伝子発現を定量的に評価することが可能である。フランスで実施されたコホート研究では、240 例の EGFR 遺伝子変異陽性例において ddPCR 法で T790M 変異アレルの割合が 0.01%以上となる症例が 8%認められ、これらの症例では、第 1、2 世代の EGFR-TKI の効果が T790M 変異陰性例よりも劣ることが示されている。<sup>17</sup> これらから、治療前の ddPCR を用いた T790M が EGFR-TKI の治療効果の予測因子となる可能性が示唆される。本邦から ddPCR を用いて治療前の ddPCR 法による EGFR-TKI の有効性を検討する後ろ向き研究が行われている(WJOG13119L)。しかし、エルロチニブ+ラムシルマブ療法において治療前 ddPCR を用いた T790M の有無による治療効果の検討はされておらず、オシメルチニブについても十分な検討はなされていないため、本試験において治療前の T790M 変異を検索し有効性との相関性を検討することは意義があると考えられる。

### 3. 試験デザイン

本付随研究では Oncomine TML Assay / Whole Transcriptome sequence / CAPP-sequence / VEGF-A/C/D / Droplet Digital PCR の検査結果と試験治療の結果を用いて、以下を探索的に検討する。

- ① *TP53* 遺伝子変異と *EGFR* 遺伝子変異を同時に有する患者における、エルロチニブ+ラムシルマブ群とオシメルチニブ単剤治療群の有効性の比較検討
- ② 治療開始前、病勢増悪時の血液/組織検体を用いた *EGFR*-TKI の耐性メカニズムの検討
- ③ 治療開始前および治療開始後の VEGF 血中濃度と耐性メカニズムの検討
- ④ 治療前の遺伝子発現プロファイルからのエルロチニブ+ラムシルマブおよびオシメルチニブの有効性の差異の検討
- ⑤ *EGFR*-TKI 治療前後における遺伝子発現の差異の検討
- ⑥ ddPCR 法による治療前検体の T790M 変異の有無によるエルロチニブ+ラムシルマブ群、オシメルチニブ単剤治療群の有効性の比較検討

### 4. 対象

本付随研究は、WJOG14420L「*EGFR* 遺伝子 L858R 変異陽性進行再発非扁平上皮非小細胞肺癌に対するエルロチニブ+ラムシルマブとオシメルチニブを比較する第 III 相臨床試験」の登録患者のうち以下のごとく同意している症例を対象とする。ただし、治療前および病勢増悪時に取得された生検検体量不足により、測定実施できない場合もある。測定実施に必要な生検検体量不足の場合は、測定を施行せず解析の際に欠損値として扱い、再生検は行わない。

- (a) 治療開始前に本付随研究に関して別途同意が得られた患者。
- (b) 既に WJOG14420L 試験治療が開始され、本付随研究に関して別途同意が得られた患者。
- (c) 既に WJOG14420L 試験治療が開始され、何らかの事情（死亡、転院等）で本人からの同意取得が困難な場合には、本付随研究対象者から文書または口頭による同意取得は行わない。ただし、対象者または代諾者に研究参加拒否の機会を与えるため、オプトアウトについての資料を掲示し、研究参加拒否の申し出があった対象者のデータは解析から削除し、直ちに破棄する。

### 5. 試験参加

#### 5.1. 参加申し込みと必要書類提出

- 1) 本体試験である WJOG14420L 試験に参加しており本付随研究に参加を希望する施設の

- 代表医師研究責任者は、参加申込書および研究実施計画書合意書を WJOG 宛に提出する。
- 2) 施設の研究責任者は、(i) 施設審査機関の審査に基づく施設の試験参加承認書（人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針に基づく一括審査が不可の施設）または (ii) 施設長の実施許可書（一括審査が可の施設）を WJOG に FAX 送信もしくは PDF を E-mail で送付する。
  - 3) WJOG は施設の試験参加承認書もしくは実施許可書のコピーを研究事務局に送付する。
  - 4) WJOG は参加手続き完了を確認した後、登録を受付ける。

## 6. 登録

参加施設の担当者は本付随研究の登録票を WJOG 研究事務局へメールで送付する。検体の送付や臨床情報のやり取りの際には検体登録番号（本試験番号 TR）を使用する。

