

国立がん研究センター研究開発費 26-A-4

「成人固形がんに対する標準治療確立のための基盤研究」班

国立研究開発法人日本医療研究開発機構 革新的がん医療実用化研究事業 15ck0106018h0002

「Liquid Biopsy による分子標的薬の治療感受性・抵抗性の予測および新規獲得耐性機序の解明」

Japan Clinical Oncology Group (JCOG)  
日本臨床腫瘍研究グループ

West Japan Oncology Group (WJOG)  
西日本がん研究機構

# JCOG1404/WJOG8214LA1

JCOG1404/WJOG8214L「EGFR 遺伝子変異陽性進行非扁平上皮非小細胞肺癌に対するゲフィチニブまたはオシメルチニブ単剤療法とゲフィチニブまたはオシメルチニブにシスプラチン+ペメトレキセドを途中挿入する治療とのランダム化比較試験」における附随研究

## EGFRチロシンキナーゼ阻害剤への耐性獲得機構解析と

### Liquid biopsy の有用性を検討するバイオマーカー研究計画書 ver. 1.1

**Biomarker study to clarify the mechanism of acquiring resistance to EGFR-TKI and usefulness of liquid biopsy in EGFR mutation positive Non-small lung cancer**

JCOG 肺がん内科グループ代表者: 大江 裕一郎  
国立がん研究センター中央病院 呼吸器内科

WJOG 呼吸器グループ代表者: 山本 信之  
和歌山県立医科大学 呼吸器内科・腫瘍内科

JCOG/WJOG 研究代表者: 岡本 勇  
九州大学病院 呼吸器科  
〒812-8582 福岡県福岡市東区 3-1-1

JCOG 研究事務局: 岡本 勇  
九州大学病院 呼吸器科  
〒812-8582 福岡県福岡市東区 3-1-1

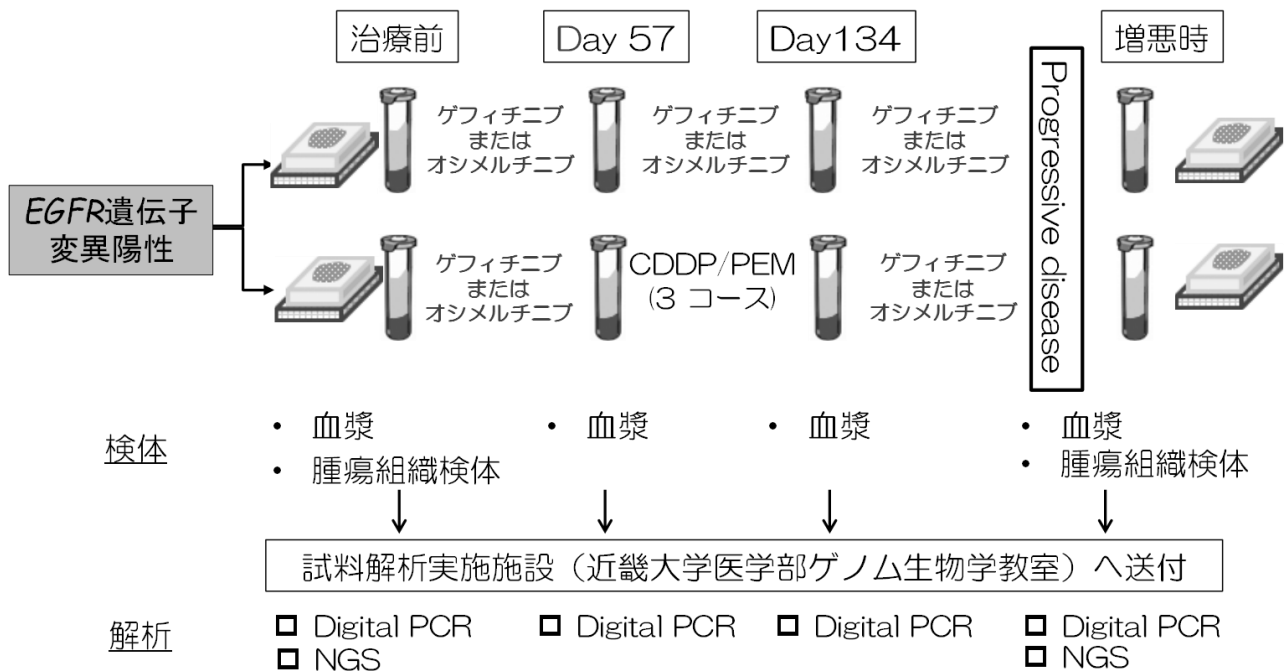
試料解析研究事務局/WJOG 研究事務局: 原田 大志  
地域医療機能推進機構 (JCHO) 九州病院 内科  
〒806-0034 福岡県北九州市八幡西区岸の浦 1-8-1

