

新規遺伝子解析プログラムを応用した
泌尿器科腫瘍の分子診断システムの開発
(研究課題番号：14207062)

平成14年度～平成17年度科学研究費補助金 (基盤研究 (A) (2))

研究成果報告書
(平成18年5月)

研究代表者 小川 修

京都大学図書



1060664973

附属図書館

医学研究科泌尿器科学教授)

はしがき

平成14年から17年の4年にわたり「新規遺伝子解析プログラムを応用した泌尿器科腫瘍の分子診断システムの開発」と題する研究課題に対して文部科学省より科学研究費（基盤研究（A）⁽²⁾）を頂きました。ここに研究報告書を提出いたします。

研究組織

- 研究代表者：小川 修（京都大学医学研究科泌尿器科学・教授）
研究分担者：内藤誠二（九州大学医学研究院泌尿器科学・教授）
研究分担者：大島伸一（名古屋大学医学系研究科泌尿器科学・教授）
研究分担者：福島雅典（京都大学医学研究科探索医療センター・教授）
研究分担者：伊藤哲之（京都大学医学研究科泌尿器科学・講師）
研究分担者：西山博之（京都大学医学研究科泌尿器科学・講師）

海外共同研究者：

- Anthony Reeve (Cancer Genetic Lab., Otago Univ. ・教授)
Nikola Kasabov (Information science, Otago Univ. ・教授)

交付決定額（配分額）

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|------------|------------|------------|
| 平成14年度 | 19,600,000 | 5,880,000 | 25,480,000 |
| 平成15年度 | 7,200,000 | 2,160,000 | 9,360,000 |
| 平成16年度 | 7,200,000 | 2,160,000 | 9,360,000 |
| 平成17年度 | 7,200,000 | 2,160,000 | 9,360,000 |
| 平成 年度 | | | |
| 総計 | 41,200,000 | 12,360,000 | 53,560,000 |

研究発表（英文誌発表のみ記載）

* : 重要論文（本報告書掲載）

1. Wu X-X, Kakehi Y, Mizutani Y, Kamoto T, Kinoshita H, Isogawa Y, Terachi T, Ogawa O. Doxorubicin enhances TRAIL-induced apoptosis in prostate cancer. *Int. J. Cancer*, 20: 949-954, 2002
2. Motohashi H, Sakurai Y, Saito H, Masuda S, Urakami Y, Goto M, Fukatsu A, Ogawa O, Inui K. Gene expression levels and immunolocalization of organic iron transporters in the human kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 13: 866-874, 2002
- * 3. Nakamura E, Megumi Y, Kobayashi T, Kamoto T, Ishitoya S, Terachi T, Tachibana M, Matsushiro H, Habuchi T, Kakehi Y, Ogawa O. Genetic polymorphisms of the Interleukin-4 receptor a gene are associated with an increasing risk and poor prognosis of sporadic renal cell carcinoma in a Japanese Population. *Clin. Cancer Res.*, 8: 2620-2625, 2002
4. Kakehi Y, Kamoto T, Ogawa O, Arai Y, Litwin M S, Suzukamo Y, Fukuhara S. Development of Japanese version of the USLA Prostate Cancer Index: a pilot validation study. *Int. J. Clin. Oncol.*, 7: 306-311, 2002
5. Fujiwara H, Emi M, Nagai H, Nishimura T, Konishi N, Kubota Y, Ichikawa T, Takahashi S, Shuin T, Habuchi T, Ogawa O, Inoue K, Skolnick M H, Swensen J, Camp N J, Tavtigian S V. Association of common missense changes in ELAC2 (HPC2) with prostate cancer in a Japanese case-control series. *J. Hum. Genet.*, 47: 641-648, 2002
6. Yoshimura K, Arai Y, Fujimoto H, Nishiyama H, Ogura K, Okino T, Ogawa O. Prognostic impact of extensive parenchymal invasion pattern in pT3 renal pelvic transitional cell carcinoma. *Cancer* 94: 3150-3156, 2002
- * 7. Abe A, Sato K, Habuchi T, Wang L, Li Z, Tsuchiya N, Ohyama C, Satoh S, Ogawa O, Kato T. Single nucleotide polymorphisms in the 3' untranslated region of vascular endothelial growth factor gene in Japanese population with or without renal cell carcinoma. *Tohoku J. Exp. Med.*, 198: 181-190, 2002
- * 8. Wang L, Habuchi T, Mitsumori K, Li Z, Kamoto T, Kinoshita H, Tsuchiya N, Sato K, Ohyamam C, Nakamura A, Ogawa O, Kato T. Increased risk of prostate cancer associated with AA genotype of cyclin D1 gene A870G polymorphism. *Int. J. Cancer*, 103: 116-120, 2003
9. Kobayashi T, Kamoto T, Isogawa Y, Kinoshita H, Terai A, Habuchi T, Ogawa O. Ratio of prostate specific antigen minor molecular form-to-total prostate antigen is constant regardless of the pathological conditions of the prostate. *J. Urol.*, 169: 121-124, 2003
10. Wu W-W, Kakehi Y, Mizutani Y, Nishiyama H, Kamoto T, Megumi K, Ito N,

Ogawa O. Enhancement of TRAIL/APO2L-mediated apoptosis by adriamycin through inducing DR4 and DR5 in renal cell carcinoma cells. *Int. J. Cancer*, 104: 409-417, 2003

* 11. Li Z, Habuchi T, Mitsumori K, Kamoto T, Kinoshita H, Segawa T, **Ogawa O**, Kato T. Association of V89L SRD5A2 polymorphism with prostate cancer development in a Japanese population. *J. Urol.*, 169: 2378-2381, 2003

* 12. Wang L, Habuchi T, Tsuchiya N, Mitsumori K, Ohyama C, Sato K, Kinoshita H, Kamoto T, Nakamura A, **Ogawa O**, Kato T. Insulin-like growth factor-binding protein-3 gene -202 A/C polymorphism is correlated with advanced disease status in prostate cancer. *Cancer Res.*, 63: 4407-4411, 2003.

* 13. Habuchi T, Kamoto T, Hara I, Kawai K, Nakao M, Nonomura N, Kobayashi T, **Ogawa O**, Kamidono S, Akaza H, Okuyama A, Kato T, Miki T. Factors that influence the results of salvage surgery in patients with chemorefractory germ cell carcinomas with elevated tumor markers. *Cancer* 98: 1635-1642, 2003

13. Kawakami T, Okamoto K, Sugihara H, Hattori T, Reeve AE, **Ogawa O**, Okada Y. The Roles of Supernumerical X Chromosomes and XIST Expression in Testicular Germ Cell Tumors. *J. Urol.* 169 :1546-1552, 2003

14. Kawakami T., Okamoto K., Kataoka A., Koizumi S., Iwaki H., Sugihara H., **Reeve A. E.**, **Ogawa O.** and Okada Y. Multipoint methylation analysis indicates a distinctive epigenetic phenotype among testicular germ cell tumors and testicular malignant lymphomas. *Genes Chromosomes Cancer* 38: 97-101, 2003

* 15. Wang LZ, Sato K, Tsuchiya N, Yu JG, Ohyama C, Satoh S, Habuchi T, **Ogawa O**, Kato T. Polymorphisms in prostate-specific antigen (PSA) gene, risk of prostate cancer, and serum PSA levels in Japanese population. *Cancer Lett.*, 202: 53-59, 2003

16. Kawakami T, Okamoto K, **Ogawa O**, Okada Y. XIST unmethylated DNA fragments in male-derived plasma as a tumour marker for testicular cancer. *Lancet.* 363: 40-42, 2004

17. Wu XX, **Ogawa O**, Kakehi Y. Sensitization of human renal cell carcinoma cell lines to TRAIL-induced apoptosis by anthracyclines. *Int. J. Urol.*, 11: 164-170, 2004

* 18. **Nishiyama H**, Habuchi T, Watanabe J, Teramukai S, Tada H, Ono Y, **Ohshima S**, Fujimoto K, Hirao Y, **Fukushima M**, **Ogawa O**. Clinical Outcome of a Large-Scale Multi-Institutional Retrospective Study for Locally Advanced Bladder Cancer: A Survey Including 1131 Patients Treated during 1990-2000 in Japan. *Eur Urol.* 45: 176-181, 2004.

19. Sakurai Y, Motohashi H, Ueo H, Masuda S, Saito H, Okuda M, Mori N, Matsuura M, Doi T, Fukatsu A, **Ogawa O**, Inui K. Expression levels of renal organic anion transporters (OATs) and their correlation with anionic drug excretion in patients with

renal diseases. *Pharmaceut. Res.*, 21: 61-67, 2004

20. Uwai Y, Masuda S, Goto M, Motohashi H, Saito H, Okuda M, Nakamura E, Ito N, **Ogawa O**, Inui K. Common single nucleotide polymorphisms of the MDR1 gene have no influence on its mRNA expression level of normal kidney cortex and renal cell carcinoma in Japanese nephrectomized patients. *J. Hum. Genet.*, 59: 40-45, 2004

21. Ishitoya S, Kurazono H, **Nishiyama H**, Nakamura E, Kamoto T, Habuchi T, Terai A, **Ogawa O**, Yamamoto S. Verotoxin induced rapid elimination of human renal tumor xenografts in scid mice. *J. Urol.*, 171: 1309-1313, 2004

* 22. Takahashi A, **Ogawa O** et al. Radical cystectomy for invasive bladder cancer: results of multi-institutional pooled analysis. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 34: 14-19, 2004

23. Kawakami T, Okamoto K, Sugihara H, Hattori T, **Reeve AE**, **Ogawa O**, Okada Y. The MET proto-oncogene is not a major target for the gain of chromosome 7 in testicular germ-cell tumors of adolescents. *Virchows Arch.*, 444: 480-481, 2004

24. Maeda H, Hori S, Ohizumi H, Segawa T, Kakehi Y, **Ogawa O**, Kakizuka A. Effective treatment of advanced solid tumors by the combination of arsenic trioxide and L-buthionine-sulfoximine. *Cell Death Differ.*, 11: 737-746, 2004

25. Watanabe J, **Nishiyama H**, Okubo K, Takahashi T, Toda Y, Habuchi T, Kakehi Y, Toda M, **Ogawa O**. Clinical evaluation of p53 mutations in urothelial carcinoma by IHC and FASAY. *Urology*, 63: 989-993, 2004