### 6.1. 登録手順

登録票に必要事項をすべて記入の上、WJOG に登録票を送付する。

E-mail : datacenter@wjog.jp

受付時間 : 月～金、9 時～17 時（祝祭日、年末年始 12/29-1/3 を除く）

### 6.2. 登録に関する連絡先

WJOG データセンター

TEL : 06-6633-7400 FAX : 06-6633-7405

E-mail : datacenter@wjog.jp

受付時間 : 月～金、9 時～17 時（祝祭日、年末年始 12/29-1/3 を除く）

### 6.3. 登録の完了

WJOG は、登録番号を記載した「登録結果通知」を登録医師宛てに発行する。この送付をもって登録完了とする。

### 6.4. 保管書類

- 1) 登録票原本
- 2) 登録結果通知

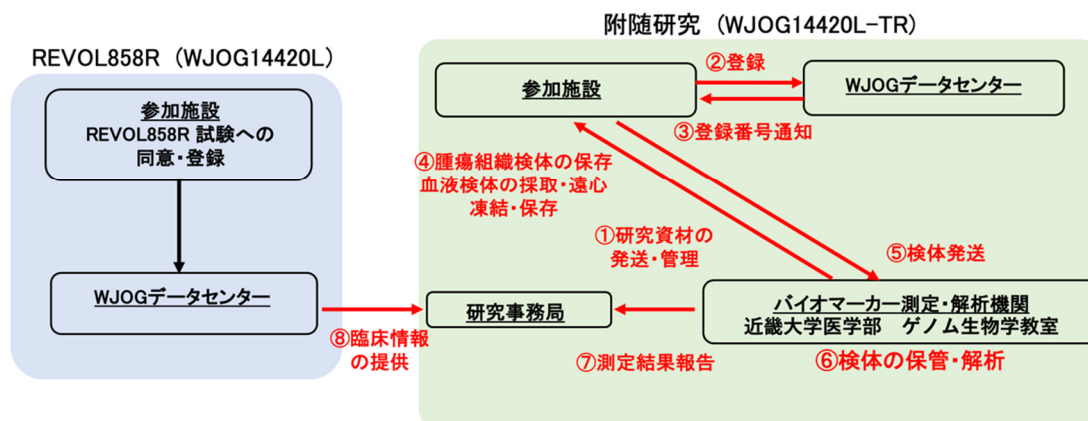
### 6.5. 注意事項

- 1) 一度登録された患者は、登録は取消されない（データベースから抹消されない）。
- 2) 重複登録の場合には、原則として初回の登録情報（登録番号）を採用する。
- 3) 誤登録および重複登録が判明した場合は、速やかに WJOG に連絡する。

## 7. 研究の方法

### 7.1. 研究のフローチャート

#### 本研究の流れ～検体及び臨床情報～



- ①研究事務局から施設宛に、研究に必要な資材(スライドグラスケース、検体ラベル、依頼用紙、採血管、保存チューブ)が発送される
- ②参加施設は、本研究に関して同意を得られた症例をデータセンターに登録する
- ③WJOG データセンターは参加施設に本研究の登録について通知する
- ④参加施設は指定のタイミングで腫瘍組織検体、血液検体を採取し、保存する(血液検体は遠心分離および凍結保存を行う)
- ⑤事務局の連絡を受けた参加施設は、近畿大学医学部ゲノム生物学教室に検体を発送する
- ⑥近畿大学医学部ゲノム生物学教室において、検体の保存と解析を行う
- ⑦⑧バイオマーカーの測定結果は、研究事務局に送付され、WJOG データセンターから提供された臨床データを統合し解析を行う

### 7.2. 検体の採取ポイント

治療開始前、病勢増悪時の2ポイントで血液検体と組織検体を採取する。またB群(エルロチニブ+ラムシルマブ併用療法)の再生検でT790M変異陽性で、試験治療として引き続きオシメルチニブを投与する症例においても、オシメルチニブの病勢増悪時の組織検体・血液検体を採取する(表6.2.を参照)。

(表 6.2.)

	検体	①プロトコール治療前	②プロトコール治療 PD 時	③オシメルチニブ PD 時 (T790M 陽性例)
A 群	腫瘍組織	●	▲	
	血液検体	●*	●*	
B 群	腫瘍組織	●	●	▲
	血液検体	●*	●*	●*

▲：日常臨床で再生検が行われ残余組織検体を有する場合

\*：本体研究のプロトコール治療開始後に本研究に参加した被験者の血液検体は収集しない。

### 7.3. 腫瘍組織、血漿検体の必要量

腫瘍組織検体：4-5 $\mu$ m に薄切したコーティングスライド 15 枚 (検体が小さく切り出し困難であれば 15 枚以下でも可) を提出する。オシメルチニブ PD 時の組織検体も可能な限り採取する。組織検体は日常臨床で得られた検体の残余検体を使用するものとし、腫瘍組織検体の提出は可能な限り (腫瘍組織が提出できる限り) 行う。組織検体の質や量などの関係で提出が困難なポイントがある場合は許容できるポイントのみの提出とする。

血漿検体：全血として 21ml を採取する。同意が得られた被験者から採取する。ただし、本体研究のプロトコール治療開始後に本研究に参加したため、治療開始時の血液検体が得られない被験者に関しては、血液検体は収集しない。

### 7.4. 測定項目

治療前の血漿中の cell-free DNA および腫瘍組織の DNA を用いて *TP53* をはじめとした種々の遺伝子を解析する。耐性時の EGFR-TKI への耐性変異や、耐性時の遺伝子発現量について検討する。血漿中の VEGF の血漿濃度と治療効果について検討する (表 6.4.)。

#### 7.4.1. Cell free DNA を用いた CAPP-sequence 遺伝子解析

Cancer Personalized Profiling by deep Sequencing (CAPP-Seq) は、*TP53* 遺伝子変異を含む 197 種類の遺伝子の癌特異的に変異を認める領域を同時にシークエンスし、cell free DNA の変異を高効率に検出できる超高感度な DNA 定量法である。<sup>18</sup> 本付随研究では、治療開始前および病勢増悪時の血液検体より cell free DNA を抽出し、治療前後の *TP53* 遺伝子変異の有無や EGFR-TKI の耐性機序や有効性と関連しうる癌特異的な遺伝子変異を解析する。