2016年5月17日 JCOG プロトコール審査委員会審査承認  
2016年6月11日 WJOG 常任理事会承認  
2018年10月15日 ver. 1.1 改訂 JCOG 効果・安全性評価委員会承認  
2018年11月17日 ver. 1.1 改訂 WJOG 常任理事会承認  
2018年11月22日 発効

0. 概要

0.1. シェーマ

[Study Design]



0.2. 目的

JCOG1404/WJOG8214L「EGFR 遺伝子変異陽性進行非扁平上皮非小細胞肺癌に対するゲフィチニブまたはオシメルチニブ単剤療法とゲフィチニブまたはオシメルチニブにシスプラチン+ペトレキセドを途中挿入する治療とのランダム化比較試験」の登録患者のうち本附随研究の適格規準をすべて満たした患者において、以下を探索的に検討する。

1) 目的 1: ゲフィチニブまたはオシメルチニブにシスプラチン+ペトレキセド(CDDP+PEM)を途中挿入することで腫瘍細胞に与える影響を分子生物学的に検討する(JCOG1404/WJOG8214L の仮説の検討)

① EGFR-TKI 耐性解除機構の検討

本附随研究の登録患者のうち増悪時に再生検を実施された患者を対象として、増悪時の腫瘍検体を digital PCR (dPCR) および次世代シーケンサー (Next Generation Sequence: NGS) で解析した際に得られる EGFR 活性化変異および耐性遺伝子 (exon 20 T790M 点変異, C797S 点変異, MET 遺伝子増幅, ERBB2 遺伝子増幅) の結果 (陽性/陰性) を JCOG1404/WJOG8214L の標準治療群と試験治療群とで比較することを第一の目的とする。これにより、JCOG1404/WJOG8214L の仮説である、EGFR-TKI に殺細胞性化学療法を挿入することが EGFR 耐性細胞の増殖抑制または治療効果の向上に影響を与えるか否かについて分子生物学的な裏付けができる。

② 一般的な EGFR 遺伝子解析法では治療前に同定できない耐性遺伝子が dPCR または NGS で同定できるか否かの検討

現時点で保険適用されている一般的な EGFR 遺伝子解析法にて治療前に exon 20 T790M 点変異が認められないことが JCOG1404/WJOG8214L の適格規準に含まれている。しかし、一般的な EGFR 遺伝子解析法よりも dPCR および NGS は感度が高いため、一般的な EGFR 遺伝子解析法では治療前に同定できない耐性遺伝子が dPCR または NGS で同定できるか否かを検討する。

2) 目的 2: Liquid biopsy の有用性に関する検討

① Liquid biopsy が腫瘍検体を用いた遺伝子検査に代わる得る検査になり得るか否かに関する検討

治療前および増悪時の腫瘍検体を一般的な EGFR 遺伝子変異検査 (「2.5.1.」参照) で解析した際に得られる EGFR 活性化変異および EGFR-TKI 耐性関連遺伝子変異の結果 (陽性/陰性) をコントロールとして、腫瘍検体の採取と同時期に採取された liquid biopsy 検体を dPCR または NGS で解

析して得られるそれらの結果(先行研究で用いられている方法で陽性/陰性を分類)を比較する(先行研究で用いられている方法については「4.2.2. 3)」および「4.2.3. 2)」を参照)。また、増悪時 liquid biopsy 検体と腫瘍検体間における dPCR および NGS による耐性関連遺伝子変異に関する一致度を評価する。これにより、liquid biopsy が腫瘍検体を用いた遺伝子検査に代わる得る検査になり得るかを検討できる。

