

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
(総括)研究報告書

RET 融合遺伝子陽性の進行非小細胞肺癌に対する 新規治療法の確立に関する研究

研究代表者 後藤 功一

独立行政法人国立がん研究センター東病院
呼吸器内科外来医長

研究要旨

2012年に発見された肺癌の新規ドライバー遺伝子であるRET融合遺伝子の臨床応用を目指した研究を実施した。RET融合遺伝子陽性肺癌（RET肺癌）は全肺癌の1-2%と頻度が低いため、全国規模の遺伝子診断ネットワーク（LC-SCRUM-Japan）を立ち上げ、平成25年2月より遺伝子スクリーニングを開始した。同時に、RET肺癌に対するVandetanibの医師主導治験（LURET study）を世界で初めて開始した。平成26年2月28日現在、LC-SCRUM-Japanには161施設が参加し、602例が登録された結果、RET肺癌が23例スクリーニングされ、このうち8例がLURET studyに登録されている。

研究分担者

葉 清隆	国立がん研究センター東病院	医員
河野隆志	国立がん研究センター研究所	分野長
蔦 幸治	国立がん研究センター中央病院	医長
土原一哉	国立がん研究センター東病院	分野長
石井源一郎	国立がん研究センター東病院	エグゼクティブ
松本慎吾	国立がん研究センター東病院	医師
大津 敦	国立がん研究センター	センター長
山中竹春	国立がん研究センター	室長
佐藤暁洋	国立がん研究センター	室長
大江裕一郎	国立がん研究センター東病院	副院長
田村友秀	国立がん研究センター中央病院	科長
村上晴泰	静岡がんセンター	医長
瀬戸貴司	九州がんセンター	医師
西尾誠人	がん研究会有明病院	部長
里内美弥子	兵庫県立がんセンター	部長
野上尚之	四国がんセンター	医長

A. 研究目的

希少疾患であるRET融合遺伝子陽性の進行非小細胞肺癌（RET肺癌）を対象に、国内未承認の医薬品であるRETチロシンキナーゼ阻害薬Vandetanib（治験成分記号：ZD6474）の薬事承認申請を目指した多施設共同非無作為化非盲検第Ⅲ相試験（医師主導治験）を実施する。

B. 研究方法

RET肺癌の頻度は、肺癌全体の1-2%と非常に低いため、患者のスクリーニングが重要となる。このため、日本全体から多施設が参加する遺伝子診断ネットワークを構築し、この中で「RET融合遺伝子等の低頻度の遺伝子変化陽性肺癌の臨床病理学的、分子生物学的特徴を明らかにするための前向き観察研究」に基づいてRET肺癌のスクリーニングを行う。施設倫理委員会で本研究が承認された

施設のみ、遺伝子スクリーニングへの参加が可能とした。RET 融合遺伝子の診断は、国立がん研究センターで開発した RT-PCR 法、FISH 法を用いて行うこととし、この診断技術を株式会社エスアールエル (SRL) へ技術移管し、実際の臨床検体の遺伝子解析は SRL が行った。同時に Vandetanib の医師主導治験を 7 施設 (国立がん研究センター東・中央病院、がん研有明病院、静岡がんセンター、兵庫県立がんセンター、四国がんセンター、九州がんセンター) で開始し、スクリーニングされた RET 肺癌は、医師主導治験へ登録して、Vandetanib の有効性を検討する方針とした。

