

はその臨床的意義が不明であり、現時点では評価を得るには情報が不十分である。

個人情報への漏洩は起こり得ないが、万一遺伝情報が漏洩したとしても、提供者やその家族に対する差別などの不利益行為につながる可能性は極めて小さい。

## 7. 試料提供者の費用負担

本研究では被験者の費用負担はない。解析に伴う費用は後述する研究費（15）より負担する。

## 8. 研究実施前試料の使用

本研究では、以下の研究実施前試料を使用する。

- ① 治療前の組織・胸水などの診療残余試料。
- ② 阻害剤治療に際し、診療目的のために採取・保存された組織・胸水などの試料。
- ③ NCC バイオバンクに保存されている包括同意試料（診療残余試料+研究用血液試料）
- ④ 「RET 融合遺伝子等の低頻度の遺伝子変化陽性肺がんの臨床病理学的、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」などの先行する研究で採取され、副次的な研究で 2 次利用することが同意された試料。

## 9. 被験者への遺伝情報の開示

原則として患者への遺伝子解析結果の開示は行わないが、患者から解析結果について開示希望があった場合には、担当医から結果を説明する。解析結果については、①探索的な解析結果であること、②さまざまな臨床的解釈がなされる可能性があること、③解析結果と治療効果が結びつかない場合があること、などについて十分に説明を行う。

遺伝子解析の原データは研究事務局で保管するが、明らかとなった耐性に関わる体細胞遺伝子異常については、現時点ではその臨床的意義が不明なため、被験者および各施設へ通常は報告しない。ただし、遺伝子解析の結果、提供者及び血縁者の生命に重大な影響を与える遺伝情報があることが判明した場合で、意思表示書で解析結果を知りたいと意思表示された患者、もしくは意思表示していなくても、有効な対処方法があるときには、指針に則り、研究機関の長に報告し、研究倫理審査委員会の意見等に基づき、提供者への開示を行う場合がある。

## 10. 試料・情報の廃棄の方法

試料等は、登録患者が廃棄を希望した場合、検体番号が読み取れなくなった場合、試料の取り違いや混入が起きたような場合、その他研究責任者が必要と認めた場合には、研究責任者の判断により必要に応じて廃棄される場合がある。臨床試料から抽出した RNA、DNA、タンパク質の廃棄は、試料の番号などのラベルを完全に削除し、次亜塩素酸ナトリウムなどで試料を破壊したうえで医療用廃棄物として廃棄する。

## 11. 残余検体の他の研究への利用

NCC バイオバンク試料の残余は原則 NCC バイオバンクに返却し、それ以外の試料は将来的な研究への有用性が十分に考えうるため研究所内に保管する。

NCC バイオバンク試料や、診療残余試料を 2 次的な研究に利用する場合も考えうる。その際には、新たな研究計画書を作成し、国立がん研究センターの（場合によっては参加施設の）研究倫理審査委員会の承認を受ける。

## 1 2. 外部機関への解析委託

試料の処理、遺伝子解析、保管、遺伝子変異の機能への影響の推定などの業務の一部を外部の医療検査機関や遺伝子解析受託企業に委託する場合がある。その際、試料や解析用データには匿名化番号のみを付与し委託する。委託契約の際には、情報の安全管理措置について規定する。

## 1 3. ヒト細胞・遺伝子・組織バンクへの試料の提供しない。

## 1 4. 遺伝カウンセリング

本研究で得られる結果は研究段階のものであり、臨床応用には今後多くの時間を要する。従って、本研究で得られた結果をもとに遺伝カウンセリングをおこなう段階ではないと考える。

## 1 5. 研究に要する費用

厚生科学研究費補助金 (革新的がん医療実用化研究事業\_26270101, クリニカルシーケンスによる肺腺がんの治療標的・抵抗性克服分子の同定に関する研究)

がん研究開発費 (24-A-1; 遺伝子変異等の情報を活用した個別化医療開発のための基盤構築)

文部科学省科学研究費補助金 (基盤\_B 26293200; 肺がんドライバー変異であるがん遺伝子融合の発生機構の解明)

## 1 6. 利益相反について

本研究は、厚生科学研究費補助金、がん研究開発費、及び文部科学省科学研究費補助金を資金源として実施する。この他に、特定の団体からの資金提供や薬剤等の無償提供などは受けておらず、研究組織全体に関して起こりうる利益相反はない。本研究の利益相反については、国立がん研究センターCOI委員会の承認を得る。また、研究経過を定期的に国立がん研究センターCOI委員会へ報告することにより、本研究の利害関係についての公正性を保つ。また、共同研究施設の利益相反の管理も上記に準じて行う。

## 1 7. 研究成果の発表

本研究の成果に関しては、国内外の学会、論文で公表する。学会発表者、論文執筆者に関しては、研究代表者、研究事務局、共同研究者で相談のうえ、本研究へ関係した全ての研究協力者の中から、貢献度に応じて選定する。

