

外科的腫瘍摘出手術を受けた NSCLC 患者では、変異の有無は生存期間に関する患者の予後に有意な影響を与えるものではなかった。

4.4 Marchetti らの研究

EGFR Mutations in Non-small cell lung cancer: Analysis of a large series of cases and development of a rapid and sensitive method for diagnostic screening with potential implications on pharmacologic treatment
Marchetti, A., et al J. Clin. Oncol. 23 (4) 2005: p857-865

この研究では、イタリアの施設で NSCLC の治療を受けた 860 名の患者から得られたサンプルについて検討した。変異についての分析は SSCP 法 (single-strand conformation polymorphism ; 1 本鎖 DNA 高次構造多型) を用いて行われた。扁平上皮癌患者 454 例及び大細胞癌 31 例では変異は検出されなかった。腺癌患者 375 例のうち 39 例で変異が検出された。細気管支肺胞上皮癌 (BAC) 患者での変異検出率は 26%、通常の腺癌では 6%であった。

(2) IDEAL 試験、INTACT 試験等、自社で実施した臨床試験、疫学調査について解析した結果があれば示すとともに、現在進行中又は計画中の臨床試験又は調査の内容及びその検討結果が提示できる時期についても説明すること

【回答】

IDEAL 試験より得られた組織サンプルの解析

試験 0016 及び試験 0039 (IDEAL 1 及び 2) より得られた組織サンプルで遺伝子変異解析を実施した。この 2 試験では、患者はイレッサ 250 mg 1 日 1 回経口投与群と、イレッサ 500 mg 1 日 1 回経口投与群に無作為割付された。これらの試験には合計 425 例の患者が登録され、そのうち 161 例の患者から腫瘍組織が得られた。技術上の問題により、EGFR 変異が十分に解析可能であったサンプル数は 79 であった。変異は、抗腫瘍効果が認められた 12 例の患者のうち 6 例で検出され (50.0%)、抗腫瘍効果が認められなかった患者では 66 例のうち 7 例 (10.5%)、さらに 27 日間イレッサの投薬を受けたがその後治験中止となった患者 1 例 (抗腫瘍効果は不明) でも検出された。

これらのデータを表 4 にまとめた。

表 4 IDEAL 1 及び 2 試験における EGFR 変異と抗腫瘍効果との関連

	奏効例	非奏効例	合計
変異陽性	6	7	-
変異陰性	6	59	-
合計	12	66	79*

*評価不能例 1 例含む

- 感度 (Sensitivity ; 奏効例中の変異陽性の割合) = 50%
- 特異度 (Specificity ; 非奏効例中の変異陰性の割合) = 89.4%

これらのデータにより、EGFR 遺伝子変異と治験担当医師の判定による抗腫瘍効果の間に不完全ではあるが関連性が示唆された。EGFR 遺伝子変異が検出されなかった、または遺伝子変異が不明な患者においても 6 例で部分効果 (PR) が認められた点は注目に値する。EGFR 遺伝子変異がない場合はかなり高い割合で抗腫瘍効果がないことを予測できるが、EGFR 遺伝子変異があっても抗腫瘍効果を十分に予測できない。即ち EGFR 遺伝子変異の有無により、十分な信頼性をもってイレッサ治療に適した患者を選択することは出来ないと考えられる。

INTACT 試験より得られた組織サンプルの解析

化学療法治療未治療の進行非小細胞肺癌患者を対象に、プラチナ製剤を含む 2 剤併用化学療法に加え、イレッサまたはプラセボを投与した大規模プロスペクティブ無作為割付プラセボ対照第 III 相試験が、同一デザインで 2 試験実施された (INTACT 1 及び 2)。ベースとなる 2 剤併用化学療法は、INTACT 1 試験ではゲムシタピン及びシスプラチン、INTACT 2 試験ではカルボプラチン及びパクリタキセルであった。これら 2 試験では、化学療法にイレッサを追加投与しても奏効率の改善と生存期間の延長は認められなかった。奏効率は、2 試験のいずれの群とも約 40% であり、この値はこれらの化学療法に関する公表文献で発表されている結果と同様であった。

これら 2 試験のプロトコールでは腫瘍生検は必須項目ではなかったため、組織サンプルは全例からは採取されていない。得られた腫瘍組織サンプル 312 症例のうち、抗腫瘍効果評価可能症例は 241 例で、これらのサンプルは EGFR 遺伝子配列解析と遺伝子変異解析が実施可能な質を持っていた。

