

第3世代EGFR-TKI（オシメルチニブ）の耐性機序に
かかわるバイオマーカー探索に関する研究

LOGIK-1607

実施計画書

研究代表者：杉尾 賢二

大分大学医学部 呼吸器・乳腺外科学講座
〒879-5593 大分県由布市挾間町医大ヶ丘1-1
TEL 097-586-5854
FAX 097-586-6449
E-mail : ksugio@oita-u.ac.jp

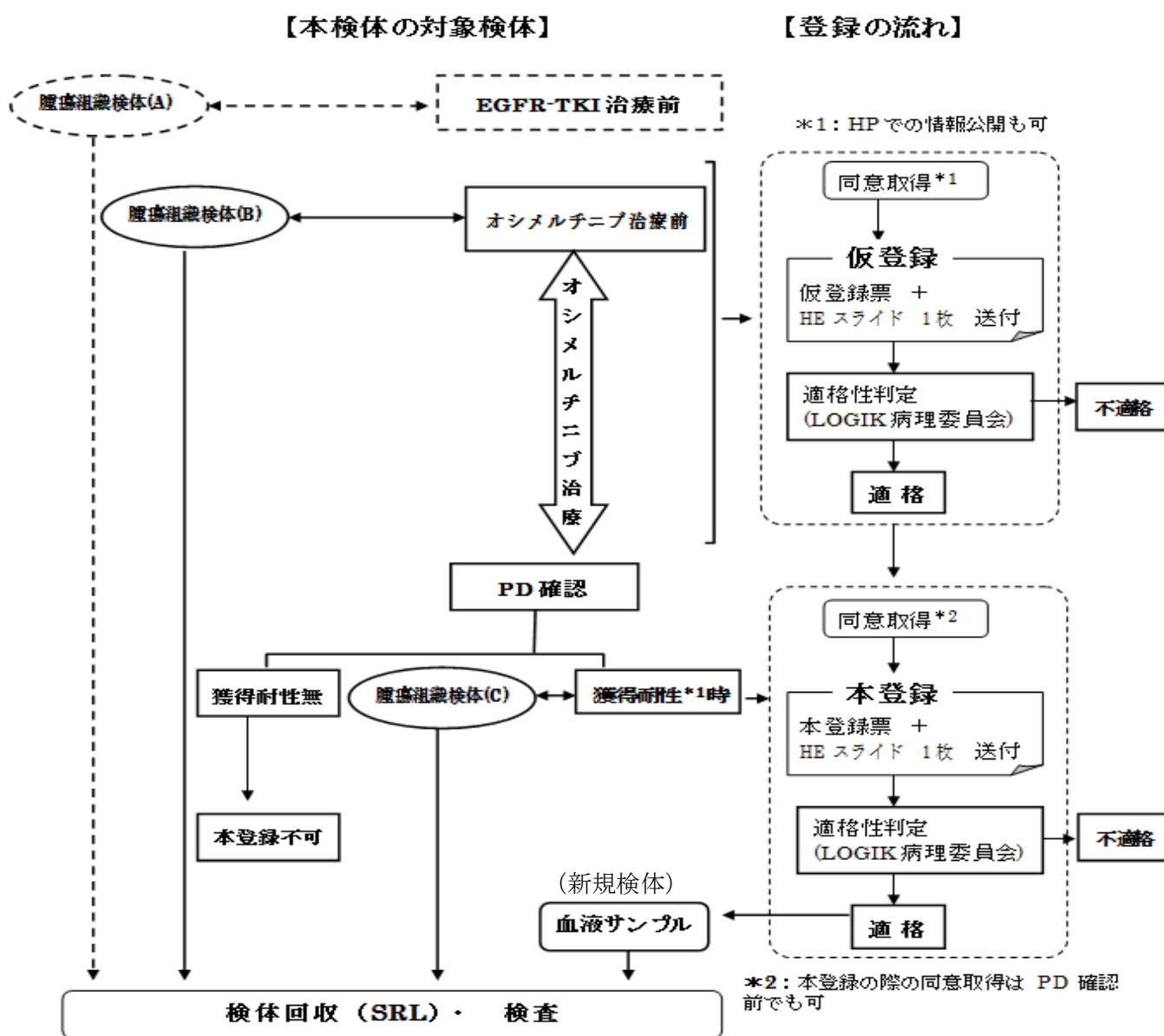
研究事務局：小副川 敦

大分大学医学部 呼吸器・乳腺外科学講座
〒879-5593 大分県由布市挾間町医大ヶ丘1-1
TEL 097-586-5854
FAX 097-586-6449
E-mail : osoegawa-ths@oita-u.ac.jp