## 1 8. 研究から生じる知的財産権の帰属

本研究の結果、特許などが生じる場合には、その権利は国、研究機関、共同研究機関および研究遂行者などに属し、被験者には属さない。

## 1 9. 引用文献

- [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.* 2004;350:2129–2139.
- [2] Paez JG, Jänne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: Correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science.* 2004;304:1497–1500.
- [3] Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol.* 2004;27:4247–4253.
- [4] Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 2009;361:947–957.
- [5] Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med.* 2010;362:2380–2388.
- [6] 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.* 2012;13:239–246.
- [7] 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.
- [8] Camidge DR, Bang YJ, Kwak EL, et al. Activity and safety of crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: Updated results from a phase 1 study. *Lancet Oncol.* 2012;13:1011–1019.
- [9] Gainor JF, Shaw AT. Emerging paradigms in the development of resistance to tyrosine kinase inhibitors in lung cancer. *J Clin Oncol.* 2013;31(31):3987-96.
- [10] Kohno T and Ichikawa H, Totoki Y, Oike T, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma *Nat Med* 2012; 18: 375-377. □
- [11] Takeuchi K, et al: RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nat Med.* 2012;18: 378-381.
- [12] Lipson D, et al: Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies. *Nat Med.*2012;18:382-384.
- [13] Kohno T, Tsuta K, Tsuchihara K, et al. RET fusion gene: Translation to personalized lung cancer therapy. *Cancer Sci.* 2013;104:1396-400.
- [14] Drilon A, Wang L, Hasanovic A, Suehara Y, Lipson D, Stephens P, et al. Response to Cabozantinib in Patients with RET Fusion-Positive Lung Adenocarcinomas. *Cancer Discov .* 2013;3:630-5.
- [15] Gautschi O, Zander T, Keller FA et al. A patient with lung adenocarcinoma and RET fusion treated with vandetanib. *J Thorac Oncol* 2013; 8: e43–4.
- [16] Yasuda H, Kobayashi S, Costa DB. EGFR exon 20 insertion mutations in non-small-cell lung cancer: Preclinical data and clinical implications. *Lancet Oncol.* 2012;13:e23–e31.
- [17] Wu JY, Wu SG, Yang CH, et al. Lung cancer with epidermal growth factor receptor exon 20 mutations is associated with poor gefitinib treatment response. *Clin Cancer Res.* 2008;14:4877–4882.
- [18] Sequist LV, Martins RG, Spigel D, et al. First-line gefitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer harboring somatic EGFR mutations. *J Clin Oncol.* 2008;26:2442–2449.
- [19] Turke AB, Zejnullahu K, Wu YL, et al. Preexistence and clonal selection of MET amplification in EGFR mutant NSCLC. *Cancer Cell.* 2010;17:77–88.
- [20] Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science.* 2007;316:1039–1043.
- [21] Heuckmann JM, Balke-Want H, Malchers F, et al. Differential protein stability and ALK inhibitor sensitivity of EML4-ALK fusion variants. *Clin Cancer Res.* 2012;18:4682–4690.
- [22] Engelman JA, Jänne PA. Mechanisms of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14:2895–2899.
- [23] Ellis LM, Hicklin DJ. Resistance to targeted therapies: Refining anticancer therapy in the era of molecular oncology. *Clin Cancer Res.* 2009;15:7471–7478.
- [24] 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.* 2005;2:e73.
- [25] Costa DB, Halmos B, Kumar A, et al. BIM mediates EGFR tyrosine kinase inhibitor-induced apoptosis in lung cancers with oncogenic EGFR mutations. *PLoS Med* 4:1669–1679, discussion 1680,

2007.

- [26] Balak MN, Gong Y, Riely GJ, et al. (2006) Novel D761Y and common secondary T790M mutations in epidermal growth factor receptor-mutant lung adenocarcinomas with acquired resistance to kinase inhibitors. *Clin Cancer Res* 12:6494–6501.
- [27] Bean J, Riely GJ, Balak M, et al. (2008) Acquired resistance to epidermal growth factor receptor kinase inhibitors associated with a novel T854A mutation in a patient with EGFR-mutant lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 14:7519–7525.
- [28] 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 EGFR T790M mutation. *Cancer Discov*. 2012;2:922–933.
- [29] 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 USA*. 2012;109:E2127–2133.
- [30] 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*. 2011;1:608–625.
- [31] 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*. 2008;68:9479–9487.
- [32] Choi YL, Soda M, Yamashita Y, et al. EML4-ALK mutations in lung cancer that confer resistance to ALK inhibitors. *N Engl J Med*. 2010;363:1734–1739.
- [33] Sasaki T, Koivunen J, Ogino A, et al. A novel ALK secondary mutation and EGFR signaling cause resistance to ALK kinase inhibitors. *Cancer Res*. 2011;71:6051–6060.
- [34] Katayama R, Shaw AT, Khan TM, et al. Mechanisms of acquired crizotinib resistance in ALK-rearranged lung cancers. *Sci Transl Med*. 2012;4:120ra17.
- [35] 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.
- [36] 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 USA*. 2008;105:2070–2075.
- [37] Lovly CM, Pao W. Escaping ALK inhibition: Mechanisms of and strategies to overcome resistance. *Sci Transl Med*. 2012;4:120ps2.
- [38] Katayama R, Khan TM, Benes C, et al. Therapeutic strategies to overcome crizotinib resistance in non-small cell lung cancers harboring the fusion oncogene EML4-ALK. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:7535–7540.
- [39] 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 USA*. 2007;104:20932–20937.
- [40] Tanizaki J, Okamoto I, Okabe T, et al. Activation of HER family signaling as a mechanism of acquired resistance to ALK inhibitors in EML4-ALK-positive non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2012;18:6219–6226.
- [41] Guix M, Faber AC, Wang SE, et al. Acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in cancer cells is mediated by loss of IGF-binding proteins. *J Clin Invest*. 2008;118:2609–2619.
- [42] Bivona TG, Hieronymus H, Parker J, et al. FAS and NF- $\kappa$ B signalling modulate dependence of lung cancers on mutant EGFR. *Nature*. 2011;471:523–526.
- [43] Yamasaki F, Johansen MJ, Zhang D, et al. Acquired resistance to erlotinib in A-431 epidermoid cancer cells requires down-regulation of MMAC1/PTEN and up-regulation of phosphorylated Akt. *Cancer Res*. 2007;67:5779–5788.
- [44] Alice T. Shaw, Dong-Wan Kim, Raneer Mehra, et al. Ceritinib in ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2014;370:1189-1197.