### ② Liquid biopsy による EGFR-TKI 耐性機構の推測

治療経過中および増悪時に採取する血液検体(Liquid biopsy 検体)を dPCR で測定して得られる耐性遺伝子(exon 20 T790M 点変異、C797S 点変異、MET 遺伝子増幅、ERBB2 遺伝子増幅)の結果(陽性/陰性)をもとに、EGFR-TKI に殺細胞性化学療法を挿入することが EGFR 耐性細胞の増殖抑制または治療効果の向上に影響を与えるか否かを推測する。

### ③ Liquid biopsy で得られた結果が予後因子になり得るか否かに関する検討

治療前、経過中、増悪時に採取された Liquid biopsy 検体を Digital PCR または NGS で解析した際に得られる結果((陽陰性および数値))と、治療効果(奏効割合、無増悪生存期間、全生存期間)の関連を検討する。

## 0.3. 対象

本附随研究は、試料の外部提供を含めて本附随研究計画書に関する倫理審査委員会(Institutional Review Board : IRB)などの審査承認に基づく医療機関の長の承認が得られた施設で、JCOG1404/WJOG8214L「EGFR 遺伝子変異陽性進行非扁平上皮非小細胞肺癌に対するゲフィチニブまたはオシメルチニブ単剤療法とゲフィチニブまたはオシメルチニブにシスプラチン+ペメトレキセドを途中挿入する治療とのランダム化比較試験」の登録患者のうち本附随研究への参加に同意した患者を対象とする。

本附随研究の参加に際しては、本体研究である JCOG1404/WJOG8214L への同意とは別に、患者の同意を必要とし、患者本人より同意が得られており、治療前の腫瘍検体(パラフィン包埋切片、凍結検体、悪性胸水検体)の提出が可能である場合のみ、本附随研究に登録可能である(日常診療で得られた検体を提出し、本試験のための新たな検査は行わない)。

## 0.4. 方法

### 1) 登録

本附随研究の適格規準を満たした場合、参加施設の担当者は本附随研究の登録票を試料解析研究事務局(WJOG 研究事務局)へ FAX する。JCOG1404/WJOG8214L と同一の ID を本附随研究においても使用し、検体の送付や臨床情報のやり取りの際にはこの ID を使用する。

### 2) 試料の収集と送付

以下を参加施設から試料測定機関(試料解析実施責任者:西尾和人:近畿大学医学部ゲノム生物学教室)に送付する。

#### ① 腫瘍検体

以下のいずれかの検体を提出する(治療前および増悪時)。なお、日常診療で得られた検体を提出し、本附随研究のための新たな検査は行わない。

優先順位は腫瘍凍結検体=悪性胸水>パラフィン包埋腫瘍組織標本とする(胸水以外の細胞診のみで非扁平上皮非小細胞肺癌と診断した患者は本附随研究の対象外)。なお、悪性胸水で非扁平上皮非小細胞肺癌と診断した患者は適格)。

- 腫瘍凍結検体(-20℃~-80℃保存)
- 悪性胸水 10mL×2 本を遠心分離 (1,400 G×10 min/ 室温)にかけ、上清を破棄した後のペレット 2 本 を-20℃~-80℃保存
- パラフィン包埋腫瘍組織標本  
3-5 ミクロン厚に薄切したスライド標本を 10 枚

#### ② 血液検体

- 血漿(治療前、day 57、day 134、増悪時)  
それぞれ 7 mL×2 本の末梢静脈血を採取し血漿を分離する。遠心は 1,400 G×10 分間とする。事務局より送付されたチューブへ分注し-20℃~-80℃で保存する(本体研究のプロトコール治療開始日を day 1 とする)。