26. Wu X-X, **Ogawa O**, Kakehi Y. Enhancement of arsenic trioxide-induced apoptosis in renal cell carcinoma cells by L-buthionine sulfoximine. *Int. J. Oncol.*, 24: 1489-1497, 2004

* 27. Kumazawa T, Tsuchiya N, Wang L, Sato K, Kamoto T, **Ogawa O**, Nakamura A, Kato T, Habuchi T. Microsatellite polymorphism of steroid hormone synthesis gene CYP11A1 is associated with advanced prostate cancer. *Int. J. Cancer*, 110: 140-144, 2004

28. Kawakami T, Zhang C, Taniguchi T, Kim CJ, Okada Y, Sugihara H, Hattori T, **Reeve AE**, **Ogawa O**, Okamoto K. Characterization of loss-of-inactive X in Klinefelter syndrome and female-derived cancer cells. *Oncogene* 23: 6163-6169. 2004

* 29. Ichimura Y, Habuchi T, Tsuchiya N, Wang L, Oyama C, Sato K, **Nishiyama H**, **Ogawa O**, Kato T. Increased risk of bladder cancer associated with a glutathione peroxidase 1 codon 198 variant. *J. Urol.*, 172: 728-732, 2004

30. Akaza H, Usami M, Hinotsu S, **Ogawa O**, Kagawa S, Kitamura T, Tsukamoto T, **Naito S**, Hirao Y, Murai M, Yamanaka H. Characteristics of Patients with Prostate Cancer Who Have Initially been Treated by Hormone Therapy in Japan: J-CaP Surveillance. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 34: 329-336, 2004

- *31. Ito M, Habuchi T, Watanabe J, Higashi S, **Nishiyama H**, Wang L, Tsuchiya N, Kamoto T, **Ogawa O**. Polymorphism within the cyclin D1 gene is associated with an increased risk of carcinoma in situ in patients with superficial bladder cancer. *Urology* 64:74-78, 2004
32. Akaza H, Usami M, Hinotsu S, **Ogawa O**, Kagawa S, Kitamura T, Tsukamoto T, **Naito S**, Hirao Y, Murai M, Yamanaka H. Characteristics of patients with prostate cancer who have initially been treated by hormone therapy in Japan: J-CaP surveillance. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 34: 329-336, 2004
- *33. Narita S, Tsuchiya N, Wang L, Matsuura S, Ohyama C, Satoh S, Sato K, **Ogawa O**, Habuchi T, Kato T. Association of lipoprotein lipase gene polymorphism with risk of prostate cancer in a Japanese population. *Int. J. Cancer*, 112: 872-876, 2004
- *34. Yu J, Habuchi T, Tsuchiya N, Nakamura E, Kakinuma H, Horikawa Y, Inoue T, **Ogawa O**, Kato T. Association of the cyclin D1 gene G870A polymorphism with susceptibility to sporadic renal cell carcinoma. *J. Urol.*, 172: 2410-2413, 2004
- *35. Tsuchiya N, Wang L, Horikawa Y, Inoue T, Kakinuma H, Matsuura S, Sato K, **Ogawa O**, Kato T, Habuchi T. CA repeat polymorphism in the insulin-like growth factor-I gene is associated with increased risk of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Int. J. Oncol.*, 26: 225-31, 2005
- *36. Kamoto T, Isogawa Y, Shimizu Y, Minamiguchi S, Kinoshita H, Kakehi Y, Mistumori K, Yamamoto S, Habuchi T, Kato T, **Ogawa O**. Association of a genetic polymorphism of the E-cadherin gene with prostate cancer in a Japanese population. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 35: 158-161, 2005
- *37. Matsui Y, **Nishiyama H**, Watanabe J, Teramukai S, Ono Y, **Ohshima S**, Fujimoto K, Hirao Y, **Fukushima M**, **Ogawa O**. The current status of perioperative chemotherapy for invasive bladder cancer: a multiinstitutional retrospective study in Japan. *Int. J. Clin. Oncol.*, 10:133-138, 2005
38. Megumi, Y, Miyauchi, Y, Sakurai, H, Nobeyama, H, Lorick, K, Nakamura, E, Chiba, T, Tanaka, K, Weissman, AM, Kirisako, T, **Ogawa O**, Iwai, K. Multiple roles of Rbx1 in the VBC-Cul2 ubiquitin ligase complex. *Genes Cells*, 10: 679-691, 2005
39. Watanabe J, **Nishiyama H**, Kawanishi H, Ito M, Kamoto T, **Ogawa O**. Clinical evaluation of serum p53 antibodies in patients with upper urinary tract tumors. *J. Urol.*, 174:73-75, 2005
- *40. Zhenhua L, Tsuchiya N, Narita S, Inoue T, Horikawa Y, Kakinuma H, Kato T, **Ogawa O**, Habuchi T. CYP3A5 gene polymorphism and risk of prostate cancer in a Japanese population. *Cancer Lett.*, 225:237-243, 2005
41. Segawa T, Kamoto T, Kinoshita H, Kunishima Y, Yoshimura K, Ito A, Takahashi T, Higashi S, Nakamura E, **Nishiyama H**, **Ito N**, Yamamoto S, Habuchi T, **Ogawa O**.

- Monthly paclitaxel and carboplatin with oral estramustine phosphate in patients with hormone-refractory prostate cancer. *Int. J. Clin. Oncol.*, 10:333-337, 2005
42. Kobayashi T, Kinoshita H, Nishizawa K, Mitsumori K, **Ogawa O**, Kamoto T. Age-associated increase of prostate-specific antigen in a high level of men visiting urological clinics. *Int. J. Urol.*, 12:733-738, 2005
43. Shioji G, Ezura Y, Nakajima T, Ohgaki K, Fujiwara H, Kubota Y, Ichikawa T, Inoue K, Shuin T, Habuchi T, **Ogawa O**, Nishimura T, Emi M. Nucleotide variations in genes encoding plasminogen activator inhibitor-2 and serine proteinase inhibitor B10 associated with prostate cancer. *J. Hum. Genet.*, 50:507-515, 2005
44. Kobayashi T, Nakamura E, Ogura K, **Ogawa O**. Incidence of adrenal involvement and assessing adrenal function in patients with renal cell carcinoma: is ipsilateral adrenalectomy indispensable during radical nephrectomy? *BJU Int.* 96:916, 2005
45. Niu Z, Ito M, Awakura Y, Takahashi T, Nakamura E, Ito N, **Ogawa O**. The expression of NOV and WT1 in renal cell carcinoma: a quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis. *J. Urol.*, 174:1460-1462, 2005
- * 46. Inoue T, Segawa T, Shiraishi T, Yoshida T, Toda Y, Yamada T, Kinukawa N, Kinoshita H, Kamoto T, **Ogawa O**. Androgen receptor, Ki67, and p53 expression in radical prostatectomy specimens predict treatment failure in Japanese population. *Urology*, 66:332-337, 2005
- * 47. Yoshida T, Kinoshita H, Segawa T, Nakamura E, Inoue T, Shimizu Y, Kamoto T, **Ogawa O**. Antiandrogen bicalutamide promotes tumor growth in a novel androgen-dependent prostate cancer xenograft model derived from a bicalutamide-treated patient. *Cancer Res.*, 65: 9611-9616, 2005
48. Inoue T, Ito T, Narita S, Horikawa Y, Tsuchiya N, Kakinuma H, Mishina M, Nakamura E, Kato T, **Ogawa O**, Habuchi T. Association of BCL10 germ line polymorphisms on chromosome 1p with advanced stage testicular germ cell tumor patients. *Cancer Lett.*, 14: 2005
49. Oka H, Chatani Y, Kohno M, Kawakita M, **Ogawa O**. Constitutive activation of the 41- and 43-kDa mitogen-activated protein (MAP) kinases in the progression of prostate cancer to an androgen-independent state. *Int J Urol.*, 12 :899-905, 2005
- * 50. Teramukai S, Nishiyama H, Matsui Y, **Ogawa O**, Fukushima M. Evaluation for surrogacy of end points by using data from observational studies: tumor downstaging for evaluating neoadjuvant chemotherapy in invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res.*, 12:139-43, 2006
- * 51. Awakura Y, Ito N, Nakamura E, Takahashi T, Kotani H, Mikami Y, Manabe T, Kamoto T, Habuchi T, **Ogawa O**. Matrix metalloproteinase-9 polymorphisms and renal cell carcinoma in a Japanese population. *Cancer Lett.* 2006

52. Nakamura E, Abreu-E-Lima P, Awakura Y, Inoue T, Kamoto T, **Ogawa O**, Kotani H, Manabe T, Zhang GJ, Kondo K, Nose V, Kaelin WG Jr. Clusterin is a secreted marker for a hypoxia-inducible factor-independent function of the von hippel-lindau tumor suppressor protein. *Am J Pathol.*, 168:574-584, 2006

53. Takahashi T, Higashi S, **Nishiyama H**, Segawa T, Nakamura E, Kinoshita H, **Itoh N**, Yamamoto S, Kamoto T, Habuchi T, **Ogawa O**. Biweekly Paclitaxel and Gemcitabine for Patients with Advanced Urothelial Cancer Ineligible for Cisplatin-Based Regimen. *Jpn J Clin Oncol.* ; 36: 104-108, 2006

* 54. Ito M, **Nishiyama H**, Watanabe J, Kawanishi H, Takahashi T, Kamoto T, Habuchi T, **Ogawa O**. Association of the PIG3 Promoter Polymorphism with Invasive Bladder Cancer in a Japanese Population. *Jpn J Clin Oncol.* 36: 116-120, 2006

* 55. Watanabe J, **Nishiyama H**, Matsui Y, Ito M, Kawanishi H, Kamoto T, **Ogawa O**. Dicoumarol potentiates cisplatin-induced apoptosis mediated by c-Jun N-terminal kinase in p53 wild-type urogenital cancer cell lines. *Oncogene.* 2006 Mar 6

研究成果総括

はじめに

尿路性生殖器系には多様な病理組織学特徴や異なった治療反応性を示す特徴ある悪性腫瘍が発生する。例えば腎細胞癌は免疫療法に反応し、前立腺癌は内分泌療法に著効を示す特異な悪性腫瘍である。また尿路上皮腫瘍は化学療法に高い反応性を示し、精巣腫瘍にいたっては転移のある進行癌でさえ化学療法を中心とする集学的治療によって根治可能となっている。しかし、実際の臨床診療における大きな問題点は、個々の腫瘍における治療反応性に幅広い多様性が認められ、標準的な治療がそれぞれの患者にとって必ずしも適切な治療では無いという事実である。したがって再発転移や治療反応性と相関を示し、それを予測する鋭敏なマーカーを開発することが出来れば、不適切な治療による患者の負担を減らしつつ、さらに有効な治療戦略を計画する事が可能になり、癌患者にとって大きな福音となることは明らかである。