#### 7.4.2. OncoPrint Tumor Mutation Load Assay を用いた遺伝子解析

OncoPrint Tumor Mutation Load Assay は、ゲノム領域の 1.7Mb をカバーするマルチプレックス PCR (AmpliSeq™) ベースのターゲットパネルを利用した次世代シーケンシング (NGS) アッセイである。<sup>19</sup> 本付随研究では、治療開始前および病勢増悪時の組織検体において、DNA を抽出し、OncoPrint Tumor Mutation Load Assay を用いて *TP53* 遺伝子変異を含む癌特異的な遺伝子変異を認める領域を同時にシーケンスする。

#### 7.4.3. Whole Transcriptome sequence 遺伝子発現解析

Whole transcriptome sequence 解析 (Thermo Fisher 社) は、coding 領域の遺伝子発現を網羅的に検討する手法である。<sup>20</sup> 本付随研究では、治療開始前および病勢増悪時の組織検体において、RNA を抽出し、Whole transcriptome sequence 解析を用いて遺伝子発現量を測定する。

#### 7.4.4. 血中 VEGF-A/C/D 濃度解析

血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) は、癌の増殖や転移に際して病的血管新生の中心的役割を果たしている。<sup>8-10</sup> ラムシルマブは、VEGF-A、VEGF-C、VEGF-D とその受容体 (VEGFR) の VEGFR-2 の結合を阻害する事で、抗腫瘍効果を発揮する。本付随研究では、治療開始前、病勢増悪時の血液検体における VEGF の発現変化を ELISA もしくはサスペンションビーズアレイ法を用いて解析する。

#### 7.4.5. Cell free DNA を用いた Droplet Digital PCR 解析

Droplet Digital PCR (ddPCR) は、限界希釈したサンプル DNA を微小区画内に分散させて PCR 増幅を行うことで、従来のリアルタイム PCR と比べてはるかに高精度、高感度に定量する DNA 定量法である。<sup>21,22</sup> EGFR-TKI の耐性機序として、MET 等の活性化によるものが知られており、本付随研究では MET 等の遺伝子コピー数増幅を測定する。MET 等の遺伝子コピー数増幅の測定法はいくつか存在するが、Droplet Digital PCR の手法を用いた測定法が高感度であると報告されている。<sup>21,22</sup> 本付随研究では、主に病勢増悪時の血液検体より CAPP-Seq において MET などの gene amplification が疑われる症例について、cell free DNA を抽出し遺伝子コピー数増幅を測定することで Validation を行う。

#### 7.4.6. ddPCR 法による治療前検体の T790M 変異の解析

ddPCR 法は上記のように高い検出感度を持ち、治療前サンプル中の微少な T790M の有無について検討できる。<sup>23-26</sup> 以上から本研究において、治療前検体を用いた ddPCR 法による T790M 変異の有無を評価可能な症例を対象とし、EGFR-TKI の治療効果と ddPCR 法による T790M 変異の関連性を明らかにする。



(表 6.4.)

	項目	アッセイ
TP53 を中心とした Co-mutation の検討	腫瘍組織を用いた遺伝子変異解析	Oncomine TML assay ddPCR (T790M)
	血液検体を用いた遺伝子変異解析	CAPP-Seq
耐性に関わる遺伝子異常の検討	病勢増悪時の腫瘍組織を用いた遺伝子変異解析	Oncomine TML assay
	病勢増悪時の血液検体を用いた遺伝子変異解析	CAPP-Seq ddPCR (METamp 等) ELISA (VEGF-A/C/D)
遺伝子発現解析	治療開始前の腫瘍組織を用いた Whole transcriptome 解析	Whole-transcriptome RNA-Seq
	病勢増悪時の腫瘍組織を用いた Whole transcriptome 解析	

### 7.5. 腫瘍組織検体の処理・保管方法

本試験に参加申し込みされた時点で、研究事務局からスライドグラスケース、検体ラベル、依頼用紙を参加施設責任研究者に届けられる。

#### 手順

- (1) 未染スライドの作成は、研究事務局より連絡が来るまでは行わない(検体の劣化を避けるため)。
- (2) 研究事務局から連絡を受けたタイミングで、研究施設は腫瘍組織のホルマリン固定パラフィン包埋組織検体を用い、4-5 $\mu$ mに薄切したコーティングスライド15枚(検体が小さく切り出し困難であれば15枚以下でも可)を準備する。
- (3) 代表医師は未染スライドに「登録番号」「スライド通し番号」「検体の採取ポイント (①治療前の検体、②PD時検体、③エルロチニブ+ラムシルマブ後のオシメルチニブのPD時)」をそれぞれ記入する。

#### 検体依頼書に記載する番号の記載例

14420L (試験名) -0XX (WJOGより付与される症例登録番号) -X (検体の採取ポイント)

- (4) 薄切が終了次第(可能な限り14日以内)、提出依頼書と共に搬送業者に手渡し、指定の容器にて室温条件下で搬送する。

細胞診検体によるセルブロックの提出も細胞数が十分であれば許容する。薄切後の検体保管は直射日光を避け常温とする。PD時検体はPD確定後12週間以内に採取された検体が望ましい。PD時検体は、次治療を開始する前に採取した検体を提出する。