(資料2) 肺がん治療への耐性に関わる遺伝子の研究  
RET 融合遺伝子等の遺伝子異常陽性肺がんにおける治療に対する耐性を規定する遺伝子の研究

## ご協力をお願い

### 【説明同意文書】

この冊子は、「肺がん治療への耐性に関わる遺伝子の研究」について詳しく説明した文書です。  
わからないことや心配なことがありましたら、遠慮なく質問してください。

#### 研究代表者

国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター TR 分野  
国立がん研究センター研究所 ゲノム生物学研究分野  
河野 隆志

国立がん研究センター東病院 呼吸器内科  
後藤 功一

#### 研究事務局

国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター TR 分野  
国立がん研究センター研究所 ゲノム生物学研究分野  
河野 隆志、中奥敬史

国立がん研究センター東病院 呼吸器内科  
後藤 功一、葉 清隆

説明同意文書の作成日： 2014年 7月 2日 第1版  
2014年 9月 12日 第1.1版

## 1. 研究と説明文書について

病気の診断や治療方法の開発のためには多くの研究が必要です。現在行われている診断や治療方法も長い時間をかけて研究され、進歩してきました。当機関でも、がん医療の発展に貢献するため、さまざまな研究に積極的に取り組んでいます。

この説明文書は、「肺がん治療への耐性に関わる遺伝子に関する研究（RET 融合遺伝子等の遺伝子異常陽性肺がんにおける治療に対する耐性を規定する遺伝子の研究）」という、国立がん研究センターと各機関が共同して進める研究について説明するものです。この研究の内容を理解して頂き、協力するかどうかを考えて頂くための資料です。担当医師から説明を聞き、分からないことがありましたら何でも質問してください。

## 2. 参加の自由について

この研究に参加するかどうかは、あなた自身の考えでお決めください。

この研究に参加しない場合でも、あなたはなんら不利益を受けませんし、担当医師と気まずくなることを心配する必要もありません。また、研究の参加に同意した後でも、いつでも、またどんな理由でも研究への参加をとりやめることができます。その場合も、あなたはなんら不利益を受けません。

これから、この研究についての詳しい説明をお読みにになり、また、担当医師からの説明を受け、研究の内容を理解し、参加を希望する場合は、最後のページの同意書にサインをお願いします。

## 3. 治療における耐性について

現在、非小細胞肺がんの分子標的薬として、上皮成長因子受容体（EGFR）変異陽性患者さんには、チロシンキナーゼ阻害剤であるゲフィチニブ（イレッサ®）およびエルロチニブ（タルセバ®）が、ALK 融合遺伝子陽性の患者さんには、ALK チロシンキナーゼ阻害剤であるクリゾチニブ（ザコーリ®）が認可されています。また、新たな治療薬も開発が進められています。これらの薬は高い治療効果が見込まれますが、効果のあった場合でも多くの患者さんが再びがんが大きくなることが知られています。また、標的とする遺伝子異常があるにも関わらず、治療への期待された効果が得られない患者さんがいることが知られています。これらを治療に対するがんの耐性と言います。こうした治療への耐性の克服が求められており、耐性のメカニズムを解明する研究が急務となっています。

今回、治療を行っている遺伝子異常を背景とした肺がんも、原因となる遺伝子異常に対する分子標的治療薬によって効果を得られることが期待されていますが、これまでの EGFR 変異や ALK 遺伝子融合に対する治療で得られた経験から、同様に治療への耐性が生じることが懸念されています。

## 4. この臨床研究の対象となる方の病状に関して

この研究の対象は、遺伝子異常に基づいた肺がん治療にも関わらず、治療への耐性が認められた成人の患者さんです。この研究では肺がん治療への耐性に関わる遺伝子を調べるため、肺がんの組織や細胞などの診療で残余試料が得られる患者さんを対象にしています。

## 5. この研究の意義と目的について

同じ種類のがんに対する同じ抗がん剤の治療でも、効果の出方には患者さんごとに差があります。がん細胞のなかで起きている遺伝子の後天的な変化（「体細胞遺伝子変異：たいさいぼういでんしへんい」と呼ばれます）に違いがあることや、抗がん剤を輸送・代謝（活性化および不活性化）・排出するタンパク質を作る遺伝子などに先天的な個人差（「遺伝子多型（いでんし

たけい)」もしくは「生殖細胞系列遺伝子変異(せいしょくさいぼうけいれついでんしへんい)」と呼ばれます)があることなどが理由と考えられています。しかしながら、「なぜ治療への耐性が起こるのか?」、その疑問に答える十分な回答はまだありません。耐性のメカニズムが解明できれば、肺がんの治療をより効果のあるものにつなげられると考えます。この研究では、上に示す2種類の遺伝子の変化を調べることで、耐性のメカニズムの解明とその克服に向けた治療法の開発を目的としています。

## 6. この研究の方法について

最適な肺がん治療を行うためには、診断や治療の各段階で、生検や手術の時に摘出された組織や細胞を調べ、正確な病理診断や遺伝子検査などを行うことが必要となります。多くの場合、これらの組織や細胞は、診断に利用された後に一部が残ります(「残余試料:ざんよしりょうとうと呼びます」)。これらには、肺がん組織や胸水があげられます。あなたがこの研究に参加された場合には、最初から効かなかった病変部や再び悪化してきた病変部から臨床診断を目的に採取された肺がんの組織や細胞などの、残余試料を解析させていただきます。同時に、治療の前後でがん細胞に起こっている変化を調べるため、はじめに肺がんと診断された時の保管されている試料などを比較のため解析させていただきます。

