

大腸がん患者における *KRAS* 遺伝子 変異の測定に関するガイドンス

第1版 2008年11月

日本臨床腫瘍学会

KRAS 遺伝子変異検討小委員会作成

2008年11月22日 日本臨床腫瘍学会 第17回理事会にて承認

委員長 畠 清彦 (癌研有明病院 化学療法科)

委員

吉野孝之 (国立がんセンター東病院 消化器内科)

西尾和人 (近畿大学医学部 ゲノム生物学教室)

落合淳志 (国立がんセンター東病院 臨床開発センター 臨床腫瘍病理部)

渡邊聡明 (帝京大学医学部 外科)

篠崎英司 (癌研有明病院 化学療法科)

山田康秀 (国立がんセンター中央病院 消化器内科)

室 圭 (愛知県がんセンター中央病院 薬物療法部)

はじめに

上皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor; EGFR) は、EGFの受容体であり、膜タンパクとしてはHERファミリーのHER1、遺伝子名は*ERBB*ファミリーの*ERBB1*として知られている。同受容体はチロシンキナーゼ型受容体で、細胞膜を貫通して存在する分子量 170 キロダルトンの糖タンパクであり、膜貫通領域にATPと結合するクレフトを有し、その領域がリン酸化される。EGFRの発現は上皮系、間葉系、神経系起源の多様な細胞で見られる。細胞膜上にあるこの受容体にEGF等が結合すると、二量体を形成しEGFR受容体はリン酸化されることで活性化し、細胞を分化、増殖させる。正常組織においては細胞の分化、発達、増殖、維持の調節に重要な役割を演じているが、癌細胞においてもEGFRは重要な役割を持ち、自身の遺伝子増幅や遺伝子変異、構造変化を来たすことで発癌、および癌の増殖、浸潤、転移などに関与する¹⁾。

本邦で平成 20 年 7 月 16 日に製造承認された抗 EGFR 抗体薬のひとつであるセツキシマブはヒト・マウスキメラ型抗体であり、細胞膜上に存在する EGFR の抗原エピトープに結合し、リガンドとの結合を阻害し、内在化を促進することで細胞増殖阻害を起こすとされる。

セツキシマブは単独でも抗腫瘍効果が認められるが、イリノテカンと同時併用することにより顕著に腫瘍増殖を抑制することが示されている。欧米においては、イリノテカンを含む化学療法に不応となった患者に対し、イリノテカンとセツキシマブの同時併用療法群とセツキシマブ単独投与群の比較を検討したところ、奏効率は単独群で 10.8%に対し、併用群では 22.9%と有意に高く、無増悪期間 (TTP: time to progression) も単剤群が 1.5 ヶ月に対し、併用群では 4.1 ヶ月と良好な成績を示している²⁾。本邦においては第I相試験によりその安全性が確認され、第II相試験によりEGFR陽性の切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌患者に対するセツキシマブおよびイリノテカン併用療法の有効性と安全性が確認されている³⁾。

セツキシマブは平成 20 年 10 月現在、すでに 76 カ国で承認されており、米国のガイドラインであるNCCNガイドラインにおいても切除不能進行大腸癌の二次または三次治療として推奨されている。本邦でも「EGFR陽性の治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸癌」に対し、セツキシマブが承認された⁴⁾。また、もう一つの抗EGFR抗体薬で完全ヒト化抗体であるパニツムマブは承認申請中である。

近年の国際学会や様々な論文でも報告されているように、抗 EGFR 抗体薬と *KRAS* 遺伝子変異との関係が注目されている。このような現状から、薬剤を投与する前に *KRAS* 遺伝子を測定し、その効果を予測することは、より有益な治療法選択に貢献できると考えられる。しかしながら、本邦における保険償還の問題、海外で承認されている診断薬が国内で未承認である問題、各施設や委託臨床検査所で検出感度が異なることや不適切な検体材料で *KRAS* 遺伝子を測定し測定不能な場合の臨床的な取扱いの基準がないなど多くの問題