## 7.6. 血液検体の処理・保管方法

本試験に参加申し込みされた時点で、測定機関（近畿大学医学部ゲノム生物学教室）からEDTA-2Na採血管、保存チューブ、依頼用紙をあらかじめ参加施設責任研究者に届けられる。

プロトコル治療開始前の検体は同意取得時から初回治療開始前までに採取する。PD時の検体はPD確認後から12週間まで、かつ次治療開始前に採取する。参加施設での検体の保存期間は12ヶ月まで可とする。血液検体の取り扱いについては、各医療施設内の院内感染症対策基準に従い、原則的にスタンダードプリコーションに基づいて業務を行う。凍結した血液検体の「融解」は厳禁である。

### 手順

血液を全血として合計21 ml 各々の採血ポイントで採取し、以下のように処理する。

(1) 7 ml の静脈血をEDTA-2Na採血管（ベノジェクトII真空採血管（テルモ，VP-NA070K））に3本採取し、5, 6回回転混和、遠心（1,400 g, 10分）により血漿を分離する。分離した血漿は、保存チューブ（セラムチューブ2mL（住友ベークライト，MS-4603））6本に分注し、-20℃～-80℃条件下に凍結保存する。遠心分離と凍結保存は採血後4時間以内に行う。

(2) それぞれの保存チューブには予め研究名を印字したシールが添付されている。施設研究者は「登録番号」「採血ポイント」（①治療前の検体、②PD時検体：③エルロチニブ+ラムシルマブ後のオシメルチニブのPD時）をシールに追記する。

(3) 検体送付する旨の連絡を研究事務局より受けた各施設の代表医師は国際空輸株式会社と連絡し、専用保存チューブと依頼用紙を手渡す。国際空輸株式会社は近畿大学医学部ゲノム生物学教室に冷凍便で検体を郵送する。

## 7.7. 測定機関における検体の保存及び破棄

検体保存場所は、近畿大学医学部ゲノム生物学教室の研究室とする。血漿は-80℃のディープフリーザーに、腫瘍組織FFPEは遮光室温下で保存する。検体保存場所のセキュリティは施設の入り口、及び研究室の入り口のオートロックにより保たれる。検体保存責任者を近畿大学医学部ゲノム生物学教室西尾和人とする。検体は検体保管表（登録番号、検体採取日、検体受取日、保管場所を記載）とともに保管される。

検体の保存期間は本試験の最終解析より5年間とする。保存期間を過ぎた検体は、破棄される。また検体等提供患者より同意の撤回があった場合等、必要に応じ検体は破棄される。

検体の破棄の際はラベルの登録番号を消去する。同意の撤回等により破棄すべき検体が、参加施設で保管されている場合、各施設の担当医師が破棄する。検体は感染性廃棄物であり、各施設の規約に従って破棄される。

#### 7.8. 余剰検体の 2 次利用について

余剰検体の 2 次利用を行う場合には、研究計画書を作成し、WJOG（常任）理事会の承認を得る。試験に携わる組織での倫理審査部門による審査・承認及び研究機関の長の許可は各種法令等に従い手続きを行う。

#### 7.9. 検体使用についての同意撤回

被験者が、提供した検体の使用について同意を撤回した場合、その検体を処分／廃棄し、解析に使用しない。ただし、同意撤回時に既に研究結果が発表されていた場合にはこの限りではない。

#### 7.10. 遺伝子情報の開示

本研究で得られる遺伝子情報やその治療効果との関係は確定的でなく、原則として提供者遺伝子情報は開示しない。ただし主治医が開示することが患者にとって有益であると判断し、かつ測定解析が終了していた場合\*に限り、あくまで未承認の測定方法による測定結果として開示可能である。

\*遺伝子の測定解析は、多数のサンプルが集積された後にまとめて行うため個別の測定解析は不能。

## 8. 検査結果収集方法

研究事務局は、近畿大学ゲノム生物学教室から解析結果を受領する。また治療効果及び予後解析においては、下記について WJOG14420L 本体研究の臨床データを利用する。

#### 8.1. 患者基本情報

患者識別コード、年齢、性別、身長、体重、ECOG performance status (PS)、組織型、喫煙歴（年数、本数）、病期、臨床検査値、EGFR 遺伝子変異情報、既往歴、合併症、放射線療法歴、検査を行った検体の採取臓器（肺、肝、リンパ節、胸水、胸膜、その他臓器）、確定診断日、採取方法（気管支鏡検査、EBUS-TBNA 検査、経皮針生検、胸腔鏡、胸腔穿刺、外科的針生検）

## 8.2. プロトコール治療内容

レジメン、開始時の ECOG PS、WJOG14420L 試験登録日・治療開始日、投与サイクル数、最終投与日、PD 確認日、治療中止日、治療中止理由 (PD、毒性中止、その他の内容)、有害事象、プロトコール治療期間の臨床検査値