EGFR 遺伝子変異と抗腫瘍効果の関係を表 5 にまとめた。

表 5 INTACT 1 及び 2 試験における EGFR 変異の有無と抗腫瘍効果の関係

	イレッサ			プラセボ		
	奏効例	非奏効例	合計	奏効例	非奏効例	合計
変異陽性	13	5	-	2	3	-
変異陰性	84	68	-	26	40	-
合計	97	73	170	28	43	71

- 感度 (Sensitivity ; 奏効例中の変異陽性の割合) = 13.4%
- 特異度 (Specificity ; 非奏効例中の変異陰性の割合) = 93.2%

上表にあるように、解析に適切な質の DNA が得られた 241 例の患者のうち、EGFR 遺伝子変異が認められたのは 23 例のみであった。そのうち 18 例はイレッサ群、5 例はプラセボ群であった。このように対象症例数が極めて少ないため、EGFR 遺伝子変異が抗腫瘍効果に与える影響について明確な結論を導くことはできなかった。イレッサ投与群では、EGFR 遺伝子変異陽性患者 18 例のうち 13 例で抗腫瘍効果が認められ、5 例では抗腫瘍効果は認められなかった。プラセボ群では、EGFR 遺伝子変異陽性患者 5 例のうち 2 例で抗腫瘍効果が認められ、3 例では認められなかった。

このように極めて少数の対象患者における検討であったことから、イレッサと化学療法の併用による抗腫瘍効果と EGFR 遺伝子変異との間の関連性は完全ではないということ以外に、明らかな結論は導かれなかった。EGFR 遺伝子変異の存在によって必ずしも化学療法とイレッサの併用療法で奏効することが正確に予測できるわけではなく、同様に遺伝子変異が存在しないからといって奏効しないと予測できるわけではない。

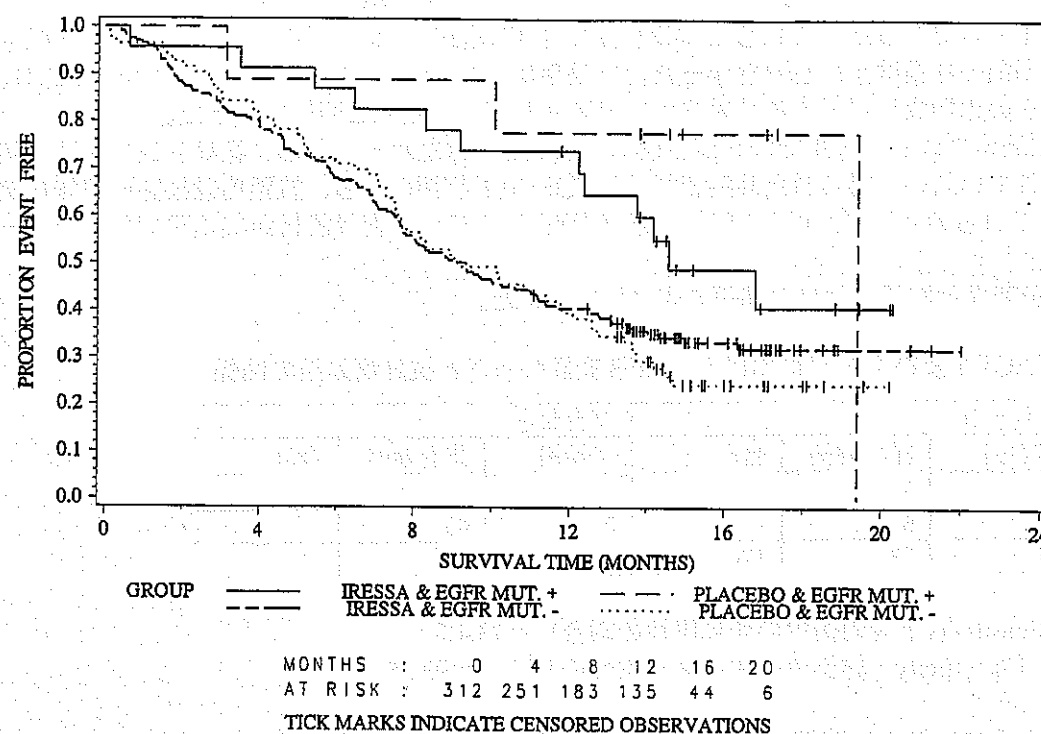
また、これらの試験のデータセットで、遺伝子変異と生存期間の関係も検討した。対象患者全体では、いずれの試験でも化学療法にイレッサを追加投与しても生存期間に改善は認められなかった。