国立がん研究センター病院で診療を受けられた患者さんで「診療目的で採取された血液・組織などの医学的研究への利用と、研究用採血へのご協力をお願い」で同意をいただいている方は、すでに採取されNCC バイオバンク試料として保存されています組織・血液についても解析させていただきます。

NCC バイオバンク試料に関するお問い合わせ窓口は以下の通りです。

国立がん研究センター中央病院 1階 バイオバンク窓口

TEL: 03-3542-2511 内線 7899

これらの検体は、国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター研究所で厳重に保管され、DNA、RNA、タンパク質等の解析を行い、治療の耐性に関わる遺伝子を詳細に調べます。

## 7. この研究全体の実施予定期間と参加いただく患者さんの人数について

この研究は、各施設の倫理委員会における研究許可日から平成31年3月31日まで行います。研究に参加いただく患者さんは最大100名を予定しています。

## 8. この研究への参加により予想される利益と不利益について

### 1) 予想される利益

この研究により、遺伝子異常を標的とする治療に対する耐性に関わるメカニズムが解明され、肺がんの治療成績を向上するための情報が得られることが期待できます。しかしながら、本研究の成果が実際のがん治療に応用されるためには、多くの時間を要すると考えられます。よって、ご参加いただいた方への直接的な利益はほぼないと考えられます。

### 2) 予想される不利益

臨床目的で採取された血液、組織の残余試料を利用するため、この研究によって新たに生じる身体的な危険性はありません。この研究に参加しなくても、肺がんに対する診療は通常通り受けられます。

## 9. 遺伝情報の開示について

この研究では、肺がんの薬物治療に対する耐性に関わる遺伝子を調べます。また、この研究により得られる結果は探索的なもので、さまざまな科学的・医学的解釈がされます。従って、個々の遺伝子解析結果を開示することは原則的にはいたしません。しかしながら、もし結果の開示をご希望される場合には、担当医師にご相談ください。

遺伝子を解析した結果、偶発的にあなたやあなたの血縁者の生命に重大な影響を与える遺伝情報があることが判明した場合には、開示を希望された場合や、開示を希望されなくても有効な対処方法があるときには、研究機関の長に報告し、国立がん研究センター研究倫理審査委員会の意見等に基づいて、開示を行う場合があります。

## 10. あなたが負担する費用について

解析費用については、公的研究費で負担しますので、あなたの経済的な負担となることはありません。また、この研究への参加に伴い、謝礼や交通費などをお支払いすることはありません。

### 11. 個人情報の取り扱いについて

あなたから得られた臨床情報および検体は、あなたの名前ではなく、個人を特定できないようにつけられた番号（症例登録番号）を用いて管理されます。その後、あなたの臨床情報を含んだデータと検体は、国立がん研究センター内研究事務局に収集され、個人情報管理者により匿名化され、センター内で遺伝子研究が行われます。個人情報が外部に出ることはありません。この研究で得られた臨床情報および検体を、新しい研究のために第三者へ提供する必要が生じた場合も、データは個人を特定できない症例登録番号により管理され、第三者があなたの個人情報を個人が特定できる形で使用することはありません。研究事務局では、これらの情報が外部に漏れないように、また、この研究の目的以外に使われないように、細心の注意を払い管理します。この研究にご参加頂ける場合は、これらの個人情報の取り扱いについてご了承下さいますようお願いいたします。

なお、この研究が適切に行われているかどうかを第三者の立場で確認するために、担当者が、あなたのカルテやその他の診療記録などを拝見することがあります。このような場合でも、担当者には守秘義務があり、あなたの個人情報は守られます。またこの研究で得られたデータを、この研究以外の目的で使用することはありません。

もし、あなたが提供に同意した臨床情報および検体の破棄を希望される場合は、担当医師までご連絡下さい。ご希望に添って、全ての臨床情報および検体を完全に破棄します。

\*本研究で利用される臨床情報は下記の通りです。

受診した医療機関名、生年月日、性別、年齢、肺がんの組織型および遺伝子異常、喫煙歴、検体の採取部位、検体の採取方法、治療経過、また、必要な場合には、治療を開始する前の臨床経過等。

### 12. 検体の取り扱いについて

採取した検体は、研究事務局に提出され、国立がん研究センター個人情報管理室にて、個人名が特定できないように登録番号が付けられた後、臨床情報および、全ての遺伝子解析の結果がデータとして符号化された番号（症例登録番号）のもと、ネットワークに繋がっていない専用のコンピューター上で管理されます。つまり、得られた遺伝子解析の情報は、個人を認識する情報とは完全に切り離されて保管されるため、国立がん研究センター中央病院ゲノム研究個人情報管理室以外では、遺伝子情報から個人名を特定できなくなります。また、この研究を通して得られた臨床情報については、プライバシーを保護するため、秘密が守られます。あなたの名前や個人を識別する情報は、この研究の結果を発表する際に使用されることはありません。



### 1 3. 残った検体の保存と、将来の研究への利用について

今回、提供していただいた検体は非常に貴重なものです。更に、今回解析する治療耐性に関わる遺伝子の診断および治療を今後確立していくうえで、再現性を確認するためにも非常に重要な検体になります。そこで、ご理解を頂けるなら、今回の研究で利用した後の残りの検体については、研究事務局において厳重な管理の元で保存して、今後、がんに関連する新たな研究が計画された場合に役立てていきたいと考えていますので、ぜひご協力をお願いします。もちろん、その際にも、この研究と同様に参加者のプライバシーと利益は厳重に守られます。なお、今後の研究への使用にあたっては、その都度、国立がん研究センター（場合によっては担当施設）の国立がん研究センター研究倫理審査委員会で研究の妥当性やプライバシーの保護の方法について審査を受けます。保存している検体を勝手に研究に利用することはできませんので、ご安心ください。もし、この研究のみの参加を希望される場合は、検体の残りは、この研究が終了した後直ちに廃棄いたします。