点が存在する。そのような背景の中、*KRAS* 遺伝子解析をどのように実施し治療に反映させるのが最適か *KRAS* 遺伝子解析の基本的要件を明らかにする目的で、日本臨床腫瘍学会では 2008 年 8 月に *KRAS* 遺伝子変異検討小委員会を発足し、8 名の小委員会メンバーを選出し、2008 年 10 月 4 日、30 日に小委員会を開催した。2008 年 11 月に「大腸がん患者における *KRAS* 遺伝子変異の測定に関するガイドンス第 1 版」を作成した。

本ガイドンスは刻々変化する *KRAS* 遺伝子に関する新知見、世界情勢や国内事情により、今後も適時改訂されることを留意されたい。

EGFRとKRAS遺伝子

EGFR を介した細胞内シグナル伝達は主に RAS/RAF/MAPK 伝達経路、PI3K/AKT 伝達経路、JAK/STAT 伝達経路の 3 つがある。このシグナル伝達が最終的に核内に伝えられ、標的遺伝子の転写活性の調節を行い、それぞれの機能が発揮される。RAS/RAF/MAPK 系は、主に細胞増殖 と生存、PI3K/AKT 系は主に cell growth や抗アポトーシス、浸潤、遊走、JAK/STAT 系は主に細胞増殖と抗アポトーシス、さらに血管新生に関係するとされている。このうち RAS/RAF/MAPK 系は細胞増殖、分化を調節する細胞内シグナル伝達経路であるが、RAS の恒常的活性化型変異は癌化の原因となり、大腸癌においてはその初期に起こる点突然変異として知られている。活性化された RAS は RAF を活性化し、RAF は引き続き MEK を、MEK は MAPK を活性化するというカスケードを形成している。

Kras はラット肉腫から分離された Kirsten 肉腫ウイルスよりウイルス由来の癌遺伝子として分離され命名された。RAS 遺伝子の産物は分子量 21,000 の RASp21 と呼ばれる蛋白質で、細胞膜の内側に局在している G 蛋白質の一種である。この RAS 遺伝子に点突然変異が起こると、GTPase 活性が低下し、このため RAS の変異蛋白は GTP が結合した活性型にとどまり下流へのシグナルが恒常的に持続すると考えられている。したがって KRAS の遺伝子変異がある場合、EGFR を分子標的としても下流のシグナル伝達がブロックされず、理論的に治療効果が得られない可能性が示唆される。現在まで、抗 EGFR 抗体薬の臨床試験から、これら KRAS 遺伝子変異を有する症例での治療が無効であることを裏付ける多くのデータが蓄積されてきた。さらに最近では KRAS のさらに下流の BRAF 遺伝子変異が KRAS 遺伝子変異と同様に抗 EGFR 抗体治療の 1 次耐性の機序として考えられており、いくつかの臨床データが報告されつつある。したがって KRAS 遺伝子の新知見や、詳細な検討が開始された BRAF 遺伝子変異などの臨床データの蓄積により、本ガイドンスは適時改訂が必要である。

以上より現時点で抗 EGFR 抗体薬の恩恵を得られない可能性の極めて高い患者群を選別するため、本委員会では KRAS 遺伝子変異を測定するための基本的要件を議論した。

基本的要件として①KRAS 遺伝子変異測定の意義、②測定の頻度およびその時期、③推奨される検査方法、④推奨される検査材料の選別および取り扱い、⑤精度管理、備考として、本邦における KRAS 遺伝子検査の保険承認審議の現状を示し、上記①から⑤の解説のために比較的詳細な注釈を付記した。

KRAS遺伝子変異を測定する基本的要件

1. 抗 EGFR 抗体薬投与により利益（延命、症状改善、腫瘍縮小効果）が得られない可能性の高い患者群が明らかになってきた。すなわち、コドン 12 またはコドン 13 領域の *KRAS* 遺伝子変異を示す症例である。