INTACT 1 及び 2 の両試験で EGFR 遺伝子変異が測定された患者全症例のカプランマイヤー曲線を図 5 に示した。

図 5 INTACT 1 及び 2 試験において EGFR 遺伝子変異が測定された患者での生存期間

1839IL/0014 and 1839IL/0017

FIGURE F55. EGFR MUTATION SURVIVAL: KAPLAN MEIER PLOT
POPULATION: INTENTION-TO-TREAT



この解析には EGFR 遺伝子変異の有無が確認された 312 例の患者のデータが含まれている。上記のカプランマイヤー曲線より明らかなように、EGFR 遺伝子変異が検出された患者 32 例における死亡までの期間は、EGFR 遺伝子変異が検出されなかった患者の場合よりも長いように見える。EGFR 遺伝子変異陽性及び陰性のいずれの場合も、イレッサ投与患者群とプラセボ投与患者群間で生存期間に差は認められなかった。これは両試験の対象患者全体に共通しており、イレッサ投与により生存期間の延長はもたらされなかった。しかし、EGFR 遺伝子変異が検出された患者の場合、EGFR 遺伝子変異が検出されなかった患者と比較すると、生存期間が長いように見える。このことから、これら両試験の条件下において、EGFR 遺伝子変異の存在は、生存期間について予測しうるものかもしれないことが示唆される。また、EGFR 遺伝子変異陽性患者及び陰性患者のいずれにおいても、イレッサによる治療は、生存期間の延長をもたらすものではないことを示唆するものである。

上記のように、化学療法とイレッサとの併用療法を受けた患者から採取された組織サンプルを解析した結果、EGFR 遺伝子変異と抗腫瘍効果との間の関連性は完全ではなく、この所見は IDEAL 試験でイレッサの単独療法を受けた患者における所見と同様であった。EGFR 遺伝子変異と生存期間に関する解析から、遺伝子変異のある患者では、変異のない患者よりも長い生存期間が得られることを予測可能であるように見える。しかし、EGFR 遺伝子変異によるイレッサ治療のベネフィット予測はできなかった。

(3) 上記(1)の評価及び(2)の状況を踏まえ、現時点で遺伝子診断等の形で臨床応用する必要性及び妥当性について見解及びその根拠を示すこと。回答にあたっては、感度/特異度のみでなく、陽性反応的中度/陰性反応的中度の観点から議論を行うこと。

【回答】

これまでに述べたデータに基づき、アストラゼネカ社としては、EGFR 遺伝子変異の有無のみをもってイレッサ治療の対象患者を選定することは適切でないと考えている。

データの考察

初期の試験・解析はイレッサによる抗腫瘍効果に基づいて選択された患者を対象として実施され、治療結果と EGFR 遺伝子変異間に良好な合致が認められたが、これは驚くべきことではなかった。その後公表文献に報告された試験・解析でも奏効率の高い患者群に重点がおかれており、上記と同様 EGFR 遺伝子変異との間で高い符号率がみられた。

アストラゼネカ社が実施した試験 IDEAL 1 及び 2、INTACT 1 及び 2 より得られた腫瘍組織の解析では、イレッサの単独療法、化学療法との併用療法のいずれの場合も、EGFR 遺伝子変異とイレッサによる抗腫瘍効果との間の関連性は確定されなかった。IDEAL 1 及び 2 試験では、EGFR 遺伝子変異陽性患者での奏効率は 50%であった。しかし、奏効例の 50%には EGFR 遺伝子変異は存在しなかった。INTACT 1 及び 2 試験においても同様に、EGFR 遺伝子変異とイレッサによる抗腫瘍効果の関連性は確立されていない。INTACT 1 及び 2 試験において、EGFR 遺伝子変異は、生存期間についての独立した予後因子であるように見えるが、イレッサの抗腫瘍効果を予測するものではなかった。

疫学調査では、それ以前に得られた所見、すなわち EGFR 遺伝子変異の発現頻度が東洋人患者、腺癌患者、喫煙経験のない患者及び女性患者で高いこと、が再確認されている。これらの患者群では、イレッサによる治療に対し高い奏効率を示す傾向が認められた。