今後の他の研究への利用に関して同意して頂ける場合は、この研究の同意書の下段にも併せてご署名をお願いします。

### 1 4. 治療前の検体の使用について

最初から薬剤が効かなかった（自然耐性）原因や治療途中で薬剤が効かなくなった（獲得耐性）原因を調べるため、治療を開始する前の検体を比較して解析を行います。そのため、診断の際に同意をいただいた、「RET 融合遺伝子等の低頻度の遺伝子変化陽性肺がんの臨床病理学的、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」などにより、保管されていた試料を研究に用います。

### 1 5. 研究成果の公表について

この研究から得られた結果は、学会や医学雑誌などで公表します。発表に際し、あなたの名前など個人を特定できる情報を使用することはありません。なお、この研究の結果から特許権等が生まれることもあります。その権利は本研究グループに帰属します。

### 1 6. 遺伝カウンセリングについて

あなたがこのような遺伝子解析に関して不安に思う場合や、相談したいことがある場合に備えて、国立がん研究センターでは、遺伝外来を行っています。ここでは、担当者があなたの相談を受けることが可能です。ご希望がある場合には、担当医師にその旨申し出てください。

### 1 7. この研究の資金と利益相反について

研究における利益相反とは、研究者が企業等から経済的な利益（謝金、研究費、株式等）の提供を受け、その利益の存在により研究の結果に影響を及ぼす可能性がある状況のことをいいます。この研究は、厚生科学研究費補助金、がん研究開発費、文部科学省科学研究費補助金の研究費を主な資金源として実施します。よって、企業等からの利益相反はありません。また、この研究における利益相反は、国立がん研究センターや参加施設の利益相反委員会が行っています。

### 1 8. この研究の倫理審査について

この研究を実施するにあたり、患者さんの人権や安全への配慮について、また、医学の発展に役立つかどうかについて、国立がん研究センター研究倫理審査委員会で検討され、承認を受けています。また、この研究は、国の定めたガイドラインである「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき行われています。

## 19. 研究組織について

この研究は以下の組織で行われています。

国立がん研究センター

(東病院、中央病院、早期探索臨床研究センター、研究所)

がん研究会有明病院

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

## 20. 研究事務局および、当施設での連絡先

この研究について何か知りたいことや、何か心配なことがありましたら、担当医師または研究事務局に遠慮なくおたずね下さい。また、研究終了後の結果についてお知りになりたい方も担当医師におたずね下さい。

### 1) 研究事務局

後藤 功一、葉 清隆

国立がん研究センター東病院 呼吸器内科

〒277-8577

千葉県柏市柏の葉 6-5-1

電話：04-7133-1215（事務局直通，FAX 兼用）

河野 隆志、中奥敬史

国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター TR 分野

国立がん研究センター研究所 ゲノム生物学研究分野

〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1

電話：03-3542-2511（代表）

FAX：03-3545-3567

### 2) 当施設での連絡先

[医療機関名 ○○○] [診療科名 ○○○]

担当医師/研究担当者： ○○○○

住所：○○○○

電話番号：○○○○

## 同意文書

ご本人保管用

国立がん研究センター 東病院長 殿

臨床試験課題名：「肺がん治療への耐性に関わる遺伝子の研究」

1. 研究とこの説明文書について
2. 参加の自由について
3. 治療における耐性について
4. この臨床研究の対象となる方の病状に関して
5. この研究の意義と目的について
6. この研究の方法について
7. この研究全体の実施予定期間と参加いただく患者さんの数について
8. この研究への参加により予想される利益と不利益について
9. 遺伝情報の開示について
10. あなたが負担する費用について
11. 個人情報の取り扱いについて
12. 検体の取り扱いについて
13. 残った検体の保存と、将来の研究への利用について
14. 治療前の検体の使用について
15. 研究成果の公表について
16. 遺伝カウンセリングについて
17. この研究の資金と利益相反について
18. この研究の倫理審査について
19. 研究組織について
20. 研究事務局および、当施設での連絡先

私は、本研究について以上の項目を説明しました。

説明日：           年           月           日

説明医師氏名： \_\_\_\_\_（自署）

私はこの研究に参加するにあたり、研究の内容について担当医師より十分な説明を受けました。  
研究の内容を理解しましたので、この研究に参加することについて

同意します。      同意しません。

この研究の中で採取された検体が保存され、将来のがん研究に利用されることについて

同意します。      同意しません。

同意日：           年           月           日

本人氏名： \_\_\_\_\_（自署）

## 同意文書

医療機関保管用

国立がん研究センター 東病院長 殿

臨床試験課題名：「肺がん治療への耐性に関わる遺伝子の研究」

1. 研究とこの説明文書について
2. 参加の自由について
3. 治療における耐性について
4. この臨床研究の対象となる方の病状に関して
5. この研究の意義と目的について
6. この研究の方法について
7. この研究全体の実施予定期間と参加いただく患者さんの数について
8. この研究への参加により予想される利益と不利益について
9. 遺伝情報の開示について
10. あなたが負担する費用について
11. 個人情報の取り扱いについて
12. 検体の取り扱いについて
13. 残った検体の保存と、将来の研究への利用について
14. 治療前の検体の使用について
15. 研究成果の公表について
16. 遺伝カウンセリングについて
17. この研究の資金と利益相反について
18. この研究の倫理審査について
19. 研究組織について
20. 研究事務局および、当施設での連絡先