近年の分子生物学の急速な発展に伴って、発癌や悪性進展の分子機構は徐々に明らかになっているが、実際の癌治療において有用と考えられる遺伝子（分子）マーカーは数少ない。これは単一の分子マーカーでは複雑な癌の生物学的特性を反映できないという従来の解析法における限界を示している。最近、DNAチップを用いたマイクロアレイ解析の技術が進歩し、臨床検体を用いた解析においても信頼性の高いデータが得られるようになってきている。実際、発現プロファイルによって臨床上有用と思われる新しい情報が得られる可能性が徐々に報告されつつあり、化学療法や放射線療法などの治療反応性を予測する分子診断システムの開発が待ち望まれている。

一方、マイクロアレイ解析においては一検体につき数万という遺伝子発現情報が存在し、それらは無視できない程度のばらつきをもって出力されてくることが明らかとなっている。したがって、膨大な情報をどのように標準化して解析するか、またその中からいかに有用な情報を拾い上げるかという情報処理における大きな問題点が露呈されてきている。

以上の問題点を解決するためには、1) 質の高い臨床情報とそれとセットになった臨床検体、2) 信頼性の高いアレイ解析システム、3) 優れた情報処理システムが必須であり、それを遂行するには、臨床医学研究者、分子生物学者、さらには情報科学者が高度なレベルで統合した研究チームが必要である。

本研究課題においては、臨床医学研究者、分子生物学者、情報科学者によって構成される共同研究チームを編成した。そして、高い信頼性を持った臨床情報と再現性を持った遺伝子情報を蓄積し、それを高度の情報解析プログラム上で処理することにより、実際の癌臨床で利用可能な分子診断システムを開発し、最終的には、その診断システムの有用性を検証するため、実際の臨床試験へ応用することを目指した。

研究成果のまとめ

1. 膀胱癌の多施設アウトカム研究

膀胱癌は、尿路性器癌のなかで最も頻度が高く、その20-40%が浸潤癌であるといわれている。従来の予後解析では、浸潤癌は根治的膀胱全摘の施行にもかかわらず、その40%が3年以内に癌死するという結果がでていたが、近年、手術術式・化学療法などの目覚ましい発達によってその予後は変化しつつあると思われ、今後浸潤性膀胱癌の治療研究をおこなううえでも、治療成績を常にアップデートしていくことが必要と考えられる。更に、日本国内において浸潤性膀胱癌の長期予後を追跡しえた大規模な報告は未だなされておらず、それらを確認する意味でも日本国内多施設共同のアウトカム研究が必要不可欠と考えられた。以上の観点から、我々は、2つの多施設アウトカム研究を行い、現在までにその結果を報告している (Takahashi 2004, Nishiyama 2004)。

これら二つのアウトカム研究は、1991年から1995年までの間に21施設にて膀胱全摘術を施行された518症例(Takahashi 2004)、1990年から2000年までの間に32施設にて膀胱全摘を施行された1131症例(Nishiyama 2004)を対象としたもので、経過観察期間中間値も4.4年、3.8年と十分な規模と経過観察を行ったものである。いずれの解析にても、腫瘍深達度・リンパ節転移の有無が5年生存率に非常に大きな影響を及ぼしていることを示しており、従来の報告を裏付けるものであった。さらに後者のアウトカム研究では多変量解析を行い、予後予測因子を解析したが、性別・臨床病期・病理診断病期・リンパ節転移の有無・リンパ節郭清施行の有無が予後予測に重要であると考えられた。この解析結果は放射線治療・化学療法・腹腔鏡下手術など様々な新技術が導入される今後の浸潤性膀胱癌治療を考えていく上で、非常に意味のあるものと考えられる。

また、近年膀胱全摘術前術後にシスプラチンを中心とした補助化学療法が行われることが多いが、その重要性についても解析を行ったところ、前者の解析では、術後化学療法にて生存率が改善する傾向を認めるものの、術前化学療法は生存率改善に寄与していないという結果であった。しかし、後者の解析にて更に症例を臨床病期・病理診断病期ごとに分別し詳細に解析を行ったところ、特にT3N0, pT2b/pT3N0の症例に関しては周術期化学療法の効果が期待できるのではないかと考えられた(Matsui 2005)。

更に、従来より術前化学療法反応性によって膀胱全摘後の予後を予測することが可能であるといわれているが、我々は臨床病期・病理診断病期から化学療法の効果を分類する新たな surrogate marker を導入し、より実用的な予後予測にむけた研究も行っている(Teramukai 2006)。

現在我々は、これらアウトカム研究結果を踏まえ、前向きに症例を集積中であり、特に周術期化学療法の併用に関する予後予測因子を網羅的遺伝子解析をもちいて同定しようと試みている(研究計画書1を参照)。今後、遺伝子情報と臨床情報をうまく組み合わせることが、我々の目指す個別化治療に非常に有意義であろうと考えられる。

その他に、我々は膀胱癌の発生や進展に関与すると思われる遺伝子多型についても検討を行い、*GPX1* 遺伝子(Ichimura 2004)、*CCND1* 遺伝子(Ito 2004)、*PIG3* 遺伝子(Ito 2006)における多型がその発生やアウトカムと関連することを報告した。

2. 膀胱癌の CDDP 抵抗性予測とその対策に関する研究

我々は膀胱癌に対する膀胱全摘術前・術後補助化学療法に関する retrospective な多施設共同研究の結果 (Matsui 2005) から、浸潤性膀胱癌でも化学療法で完全緩解となったものは予後が良い傾向にあるという結果を得たため、基礎研究として従来の化学療法の副作用を軽減しつつその抗腫瘍作用を高めるための新たな分子標的治療を模索した。

従来より尿路上皮癌における *p53* 腫瘍抑制遺伝子の遺伝子変異に着目した研究を行ってきたが、これまでの結果から尿路性器癌において *p53* 遺伝子が抗癌剤細胞障害に対し抑制的に作用しており、その修飾により化学療法感受性を亢進させることができるのではないかという発想に至り、癌細胞において発現の亢進する Redox 関連分子 NADH Quinone Oxidoreductase-1 (NQO1) が癌細胞において *p53* 蛋白を安定化させるとの報告がこれまでなされていることに注目し、これら Redox 関連分子の修飾を介しての抗癌剤作用の増強、および *p53* 経路を介した抗癌剤耐性機序の解明と克服という新たな試みに取り組んだ。

具体的には、すでに欧米で抗凝固剤として臨床応用されているジクマロールが NQO1 の作用を特異的に阻害することを利用し、ジクマロールを併用することでシスプラチン (CDDP)、アドリアマイシン (ADR) 等の抗癌剤の抗腫瘍効果が増強される知見を MTT assay, TUNEL 染色にて見出し、さらに western-blot 解析による発現解析実験や各種酵素阻害剤・siRNA による機能抑制実験を行い、Dicoumarol の細胞障害活性が *p53*-*p21* 経路を介した細胞周期停止機構を阻害し、その結果 JNK を活性化することで mitochondria を介した apoptosis を誘導することを解明した。また、正常尿路上皮では逆に細胞障害活性がジクマロールの併用にて減弱されており、NQO1 の癌組織における発現亢進を考えれば、この結果は尿路上皮癌のみならず種々のがん治療に対し大きな意義をもつ可能性があると考えている (Watanabe 2005, 2006)。

3. 膀胱癌の網羅的発現解析

ニュージーランドオタゴ大学との協力にて、膀胱腫瘍サンプルから cDNA microarray 解析を行い、膀胱腫瘍の進展・化学療法感受性に関連すると予測される因子の同定を行った。現在のところ、Stage/Grade に関わる遺伝子として翻訳後修飾に関連する数遺伝子を pick up しており、その意義について今後検討を行いたいと考えている。そのうちの数種類の遺伝子に関しては発現ベクターをすでに作成し、膀胱癌細胞株を用いた in vitro での解析を開始しているところである。

また、表在性膀胱癌の再発因子として細胞接着制御などに関係する *PAK1* (Rac/CDC42 依存性キナーゼ) が microarray で同定され、新たな臨床サンプルを用いた定量的 RT-PCR や組織染色による validation にても同様の結果が得られた。今後はその機能的意義について膀胱癌細胞株にて in vitro 解析も行う予定である。最終的には尿中マーカーとしての実用性まで検討を行いたいと考えて新たな症例を prospective に集積中である。

膀胱腫瘍術前化学療法感受性に関する網羅的解析は、「浸潤性膀胱癌の化学療法に対する遺伝子発現量による感受性予測に関する臨床試験」(承認番号 G106) として開始され、prospective に収集された腫瘍サンプルから microarray 解析を行った (研究計画書 1 を参照)。いまだ、サンプル数は予定数に達しておらず、あくまで preliminary なデータであるが、癌の進展・アポトーシスに密接な関係を持つ細胞内

酸化ストレス制御に関わる glutathione S-transferase や Thioredoxin 関連遺伝子が化学療法感受性マーカーとして pick up されており、現在その validation を新たなサンプルを用いておこなうとともに、その機能的意義について細胞株における発現解析実験や機能抑制実験を検討中である。

4. 腎細胞癌の多施設アウトカム研究

現在、日本人における腎癌の発生率は10万人あたり8-10人と言われており、現在も増加傾向にある癌である。このデータはアメリカでもほぼ同様であり、年齢補正有病率も1975年の10万人あたり7.1人から2000年の10万人あたり12.1人まで漸増傾向にある。

腎癌の診断については、約85%は腎細胞癌の腺癌で、この大半は近位尿細管由来である。さらに1997年UICCとAJCCのWorkgroupから、遺伝子解析に基づく新たな病理診断規準と新たなTNM分類が提唱され、1998年には新しいTNM分類に基づいた腎癌の取り扱い規約が定められ、2004年にはWHOからさらに新たな病理診断規準が提示されているが、現在のところ新しい病理診断規準は日本ではコンセンサスには至っていない。

腎癌の発症のリスク因子には、肥満、高血圧、などが存在するといわれてきた。また、分子マーカーについても様々な検討が行われてきたが満足のものはいまだなく新たなマーカーが検討中である。また、予後予測因子の検討も行われ、予後に影響するかどうかの検討についてはさまざまな因子が提唱されている。また、こういった予後予測因子を用いて予後予測式が立てられ、図形的に予後を予測出来るノモグラムも作成されている。