## 8.3. 生存情報

死亡日、最終生存確認日、死亡理由

## 8.4. 後治療

後治療の有無、後治療の内容

# 9. 統計解析

統計解析の概要を示す。詳細な解析方法については、別途定める統計解析計画書に記載する。

## 9.1. 解析対象

各種バイオマーカーが測定されている症例のうち、WJOG14420L の最大解析対象集団 (FAS) に該当する症例を対象とする。

## 9.2. データの取扱い

検査、観察項目の中で、検査、観察が一度もなされなかった項目については、欠測として取り扱う。欠測に対し推定値または計算値などによるデータの補完は行わない。

## 9.3. 統計解析手法

無増悪生存期間 1・無増悪生存期間 2・全生存期間・治療戦略成功期間・治療成功期間・EGFR-TKI による治療期間

各種バイオマーカーを 2 群に分け、Kaplan-Meier 法を用いて生存曲線を作成する。Log-rank 検定を用いて p 値を算出し、比例ハザードモデルを用いてハザード比とその 95% 信頼区間を算出する。検定の有意水準は定めない。

また、各種バイオマーカーとの関連を、Cox 比例ハザードモデルを用いて探索的に評価する。

奏効割合

各種バイオマーカーを 2 群に分け、奏効割合とその 95%信頼区間を求める。カイ二乗検定(必要に応じて Fisher の正確確率検定)を用いて p 値を算出する。検定の有意水準は定めない。

また、各種バイオマーカーとの関連を、ロジスティックモデル回帰分析を用いて探索的に評価する。

#### 9.4. 症例数設定根拠

本体研究である WJOG14420L に登録される患者のうち、本付随研究に同意した患者が対象となるため、統計的仮説検定に基づく症例数設定は行わないが、参加可能な実施医療機関数などを考慮して 200 例を目標に集積する。血液検体は本付随研究開始後より前向きに集積開始となるため、120 例を目標に集積する。登録期間、追跡期間は WJOG14420L に準ずる。

## 10. 予測される結果および危険

### 10.1. 予測される研究結果

本付随研究に参加する患者に直接的な利益はないが、エルロチニブとラムシルマブ併用療法による *TP53* 遺伝子変異別の治療効果を予測する因子が推定されることが予想される。

### 10.2. 予測される危険・不利益

組織検体は日常臨床で得られた検体の残余検体を使用するものを使用するため、危険や不利益は発生しない。採血については 21 mL の全血を採取するのみであり、日常診療で採取する検体量を大きく超過するものではなく、危険性はほぼないものと考えられる。採血の手技による合併症としては、止血困難、皮下出血、消毒などによるアレルギー、神経損傷、血管迷走神経反応、疼痛、感染、血腫等が挙げられる。

本付随研究の実施に起因して試料提供者に何らかの健康被害が発生した場合、最善の治療を提供するものとし、金銭による補償は行わない。また、健康被害に対するその他必要な措置は健康保険が適用される。また、研究の協力に同意しない場合でも、何ら臨床上の不利益を受けない。

## 11. 倫理的事項

本付随研究に関わるすべての研究者はヘルシンキ宣言 (2013 年 10 月フォルタレザ改訂版) および「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」(令和 3 年 3 月 23 日版)に従い本試験を実施する。がん関連遺伝子の体細胞遺伝子異常のみを対象とするため、文部科学省、厚生労働省、経済産業省の三省合同指針である「ヒトゲノム・遺伝子解析研究

に関する倫理指針」の対象とはならない。また、患者の安全と人権を損なわない限りにおいて本試験実施計画を遵守する。

### 11.1. 個人情報等の取扱い

個人の識別には本研究の症例登録時に発番された登録番号(検体コード)を用いる。患者識別は、登録番号(検体コード)と施設症例番号(ID)を併記した対応表でのみ可能であり、各研究機関(参加医療機関)において対応表を適切に管理する。患者データのやりとりにおいては、最大限プライバシーを保護する。また登録番号と遺伝子解析結果を結びつける対応表は、WJOG データセンターで厳重に保管する。

### 11.2. インフォームドコンセント

#### 11.2.1. 同意の取得

担当医師は、患者の登録の前に、施設審査機関の承認を得た同意説明文書を用いて 11.2.2 の項目の十分な説明を行う。また、患者に対して質問する機会と試験に参加するか否かを判断するのに十分な時間を与える。

患者が本試験の内容を十分理解したことを確認した後、患者本人の自由意思による試験参加の同意を文書により取得する。

担当医師は、記名捺印または署名し、日付を記入された同意書の写しを患者に速やかに手渡す。同意書の原本は適切に保管する。

#### 11.2.2. 患者への説明内容

1. はじめに
2. 本研究の対象と目的および方法
3. 本研究の期間と参加人数
4. 本研究に参加することによる利益と不利益
5. 参加の同意と同意撤回について
6. 検体、情報の取扱いについて
7. 本研究の倫理面について
8. 直接閲覧およびデータの二次利用
9. プライバシーの保護について
10. 知的財産権について
11. 本研究の運営費用について
12. 利益相反について
13. 遺伝カウンセリングについて
14. 質問の自由
15. 問い合わせ窓口

## 16. 文書による同意

### 11.2.3. 同意後の問い合わせ、相談等に対する対応

登録後に患者やその家族から本付随研究に関する相談があった場合には、原則として当該患者の医療機関の研究者（研究責任医師）が対応にあたる。対応の方法が不明な場合には、相談の内容にあわせて研究代表医師、グループ代表者、データセンター等と協議の上で対応する。

### 11.2.4. 同意の撤回

患者は自らが与えた同意について、随時、不利益を受けることなく撤回することができる。担当医師は患者から同意の撤回があった場合には WJOG データセンターへ連絡する。WJOG データセンターは、測定機関へ連絡、当該患者に関わる試料や結果を破棄する。ただし、すでに結果が公表されている場合には、研究結果については廃棄しなくてよい。