私は、本研究について以上の項目を説明しました。

説明日：           年           月           日

説明医師氏名： \_\_\_\_\_（自署）

私はこの研究に参加するにあたり、研究の内容について担当医師より十分な説明を受けました。  
研究の内容を理解しましたので、この研究に参加することについて

同意します。           同意しません。

この研究の中で採取された検体が保存され、将来のがん研究に利用されることについて

同意します。           同意しません。

同意日：           年           月           日

本人氏名： \_\_\_\_\_（自署）

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

肺がんゲノム解析

担当責任者 河野 隆志 国立がん研究センター研究所分野長

研究要旨

本研究では、クリニカルシーケンス解析を基盤とし、患者試料のゲノム解析を用い、現存抗がん剤治療では効果の見込めない進行肺がんの治療標的・抵抗性克服分子の同定を進めた。

A. 研究目的

本研究の目的は、クリニカルシーケンス解析を基盤とし、申請者らが築き上げた研究体制・微小試料に対するゲノム解析技術を最大限に活用することで、現存抗がん剤治療では効果の見込めない進行肺がんの治療標的分子および治療抵抗性克服分子を同定し、新規治療開発に繋げることである。具体的には、EGFR阻害剤long responderおよび自然耐性・獲得耐性症例、RET阻害剤耐性を示したRET融合遺伝子陽性症例、Pan-negative症例の遺伝子変異profileを明らかにし、治療抵抗性獲得に伴い発出する遺伝子異常やPan-negative例に生じる新規遺伝子異常を総合的に把握することで、進行肺がんの遺伝的特性を理解し、治療標的および治療抵抗性克服遺伝子を同定する。

EGFR遺伝子変異陽性肺がんに対しては分子標的治療薬であるEGFRチロシンキナーゼ阻害薬が高い奏効率を示し、従来の殺細胞性抗癌剤よりも長い奏効期間が得られることが知られている。しかし、ほぼ全例で治療耐性となり、耐性獲得後の予後は不良である。耐性機序はいくつか解明されているが未だ不明な点が多い。一方で、耐性獲得までの期間中央値は約1年だが、一部の患者で2年以上の奏効期間が得られている。長期奏効に関わる因子はほとんど報告されていない。EGFR遺伝子変異陽性肺がんに対するEGFRチロシンキナーゼ阻害薬の治療耐性及び長期奏効に関わる因子を同定することで、分子標

的薬全体の奏効期間の延長や肺がん患者の予後改善のための新薬開発のシーズを得る。

また、RET融合遺伝子は肺腺がんの約2%に存在するとされ、RETキナーゼを標的としたチロシンキナーゼ阻害薬に感受性を示すことが報告されている。この結果を受け、本邦においてRET融合陽性肺がん患者を対象にVandetanib (ZD6474)の治療効果を評価する第II相臨床試験が開始されている。RET融合陽性例に対するRETキナーゼ阻害剤の治療効果が期待されているが、EGFR変異等の遺伝子異常陽性肺がん等に対する治療経験から、RET融合遺伝子陽性例においても同様に治療耐性の出現が予想される。治療効果をより高めるため、耐性を示した症例の試料をもとにゲノムの解析を行うことで、分子機構の解明とその克服を明らかにし、新たな治療法の開発を行う。

加えて、上記のように治療標的となるドライバー遺伝子異常を同定することは肺腺がんの個別化治療の進展に重要である。いずれの遺伝子異常も同定されていない症例（Pan-negative例）を対象に、ゲノム解析を行い、肺がんにかつている遺伝子異常を総合的に把握することで、肺腺がんの遺伝的特性を明らかにし、新たな治療標的となるシーズを得る。

B. 研究方法

a. プロジェクトの総合推進

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

以下 b - d を統括し、総合推進を図る。

b. ゲノム解析試料の収集・選定

以下に示す症例のゲノムDNA, RNAを調整するとともに、診療情報（治療期間等）を収集する。

b-1) EGFR阻害剤(gefitinib)治療例から選出されたlong responder、自然耐性例等。

2007年から2013年の間にEGFR遺伝子変異陽性術後再発肺がんのうち、EGFRチロシンキナーゼ阻害薬であるgefitinibの投与を受けた症例を対象として、奏効期間2年以上をlong responderと暫定的に定義し、解析対象として選定した。

b-2) 既採取肺がん試料に存在するEGFR/ALK/RET陰性(Pan-negative)例。

予後の悪い肺がんのサブタイプである浸潤性粘液肺がんは、他の肺がんとは異なり、KRAS変異が高頻度であるが、その他の治療標的となるドライバー遺伝子異常は見つかっていない。90例の浸潤性粘液肺がんの手術摘出標本のうち、いずれの遺伝子異常も持たない症例を選定した。

b-3) RET阻害剤等分子標的治療への耐性例のゲノム解析試料の収集体制を構築し、収集に着手する。

「RET融合遺伝子等の低頻度の遺伝子変化陽性肺がんの臨床病理学的、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」においてRET融合遺伝子が診断され、RETキナーゼ阻害剤による治療を受けた肺がん患者の診療残余試料を用い、オミクス解析を行うための臨床試験計画を立案し、承認を得た。治療耐性獲得後の症例から試料の収集体制を構築した。

c. 分子標的薬阻害剤治療例の解析

b-1試料について、long responderに着目しながら、targetリシーケンス・全エクソンシーケンス等の解析を行い、治療抵抗性と関わる候補遺伝子変化を探索するとともに、それ以外の症例との比較解析を行う。具体的には、手術標本からDNA及びRNAを抽出し、ゲノム網羅的な解析、具体的には50がん関連遺伝子のtarget deep sequence、全exome sequence解析、DNAメチル化チップ解析、RNA及びmiRNA発現解析に着手した。