<注釈 1> 化学療法未治療例を対象に、標準治療のひとつである FOLFIRI 療法（イリノテカン+ 持続静注の 5-FU）と FOLFIRI+セツキシマブ療法を比較する臨床第III相試験（CRYSTAL試験⁵⁾）のレトロスペクティブな追加解析から、*KRAS* 遺伝子変異を示す患者群の奏効率は、セツキシマブ非併用群、併用群でそれぞれ 40.2%、36.2% (p=0.46)、無増悪生存期間の中央値は 8.1 ヶ月、7.6 ヶ月（ハザード比 1.07）、全生存期間の中央値は 17.7 ヶ月、17.5 ヶ月（ハザード比 1.03、p=0.85）であった。一方、*KRAS* 遺伝子変異のない野生型患者群の奏効率は、セツキシマブ非併用群、併用群でそれぞれ 43.2%、59.3% (p=0.0025)、無増悪生存期間の中央値は 8.7 ヶ月、9.9 ヶ月（ハザード比 0.68）、全生存期間の中央値は 21.0 ヶ月、24.9 ヶ月（ハザード比 0.84、p=0.22）であった。

同様に、化学療法未治療例を対象に、標準治療のひとつである FOLFOX 療法（オキサリプラチン+ 持続静注の 5-FU）と FOLFOX+セツキシマブ療法を比較する臨床第II相試験（OPUS試験⁶⁾）でのレトロスペクティブな追加解析から、*KRAS* 遺伝子変異を示す患者群の奏効率は、セツキシマブ非併用群、併用群でそれぞれ 48.9%、32.7% (p=0.106)、無増悪生存期間の中央値は 8.6 ヶ月、5.5 ヶ月であった。一方、*KRAS* 遺伝子変異のない野生型患者群の奏効率は、セツキシマブ非併用群、併用群でそれぞれ 37.0%、60.7% (p=0.011)、無増悪生存期間の中央値は 7.2 ヶ月、7.7 ヶ月（ハザード比 0.57）であった。

Cervantesらが行った化学療法未治療例を対象に、*KRAS* 遺伝子変異を前向きに測定し 6 週間のセツキシマブ単独療法（パートI）後に、FOLFIRI+セツキシマブ併用療法（パートII）に切り替える臨床第II相試験から、パートIでの *KRAS* 遺伝子変異を示す患者群の奏効率は 0% に対し、野生型患者群の奏効率は 27.6% (p=0.015) であった。パートIIでの奏効率はそれぞれ 31.6%、55.2% (p=0.144)、無増悪生存期間の中央値は 5.6 ヶ月、9.4 ヶ月 (p=0.0475) であった⁷⁾。

<注釈 2> オキサリプラチンと 5-FU の併用療法に不応/困難例を対象に、標準治療のひとつであるイリノテカン単独療法とイリノテカン+セツキシマブ療法を比較する臨床第III相試験（EPIC試験⁸⁾）でのレトロスペクティブな追加解析から、*KRAS* 遺伝子変異を示す患者群の奏効率は、セツキシマブ非併用群、併用群でそれぞれ 5.1%、12.2%、

無増悪生存期間の中央値は 2.69 ヶ月、2.60 ヶ月（ハザード比 1.00）、全生存期間の中央値は 10.68 ヶ月、8.41 ヶ月（ハザード比 1.28）であった。一方、*KRAS*遺伝子変異のない野生型患者群の奏効率は、セツキシマブ非併用群、併用群でそれぞれ 7.4%、10.3%、無増悪生存期間の中央値は 2.79 ヶ月、3.96 ヶ月（ハザード比 0.77）、全生存期間の中央値は 11.56 ヶ月、10.94 ヶ月（ハザード比 1.28）であった。