これら一連の調査は、INTACT 試験における一連の小規模な検討を除き、すべて EGFR 遺伝子変異と抗腫瘍効果の関連性の検討を試みるものであった。イレッサによる治療との関連において、生存期間と EGFR 遺伝子変異との関連性を体系的に検討する試みは今までまだなされていない。ISEL 試験では、約 400 例の患者からデータが得られる予定である。アストラゼネカ社はこのデータをもとに疾患の予後(生存期間、抗腫瘍効果)と EGFR 遺伝子変異間の関係を検討する予定である。検討結果が得られるのは 2005 年の第 2 四半期終了後になると予想される。

現実的な観点

特定の腫瘍における遺伝子変異を特定するには、生検により患者から得られたサンプルを直接入手する必要がある。遺伝子変異は体細胞変異で、生殖細胞系列では発現しないため、血液、皮膚、頬粘膜等の簡単に採取可能な組織で腫瘍遺伝子変異の有無を確認することはできない。そのため、腫瘍生検は遺伝子変異の確認を必要とする患者全員で必要とされる。患者によっては初回診断時の生検組織サンプルが使用できる場合もあり、また最近の技術によりパラフィン固定された組織より得られた DNA の解析が可能である。しかし化学療法で効果が得られなかった NSCLC 患者では多くの場合、診断後別の病院で治療を受けたり、胸水や喀痰による細胞検査により診断がなされたりすることがある。いずれの場合も、新たに生検により採取した腫瘍組織サンプルなしで腫瘍の遺伝子変異を測定することは不可能である。この方法は侵襲的で、リスクも全くないわけではない。上記に記載したプロスペクティブな臨床試験でこの生検が実施されているが、恐らく癌治療医師は日常的に診察業務の一部としてこのような検査を実施してはいないであろうと考えられる。

次に、この EGFR 遺伝子変異の解析には検査用レーザーキャプチャーマイクロダイセクション、及び遺伝子配列解析の専門知識と装置が必要とされる。現在このような専門知識を持つのは、米国及び日本の少数の大学関連研究施設のみである。この検査法が広く使用されるようになるには、組織のマイクロダイセクションと配列解析技術が大幅に進歩し、手法が単純化され、解析時間が短縮されるのを待たなければならない。現在マサチューセッツ総合病院や Dana Faber Cancer

Centres でも腫瘍サンプルの処理と配列確認に約 4 週間を必要としている。この検査の実施可能性と検査に必要な時間のため、この検査より得られる結果をもとに進行肺癌患者の治療方針を決定することは、実際上不可能であると考えられる。

さらに、非小細胞肺癌組織におけるチロシンキナーゼ領域に関連した遺伝子変異の数と種類は増えつづけている。Lynch らの最初の公表文献では、明確な変異として 7 変異（エクソン 19 と 21 の欠損と置換）が報告された。それより約 1 カ月後に開催された米国臨床腫瘍学会（ASCO : American Society of Clinical Oncology）で種々の研究者グループが発表したデータによると、エクソン 18 から 24 を含む少なくとも 31 の明確な変異が確認されたことが示唆されており、この数は今も増えつづけている。このことから、治療法の選択を目的として、具体的にどの変異をスクリーニングすればよいかを決めることは極めて難しい。またこのような状況は、今後数カ月のうちにさらに急速に進展するものと考えられる。

4 点目として、腫瘍組織の EGFR 変異検出は現在まだ進化途上であり、色々な研究グループによりそれぞれ長所も短所も持つ、異なった技術が使用されている。アストラゼネカ社は、上記の 6 段階 DNA 配列決定法が現在使用可能な方法のなかでは最も厳密な方法であると考えるが、ただこの方法は日本の施設も含め民間の検査施設でまだ一般的に採用されていない。現在アストラゼネカ社は学会や業界のパートナー（たとえば三菱化学安全科学研究所など）と協力し、日本の肺癌治療専門医や患者がこのような解析によるデータが得られるようにするため努力している。