腎細胞癌の治療については、外科的切除は腎細胞癌治療の基本戦略である。腎および隣接する周囲の軟部組織に局限している時点で診断および治療を実施すれば、治癒することが多い。そして治癒の可能性は、病期または腫瘍のひろがりの程度に左右される。血管に浸潤していても、生存期間が長く治癒する可能性も十分にある。薬物療法については、新しい分子標的治療薬に期待がかかっているが、インターフェロンやインターロイキン等の全身治療では限定された有効性しか明らかにされていない。遠隔転移を有する症例に対しては現在いくつかレジメンが提唱されているものの成績はよくないため、免疫療法を基本に、転移巣の切除、動脈塞栓術などを取り入れた集学的治療を施行している。

このような診断技術の進歩と治療の多様化にあわせ、京都大学医学部附属病院をはじめとする各病院の新たな診断基準での病理診断情報、治療グループの分析と転帰調査を行い、この疾患の背景因子、診断、治療法と予後との関係についてさらに検討を行うために、1000例を目標とした多施設アウトカム研究を立ち上げた（研究計画書2を参照）。

5. 腎細胞癌のインターフェロン応答性に関する遺伝因子の解析

転移性腎癌の治療は免疫療法が中心となるが、その奏効率は20%程度である。免疫療法の中心となるIFN- α は奏効率が低いにもかかわらず、投与前のresponseのよい指標（マーカー）がないことが臨床で大きな問題である。一方、我々はIR4Rの遺伝子多型が腎癌患者の予後を規定する因子であることを明らかにしてきた（Nakamura 2002）。

このような状況を鑑み、responseの指標となる遺伝子多型を同定するべく、京都大学泌尿器科を中心とした多施設共同研究を施行した（研究計画書3を参照）。ミレニアムプロジェクトにより既にゲノムのかなりの部分で SNP 情報が利用可能であり、この研究に使える DNA 量には限度があることなどから、SNP を中心とした Candidate Gene-based Association Study を行った。IFN- α レセプター及びシグナル伝達系（11 遺伝子）、Th1/Th2 に関与（10 遺伝子）、IFN- α によって発現変化が認められる遺伝子（6 遺伝子）、その他の遺伝子（6 遺伝子）の計 33 遺伝子を選び、公共データベース（dbSNP / NCBI）より検索し 1,167 SNPs を候補とした。PCR-INVADER 法、PCR-RFLP 法によりバリデーシヨンの genotyping を施行したところ、最終的に利用できる SNPs の合計は 463 SNPs のみであった。試料提供者としては過去に腎細胞癌の治療を目的として IFN- α 療法を受けた転移巣を有する患者で、Responder は CR または PR が 4 週以上継続した患者と規定した。その結果、統計解析により *STAT3* を代表とする幾つかの遺伝子の多型が、IFN- α 治療を受ける腎細胞癌患者の腫瘍縮小を期待できる患者識別マーカーであることが示唆された。現在、その遺伝子多型の機能解析を施行しているが、腎細胞癌細胞株において *STAT3* の発現を siRNA にて抑制すると、IFN- α による増殖抑制効果が増強されることが判明した。この遺伝子多型が IFN- α 治療効果を予測する強力な因子となることが期待され、前向き study にて確認することを検討中である。

そのほか、腎細胞癌の発生や進展に関与する遺伝要因として、*VEGF* 遺伝子 (Abe 2002)、*CCND1* 遺伝子 (Yu 2004)、*MMP-9* 遺伝子 (Awakura 2006) に認められる多型が関与していることを示した。

6. 精巣腫瘍の多施設アウトカム研究

シスプラチンを中心とした多剤併用抗がん化学療法の登場によって、精巣胚細胞腫瘍の予後は飛躍的に向上している。しかしながら、これらの化学療法と手術療法の集学的治療をもってしてもなお、根治の困難な難治性胚細胞腫瘍も存在する。これら難治性腫瘍は稀少であり、標準的な治療戦略も確立していない。本臨床研究は多施設から集められた難治例の中で、非セミノーマ症例で化学療法によって腫瘍マーカーが正常化していない症例に対する手術療法の意義を解析したものである。症例は秋田大学、大阪大学、京都府立医科大学、京都大学、神戸大学、筑波大学の各付属病院から集められた 24 症例であった。これらの後ろ向き解析の結果は、腫瘍マーカーの中でも AFP が陽性例であれば、リンパ節の残存腫瘍で完全切除することにより治癒に導くことができる可能性が示された一方で、HCG が陽性のまま手術した症例で治癒できたものはなく、手術を考慮する場合の条件の一つとして HCG が正常化していることが必要であることが示された。この結果は従来からの欧米の報告に合致する本邦での初めての報告である (Habuchi 2003)。

7. 前立腺癌の予後予測に有用なマーカー検索

1995年から2001年まで京都大学および秋田大学にて診断された前立腺癌 236 例、前立腺肥大症 209 例および正常男性 139 例を対象に *E-cadherin* 遺伝子の多型解析を行った。解析の結果、前立腺癌全症例と前立腺肥大症症例および正常男性群との間にアレルの頻度に差はないのに対し、進行性前立腺癌症例 (stage C, stage D) は正常男性群に比べ有意に A アレルが多かった ($p=0.016$)。A allele が前立腺癌の発生には関与していなかったが、前立腺癌の進展には関与を認め、A allele

が前立腺癌の進展の risk factor と考えられた (Kamoto 2005)。また、1997 年から 2001 年までに京都大学で根治的手術を施行した 80 例前立腺癌患者のホルマリン固定パラフィンブロックを用いて、約 320 スポットの前立腺癌組織マイクロアレイを製作し、アンドロゲン受容体の発現とともに、Ki67、p53 の免疫組織学的解析をおこない、術後の PSA 再発との関連性を検討した。術前ホルモン療法を施行しておらず、1 症例あたり癌スポット 3 カ所すべてにおいて分子マーカーの解析が可能であった 52 例を対象に、これら 3 つのマーカーの予後予測の有用性を検討した。いずれの分子の発現も術後再発との関連性をしめしたが、とくに Ki67 の発現が従来の臨床病理学的因子を含めた多変量解析の結果、有用なマーカーであることを報告した。今後はさらなる予後経過を追って、この結果の妥当性を検討するとともに、あらたなる分子の発現解析結果を集積し、網羅的な蛋白質発現解析ももとに術後の再発予測への応用を検討中である (Inoue, 2005)。

そのほかに日本人前立腺癌の発生や予後と相関する遺伝要因として、*CCDN1* 遺伝子 (Wang 2003)、*SRD5A2* 遺伝子 (Li 2003)、*IGFBP-3* 遺伝子 (Wang 2003)、*PSA* 遺伝子 (Wang 2003)、*CYP11A1* 遺伝子 (Kumazawa 2004)、*LPL* (lipoprotein lipase) 遺伝子 (Narita 2004)、*IGF1* 遺伝子 (Tuchiya 2005)、*CYP3A5* 遺伝子 (Zehnhua 2005) の遺伝子多型が関与している可能性を示した。

また、我々はアンドロゲン不応性獲得に関与する分子標的やマーカーを探索する目的で、ビカルタミドによって治療した患者からアンドロゲン依存性の Xenograft model を確立し、KUCap として報告した (Yoshida 2005)。

研究計画書 1

浸潤性膀胱癌の化学療法に対する
遺伝子発現量による感受性予測に関する臨床試験

浸潤性膀胱癌の化学療法に対する
遺伝子発現量による感受性予測に関する臨床試験
試験実施計画書

主任研究者：京都大学医学研究科泌尿器病態学
副主任研究者：京都大学医学研究科泌尿器病態学

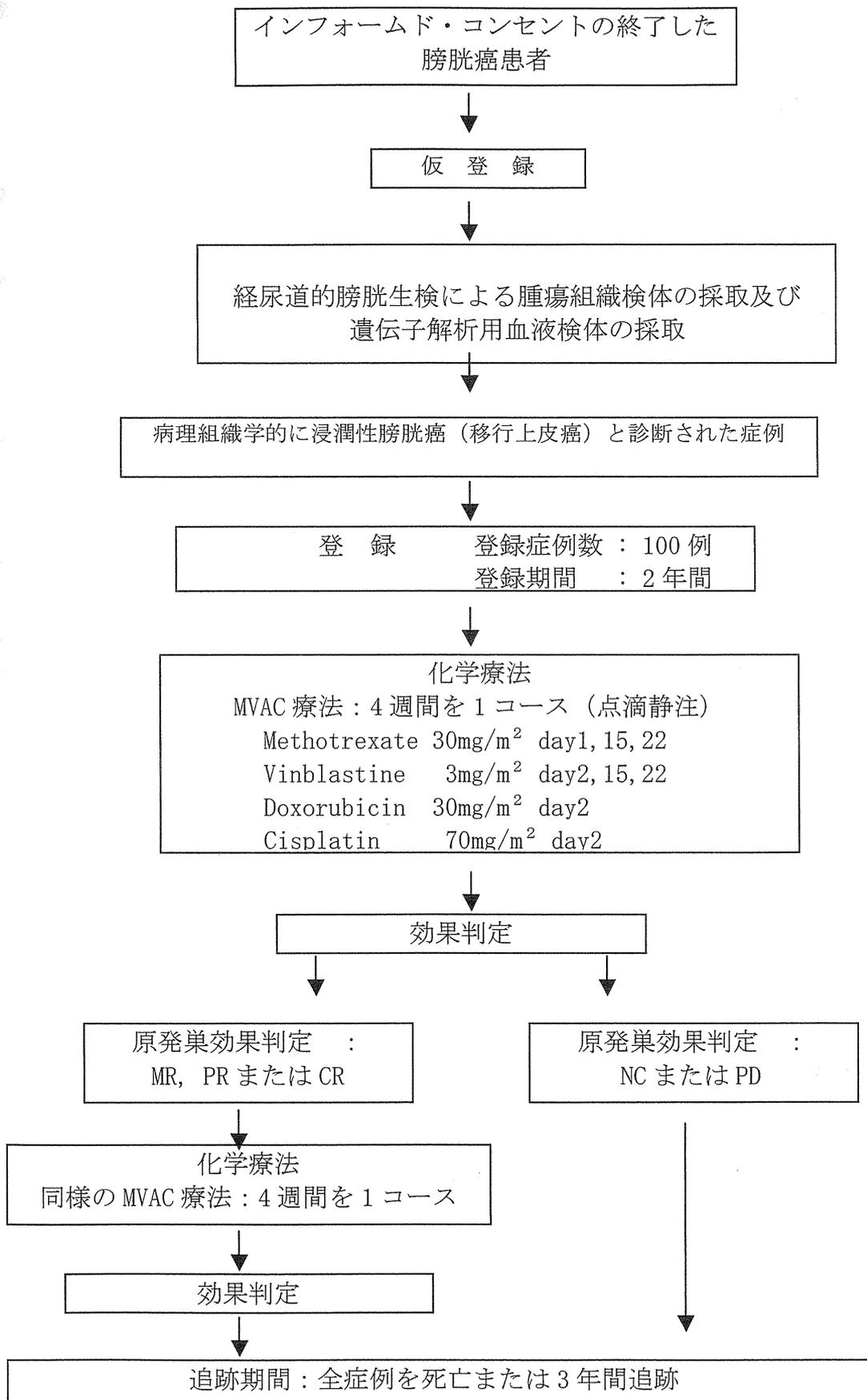
小川 修
西山 博之

2003年2月06日 初版作成
2003年3月19日 一部改訂
2003年3月31日 一部改訂
2003年4月09日 一部改訂
2003年6月2日 一部改訂
2003年6月10日 一部改訂
2003年6月21日 一部改訂
2003年7月9日 一部改訂
2003年8月18日 一部改定