すべての標準治療に不応性となった化学療法既治療例を対象に、BSC (Best Supportive Care)とBSC+セツキシマブを比較する臨床第III相試験（NCIC CTG CO.17 試験⁹⁾）でのレトロスペクティブな追加解析から、*KRAS*遺伝子変異を示す患者群の奏効率は、セツキシマブ非併用群、併用群でそれぞれ 0%、1.2%、無増悪生存期間の中央値は 1.8 ヶ月、1.8 ヶ月（ハザード比 0.99、 $p=0.96$ ）、全生存期間の中央値は 4.6 ヶ月、4.5 ヶ月（ハザード比 0.98、 $p=0.89$ ）、1年生存率は 19.6%、13.2%であった。一方、*KRAS*遺伝子変異のない野生型患者群の奏効率は、セツキシマブ非併用群、併用群でそれぞれ 0%、12.8%、無増悪生存期間の中央値は 1.9 ヶ月、3.7 ヶ月（ハザード比 0.40、 $p<0.0001$ ）、全生存期間の中央値は 4.8 ヶ月、9.5 ヶ月（ハザード比 0.55、 $p<0.0001$ ）、1年生存率は 20.1%、28.3%であった。

同様に、すべての標準治療に不応性となった化学療法既治療例を対象に、BSC (Best Supportive Care)とBSC+パニツムマブを比較する臨床第III相試験¹⁰⁾でのレトロスペクティブな追加解析から、*KRAS*遺伝子変異を示す患者群の奏効率は、パニツムマブ非併用群、併用群でそれぞれ 0%、0%、無増悪生存期間の中央値は 7.3 週、7.4 週（ハザード比 0.99）、全生存期間の中央値は 4.4 ヶ月、4.9 ヶ月であった。一方、*KRAS*遺伝子変異のない野生型患者群の奏効率は、パニツムマブ非併用群、併用群でそれぞれ 0%、17%、無増悪生存期間の中央値は 7.3 週、12.3 週（ハザード比 0.45、 $p<0.0001$ ）、全生存期間の中央値は 7.6 ヶ月、8.1 ヶ月であった。

<注釈 3> 上記臨床成績と関連性が検討された *KRAS* 遺伝子変異は、TheraScreen K-RAS Mutation Kit を用いた ARMS-PCR 法や PCR クランピング法（CRYSTAL、OPUS、前述のパニツムマブの試験）などの Allele-specific PCR assay 法またはダイレクトシーケンス法（EPIC 試験、NCIC CTG CO.17 試験）を用いたコドン 12 またはコドン 13 領域の点突然変異である。したがって本ガイドランスで *KRAS* 遺伝子変異のある患者とは、コドン 12 またはコドン 13 に点突然変異を認める患者をさす。

<注釈 4> したがってコドン 61 領域などの *KRAS* 遺伝子点突然変異については抗 EGFR 抗体薬の投与対象外ではない。過去の手術標本が得られないまたは DNA の断片化などの理由で測定不能な症例に関しても現時点では投与対象と考えられる。

<注釈 5> 海外における *KRAS* 遺伝子検査の承認状況は、欧州医薬品委員会 (CHMP)

において *KRAS* 遺伝子野生型での使用を推奨し、欧州医薬品審査庁 (EMA) は、*KRAS* 遺伝子野生型大腸がんに対して 2007 年 12 月にパニツムマブ単独療法 (すべての標準治療に不応性となった既治療例大腸がん患者のみ) を、2008 年 7 月にセツキシマブを初回治療から併用することを承認した。米国食品医薬品局 (FDA) は *KRAS* 遺伝子に関するデータについて審議中である。米国の NCI (National Cancer Institute) は、NCI スポンサーのすべてのセツキシマブの試験を、*KRAS* 遺伝子検査を必須とするプロトコールへの改変作業を行っている。

さらに米国の National Comprehensive Cancer Network (NCCN), Clinical Practice Guidelines in Oncology-v.3.2008 において、抗 EGFR 抗体薬投与を *KRAS* 遺伝子野生型のみ限定する大幅な改訂が行われた。

2. ***KRAS* 遺伝子変異の測定に際し頻回の測定は不要と考えられる。測定に用いる材料は原発巣でも遠隔転移巣でもよい。測定時期は投与前が推奨される。**

<注釈 1> *KRAS* 遺伝子の点突然変異はがん進展の初期に起こると報告されており、大腸がんにおける病期に関わらず一定の頻度で変異が検出されることが分かっている。RASCAL 試験¹¹⁾ の結果から、Dukes 分類別の *KRAS* 遺伝子の点突然変異の頻度 (約 2700 症例を対象) は、Dukes A で 33.9%、Dukes B で 39.8%、Dukes C で 38.3%、Dukes D で 35.8% と 35-40% と報告されている。