2016年 5月 16日	実施計画書	第1版
2016年 7月 12日	実施計画書	第2版
2016年 10月19日	実施計画書	第3版

0. 概要

0.1. シェーマ



腫瘍組織検体(A): EGFR-TKI治療前に採取された腫瘍組織検体 (残余検体、例: 初回生検サンプル、手術切除サンプル等)

腫瘍組織検体(B): 標準的の変異検定法によりT790M陽性であり、オシメルチニブ治療前に採取された腫瘍組織検体 (残余検体)

腫瘍組織検体(C): オシメルチニブ治療獲得耐性*1時に、病変より採取された腫瘍組織検体 (新規検体)

※腫瘍組織検体(A) (B) (C): 4-5ミクロン厚に薄切したスライド標本を10枚以上。標本は、薄切前の元のHEスライドで、面積が5mm²以上、そのうち腫瘍細胞が30%以上を占めるものが望ましい。

獲得耐性*1

オシメルチニブによる治療でPR/CRが確定、あるいは6ヶ月以上継続するSDの後PD

0.2. 目的

EGFR遺伝子変異陽性肺癌に対する第3世代EGFR-TKI（オシメルチニブ）治療耐性のバイオマーカー研究として、オシメルチニブ獲得耐性に関する、既知あるいは新規の因子を検索し、臨床データとの関連を解析する。

探索的評価項目

- 次世代シーケンサ（NGS）を用いる遺伝子解析
- 免疫組織染色法を用いる蛋白質発現解析

0.3. 対象症例

EGFR遺伝子変異陽性およびT790M陽性の非小細胞肺癌において、オシメルチニブ治療後獲得耐性*2時の腫瘍組織検体を、オシメルチニブ治療前の腫瘍組織検体とともに提出可能な症例を対象とする。他の殺細胞性薬剤、分子標的薬または免疫チェックポイント阻害薬とオシメルチニブが併用された患者は除外する。

*2獲得耐性: オシメルチニブによる治療でPR/CRが確定、あるいは6ヶ月以上継続するSDの後PDとなり(計測はRECISTあるいはWHO criteriaによる)、他の抗がん治療(化学療法、放射線療法、免疫療法)を開始していないもの(体腔液貯留に対するminomycin、OK-432、talcによる癒着療法は可)。

0.4. 検体

オシメルチニブ治療後獲得耐性時に、病変より採取された腫瘍組織検体（パラフィン包埋標本）を、オシメルチニブ治療前の検体とともに提出（腫瘍組織検体は標準的変異検定法によりT790M陽性であり、オシメルチニブ治療前に採取すること。下記条件を満たせば、オシメルチニブ治療前後で採取部位や採取方法が異なっても登録可）、オシメルチニブ治療後の検体単独では登録不可。

パラフィン包埋標本：4-5ミクロン厚に薄切したスライド標本を10枚以上。標本は、薄切前の元のHEスライドで、面積が5mm²以上、うち腫瘍細胞が30%以上であるものが望ましい。液性検体や穿刺吸引検体は、セルブロックとしてホルマリン固定後、パラフィン包埋標本を作製し、上の条件を満たすものを登録可能とする。ホルマリン固定パラフィン包埋標本の作製にあたっては、10%中性緩衝ホルマリンを固定に用い、試料採取後24時間以内に切り出しを行うことが望ましい（ゲノム研究用病理組織検体取扱い規程 日本病理学会）。EGFR-TKI治療前に採取された追加組織検体（例、初回生検サンプル、手術切除サンプル等）は、検体が上述の規準に合致する場合、提出が可能である。