## 11.3. 測定結果の開示

個別遺伝子変異の種類に関しては、担当医から要請があった場合のみ、各担当医へ報告する。これらの情報は将来的に治療適応を決める際の有益な情報となる可能性もあるため、患者及びその家族が希望する場合は、担当医から 1) 腫瘍の体細胞変異を必ずしも反映していない可能性があること、2) 遺伝性腫瘍の原因になりうる遺伝子については本解析の結果では確実に同定できないこと、などを十分に説明した上で、解析結果を開示することが可能である。開示した内容についてはカルテに詳細を記載する。

## 11.4. 審査機関の承認

本付随研究の参加に際しては、本試験実施計画書および患者への同意説明文書、同意書が倫理審査機関で承認されなければならない。

施設長の許可に基づく、施設の研究参加承認文書の原本は施設にて適切に保管し、その写しを WJOG へ送付する。WJOG は、承認文書の写しを研究事務局に送付する。研究事務局はその写しを適切に保管する。

## 10.5. 施設承認の年次更新

原則として、本付随研究承認の更新については、各施設の定めるところに従う。

年次更新承認書を WJOG へ提出する必要はない。

## 11.6. 患者の健康被害に対する責任および補償

研究責任医師または研究担当医師、実施施設は、本試験の実施に起因して患者に何らかの

健康被害が発生した場合は、治療その他必要な措置を行うこととする。

試験期間中の観察・検査・使用薬剤等は患者の健康保険が適応される。また、健康被害に対するその他必要な措置も患者の健康保険が適応される。

## 12. データの取扱いおよび記録の保存

### 12.3.1. データの取扱い

試験実施施設および WJOG は、本付随研究に係る文書または記録、あるいはその写しの取扱いに関して、個人情報の保護に注意を払い、情報の漏洩、紛失、転記、不正な複写などがないように行う。

### 12.3.2. 記録の保存

保管期間は、当該研究の中止又は終了について報告された日から5年を経過した日、又は当該研究の結果の最終の公表について報告された日から3年を経過した日のいずれか遅い日までとする。なお、保管期間終了後は個人情報の保護に配慮し、各施設の定める方法で廃棄する。

保管責任者は以下の通りとする。

試験実施施設：研究責任医師

WJOG：データセンター長

## 13. 試験実施に関する変更、中止ならびに終了

### 13.1. 試験実施計画書の改訂

試験実施計画書の改訂の必要性を認めた場合、変更の妥当性および試験の評価への影響について、必要に応じ効果安全性評価委員会等と協議した上で改訂を行う。

WJOG は、協議の内容、改訂の有無およびその理由などを文書にて記録し、保管する。

WJOG は、試験実施計画書の改訂した内容を速やかに各研究責任医師に連絡し、各施設で定められた手続きを行う。

### 13.2. メモランダム

プロトコル記載の変更が至急に周知するべきである場合および文言の修正等が累積した場合、当該臓器委員長（グループ代表者）並びにデータセンター長の確認のもとにメモランダムを発行することができる。

### 13.3. 試験実施中止および中断



WJOG は、試験自体を中止又は中断する場合には、その旨とその理由の詳細を速やかに施設代表医師に通知する。

なお、中止とは以下のいずれかの理由により、予定より早く試験を終了することを指す。また、中断とは以下の理由が疑われた場合等に、症例登録を一時的に停止することを指す。

- 1) 本試験の目的が達成されたと判断された場合
- 2) 本試験の目的の達成確立が極めて小さいと判断された場合
- 3) 本試験以外の情報に基づき、本試験の意義が否定された場合
- 4) 症例登録の遅延等により、本試験の完遂が困難と判断された場合

中止となった場合の追跡期間及び解析期間は最終登録日を起点として、本実施計画書の記述に従う。

#### 13.4. 試験実施計画からの逸脱等

各施設の研究責任医師は、WJOG との事前の文書による合意および施設審査機関の事前の審査に基づく文書による承認を得ることなく、試験実施計画書から逸脱を行ってはならない。ただし、患者の緊急の危険を回避するためのものであるなど医療上やむを得ない場合、この限りではない。

### 14. 試験終了の報告

本付随研究終了時は、WJOG より速やかにその旨を研究責任医師に通知する。

### 15. 試験の費用負担

本付随研究は日本イーライリリー株式会社の資金提供を受けて行われる。

なお、日本イーライリリー株式会社は、データの管理および結果の公表内容には一切関与しない。

### 16. 利益相反

本付随研究に関わる研究者や WJOG 臨床試験を支援する者の利益相反は以下のように管理する。

- 1) 本付随研究に関わる者の利益相反については、参加施設の定めるところに従う。
- 2) 研究代表者、研究事務局、グループ代表者、理事長等、本試験に中心的な役割をもって関わる者の利益相反に関しては、WJOG 倫理委員会にて管理する。
- 3) この他、WJOG 事務局スタッフの利益相反に関しても同様に管理する。