遺伝子変異検出の技術的側面を考慮すると、EGFR 検出結果に偽陽性や偽陰性の内容が含まれるが、問題はこの偽陽性である。偽陽性は腫瘍 DNA 内で PCR 反応のプライミングミスにより発生する。これは DNA 量が少ない場合や DNA が分解していた場合に起こりやすい。そのため ISEL 試験では、腫瘍 DNA から得られた独立した PCR 産物 3 つのうち少なくともひとつを順方向及び逆方向に遺伝子配列を決定し、それにより EGFR 遺伝子に変異が検出された時は、当該患者は遺伝子変異陽性であるとみなす。陽性結果は腫瘍 DNA より得られた別の PCR 産物さらに使用することによりもうひとつ別の方法（例：ARMS 法）で確認する。

EGFR 変異検出における偽陰性結果はより一般的に発生すると考えられている。患者に変異があるにもかかわらずそれが検出できない場合、下記も含めさまざまな理由がある。

- 腫瘍組織の量が十分でない
- 腫瘍組織中に十分な DNA がないかまたは DNA がひどく劣化していて当該の EGFR エクソンが増幅できない
- 腫瘍組織中、変異の割合が非常に小さく（腫瘍中の遺伝的異質性のため）、使用したスクリーニングシステムの検出限界以下である

ゲフィチニブで良好な抗腫瘍効果が得られたにもかかわらず、見かけ上患者に EGFR 変異が認められない場合は、上記のような理由のいずれかが関与しているかも知れない。

さらにアストラゼネカ社では、同一の患者より採取された異なった腫瘍のサンプル間で遺伝的異質性が認められた症例をいくつか観察している。例えば、ある患者では、肺腫瘍生検で得られた組織には変異が含まれていたが、リンパ節腫瘍からの生検サンプルには変異は含まれていないように見えた。これは病勢の悪化を示した患者で EGFR 変異が検出される理由の説明となる可能性のある特に興味深い所見である。推測ではあるが、腫瘍の中では遺伝子は常に不安定であるため、肺腫瘍中の変異は病勢進行の原因となった転移癌の中では失われたのかも知れない。同一患者における同一の腫瘍内、及び異なった腫瘍間における遺伝子的異質性については、研究が継続中である。

要約すると、アストラゼネカ社は上記に記載した技術的手法を用いることにより、大多数の症例で厳密かつ信頼性の高い EGFR 変異検出が可能になるであろうと考える。しかし、偽陽性、そして特に偽陰性の結果が出るかなりのリスクがあり、現在実施中の解析の交絡要因となっているかも知れない。EGFR 検出の技術的問題や科学的問題の影響がどの程度であるかは不明なため、アストラゼネカ社としては、この方法は現在臨床上的方針決定や意思決定にプロスペクティブに使用するには、バリデーションがまだ不十分であると考えている。

提案

非小細胞肺癌の治療による全般的予後と EGFR 遺伝子変異間の関連性を示す明確なデータが存在しない状況下で、EGFR 遺伝子変異をイレッサによる治療対象患者のプロスペクティブな選定のための指標として用いるのは、時期尚早であると考えられる。IDEAL 試験及び INTACT 試験データの分析の結果、EGFR 遺伝子変異と抗腫瘍効果との関連性は不完全なものであることが示されている。EGFR 遺伝子変異がない患者のうちでも、かなりの割合で抗腫瘍効果が認められている。また、抗腫瘍効果が認められなかった患者でも、病勢の安定や症状の改善等、臨床的ベネフィットを得ることができた患者が相当な割合で存在する。受容体遺伝子配列解析に適した組織サンプルの入手が困難であること、マイクロダイセクションやアッセイ法が複雑であること等から、上記解析データを医療現場に提供し、日常的にゲフィチニブ治療対象患者のプロスペクティブな選定に用いることは不可能であると考えられる。

アストラゼネカ社は現在プロスペクティブな試験を実施し、EGFR 変異や他のバイオマーカーとイレッサによる治療の効果の関係を検討することを考えている。それらの試験からデータが得られるまでは、EGFR 変異の有無のみでイレッサによる治療対象患者を選択するのは時期尚早でもあり、現実的でないと考える。

以上のことや現在のデータを鑑みると、アストラゼネカ社としては、日常的診療に遺伝子変異検査を導入し、イレッサによる治療対象患者を選択することは、現実的方策ではなく、妥当とはいえないと考える。遺伝子検査は複雑で時間を必要とし、まだ広く普及していない。もし検査法が普及していたとしても、今のままで患者の選択に使用するには精度も特異性も十分ではない。遺伝子変異のない患者でイレッサによって抗腫瘍効果が認められる例も多く、また、遺伝子変異のある患者においても全例で抗腫瘍効果が認められているわけではない。