血液サンプル：オシメルチニブ治療後獲得耐性*2後、同意が得られた患者で行う（同意取得後、後治療開始前）。10mlの血液をK2EDTA管で採血し、遠心分離（室温で1,400xg、10分）により血漿を分離し、cell free DNA（cfDNA）単離まで-80℃で保存する。-80℃での保存ができない場合は血液サンプルなしでも登録可。

0.5. 測定方法

パラフィン包埋組織切片より核酸を抽出し、次世代シーケンサーにより、体細胞遺伝子変異の検出を行う。また、パラフィン包埋組織切片を用い、蛋白発現を解析する。

Oncomine Cancer Research Panelを用いたディープシーケンシング

免疫組織化学染色による蛋白質発現解析(PD-L1/PD-1、 Foxp3など)

遺伝子解析：パラフィン包埋組織切片より核酸を抽出し、次世代シーケンサーionPGMを用いて、体細胞遺伝子変異の検出を行う。具体的には、株式会社エスアールエルで抽出した核酸より株式会社エスアールエルでOncomine Cancer Research Panel (OCP、Thermo Fisher Scientific Inc.)を用いて、143遺伝子の体細胞変異やコピー数変化、融合遺伝子について測定する。

OCPはホットスポット変異73遺伝子、欠失変異およびコピー数欠損の腫瘍抑制遺伝子の26コード配列、コピー数変化の49遺伝子および融合解析の22遺伝子を含む。標的遺伝子は将来的にOCPの内容に依存して更新される。

cfDNA解析：cfDNAを血漿から抽出し、体細胞遺伝子変異、コピー数変化をionPGMプラットフォームのカスタムパネルを用いて測定する。22遺伝子は、*KRAS*、*EGFR*、*BRAF*、*PIK3CA*、*AKT1*、*ERBB*、*PTEN*、*NRAS*、*STK11*、*MAP2K1*、*ALK*、*DDR2*、*CTNNB1*、*MET*、*TP53*、*SMAD4*、*FBX7*、*FGFR3*、*NOTCH1*、*ERBB4*、*FGFR1*、*FGFR2*である。標的遺伝子は将来的にカスタムパネルの内容に依存して更新される。

蛋白質発現解析：パラフィン包埋組織切片スライドを用いて、大分大学 呼吸器・乳腺外科学講座で、免疫チェックポイントに関連する蛋白質の定量的もしくは定性的測定を免疫組織化学染色法により行う（PD-L1/PD-1、 Foxp3など）。

「0.4.検体」で規定された条件に合致した標本であることを、各参加施設の病理医または研究者が確認の後、オシメルチニブ治療前腫瘍組織検体のHEスライドを仮登録として登録・データセンターに提出する。LOGIK病理委員会による中央判定の後、適格性を確認する。仮登録を受付終了後、患者のオシメルチニブ治療後獲得耐性*2が確認されたら、本登録として、オシメルチニブ治療後獲得耐性時腫瘍組織検体のHEスライドを、仮登録時同様、登録・データセンターに提出する。LOGIK病理委員会による中央判定にて、適格性が確認された後、血液検体ならびにオシメルチニブ治療前/治療後の検体回収を行う。

データ解析はSRLにてOncomine toolを用いて行い、解析結果の解釈は必要に応じて遺伝子解析の専門家の協力を得る。

0.6. 予定登録数と研究期間

目標症例数：解析対象例として40例（本登録症例）

登録期間：2016年11月～2018年10月31日

0.7. 問い合わせ先

【研究内容に関する連絡先】

研究事務局： 小副川 敦

大分大学医学部 呼吸器・乳腺外科学講座

〒879-5593 大分県由布市挾間町医大ヶ丘1-1

TEL 097-586-5854 FAX 097-586-6449

E-mail : osoegawa-ths@oita-u.ac.jp

【登録先と登録に関する連絡先、受付時間、症例報告書（CRF）記入等】

登録・データセンター：一般社団法人 九州臨床研究支援センター（CReS九州）

TEL: 092-631-2920 FAX: 092-631-2929

E-mail: info1@cres-kyushu.or.jp

受付時間：平日9：00～17:00（土、日、祝日及び12/29-1/3を除く）

※時間外のFAX送付は翌受付日の登録受付となる。