目次

| | | |
|-----|-------------------------------|----|
| 0. | シエーマ | 1 |
| 1. | 目的 | 2 |
| 2. | 背景と根拠 | 3 |
| 3. | 薬物情報（別添文書参照） | 3 |
| 4. | 本試験で用いる規準 | 4 |
| 5. | 患者適格規準 | 6 |
| 6. | 治療計画 | 6 |
| 7. | 毒性のモニターおよび投与スケジュールの変更 | 8 |
| 8. | 評価項目 | 9 |
| 9. | エンドポイント | 1 |
| | 2 | |
| 10. | 統計的考察 | 12 |
| 11. | 遺伝子解析実験の方法及び用いられる検体の取扱い | 14 |
| 12. | 倫理的事項 | 15 |
| 13. | 登録方法 | 16 |
| 14. | 症例報告書（CRF）の作成および提出 | 17 |
| 15. | 被験者の安全性を確保するための事項 | 17 |
| 16. | 参考文献 | 18 |
| 17. | 組織 | 19 |
| 18. | 結果の発表および出版 | 20 |
| 19. | 試験の中止および終了 | 20 |
| | 附1）ECOGの全身状態 | |
| | 附2）効果判定（膀胱癌取り扱い規約2001年度版に準じる） | |
| | 附3）病理用検体および遺伝子解析用検体の採取方法 | |
| | 附4）重篤な有害事象に関する報告書 | |
| | 附5）体表面積算定表 | |
| | 附6）患者さんへの説明文書 | |

0. シェーマ



1. 目的

浸潤性膀胱癌患者への術前補助化学療法 MVAC に対する感受性検査法の開発を目指し、治療効果と遺伝子発現量の関連を解析し、治療効果を予測する可能性の高い遺伝子群を同定する。

2. 背景と根拠

膀胱癌は前立腺癌について、頻度の高い尿路性器悪性腫瘍であり、筋層への浸潤の有無により表在性膀胱癌と浸潤性膀胱癌に分類される。浸潤性膀胱癌では診断時に既に遠隔転移を認めることが多く、この場合は外科的治療により根治することは不可能であり、全身化学療法が標準的治療として行われる。浸潤性膀胱癌に対する化学療法は一定の奏効をもたらすが、実際には予後は不良で平均余命は12ヶ月前後である(1,2)。一方、明らかな遠隔転移を認めない場合は根治的膀胱摘除術(以下、全摘)による完治が目指されるが、この場合でも4~5割の患者が術後再発死亡する(3-5)。再発の原因としては手術時に既に微小転移が存在する為と考えられており、全摘の治療成績を改善するために、微小転移に対して全身化学療法(術前・術後補助化学療法)の併用療法も試みられてきた(6,7)。

浸潤性膀胱癌に対する化学療法のレジメンとしては種々の多剤併用化学療法が試みられてきた。この内、MVAC療法(methotrexate, vinblastine, doxorubicin, cisplatin)(8)はシスプラチン単剤やCISCA療法との無作為化比較試験にてその有効性が示され、世界的に転移を伴う浸潤性膀胱癌に対する標準的治療として使われている(9-11)。この為、MVAC療法は術前・術後補助化学療法としても最も広く用いられており、初期のアウトカム研究からは術前化学療法により2-5割の症例にCRが得られるという報告やCR・down-stageが得られるような症例では予後が著明に改善するという報告が見られた(12,13)。しかし、実際にMVAC療法による術前補助化学療法が膀胱全摘術の予後を改善するかについては、大規模な無作為化比較試験が必要であり、現時点では未だ結論は出ていない。この点において注目されるものは、2001年ASCOにおいて発表されたSWOG 8710(INT-0080)の中間報告である(14)。SWOG8710では術前MVAC療法(3コース)+全摘(術前化学療法群)と、全摘単独(手術単独群)との比較試験を行っており、術前化学療法群の生存が有意に向上したことが示された(ハザード比0.74、95%CI: 0.55-0.99、 $p=0.027$)。

補助化学療法は術前または術後に用いられるが、予後の改善以外に各々に長所と短所がある(12,13,15)。術前補助化学療法では、化学療法により腫瘍が縮小すれば外科的切除が容易になる他、化学療法の感受性が明らかになる点、CRが得られた場合には膀胱温存療法の可能性が得られる点、術前の全身状態が良い時点で化学療法が施行できる等が長所と考えられる。短所としては、術前stagingの正診率の問題や化学療法に奏功しない場合は根治療法のタイミングを逸する可能性がある点である。一方、術後補助化学療法では、全摘検体の病理組織学的検査によるstagingに基づき治療方針を立てられるという長所があるが、化学療法に対する反応性が不明である点や術後合併症によって化学療法が施行できない症例がある。これらのうち、最も大きな問題は化学療法の反応性が症例により大きく異なる点であり、化学療法の反応性が予測されれば、効果の期待症例にのみ補助化学療法を施行することが可能になり、無益な化学療法の追加を避けることが出来る(オーダーメイド医療の確立)。また、化学療法の反応性の予測が可能となれば、転移巣を有する浸潤性膀胱癌に対しての治療もMVAC化学療法かTaxol系・Gemcitabineなどの新規抗がん剤かの選択が個々の症例によって可能となる利点がある(16,17)。

化学療法の効果が症例により異なるのは、発癌過程に生じた遺伝子変化に起因すると考えられている。遺伝子変化のうち、化学療法反応性に関与するものを同定す

ることが出来れば、化学療法感受性の予測が可能となる。これまでに化学療法感受性に関連し得ると考えられる遺伝子は多数あり、細胞周期 (p53 family, Rb, CDK family, CDK inhibitor family)、細胞死に関する遺伝子 (p19ARF, Caspase, Bcl2/Bax family, MDM2, TNF/TNFR family, TGF/TGFR family) の他、薬剤の代謝・排泄、薬剤の作用点に関係する遺伝子として DNA 修復遺伝子 (MDR, MRP, Topoisomerase, ERCC, XRCC, MSH, MLH, GST family, polymerase family, Rad51)、ストレス関連遺伝子 (NF- κ B)、更には癌細胞の生存に必要な新生血管を制御する新生血管関連遺伝子 (FGF/FGFR, VEGF/VEGFR, VHL) などがあげられる (18-23)。しかし、癌種により関連している遺伝子は異なり、膀胱癌において MVAC 化学療法の感受性に関与する遺伝子群は同定されていない。また実際には化学療法の感受性には多様な遺伝子群が関与していると考えられており、単一遺伝子のみ解析では不十分で、多数の遺伝子を同時に解析するマイクロアレイのような解析方法による検討が必要である。

以上から 4 週間を 1 コースとした MVAC 療法を浸潤性膀胱癌に対して行い、浸潤性膀胱癌に対する化学療法感受性を予測し、新規分子診断システムの開発のため本試験を計画した。我々が行った過去 10 年間の先行アウトカムリサーチの結果において、MVAC 療法施行例のうち 54 症例が 1 コース、37 症例が 2 コース、5 症例が 3 コース以上であり、6 割以上の症例が 1 コース施行であった (24)。これは、化学療法に反応しない場合や副作用が高度な場合があるためと考えられる。この為、本研究では化学療法 1 コース終了時点で効果判定を行い、化学療法に反応性を示した場合には、2 コース目を追加後最終的な効果判定を行うこととした。

3. 薬物情報 (別添文書参照)

3-1 メトトレキサート Methotrexate (商品名: メソトレキサート、本文中略称: MTX)

a) 概要:

葉酸を核酸合成に必要な活性型葉酸に還元される酵素 DHFR (dihydrofolate reductase) の働きを阻止、チミジル酸合成およびプリン合成系を阻害して、細胞増殖を抑制する。

b) 毒性:

副作用: MTX 通常療法では未調査

CMF 療法では嘔気・嘔吐(67.7%)、食欲不振(58.1%)、脱毛(35.5%)、口内炎(17.7%)、

臨床検査異常: 白血球減少(88.5%)、貧血(37.7%)、GPT 上昇(37.7%)、GOT 上昇(36.1%)

重大な副作用: ショック、アナフィラキシー様症状、骨髄抑制、重篤な肝障害、重篤な腎障害、間質性肺炎、肺繊維症、重篤な皮膚障害、重篤な腸炎、膵炎、骨粗しょう症、痙攣、片麻痺、失語、脳症、痴呆、麻痺、ギランバレー症候群、昏睡

その他の副作用: 添付文書に記載

c) 薬理: 添付文書に記載

3-2 硫酸ビンブラスチン Vinblastine (商品名: エクザール、本文中略称: VLB)

a) 概要:

詳細は不明。紡錘体を形成している微小管のチューブリンに結合することにより、細胞周期を分裂中期で停止されると考えられる。

b) 毒性：

副作用：白血球減少(33.3%)、血小板減少(4.6%)、知覚異常(2.2%)、末梢神経炎(1.1%)、痙攣(0.6%)、イレウス(0.5%)、消化管出血(0.2%)