<注釈 2> 化学療法対象の切除不能・再発大腸癌患者における未治療例と既治療例での野生型/変異型の頻度はおおむね 60%/40% である^{5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 14)}。

<注釈 3> 原発部位と転移部位においての比較では原発部位に変異を伴えば転移部位でもほぼ変異を有するとされる (一致率は 95% と報告されている)¹⁵⁾。 *KRAS* 遺伝子変異の 2 次的な変異獲得等の報告は現時点で認められない。

3. **本邦において推奨される *KRAS* 遺伝子検査法は、ダイレクトシーケンス法、Allele-specific PCR assay 法などである。**

<注釈 1> ダイレクトシーケンス法と TheraScreen K-RAS Mutation Kit を用いた ARMS-PCR 法¹⁶⁾ の比較実験から、ダイレクトシーケンス法では変異型 DNA 含有率 5% (癌細胞含有率 10%) は検出できなかったが、TheraScreen K-RAS Mutation Kit を用いた ARMS-PCR 法では変異型 DNA 含有率 5% でも検出が可能であったとの報告がある¹⁷⁾。しかし TheraScreen K-RAS Mutation Kit を用いた ARMS-PCR 法や PCR クランピング法の検出感度は 1% 程度とされ、これを超える高感度な方法で判定され

た変異型が抗EGFR抗体薬の投与対象外とする積極的根拠はない。

4. 最も推奨される検査材料はホルマリン固定組織・パラフィン包埋組織ブロック・薄切切片である。切片の厚さが $10\mu\text{m}$ の標本 5 枚程度を用意し、同時に作製した HE 染色標本を鏡検し腫瘍細胞の占有面積が大半を占めていることを確認する作業は重要である。パラフィン包埋ブロックにおける DNA の保存性の良否は、特にホルマリン固定時間が結果に影響を及ぼすことに留意する。

<注釈 1> *KRAS* 遺伝子変異は、片方の染色体上の *KRAS* 遺伝子だけが変異を起こすので、腫瘍細胞だけを 100%用いて検査しても変異型と野生型の混在比率は 50%となる。もし、腫瘍細胞が試料全体の 20%程度しか占めていない検体で検査した場合には、変異型の比率は 10%程度にまで稀釈されてしまうことになる。現在の標準的なダイレクトシーケンス法での検出感度は、バックグラウンドのノイズをよく抑えた最適条件下であっても約 10%程度の変異型のシグナル波形を目視で判読するのが限界である。そのため、検査施設においては、病理標本上で腫瘍細胞と間質細胞（正常細胞）の大まかな面積比率を確認し、少なくともがん組織が全体の 50%程度（最低 20%以上）占めているものを遺伝子変異解析の検体とすることが望ましい。そのため、検査に供する組織片は必ず病理組織学的に鏡検され、腫瘍細胞の占有面積が大半を占めていることが確認されていることが必要である。腫瘍細胞の占める面積の少ない標本しか保存されていない場合には、連続切片を作製することにより、パラフィン切片の未染色スライドに隣接する HE 染色プレパラート上で腫瘍細胞のみをマーキングし、DNA 抽出の際にはそのマーキング部位に一致した未染色スライド上のパラフィン切片を削り取ることで腫瘍細胞の比率を高めるようにする。

<注釈 2>ダイレクトシーケンス法の場合は、各医療施設の病理固定条件（ホルマリンの濃度、中性緩衝/非緩衝、浸漬時間、固定組織の大きさや分割の仕方など）によりパラフィン包埋ブロックにおけるDNAの保存性の良否に左右される。特にホルマリンの固定時間が重要であり、浸漬時間が 1 週間に及ぶとDNAの断片化などの理由で解析に適さないとする研究結果の報告¹⁸⁾がある。