## 17. 試験成果の帰属と結果の公表

### 17.1. 結果の公表

試験終了後、WJOGの規定に準じ、その成果をまとめ、しかるべき国内外の学会および原則として英文の、学術誌に発表する。

### 17.2. 最終統括報告

研究事務局は、解析期間が終了してから1年以内に、総括報告書及びその概要を作成する。総括報告書及びその概要がWJOG（常任）理事会で承認されたことをもって研究終了とする。

### 17.3. データの提供

試験終了後、規制当局の指示・指導により、個人情報を除いた本試験データを有償または無償で提供することがある。

### 17.4. データの二次利用

本付随研究で得られたデータを二次利用することが有益であるとWJOGが判断した場合は、個人情報の保護に注意を払い、データの二次利用ができる。二次利用の手順としては、研究者は研究実施計画書を作成し、WJOG理事会で審議を受け、承認されたのち、参加施設へ連絡するとともに、WJOGホームページにてその旨を公開し、患者からの拒否の機会を設けたうえで、付随研究や外部へのデータ提供（メタアナリシスなど）にてデータの二次利用を行う。各参加施設においては、当該倫理審査委員会の決定に従うこととする。

### 17.5. 知的財産権

本付随研究の施行において特許権などを含む知的財産権が発生した場合は、WJOGと日本イーライリリー株式会社との間で協議を行う。

## 18. 試験計画の事前登録

本付随研究は、試験実施に先立ち、WJOGが事前にUMIN臨床試験登録システム（UMINCTR）に登録する。

## 19. 試験実施体制

### 19.1. 試験運営機関

西日本がん研究機構(WJOG)が本付随研究を運営する。

WJOG は、癌に対する臨床試験の実施および支援を主な目的として医療専門家が中心となって設立された特定営利活動法人であり、会員からの会費、企業および個人からの寄付ならびに企業からの委託研究による収益を重たる資金源として活動している。

### 19.2. 試験依頼者および研究実施責任者

#### 【試験依頼者】

West Japan Oncology Group (WJOG)

理事長 中川 和彦

〒556-0016 大阪府大阪市浪速区元町1丁目5番7号 ナンバプラザビル 304 号

Tel : 06-6633-7400 FAX : 06-6633-7405

#### 【研究代表者】

林秀敏

近畿大学病院腫瘍内科

〒589-8511 大阪狭山市大野東 377-2

Tel : 072-366-0221 Fax : 072-360-5000

E-mail : hidet31@med.kindai.ac.jp

役割 : 研究計画の策定、研究全体が適正に実施されるように監督し、本研究についての最終責任を負う。

### 19.3. 研究事務局(実施計画書内容に関する問合せ先)

阪本智宏

鳥取大学医学部附属病院呼吸器内科・膠原病内科

〒683-8504 鳥取県米子市西町 36 番地 1

Tel : 0859-38-6537 Fax : 0859-38-6539

E-mail : t-sakamoto@tottori-u.ac.jp

佐藤悠城

神戸市立医療センター中央市民病院呼吸器内科

〒650-0047 兵庫県神戸市中央区港島南町 2 丁目 1-1

Tel : 078-302-4321 Fax : 078-302-7537

E-mail: sugar.you.castle@gmail.com

高森信吉

九州がんセンター呼吸器腫瘍科

〒811-1395 福岡県福岡市南区野多目 3 丁目 1-1

Tel: 092-541-3231 Fax: 092-551-4585

E-mail: shinkichi.takamori@gmail.com

役割：研究計画の策定、試験実施計画書、説明同意文書をはじめとする本研究の各種資料の作成、参加施設への連絡、進捗管理、臨床情報を背景とした試験結果に対する考察等、試験全般を管理する。

#### 19. 4. その他の研究実施体制

##### 【付随研究解析責任者】

下川元継 山口大学大学院 医学系研究科医学統計学分野

〒755-8505 山口県 宇部市南小串 1 丁目 1 - 1

Tel: 0836-22-2111

E-mail: moto@yamaguchi-u.ac.jp

##### 【遺伝子解析】

西尾和人 近畿大学医学部ゲノム生物学教室

〒589-8511 大阪府大阪狭山市大野東 377-2

TEL 072-366-0221 Fax: 072-367-6369

E-mail: knishio@med.kindai.ac.jp

##### 【検体輸送】

国際空輸株式会社 大阪支店 大阪メディカルサポート事業室 宮本 慎一

〒532-0001 大阪市淀川区十八条 3-15-3

Tel: 06-6391-3560

役割：血漿検体・組織検体の施設から近畿大学ゲノム生物学教室への輸送と保管

## 20. 引用文献

1. Bria E, Pilotto S, Amato E, et al. Molecular heterogeneity assessment by next-generation sequencing and response to gefitinib of EGFR mutant advanced lung adenocarcinoma. *Oncotarget*. 2015; 6: 12783-12795.