重大な副作用：骨髄抑制、知覚異常、末梢神経炎、痙攣、錯乱、昏睡、昏蒙、イレウス、消化管出血、アナフィラキシー様症状、心筋虚血、脳梗塞、難聴、呼吸困難及び気管支痙攣、間質性肺炎、抗利尿ホルモン不適合分泌症候群(SIADH)

その他の副作用：添付文書に記載

c) 薬理：添付文書に記載

3-3 塩酸ドキソルビシン Doxorubicin (商品名：アドリアマイシン、本文中略称：ADM)

a) 概要：

腫瘍細胞の DNA との complex 形成により DNA polymerase 反応、RNA polymerase 反応を阻害し、DNA, RNA の生合成を抑制して抗腫瘍効果を示す。

b) 毒性：

全身投与例の主要な副作用：脱毛(61.6%)、白血球減少(43.4%)、悪心・嘔吐(42.9%)、食欲不振(39.7%)、口内炎(22.2%)、血小板減少(15.6%)、貧血・赤血球減少(14.6%)、心電図異常(12.1%)

膀胱注入例の主要な副作用：膀胱刺激症状、発熱、食欲不振、白血球減少、萎縮膀胱、残尿感、脱毛

重大な副作用：心筋障害、心不全、汎血球減少、貧血、白血球減少、好中球減少、血小板減少の骨髄機能抑制及び出血、ショック、萎縮膀胱

その他の副作用：添付文書に記載

c) 薬理：添付文書に記載

3-4 シスプラチン Cisplatin (商品名：ランダ、ブリブラチン、本文中略称：CDDP)

a) 概要：

癌細胞内の DNA 鎖と結合し、DNA 合成およびそれに引き続く癌細胞の分裂を阻害するものと考えられる。殺細胞効果は濃度依存性。

b) 毒性：

嘔気・嘔吐(74.6%)、食欲不振(62.2%)、全身倦怠感(34.8%)、脱毛(25.7%)、白血球減少(36.5%)、貧血(28.0%)、血小板減少(17.0%)、BUN 上昇(14.3%)、クレアチニン・クリアランス値低下(14.1%)、血清クレアチニン上昇(6.6%)

重大な副作用：急性腎不全、汎血球減少等の骨髄抑制、ショック、アナフィラキシー様症状、聴力低下・難聴、耳鳴、うっ血乳頭、球後神経炎、皮膚盲、脳梗塞、血栓性微小血管症、

心筋梗塞、うっ血性心不全、溶血性貧血、間質性肺炎
その他の副作用：添付文書に記載

c) 薬理：添付文書に記載

4. 本試験で用いる規準

病期分類 (Staging) は「膀胱癌取り扱い規約 第3版 (2001年11月)」(25) に準ずる。

T-原発腫瘍の壁内深達度

- T0 腫瘍なし
- Tis 上皮内癌
- Ta 浸潤なし
- T1 粘膜下結合組織までの浸潤
- T2 筋層浸潤があるもの
 - T2a 筋層の半ばまでの浸潤
 - T2b 筋層の半ばを超えるもの
- T3 膀胱周囲脂肪組織への浸潤があるもの
 - T3a 顕微鏡的浸潤
 - T3b 肉眼的
- T4 腫瘍が以下のいずれかに浸潤するもの
 - 前立腺、子宮、膣、骨盤壁、腹壁
 - T4a 前立腺、子宮あるいは膣への浸潤
 - T4b 骨盤壁あるいは腹壁への浸潤

N-所属リンパ節

- Nx 所属リンパ節が評価されていないとき
- N0 所属リンパ節なし
- N1 2cm以下の1個の所属リンパ節転移を認める
- N2 2cmを超え5cm以下の1個の所属リンパ節転移、または5cm以下の多数個の所属リンパ節転移を認める
- N3 5cmを超える所属リンパ節転移を認める

M-遠隔転移

- Mx 遠隔転移の有無不詳
- M0 遠隔転移なし
- M1 遠隔転移あり

臨床病期診断法は以下の方法を用い総合的に臨床的に評価判定するが、各診断法の結果に
関しても膀胱癌取り扱い規約 2001年度版(25)に準じ別途記載することとする。

TN-stage の決定方法

1. 内視鏡的所見
2. 骨盤部造影 CT (オリーブオイル入り) または骨盤部 MRI

3. 画像検査後に staging TUR、双手診をおこなう。

評価可能病変を出来るだけ残すが、筋層浸潤の有無を確認する。

M-stage の決定方法

CT (骨盤部 CT の際に上腹部までカバーする)、胸部 CT、骨シンチにて評価

検査結果記載法 膀胱癌取り扱い規約 2001 年度版(25)に準じる。

内視鏡的所見

腫瘍の形態 : 1. 乳頭状・有茎性 2. 非乳頭状・有茎性 3. 乳頭状・
広基性

4. 非乳頭状・広基性 5. 平坦型 6. 潰瘍形成型

腫瘍の数 : 1. 単発 2. 多発 (個) 3. 測定不能

腫瘍の大きさ : 1. 1cm 以下 2. 1~3cm 3. 3cm 以上 4. 不詳

CT

T1 以下膀胱内腔に腫瘍を認めるが、膀胱壁の肥厚を認めない

T2 膀胱壁の肥厚を認めるが、膀胱壁の外側面は平滑である

T3a 腫瘍部の膀胱壁外側面に不整を認める

T3b 腫瘍部の膀胱周囲脂肪織内への浸潤を認める

T4 腫瘍と隣接臓器に連続性を認める

MRI

T1 以下 T2 強調画像にて腫瘍基底部の筋層に肥厚がなく平滑で、均一な
信号強度が認められる

T2a T2 強調画像にて筋層が腫瘍基底部分で不整であるが途切れて
いない

T2b T2 強調画像にて筋層が腫瘍基底部分で途切れるが、膀胱外縁
部に不整が認められる。

T3a T2 強調画像にて筋層が腫瘍基底部分で途切れるが、膀胱外縁
部に不整が認められる。

T3b T1 強調画像にて腫瘍が膀胱周囲脂肪織内に浸潤している

T4 T2 強調画像にて腫瘍が前立腺、直腸、子宮および膣等の隣
接臓器に浸潤している

双手診:

Ta/T1 腫瘤として触知しない

T2-3 可動性のある固い腫瘤を膀胱壁に触れる

T4 可動性のない腫瘍を触知

5. 患者適格規準

5-1 選択規準

- 1) 以下の条件を満たす浸潤性膀胱癌と診断されていること。
 - 経尿道的膀胱生検前 4 週間以内の画像診断（胸腹部 CT または骨盤 MRI）で膀胱腫瘍が確認されている症例
 - 登録前 4 週以内に採取された経尿道的膀胱生検検体に対する病理組織学検査で膀胱筋層以上の浸潤が明確に確認された T2 以上の移行上皮癌の症例
- 2) 一般状態 ECOG Performance Status (P.S.) が 0, 1 の症例（附 1 を参照。）
- 3) 登録時に年齢 20 歳以上 80 歳以下の症例（性別は問わない）
- 4) 膀胱内に評価可能病変を有する症例
- 5) 主要臓器（骨髄、肝、腎、呼吸機能）の機能が保持されていることが確認された症例
（登録前 4 w 以内の検査にて下記のすべての条件が満たされる症例）

白血球 $\geq 3000/\text{mm}^3$ または好中球 $\geq 1500/\text{mm}^3$

血小板 $\geq 100,000/\text{mm}^3$

血清クレアチニン $\leq 1.5\text{mg/dl}$

総ビリルビン $\leq 1.5\text{mg/dl}$

GPT(AST)、GOT(ALT) \leq 施設基準値上限の 2.5 倍

クレアチンクリアランス $>50\text{ml/min}$ [CCr は Cockcroft-Gault の式に

よる]

: 男性 $\text{CCr} = \text{体重} \times (140 - \text{年齢}) / (72 \times \text{血清クレアチニン値})$

女性 $\text{CCr} = \text{男性 CCr} \times 0.85$

- 6) 本試験参加についての文書同意が得られている症例

5-2 除外規準

- 1) 上部尿路腫瘍を除く活動性重複癌を有する症例
- 2) 発熱を有し、感染の疑われる症例
- 3) 間質性肺炎または肺線維症、その他の酸素投与を要する呼吸困難を有する症例
- 4) 妊婦、授乳婦および妊娠の可能性（意思）のある症例
- 6) その他、以下のような重篤な合併症を有する症例
 - コントロール不良の高血圧
 - コントロール不良の糖尿病
 - 肝硬変
 - 治療を要する虚血性心疾患や不整脈などの心疾患

■ 6ヶ月以内に発症した心筋梗塞

7) その他、試験担当医師が不相当と判断した症例

6. 治療計画

6-1 治療概要

登録後2週間以内に化学療法 (MVAC) を開始する。4週間を1コースとしてMVACを1コース施行する。1コース後の原発巣効果判定にてNCまたはPDの症例は1コースにて治療終了とする。MR、PR、CRまたは主治医の判断にて効果があると判定された症例は2コース目を施行する。

プロトコル治療は入院治療を原則とするが、外来治療も可とする。

登録後2週間以内に治療開始できなかった場合は、その理由を症例報告書に記載すること。

6-2 投与スケジュール

| Day | Day1 | Day2 | | Day15 | | Day22 | | Day28 |
|-------------------------------------|------|------|--|-------|--|-------|--|-------|
| Methotrexate1(30mg/m ²) | ↓ | | | ↓ | | ↓ | | |
| Vinblastine(3mg/m ²) | | ↓ | | ↓ | | ↓ | | |
| Doxorubicin(30mg/m ²) | | ↓ | | | | | | |
| Cisplatin(70mg/m ²) | | ↓ | | | | | | |

投与例：

Day1：電解質輸液 500-1000ml の点滴静注を行い、尿量が十分に確保されていることを確認した後、生食 20ml に溶解した Methotrexate 30mg/m² をゆっくり静注する。その後、電解質輸液 500ml の点滴静注を追加する。

Day2：電解質輸液 1000ml の点滴静注を行う。20ml 生食に溶解した Vinblastine 3mg/m² をゆっくり静注する。次いで生食 20ml に溶解した Doxorubicin 30mg/m² をゆっくり静注する。電解質輸液 500ml を点滴静注した後、20%マンニトール 200ml を点滴静注する。尿量が 1000ml 以上確保されたことを確認して生食 500ml に溶解した Cisplatin 70mg/m² を2時間かけて点滴静注する。その後、さらに、電解質輸液 1000ml の点滴静注を行う。