<注釈 3>新鮮凍結組織を用いることは基本的に推奨しないが、用いる場合には正常部位の組織をできるだけ混入させないように注意しなければならない。腫瘍細胞のみを可能な限り外観から判断して選び、米粒大（約 50mg）から小豆大（約 100mg）の大きさで採取してチューブに納め、 -20°C 以下（理想的には -80°C ）で保存する。

生検組織のような小さな組織を用いる場合は、必ず病理組織学的に鏡検し、腫瘍細胞の占有面積が大半を占めていることが確認することが必要である。生検組織は基本的

に全て腫瘍細胞の存在比率が確かめられたパラフィン切片として検査に使用されるべきである。複数採取された組織片の一つを病理検査用に、他の一つを *KRAS* 検査にというように別々の材料で検査が行われることのないように注意する。生検組織の大きさは、通常ゴマ粒大程度であるが、ホルマリンでの固定は微小组織であるために速やかに進行し、病理診断の必要上数時間程度でパラフィン包埋されることが多い。このような材料では DNA の保存性が非常によく、パラフィン切片からの DNA 回収量が僅かであっても PCR 増幅は良好なことが多い。

5. 最適な検査方法に向けての精度管理 (QA: Quality Assurance)

正確な *KRAS* 遺伝子検査が保証された検査施設での *KRAS* 遺伝子検査の実施が望まれる。標準操作手順書 (SOP) を作製した上で実施されている施設であることが必要である。推奨される検査法の QA のパラメーターは検査法の感度、特異度、方法の検定、Success rate (成功率)、コスト等である。これらは、原則的に ISO/IEC 19757-9: 2008、OECD Guide-lines for Quality Assurance in Molecular Genetic Testing (<http://www.oecd.org>) に準拠していることが望まれる。感度、特異度に関しては、既述している。

<注釈 1>アッセイ法の検定について

検査施設は *KRAS* 遺伝子検査のために検定された検査法を用いなければならない。検定すべき内容は下記の項目等があげられる。

- DNA 抽出のために最低限必要な腫瘍組織量 (割合)、切片の厚さ
- 検査実施に必要な固定方法の条件 (パラフィン、凍結等)
- 検査実施に必要な DNA の質、量、濃度
- 変異アレルを正常アレルと区別するのに必要な cut-off 値
- 細胞株等のサンプル等による希釈系列を用いての感度測定
- 既存のアッセイ系 (ダイレクトシーケンス等) との検査結果の正確度の比較
- 再現性の検討
- ロバスト性検証
(各種 DNA の濃度における検討、手動、自動装置間の違い等を含む)

<注釈 2> Success rate について

各検査施設は次の項目に関する success rate (推奨レベル) を保証することが望ましい。

- ① DNA 抽出が 90% 以上のサンプルで可能であること。
- ② *KRAS* 遺伝子検査の結果が 90% のサンプルで認められること。

表1 *KRAS*遺伝子野生型/変異型の頻度

治療ライン	試験名	野生型の頻度 (%)	変異型の頻度 (%)
未治療例	CRYSTAL	64.4	35.6
	OPUS	58.0	42.0
	PACCE	57.5	42.5
	CAIRO-2	61.0	39.0
既治療例	EPIC	64.0	36.0
	CO 17	57.7	42.3
	Panitumumab+BSC versus BSC	57.0	43.0

表2 *KRAS*遺伝子変異の原発巣と転移巣の相関

	野生型 (原発巣)	変異型 (原発巣)
野生型 (転移巣)	24 (56%)	0 (0%)
変異型 (転移巣)	2 (5%)	17 (39%)

備考

2008年11月現在本邦において *KRAS* 遺伝子検査は保険未承認である。

現在まで本邦における厚生労働省からの *KRAS* 遺伝子検査に関する具体的な指針を示すに至っていない。臨床現場や各種学会からの *KRAS* 遺伝子検査への保険承認の要望があるが、厚生労働省保険局医療課の通達にある区分 D004-15 悪性腫瘍遺伝子検査（2,000点）として承認されるかどうか未定である。