#### ③ 検体送付票

JCOG/WJOG 登録番号を記載する。

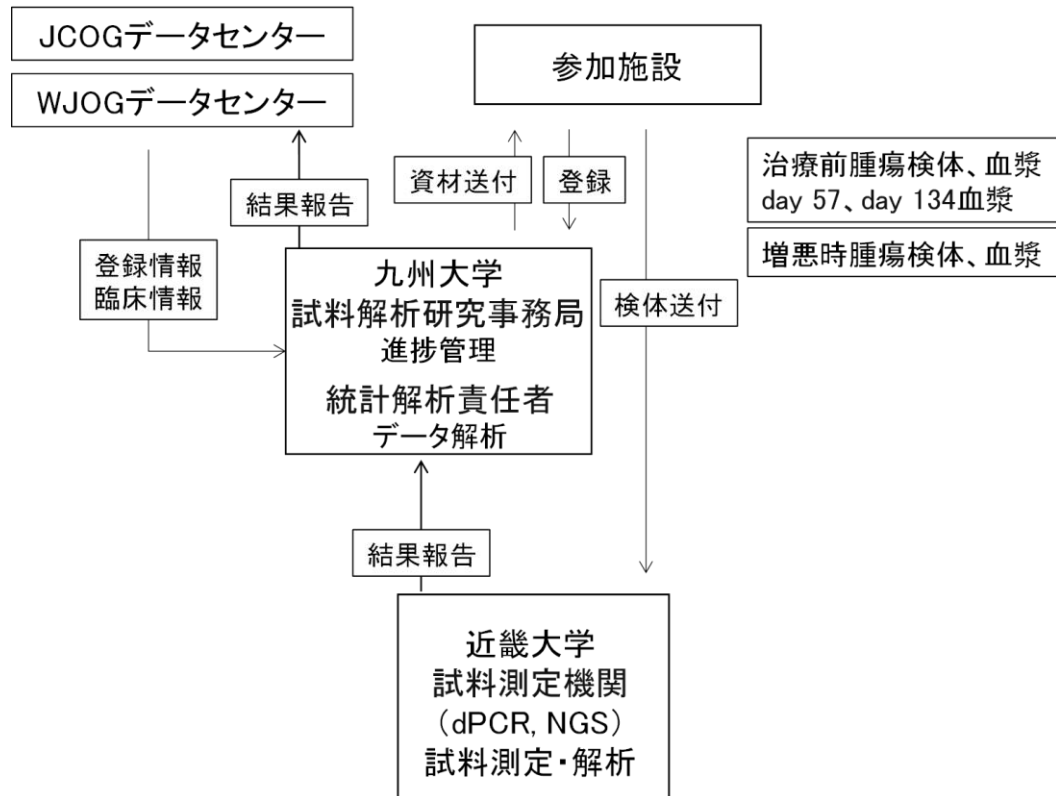
3) 試料解析

試料測定機関(近畿大学医学部ゲノム生物学教室)が以下の測定を行う。測定結果は、全検体の測定が終了した時点でまとめて試料解析研究事務局に送付される。

- 腫瘍検体の EGFR 活性化変異および耐性関連遺伝子変異を dPCR および NGS を用いて解析(コピー数)を実施する。また、血液検体の EGFR 活性化変異および耐性関連遺伝子変異を dPCR にて解析(コピー数)実施する。
- 腫瘍および血液検体で得られたコピー数を先行研究で用いられている方法を用いて陽性/陰性に分類する(「4.2.2. Digital PCR」および「4.2.3. 次世代シーケンス(Next Generation Sequence: NGS)」参照)。

4) 統計解析

試料測定機関、JCOG データセンター、WJOG データセンターは解析に必要な基礎および臨床情報を統計解析責任者(「9.8. 統計解析責任者」参照)に送付する。統計解析責任者および試料解析研究事務局は、あらかじめ統計解析責任者が作成した解析計画書をもとに、試料の測定結果と、JCOG1404/WJOG8214L における化学療法の効果および患者背景等の臨床情報との関連を解析する。JCOG データセンターは統計解析責任者が作成した解析計画書に従い、統計解析責任者が行った解析の結果を validation する。



0.5. 研究期間

予定登録患者数: 250 人

研究期間: 2016 年 6 月より JCOG1404/WJOG8214L 登録終了後 3 年間

0.6. 問い合わせ先

試料解析研究事務局(WJOG 研究事務局): 原田 大志  
 地域医療機能推進機構(JCHO)九州病院 内科  
 〒806-0034 福岡県北九州市八幡西区岸の浦 1-8-1