2. Canale M, Petracci E, Delmonte A, et al. Impact of TP53 Mutations on Outcome in EGFR-Mutated Patients Treated with First-Line Tyrosine Kinase Inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2017; 23: 2195-2202.
3. Labbé C, Cabanero M, Korpanty GJ, et al. Prognostic and predictive effects of TP53 co-mutation in patients with EGFR-mutated non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer*. 2017; 111: 23-29.
4. VanderLaan PA, Rangachari D, Mockus SM, et al. Mutations in TP53, PIK3CA, PTEN and other genes in EGFR mutated lung cancers: Correlation with clinical outcomes. *Lung Cancer*. 2017; 106: 17-21.
5. Tsui DWY, Murtaza M, Wong ASC, et al. Dynamics of multiple resistance mechanisms in plasma DNA during EGFR-targeted therapies in non-small cell lung cancer. *EMBO molecular medicine*. 2018; 10: e7945.
6. 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*. 2019; 14: 193-202.
7. Rachiglio AM, Fenizia F, Piccirillo MC, et al. The Presence of Concomitant Mutations Affects the Activity of EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors in EGFR-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Patients. *Cancers (Basel)*. 2019; 11: 341.
8. Li AM, Boichard A, Kurzrock R. Mutated TP53 is a marker of increased VEGF expression: analysis of 7,525 pan-cancer tissues. *Cancer Biol Ther* 2020; 21: 95-100.
9. Schwaederle M, Lazar V, Validire P, Hansson J, Lacroix L, Soria JC, et al. VEGF-A expression correlates with TP53 mutations in non-small cell lung cancer: implications for antiangiogenesis therapy. *Cancer Res* 2015; 75: 1187-90.
10. Wheler JJ, Janku F, Naing A, Li Y, Stephen B, Zinner R, et al. TP53 alterations correlate with response to VEGF/VEGFR inhibitors: implications for targeted therapeutics. *Mol Cancer Ther* 2016; 15: 2475-85
11. Sun H, Liu SY, Zhou JY, et al. Specific TP53 subtype as biomarker for immune checkpoint inhibitors in lung adenocarcinoma. *EBioMedicine*. 2020; 60: 102990.
12. Sallman DA, DeZern AE, Garcia-Manero G, et al. Eprenetapopt (APR-246) and Azacitidine in TP53-Mutant Myelodysplastic Syndromes. *Journal of Clinical Oncology*. 2021; 39(14): 1584-1594.
13. Piper-Vallillo AJ, Sequist LV, Piotrowska Z. Emerging Treatment Paradigms for EGFR-Mutant Lung Cancers Progressing on Osimertinib: A Review. *J Clin Oncol*. 2020: Jco1903123.

14. Zeng L, Xiao L, Jiang W, et al. Investigation of efficacy and acquired resistance for EGFR-TKI plus bevacizumab as first-line treatment in patients with EGFR sensitive mutant non-small cell lung cancer in a Real world population. *Lung Cancer*. 2020; 141: 82-88.
15. Bennouna J, Girard N, Audigier-Valette C, et al. Phase II Study Evaluating the Mechanisms of Resistance on Tumor Tissue and Liquid Biopsy in Patients With EGFR-mutated Non-pretreated Advanced Lung Cancer Receiving Osimertinib Until and Beyond Radiologic Progression: The MELROSE Trial. *Clinical Lung Cancer*. 2020; 21(1): e10-e14.
16. Tamiya A, Isa SI, Taniguchi Y, et al. Prospective Observational Study of Treatment Resistance-related Gene Screening Using Plasma Circulating Tumor DNA in Third-generation EGFR-TKI Osimertinib Therapy (Elucidator). *Clin Lung Cancer*. 2021; 22(3): e336-e341.
17. 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*. 2019; 20(12): 1655-1669.
18. Chabon JJ, Simmons AD, Lovejoy AF, et al. Circulating tumour DNA profiling reveals heterogeneity of EGFR inhibitor resistance mechanisms in lung cancer patients. *Nat Commun*. 2016; 7: 11815.
19. Chaudhary R, Quagliata L, Martin JP, et al. A scalable solution for tumor mutational burden from formalin-fixed, paraffin-embedded samples using the OncoPrint Tumor Mutation Load Assay. *Transl Lung Cancer Res*. 2018; 7(6): 616-630.
20. Jiang Z, Zhou X, Li R, et al. Whole transcriptome analysis with sequencing: methods, challenges and potential solutions. *Cell Mol Life Sci*. 2015; 72(18): 3425-3439.
21. Newman AM, Bratman SV, To J, et al. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. *Nat Med*. 2014; 20(5): 548-554.
22. Taylor SC, Laperriere G, Germain H. Droplet Digital PCR versus qPCR for gene expression analysis with low abundant targets: from variable nonsense to publication quality data. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 2409.
23. Tian P, Wang Y, Wang W, et al. High-throughput sequencing reveals distinct genetic features and clinical implications of NSCLC with de novo and acquired EGFR T790M mutation. *Lung Cancer*. 2018; 124: 205-210.
24. Yu HA, Arcila ME, Hellmann MD, Kris MG, Ladanyi M, Riely GJ. Poor response to

erlotinib in patients with tumors containing baseline EGFR T790M mutations found by routine clinical molecular testing. *Ann Oncol.* 2014; 25: 423-428.

25. 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.* 2017; 10: 2267-2279.

26. Beau-Faller M, Pencreach E, Leduc C, et al. Independent prognostic value of ultra-sensitive quantification of tumor pre-treatment T790M subclones in EGFR mutated non-small cell lung cancer (NSCLC) treated by first/second generation TKI, depends on variant allele frequency (VAF): Results of the French cooperative thoracic intergroup (IFCT) biomarkers France project. *Lung Cancer.* 2020; 140: 19-26.

## 21. 実施計画書改訂履歴

2021 年 10 月 29 日 常任理事会承認 (ver. 1.00)