Day15：電解質輸液 500-1000ml の点滴静注を行い、尿量が十分確保されていることを確認した後、生食 20ml に溶解した Methotrexate 30mg/m² をゆっくり静注する。次いで、その後、電解質輸液 500ml の点滴静注を追加する。20ml 生食に溶解した Vinblastine 3mg/m² をゆっくり静注する。その後、電解質輸液 500ml の点滴静注を追加する。

Day22：Day15 と同様。

6-3 プロトコル治療完了の定義

「6-1 治療概要」に記載された内容に基づき、化学療法が1または2コース行われた場合にプロトコル治療完了したものとする。

6-4 併用療法・支持療法

1) G-CSF 製剤・制吐剤

添付文書の記載に従い投与することは制限しない。ただし、予防投与は行わない。

2) Methotrexate 投与時の注意

Methotrexate 投与時は、尿のアルカリ化と同時に、十分な水分の補給を行い、メトトレキサートへの尿への排泄を促すよう考慮する。なお、利尿剤の選択に当たっては尿を酸性化する薬剤（例えば、フルセミド、エタクリン酸、チアジド系利尿剤等）の使用を避ける。

スルホンアミド系薬剤、アントラサイクリンの併用、および非ステロイド系消炎鎮痛剤の投与をしない。

3) Cisplatin 投与時の注意

十分な水分補給を行い、尿量の確保につとめるとともに、バンコマイシン、非ステロイド系消炎鎮痛剤を投与しない、また併用する際は慎重に投与を行う。

4) 合併症基礎疾患に対する併用療法

原則として制限されない。ただし、薬物相互作用に関しては、注意を要する。

5) がんに対する併用療法

プロトコル治療中は記載以外のいかなる抗がん剤化学療法や免疫療法、放射線療法も併用しない

6-5 後治療

後治療は自由とする。

7. 毒性のモニターおよび投与スケジュールの変更

7-1 毒性のモニター

1) 有害事象

治療経過の際に生じたすべての好ましくない、または、意図しない疾病またはその徴候（臨床検査値の異常を含む）のことを指し、治療との因果関係の有無は問わない。

有害事象の評価には NCI-CTC 第 2 版の日本語訳 JCOG 版を用いる。血液毒性、非血液毒性別に有害事象名、最高重症度（Grade）を症例報告書に記載する。

2) 副作用

有害事象のうち、薬剤との因果関係が否定できないもの。本試験治療においては methotrexate、vinblastine、doxorubicin、cisplatin および併用薬剤のいずれか一つまたは複数の薬剤との因果関係が否定できない有害事象を指す。

7-2 投与スケジュールの変更、投与の中止

1) 投与スケジュールの変更

いずれのコースでも、Day15 あるいは Day22 の前日または当日において、以下の

①～③のいずれかに該当する場合はその投与をスキップする。

- ①Grade 3以上の血液毒性（白血球減少：2000 mm³未満、好中球減少：1000 mm³未満、血小板減少：50000 mm³未満など）を認める場合。
- ②Grade 3以上の非血液毒性（血清クレアチニンの上昇、聴覚障害など、ただし嘔吐、嘔気、全身倦怠感及び脱毛は除く）が出現した場合。
- ③発熱性好中球減少と臨床的に判断された場合。

1 コース終了後の原発巣に対する腫瘍縮小効果が、MR,PR または CR で、かつ1 コース終了日（Day28）から2週間以内に臓器機能が以下の条件のすべてを満たす場合のみ2 コース目の投与を開始する。2週間以内に条件をみたさなかつた場合にはプロトコル治療を中止する。

- ① 白血球数 \geq 3000 mm³または好中球 \geq 1500mm³
- ② 血小板数 \geq 100,000mm³
- ③ 脱毛以外の非血液毒性が Grade 1 以下に回復

2) 投与中止規準

下記事項が認められた場合には試験担当医師の判断により薬剤の投与を中止し、中止時点で必ず観察、検査、評価を行うと共に、その中止理由および中止時の所見を症例報告書に記載する。

- 1) 明らかな病態の悪化が認められた場合
- 2) 重篤な合併症の増悪が認められた場合
- 3) 重篤な有害事象（非血液毒性 Grade3・4）が発現し、投与継続が困難だと判断された場合
- 4) 1 コース終了後の原発巣に対する腫瘍縮小効果が、NC または PD となった場合
- 5) 1 コース終了後、2週間以内に2 コース目が開始できなかつた場合
- 6) 本人が治療の継続を拒否した場合
- 7) その他、主治医が継続不可能と判断した場合

8. 評価項目

8-1 仮登録前

- 1) 年齢、
- 2) 膀胱内に浸潤性の疑いのある腫瘍を確認すること
- 3) 経尿道的膀胱生検予定日の決定

8-2 経尿道的膀胱生検前 4週間以内

画像検査

- 1) 胸部単純 X-P
- 2) 胸腹部らせん CT または骨盤 MRI にて膀胱腫瘍サイズを計測
- 3) 排泄性尿路造影

8-3 登録前4週間以内

- 1) 患者背景因子
年齢、性別、原発巣に関する情報（確認方法、確認日、尿細胞診、

組織学的分類)、臨床病期、TNM 分類、合併症および合併症に対する治療

2) 全身状態: PS、身長、体重

3) 経尿道的膀胱生検

病理診断用および遺伝子発現量測定用検体を採取する: (詳細は附

3 参照)

4) 遺伝子解析用血液採取: 7ml

5) 自他覚症状 (NCI-CTC の有害事象項目)

6) 血液学的検査: 白血球数、好中球数、ヘモグロビン、血小板

7) 血液生化学的検査: 総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、AST、ALT、
Al-P、LDH、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、CRP、
クレアチニンクリアランス

8) 尿検査: 尿蛋白、尿糖

9) 心電図

10) PaO₂ (間質性肺炎や、呼吸器障害のリスクのある場合は、必要に応じて検査する)

8-4 化学療法期間中

1) 投与量

すべての投与日における各薬剤の投与量を記録する。投与のスキップがあった場合は、その理由も併せて記録する。さらに、投与完了時(または中止時)には投与完了日(または中止日と中止理由)を症例報告書に記載する。

2) 各コース内化学療法加療日前又は前日の評価項目 (Day1, 15, 22)

血液学的検査: 白血球数、好中球数、ヘモグロビン、血小板

血液生化学的検査: 総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、AST、ALT、
Al-P、LDH、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、カルシウム、CRP、
クレアチニンクリアランス

自他覚症状 (NCI-CTC の有害事象項目)

3) 各コース休薬期間中 (Day23~28) の評価項目

全身状態: PS

血液学的検査: 白血球数、好中球数、ヘモグロビン、血小板

血液生化学的検査: 総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、AST、ALT、
Al-P、LDH、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、
カルシウム、CRP、クレアチニンクリアランス

尿検査: 尿蛋白、尿糖

画像検査: 胸部 X-P、腹部 CT または骨盤部 MRI

上記の画像診断結果に基づき、新病巣の出現の有無を評価する。新病巣が認められた場合、その部位と確認方法を症例報告書に記載する。さらに、確認済み病巣については、膀胱癌取り扱い規約第3版(2001年11月)に基づき計測および腫瘍縮小効果の評価を行う。

自他覚症状 (NCI-CTC の有害事象項目)

8-5 化学療法後

化学療法後に行った後治療はすべて症例報告書に記載する。症例の再発・死亡が確認された時点、または初回投与時から1年毎に3年間、症例の転帰を調査する。生存の場合は、最終生存確認日、再発の場合は再発様式、再発部位と確認方法、再発確認日、死亡の場合は死因、死亡日についても調査し、症例報告書に記載する。

8-6. 研究カレンダー

| 評価項目 | 仮登録前 | 経尿道的膀胱生検前 4 w 以内 | 登録前 4 w 以内 | 登録 | Day 1 | Day 2 | Day 3-14 | Day 15 | Day 16-21 | Day 22 | Day 23-28 | 投与完了時 中止時 | 投与開始後 3年・ 死亡時 | | | |
|---------------------------------------|------|---------------------|-----------------|----|-------------------------|-------|-------------|--------|-----------------|--------|-----------------|--------------|------------------|----|----|---|
| | | | | | | | | | | | | | 1年 | 2年 | 3年 | |
| 薬剤投与 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Methotrexate | | | | | ↓ | | | | | | | | | | | |
| Vinblastine | | | | | | ↓ | | | | | | | | | | |
| Doxorubicin | | | | | | ↓ | | | | | | | | | | |
| Cisplatin | | | | | | ↓ | | | | | | | | | | |
| 投与量関連項目 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 投与量 | | | | | *すべての薬剤の投与量を CRF に記載する。 | | | | | | | | | | | |
| スキップの有無・理由 | | | | | | | | ○ | | | ○ | | | | | |
| 投与完了日・中止日 | | | | | | | | | | | | | ○ | | | |
| 中止理由 | | | | | | | | | | | | | ○ | | | |
| | | | | | | | | | | | | | (中止時) | | | |
| 経尿道的膀胱生検、採血 | | | ○ | | | | | | | | | | | | | |
| 患者背景 | | | ○ | | | | | | | | | | | | | |
| 身長・体重及びPS | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 身長・体重 | | | ○ | | | | | | | | | | | | | |
| PS | | | ○ | | | | | | | | | ○ | | | | |
| 臨床検査 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 血液 ¹⁾ | | | ○ | | ○ ⁴⁾ | | | | ○ ⁵⁾ | | ○ ⁵⁾ | ○ | | | | |
| 血液生化学 ²⁾ | | | ○ | | ○ ⁴⁾ | | | | ○ ⁵⁾ | | ○ ⁵⁾ | ○ | | | | |
| 尿 (尿糖、蛋白、細胞診) | | | ○ | | | | | | | | | ○ | | | | |
| PaO2 ³⁾ | | | △ ³⁾ | | | | | | | | | | | | | |
| 心電図 | | | ○ | | | | | | | | | | | | | |
| 自他覚所見 (NCI-CTC を含む) | | | ○ | | ○ | ○ | | | ○ | | ○ | ○ | | | | |
| TNM 分類 | | | ○ | | | | | | | | | | | | | |
| 膀胱鏡 | ○ | | | | | | | | | | | | | | | |
| 画像診断及び計測 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 胸腹部 CT、骨盤内 MRI、 胸部 X-P、 排泄性尿路造影 | | ○ | ○ | | | | | | | | | ○ | | | | |
| 転帰及び後治療 | | | | | | | | | | | | | | ○ | ○ | ○ |