文 献

1. Nancy E. Hynes, Heidi A. Lane: ERBB RECEPTORS AND CANCER: THE COMPLEXITY OF TARGETED INHIBITORS. NATURE REVIEWS CANCER VOL 5:341-354, 2005
2. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al: Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. N Engl J Med 351:337-345, 2004
3. 吉野孝之, 田原信, 山口研成, 他: EGFR 陽性の治癒切除不能進行・再発大腸癌に対する cetuximab・CPT-11 併用第 II 相試験 日本癌治療学会誌 第 42 巻 第 2 号 p285, 2007
4. http://www.info.pmda.go.jp/go/pack/4291415A1021_1_01/
5. Van Cutsem E, Lang I, D'haens G, et al: KRAS status and efficacy in the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) treated with FOLFIRI with or without cetuximab: The CRYSTAL experience. *J Clin Oncol* 26: 2008, ASCO annual meeting, suppl; abstr 2
6. Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann JT, et al: KRAS status and efficacy of first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) with FOLFOX with or without cetuximab: The OPUS experience. *J Clin Oncol* 26: 2008, ASCO annual meeting, suppl; abstr 4000
7. Cervantes A, Macarulla T, Martinelli E, et al: Correlation of KRAS status (wild type [wt] vs. mutant [mt]) with efficacy to first-line cetuximab in a study of cetuximab single agent followed by cetuximab + FOLFIRI in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol* 26: 2008, ASCO annual meeting, suppl; abstr 4129
8. Langer C, Kopit J, Award M, et al: Analysis of K-RAS mutations in patients with metastatic colorectal cancer receiving cetuximab in combination with irinotecan: results from the EPIC trial. *Ann Oncol*, 2008, ESMO annual meeting, suppl; abstr 141

9. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, et al: K-ras Mutation and Benefit from Cetuximab in Advanced Colorectal Cancer. *N Engl J Med* 359:1757-1765, 2008
10. Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al: Wild-Type KRAS Is Required for Panitumumab Efficacy in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 26: 1626-1634, 2008
11. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, Oates JR, Clarke PA: Kirsten ras Mutations in Patients With Colorectal Cancer: the Multicenter "RASCAL" Study. *Journal of the National Cancer Institute*, Vol. 90, No. 9, May 6, 1998
12. Hecht JR, Mitchell E, Chidia Tc, et al: Interim results from PACCE: irinotecan (Iri)/bevacizumab (bev) ± panitumumab (pmab) as first-line treatment (tx) for metastatic colorectal cancer (mCRC) ASCO Gastrointestinal Cancers Symposium, 2008, abstr 279
13. Punt CJ, Tol J, Rodenburg CJ, et al: Randomized phase III study of capecitabine, oxaliplatin, and bevacizumab with or without cetuximab in advanced colorectal cancer (ACC), the CAIRO2 study of the Dutch Colorectal Cancer Group (DCCG). *J Clin Oncol* 26: 2008, ASCO annual meeting, suppl; abstr LBA4011
14. Amado RG, Wolf M, Freeman D, et al: Panitumumab Efficacy and Patient-Reported Outcomes in Metastatic Colorectal Cancer Patients With Wild-Type *KRAS* Tumor Status ASCO Gastrointestinal Cancers Symposium, 2008, abstr 278
15. Loupakis F, Pollina L, Stasi I, et al: Evaluation of PTEN expression in colorectal cancer (CRC) metastases (mets) and in primary tumors as predictors of activity of cetuximab plus irinotecan treatment *J Clin Oncol* 26: 2008, ASCO annual meeting, suppl; abstr 4003
16. EGFR inhibitors embrace *KRAS*. *Nat Biotechnol*, vol 26 (8): 839-840, 2008
17. 吉野孝之. 大腸癌における *KRAS* 遺伝子変異の臨床的意義とその測定方法についての考察 *日本臨牀* 67 巻 増刊号 1 Jan, 2009 (in press)
18. 横田知哉. *KRAS* 遺伝子測定における検体の取扱い 大腸癌 *KRAS* 遺伝子変異ガイドライン—抗EGFR抗体医薬の適性使用に向けて *医学のあゆみ* 第228巻13号, 2009 (in press)