医師主導治験である「RET 融合遺伝子陽性の局所進行/転移性非扁平上皮非小細胞肺癌患者を対象とした Vandetanib (ZD6474) の多施設共同非無作為化非盲検第 Ⅲ 相試験」(LURET study) のプライマリーエンドポイントは、奏効割合。セカンダリーエンドポイントは、無増悪生存期間、病勢制御割合、奏効期間、全生存期間、有害事象、前・後化学療法の有効性とした。予定登録数 17 例、登録期間 2 年、追跡期間 1 年であり、主な適格規準は、1) 年齢 20 歳以上、2) 扁平上皮癌以外の非小細胞肺癌、3) 局所療法不能の III 期又は IV 期、4) RET 融合遺伝子陽性 (RT-PCR 法及び FISH 法でいずれも陽性)、5) EGFR 遺伝子変異陰性、ALK 融合遺伝子陰性、6) 1 レジメン以上の化学療法を実施後、7) PS=0-2、8) 測定可能病変あり、9) 主要臓器機能が保持、10) 患者本人から文書による同意が必要とした。治療方法は、21 日を 1 コースとして、Vandetanib 300mg を 1 日 1 回朝食後に経口投与として、疾患の増悪、または許容できない毒性が認められるまで投与を継続することにした。Vandetanib (治験成分記号: ZD6474) は、治験薬提供者であるアストラゼネカ株式会社から無償提供され、治験薬の製造の記録、品質保証の記録も併せて提供される。医師主導治験への登録、モニタリング、安全性情報の管理、データセンター、統計解析については、国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター 臨床試験支援室において行うこととした。

倫理面への配慮としては、患者の人権保護のため、医師主導治験に関係するすべての研究者は、ヘルシンキ宣言、ICH Harmonized Tripartite Guidelines for Good Clinical Practice、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(平成 9 年厚生省令第 28 号) およびその改正、関連通知を遵守して本治験を実施する。医師主導治験を実施するにあたり、治験実施計画書、説明同意文書等の関連文書は事前に、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(平成 9 年厚生省令第 28 号) に規定する治験審査委員会の承認を取得した。患者への説明は、治験審査委員会で承認が得られた研究の内容、費用及び補償の有無、利益相反の有無等について記載された説明文書を用いて行い、

登録前に十分な説明と理解に基づく自発的同意を本人より文書で得ることを規定した。また、医師主導治験が適正に行われていることを確保するため、中央モニタリングに加えて原資料との照合を行う施設訪問モニタリングをサンプリングにて実施することを規定した。監査は、アストラゼネカ社が行う。データマネージメントはデータセンターで行い、データの取り扱い上、患者氏名等直接個人が識別できる情報を用いず、かつデータベースのセキュリティを確保し、個人情報保護を厳守した。

更に、薬事承認後の実地診療における確実な患者選択のために、RET 融合遺伝子のコンパニオン診断薬の開発も同時に行うこととした。本研究では、RT-PCR 法、FISH 法を用いて遺伝子診断を行い、患者のスクリーニングを行うが、新鮮凍結検体から RNA の抽出が必要となる RT-PCR 法は、臨床現場では実施困難な場合が多いと予想されるため、ターゲットキャプチャー法を応用したゲノム DNA から RET 融合遺伝子診断法の開発も同時に行った。このため、スクリーニングのために全国から収集した検体は保存し、今後のコンパニオン診断薬の開発のために二次利用することにした。

C. 研究結果

RET 肺癌のスクリーニングのため、全国規模の遺伝子診断ネットワークとして、Lung Cancer Genomic Screening Project for Individualized Medicine in Japan (LC-SCRUM-Japan) を組織し、平成 25 年 2 月 7 日より遺伝子スクリーニングを開始した。平成 26 年 2 月 28 日現在、LC-SCRUM-Japan には 161 施設が参加し、施設倫理審査委員会で研究が承認された 140 施設で順調に遺伝子スクリーニングが進行中である。平成 26 年 2 月 28 日までに LC-SCRUM-Japan には 602 例の登録があり、既に 23 例 (4%) の RET 肺癌がスクリーニングされている。更に、希少な ROS1 融合遺伝子陽性肺癌 13 例 (4%)、ALK 融合遺伝子陽性肺癌 13 例 (4%) も同時にスクリーニングされている。

LURET study は、平成 24 年 11 月 19 日に PMDA の薬事戦略相談を受け、平成 25 年 1 月 29 日に治験計画届けを厚生労働省へ提出し、2 月 21 日より患者登録を開始した。平成 26 年 2 月 28 日までに LC-SCRUM-Japan でスクリーニングされた RET 肺癌 23 例のうち 8 例が LURET study に登録され、Vandetanib による治療が進行中であり、予想通りの治療効果が認められている。