また、b-3試料について、治療耐性獲得後の症例をより、試料を得、targetリシーケンス等の解析を行い、治療抵抗性と関わる候補遺伝子変化の探索に着手した。

全エクソン/RNAシーケンスを行い、治療耐性と考える候補遺伝子変化の探索に着手した。

d. Driver変異陰性例(Pan-negative)の解析

b-2の試料について、浸潤性粘液産生肺がんのいずれの遺伝子異常も持たない症例を対象に、次世代シーケンサーを用いて全RNAシーケンスを行い、NRG1遺伝子融合を同定した。

（倫理面への配慮）

研究に利用する手術標本は、研究対象者から同意を得た上で、検体は匿名化し、患者に不利益がないよう、プライバシーを厳守して行う。臨床情報も同様に匿名化しプライバシーに配慮する。更に、研究成果は個人情報公開されないよう発表・報告する。すべての研究は、「個人情報保護法」ならびに「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」「疫学指針」を遵守し、あらかじめ倫理委員会での承認手続きを行った上で進めている。

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

### C. 研究結果

2007年から2013年の間にEGFRチロシンキナーゼ阻害薬である gefitinib の投与を受けた EGFR 遺伝子変異陽性肺癌全 589 例から解析可能な手術検体を有する術後再発症例 124 例を抽出し、長期奏効例 (n=20) に着目しながら、それ以外の症例 (n=104) と比較して検証する方針とした。最初に対象症例について詳細な臨床的情報を収集し、臨床的特徴では長期奏効例が規定されていないことを確認した。次に、124 例の手術検体を収集した。80 例では凍結保存組織の入手が可能であり、残り 44 例ではホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 組織を入手し、それぞれ DNA, RNA の抽出を行った。ゲノム解析としては、まず 50 がん関連遺伝子の変異 (アレル頻度 4%以上) の解析を行った。その結果、既存の候補遺伝子変化である EGFR 遺伝子の 2 次変異 (T790M) は 1%未満であり、奏効期間を大きく規定するものでないことが分かった。そこで、ゲノム網羅的な解析、具体的には全エクソームシーケンス解析、DNA メチル化チップ解析、RNA 及び miRNA 発現解析を行うための DNA、RNA の調製を行った。また、ホルマリン固定組織由来の RNA を用いた、発現解析のため、分子カウンティング法による発現定量系のセットアップを行った。

RET阻害薬耐性に関しては、RET阻害薬バンデタニブ等に対し、治療抵抗性試料を収集するためのプロトコルを作成し、倫理審査委員会の承認を得た。

1 例目のバンデタニブ獲得耐性症例試料のゲノム解析に着手した。

Pan-negative の浸潤性粘液腺がんのゲノム解析を行い、その結果、NRG1, ERBB4, BRAFの遺伝子融合が存在することを明らかにした。シーケンスを行わなかった残りの症例を用い、RT-PCRにてスクリーニングを行い、CD74-NRG1とSLC3A2-NRG1を合わせ、NRG1融合が10%弱に認められ、KRAS変異について多い遺伝子異常であることがわかった。NRG1融合については、浸潤性粘液腺がん特異的に、また、女性非喫煙者に多くみられ、HER2/HER3タンパク質を介したシグナル伝達を介して、がん化に寄与していることが見出された。HERタンパク質阻害薬であるラパチニブ、アフアチニブが治療に有効である等のデータを得た。

### D. 考察

これらの体制で入手できる現時点で分子標的薬治療のないPan-negative例、RET阻害薬治療への耐性獲得例、そして全600 EGFR阻害剤治療例から選出された long responder・自然耐性例、EGFR阻害剤治療への耐性獲得例という貴重な症例をゲノム解析の対象とし、統合的な解析で治療標的・抵抗性克服分子を探索している。

いずれの試料も大変貴重な解析対象であり、症例集積力のある当施設だからこそ行える研究である。今後はゲノム網羅的な解析を行い、耐性因子やその克服因子の同定をおこなう。

### E. 結論

現行および開発中の分子標的治療では効果の見込めない進行肺がん、不応・耐性獲得肺がんの治療標的・抵抗性克服分子の同定に向けた症例の解析基盤を整えつつあり、本研究の成果は、治療耐性の克服や奏効期間の延長の改善にむけた個別化医療の実現につながる。

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

F. 健康危険情報  
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nakaoku T, Tsuta K, Ichikawa H, Shiraishi K, Sakamoto H, Enari M, Furuta K, Shimada Y, Ogiwara H, Watanabe SI, Nokihara H, Yasuda K, Hiramoto M, Nammo T, Ishigame T, Schetter AJ, Okayama H, Harris CC, Kim YH, Mishima M, Yokota J, Yoshida T, Kohno T\* (2014) Druggable oncogene fusions in invasive mucinous lung adenocarcinoma. *Clin Cance Res.* 20(12) :3087- 3093.

2. 学会発表

○中奥敬史、蔦幸治、渡邊俊一、軒原浩、金永学、三嶋理晃、横田淳、河野隆志：Lung invasive mucinous adenocarcinoma (IMA)における治療標的となる新規遺伝子融合、第55回日本肺癌学会学術総会、京都、第55回日本肺癌学会学術総会抄録集、P116、11月、2014年

○中奥敬史、市川仁、白石航也、坂本裕美、江成政人、萩原秀明、軒原浩、岡山洋和、金永学、三嶋理晃、横田淳、吉田輝彦、河野隆志：Druggable Oncogene Fusions in Invasive Mucinous Lung Adenocarcinoma、横浜、第73回日本癌学会学術総会、第73回日本癌学会学術総会抄録集、P150、9月、2014年

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得

河野隆志・蔦幸治  
国内・国際出願の各国移行：KIF5B遺伝子とRET遺伝子との融合遺伝子、並びに該融合遺伝子を標的としたがん治療の有効性を判定する方法（特願2011-171256およびPCT/JP2012/069799）に関する各国移行

国際出願（未公開）：Novel fusion genes identified in lung cancer (61/867,921)

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし



厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

患者がん試料のin vivo,in vitro培養

担当責任者 今井俊夫 国立がん研究センター研究所施設長

研究要旨

本研究では、患者がん試料をin vivoおよびin vitro培養し、得られた遺伝情報をもとに同定した分子の治療標的・抵抗性への関与の検証を行う。そのための基盤整備に着手した。

A. 研究目的

本研究は、クリニカルシーケンス解析を基盤とし、申請者らが築き上げた研究体制・微小試料に対するゲノム解析技術、さらに患者試料の先駆的培養技術を最大限に活用することで、現存抗がん剤治療では効果の見込めない進行肺がんの治療標的分子および治療抵抗性克服分子を同定し、新規治療開発に繋げることを目的としている。具体的には、RET阻害剤耐性RET融合遺伝子陽性症例、EGFR阻害剤long responderおよび自然耐性、獲得耐性症例、Pan-negative症例の遺伝子変異profileを明らかにする。患者がん試料をin vivoおよびin vitro培養し、上記の得られた遺伝情報をもとに同定した分子の治療標的・抵抗性への関与の検証を行う。

B. 研究方法

治療標的分子を有する、もしくは、分子標的治療薬耐性の肺がん試料（手術検体、胸水など）からin vivo、in vitro（ゼノグラフト）培養し、クリニカルシーケンス解析で同定した治療標的分子および治療抵抗性克服分子の関与の検証を行う。特に、ALK, ROS1, RETといった融合遺伝子陽性肺がん及び治療耐性例に重点を置き細胞株や動物モデルの樹立をめざす。具体的には、患者由来ゼノグラフトマウスモデルの樹立とそれを用いた治療効果解析、および、in vitroがん細胞培養とその細胞を用いた細胞生物学的解析を行う。

（倫理面への配慮）

研究対象者から同意を得た上で、検体は匿名化し、患者に不利益がないよう、プライバシーを厳守して行う。すべての研究は、「個人情報保護法」ならびに「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」「疫学指針」を遵守し、あらかじめ倫理委員会での承認手続きを行った上で進める。動物実験は、各研究機関の定める動物実験に関する規約に従って行い、動物の生命や苦痛に対して十分な倫理的な配慮を払って行う。遺伝子組換え実験についてはその計画書の機関承認を得て、遺伝子組換え実験安全管理規程に従って行う。

C. 研究結果

肺がん試料、手術症例、胸水試料の培養を開始した。現在、肺腺がん組織4例のin vitro培養と、2例のin vivo（ゼノグラフト）培養に成功した。

D. 考察

肺がん株の樹立効率が極めて低く、世界的に遺伝子融合やEGFR変異陽性例の研究用資材が乏しいことから、患者試料の培養に取り組み、生物学的検証を進める。特に胸水試料については、先行データが乏しいことから、生育条件等を検討し、本研究に適した培養手段を選定する必要がある。

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

E. 結論

本研究は、治療への不応・耐性獲得肺がんの治療標的の同定・抵抗性克服に力点を置いており、その成果により、治療耐性の克服や奏効期間の延長の改善にむけた個別化医療の実現につながる。培養の技術も向上しつつあり、今後の研究の展開が期待できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況  
（予定を含む。）

なし

様式第 19

学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目「クリニカルシーケンスによる肺腺がんの治療標的・抵抗性克服分子の同定に関する研究」

機関名 独立行政法人 国立がん研究センター

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
Lung invasive mucinous adenocarcinoma (IMA)における治療標的となる新規遺伝子融合	中奥敬史、蔦幸治、渡邊俊一、軒原浩、金永学、三嶋理晃、横田淳、河野隆志	第 55 回日本肺癌学会学術総会	2014 年 11 月	国内
Druggable Oncogene Fusions in Invasive Mucinous Lung Adenocarcinoma	中奥敬史、市川仁、白石航也、坂本裕美、江成政人、荻原秀明、軒原浩、岡山洋和、金永学、三嶋理晃、横田淳、吉田輝彦、河野隆志	第 73 回日本癌学会学術総会	2014 年 9 月	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載

掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所 （学会誌・雑誌等名）	発表した時期	国内・外の別
Druggable oncogene fusions in invasive mucinous lung adenocarcinoma	Nakaoku T, Tsuta K, Ichikawa H, Shiraishi K, Sakamoto H, Enari M, Furuta K, Shimada Y, Ogiwara H, Watanabe SI, Nokihara H, Yasuda K, Hiramoto M, Nammo T, Ishigame T, Schetter AJ, Okayama H, Harris CC, Kim YH, Mishima M, Yokota J, Yoshida T, Kohno T	Clin Cance Res, 2014, 20(12) :3087-3093	2014年6月	国外

（注1）発表者氏名は、連名による発表の場合には、筆頭者を先頭にして全員を記載すること。

（注2）本様式は excel 形式にて作成し、甲が求める場合は別途電子データを納入すること。