これらと並行して、RET 融合遺伝子を含む複数の肺癌ドライバー変異を一度にかつ迅速に検出できる multiplex 遺伝子診断法の開発も行っており、微量のゲノム DNA (50ng ~) から、ターゲットキャプチャーを用いて目的ゲノム領域を濃縮し、次世

代シーケンサーで変異を検出するキットの開発が進行中である。これまでに既知の遺伝子変異をもつ約30の細胞株や臨床検体で正確に遺伝子変異の検出が可能であった。

D. 考察

肺癌はがん死亡原因第一位の難治性がんであり、2010年の年間死亡者数は約7万人で、がん死亡の約2割を占めている。非小細胞肺癌（主に腺癌、扁平上皮癌、大細胞癌）は、肺癌全体の約85%を占めるが、約2/3は発見時にすでに切除不能の進行癌であり、これらの患者に対しては化学療法が行われる。しかし、非小細胞肺癌は一般に化学療法の感受性が低く、現在の化学療法による治療成績は1年生存率が約40%と不良であり、非小細胞肺癌の治療成績の向上のためには優れた分子標的薬による個別化治療の推進が不可欠である。

近年、非小細胞肺癌における個別化治療の標的となる遺伝子異常（EGFR 遺伝子変異、ALK 融合遺伝子）が同定され、EGFR 遺伝子変異例に対するEGFRチロシンキナーゼ阻害薬（ゲフィチニブ、エルロチニブ）や、ALK融合遺伝子陽性例に対するALKチロシンキナーゼ阻害薬（クリゾチニブ）の臨床応用によって、従来の化学療法と比較して、著しい治療成績の改善が認められている。

RET融合遺伝子は、2012年に報告された非小細胞肺癌の新しいドライバー遺伝子であり、新規の治療標的となることが期待される。RET肺癌は、肺癌全体の1-2%と頻度は低いが、基礎研究においてRETチロシンキナーゼ阻害薬であるVandetanibの有効性が確認されており、臨床試験に基づいたVandetanibの有効性の確認、早期臨床応用が期待されている。

Vandetanibはアストラゼネカ株式会社が開発中の国内未承認薬である。既に米国FDAでは、2011年4月に切除不能または進行性の甲状腺髄様癌に対する治療薬として承認されている。国内では、肺癌を含む固形がんを対象に第I相試験が行われ、推奨用量は海外と同じ300 mg/dayと設定され、更に、進行非小細胞肺癌に対する第II相試験において、主な有害事象は下痢、皮疹、高血圧、頭痛などで、これまでの報告とほぼ同じであり、安全性の確認は完了している。

RET肺癌は、頻度が1-2%という稀少疾患であるため、治療開発は医師主導治験以外では困難であり、Vandetanibの有効性を評価して薬事承認申請を目指す医師主導治験の実施が必須となる。このVandetanibの有効性を評価する本試験は、世界初の試みであると同時に、今後も明らかになる新たな遺伝子異常を伴う稀少がんに対する分子標的治療薬の開発方法を考える上で、非常に重要な意味を持つと考えられる。

更に、本研究において、我が国初の全国規模の遺伝子診断ネットワークLC-SCRUM-Japanが構築され、希少肺癌のスクリーニングが成功したことは非常に重要である。少数施設で1-2%の頻度の希少な肺癌をスクリーニングして、新規治療法の開発を実施するのは不可能なため、希少肺癌では、従来とは異なる治療開発の方法が模索されてきた。本研究の中でLC-SCRUM-Japanという希少肺癌の遺伝子スクリーニング基盤が実際に構築されたことは大きな意義を持つと考えられる。また、希少肺癌の治療開発においては、正確な診断及び、スクリーニングが可能となるコンパニオン診断薬の同時開発が必須とされている。今後、LC-SCRUM-Japanは、遺伝子変化を伴うその他の希少肺癌のスクリーニングにも応用可能であり、また、全国から集めた多くの検体を利用し、multiplex診断薬を含めたコンパニオン診断薬の開発を担える組織として、更に存在意義が高まっていくと予想される。

E. 結論

本研究では、2012年に我が国で発見された肺癌の新規ドライバー遺伝子であるRET融合遺伝子の臨床応用を目指した研究を行っている。RET肺癌は希少頻度の肺癌であるが、全国規模の遺伝子診断ネットワークであるLC-SCRUM-Japanにおいて順調にスクリーニングが進行している。更に、スクリーニングされたRET肺癌は、Vandetanibの医師主導治験に登録され、治療開発も同時に進行している。このような民間企業の研究と公的資金に基づく医師主導治験との連携による治療開発システムの構築は、今後も明らかになる遺伝子異常を伴う稀少がんに対する分子標的治療薬の効率的な治療開発のモデルケースとして注目されており、個別化治療の発展への大きな貢献が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Suzuki T, Shibata T, Takaya K, Shiraiishi K, Kohno T, Kunitoh H, Tsuta K, Furuta K, Goto K, Hosoda F, Sakamoto H, Motohashi H, Yamamoto M. Regulatory nexus of synthesis and degradation deciphers cellular Nrf2 expression levels. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(12):2402-12.
2. Suzuki M, Makinoshima H, Matsumoto S, Suzuki A, Mimaki S, Matsushima K, Yoh K, Goto K, Suzuki Y, Ishii G, Ochiai A, Tsuta K, Shibata T, Kohno T, Esumi H, Tsuchihara K. 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(7):896-903.

なし
3. その他
なし

3. Suzuki A, Mimaki S, Yamane Y, Kawase A, Matsushima K, Suzuki M, Goto K, Sugano S, Esumi H, Suzuki Y, Tsuchihara K. Identification and characterization of cancer mutations in Japanese lung adenocarcinoma without sequencing of normal tissue counterparts. PLoS One, 2013, 8(9):e73484.
4. Kohno T, Tsuta K, Tsuchihara K, Nakaoku T, Yoh K, Goto K. RET fusion gene: translation to personalized lung cancer therapy. Cancer Sci. 2013, 104 (11): 1396-1400.
5. Yoshida A, Tsuta K, Wakai S, Arai Y, Asamura H, Shibata T, Furuta K, Kohno T, Kushima R. Immunohistochemical detection of ROS1 is useful for identifying ROS1 rearrangements in lung cancers. Mod Pathol. 2013[Epub ahead of print]
6. Arai Y, Totoki Y, Takahashi H, Nakamura H, Hama N, Kohno T, Tsuta K, Yoshida A, Asamura H, Mutoh M, Hosoda F, Tsuda H, Shibata T. Mouse model for ROS1-rearranged lung cancer. PLoS One. 2013,8(2):e56010.
7. Tsuta K, Kawago M, Inoue E, Yoshida A, Takahashi F, Sakurai H, Watanabe S, Takeuchi M, Furuta K, Asamura H, Tsuda H. The utility of the proposed IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma subtypes for disease prognosis and correlation of driver gene alterations. Lung Cancer. 2013,81(3):371-6.
8. Ichinokawa H, Ishii G, Nagai K, Kawase A, Yoshida J, Nishimura M, Hishida T, Ogasawara N, Tsuchihara K, Ochiai A. Distinct clinicopathologic characteristics of lung mucinous adenocarcinoma with KRAS mutation. Hum Pathol. 2013,44:2636-42.
9. Bando H, Yoshino T, Shinozaki E, Nishina T, Yamazaki K, Yamaguchi K, Yuki S, Kajiura S, Fujii S, Yamanaka T, Tsuchihara K, Ohtsu A. Simultaneous identification of 36 mutations in KRAS codons 61and 146, BRAF, NRAS, and PIK3CA in a single reaction by multiplex assay kit. BMC Cancer. 2013,13:405.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
知財(特許出願)
なし
2. 実用新案登録