1) 白血球数、好中球数、ヘモグロビン、血小板

2) 総蛋白、アルブミン、総ビリルビン、AST,ALT、AL-P、LDH、クレアチニン、Na、K、Ca、CRP、クレアチニークリアランスいずれも可

9. エンドポイント

9-1 Primary endpoint : 原発巣である膀胱腫瘍の縮小効果

試験担当医師は、各コース Day23～28 に腫瘍縮小効果に関する判定を行う。その判定は、膀胱癌取り扱い規約第3版に従って評価し CR・PR・MR・NC・PD の5段階で行う。(附2参照)

9-2 Secondary endpoint : 安全性、生存期間及び転移巣の腫瘍縮小効果

9-2-1 安全性

安全性については、有害事象の種類と重症度 (Grade) について調査する。

9-2-2 生存期間

生存期間は、登録日から死亡までの日数と定義し、生存例においては最終生存確認日で打ち切り (Censoring) 扱いとする。

9-2-3 転移巣の縮小効果

登録時に転移巣を有する場合は、転移部位別に治療効果を評価し、CR・PR・MR・NC・PD の5段階で行う。(附2参照)

9-3 独立データモニタリング委員会による再評価

独立データモニタリング委員は主治医の評価、症例記録、または画像データに基づいて第三者の立場から有効性、安全性の評価を行う。

10. 統計的考察

10-1 解析対象集団の定義

適格規準に合致した全適格例のうち、本プロトコル治療が1回でも実施された症例を主たる解析対象集団とする。参考として、全登録例、全適格例を対象とした解析も行う。

10-2 目標症例数

100 症例

10-3 目標症例数の設定根拠

本研究は、探索的に遺伝子異常と膀胱癌の化学療法感受性との関連を評価することが目的であり、実施可能性を考慮して、当初の目標症例数を 100 例に設定した。

登録期間：2003 年 7 月～2005 年 6 月（2 年間）

（ただし、症例の登録状況により期間の延長もしくは短縮することもある。）

追跡期間：最終症例登録日から 3 年間とする。

10-4 解析方法

治療前に検出された腫瘍特異的な遺伝子変化が治療効果に影響を与えるかを探索的な解析により検討する。なお、統計解析では、遺伝子発現量の対数変換値（底は 2）を用いる。遺伝子発現パターンと抗腫瘍効果、及び、全生存期間については、単に、関連のみならず、予測能力についても評価する。また、いくつかの遺伝子が相互に高い相関をもって発現する可能性を考慮して、1 - ピアソン相関係数を距離とした階層型クラスター分析を適用し、各クラスターでの平均発現量を予測変数に含める。さらに、先行研究で関連が示唆された遺伝子については機能毎に分類し、各分類での平均発現量を予測変数に含める。こうして、予測変数には、個々の遺伝子の発現量だけでなく、いくつかの遺伝子グループの平均発現量も含まれる。

腫瘍縮小効果については、個々の予測変数と腫瘍縮小効果との関連を t 統計量で測り、関連の強さで順序をつける。クラスター分析より得られたクラスターについては、下位のクラスターが上位のクラスターの遺伝子の一部、あるいは、全部を含む場合、下位のクラスターは除外する。この処理によって残った K 個の予測変数に対して、K 個のサブセットを作成する。ここに、サブセット k は、関連の強さで上位

k までの予測変数の集まりである ($k = 1, \dots, K$)。各サブセットに対して、対角線形判別関数法 (diagonal linear discrimination analysis) を適用し、さらに、一例ごとのクロスバリデーション法 (leave-one-out cross-validation method) を適用して予測誤差 (この場合は、誤判別率 (misclassification rate)) を推定する。予測誤差が最も小さいサブセット k を、腫瘍縮小効果を最もよく予測する遺伝子の組み合わせとみなす。全生存期間については、個々の予測変数との関連を単変量 Cox 回帰のスコア統計量で測る。腫瘍縮小効果の解析と同様の手順によって、予測変数のサブセットをつくる。Cox 回帰 を適用し、さらに、一例ごとのクロスバリデーション法を適用して、予測誤差 (Verweij & van Houwelingen, *Statistics in Medicine*, 1993: 12, 2305-2314) を推定する。

なお、得られた予測誤差と帰無仮説 (遺伝子発現量と腫瘍縮小効果、及び、全生存期間の間に関連がない) のもとでの期待予測誤差との差を並べかえ法 (permutation method) を用いて検定する。また、参考のため、多重性を調整した P 値、及び、false discovery rate (Benjamini & Hochberg, *Journal of the Royal Statistical Society, series B*, 1995: 57, 289-300) も計算する。

また、上記の解析とは異なるアプローチとして、fuzzy neural network による解析も行い、結果を比較する。

参考解析として、遺伝子発現パターンと MVAC 化学療法前での臨床情報との関連を unsupervised な方法を用いて検討する。多次元尺度構成法 (multi-dimensional scaling)、及び、クラスター分析を適用して、遺伝子発現パターンの似た患者のグループ化を試み、これと臨床情報との関連を検討する。また、遺伝子の相関構造の探索と患者のグルーピングを主成分分析 (principal component analysis) に基づいて行う。

腫瘍縮小効果、全生存期間、及び、有害事象については、別途、MVAC 術前治療の本試験での成績を記述するための集計、解析を行う。腫瘍縮小効果については、推定値と 95% 信頼区間を算出する。全生存期間については、Kaplan-Meier 法により生存曲線を推定し、全生存期間の中央値 (median survival time; MST)、および、1 年、3 年生存率について、推定値と 95% 信頼区間を算出する。有害事象については、種類別に、Grade 3 または 4 の発生割合と累積発現率を計算する。なお、発生

割合の計算において、同種類、同 Grade の有害事象が同じ患者で 2 回出現した場合は、それは 1 回として数える。

10-5 中間評価

半年に一度または主任研究者が必要と判断した時点で、主任研究者は独立データモニタリング委員会を開催することができる。効果判定委員会において、治療が終了した症例について主治医の評価、症例記録、または画像データ等をもとに症例の取り扱いおよび有効性、安全性の評価を行う。

効果判定結果と腫瘍組織からのマイクロアレイ解析結果とを照合し、治療前に検出された腫瘍特異的な遺伝子変化が治療効果に影響を与えるかを探索的な解析により検討する。

10-6 最終評価

主任研究者が目標症例数に達したと判断した場合、本試験の登録を終了する。最終症例登録から 3 年間追跡後、効果判定委員会が効果及び安全性について最終評価を行う。

効果判定委員会は主治医の評価、症例記録、または画像データ等について第三者の立場から症例の取り扱いおよび有効性、安全性の評価を行う。

検査担当施設において、効果判定結果とマイクロアレイ解析結果とを照合し、上述の解析法に基づき治療前に検出された腫瘍特異的な遺伝子変化が治療効果に影響を与えるかを探索的な解析により最終的に検討する。

1 1. 遺伝子解析実験の方法及び用いられる検体の取扱い

11-1 検体の採取及び送付

1) 血液

経尿道的生検前に、血液 7ml を SRL 指定の容器に採取し、容器に検体番号を付与した後に 4°C（冷蔵庫）で保管する。

2) 腫瘍組織

経尿道的生検によりに採取された検体の内、病理診断確定に必要な検体を除き、cold-cup 生検にて採取された腫瘍組織の一部を即座に RNA-later 溶液に浸透させ、-20 度（冷凍室）で保存する（附 3 参照）。

3) 検体の送付

上記検体に、検体番号を付与する。検体は SRL により検体管理施設に送付される。腫瘍組織検体は-20°C以下で凍結保存しドライアイス詰めとして送付される。また、血液は 4°Cにて SRL 検査施設に送付され、DNA を抽出精製後、検体管理施設へ送付される。

検体管理施設

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54

京都大学医学研究科泌尿器病態学 助手 西山博之

電話：075-751-3337 FAX：075-751-3740

11-2 遺伝子解析

本研究における遺伝子解析は、マイクロアレイ法を用いた腫瘍組織の遺伝子発現レベルの測定、より精度の高い方法を用いた一部の遺伝子に対する検証実験、及び血液検体を用いた正常 DNA と腫瘍 DNA の比較から構成される。

1) マイクロアレイ法による遺伝子発現レベルの測定

マイクロアレイ法を行う為に、まず腫瘍検体からの RNA の抽出後、cDNA を合成し、蛍光標識する。次にヒト遺伝子が搭載されたマイクロアレイ上で両者の競合的ハイブリダイゼーションを行い、アレイ上の個々の遺伝子スポットにおけるシグナル強度を測定する。腫瘍検体における個々の遺伝子発現量 (=RNA 量) は外部標準 RNA に対する相対値として算出される。化学療法感受性症例群と抵抗性症例群間において遺伝子発現状況の比較を行い、感受性または抵抗性に関与すると考えられる遺伝子群をスクリーニングする。

本研究では、MWG Biotechs 30,000 oligo set をスポットしたマイクロ

アレイ (30K、PEBL 社) を使用する。このマイクロアレイには、上述の化学療法の感受性に関与していると考えられる DNA 修復遺伝子、ストレス関連遺伝子、更には癌細胞の生存に必要な新生血管を制御する新生血管関連遺伝子などを含めたヒト遺伝子 3 万個が網羅されている。マイクロアレイ法による実験は、検査担当施設である京都大学医学部泌尿器科または主任研究者の監督下に「11-1-5」に記載された PEBL 社 (NZ) において解析を行う。

2) 遺伝子発現レベルの検証

マイクロアレイ法による結果を用いて同定された候補遺伝子 (群) については、各遺伝子の腫瘍における発現状況に関して、定量的 RT-PCR 法、Northern-blot 法、免疫染色法等のマイクロアレイとは異なる方法にて検証する為の実験を行う可能性がある。

3) 正常 DNA と腫瘍 DNA の比較

更に、候補遺伝子が同定された場合には、この遺伝子がどのような機序で腫瘍における抗がん剤の感受性と関連しているのか、また発現量に変化しているのかを明らかにするために、血液から採取された血球 DNA (正常コントロール) と腫瘍 DNA を比較し、腫瘍における遺伝子変化 (メチレーション、遺伝子増幅、染色体欠失、遺伝子変異など) の同定も行う可能性がある。血液検体はこの実験を行う際の、正常コントロールとして用いるために必要なものである。

4) 検体測定施設

主担当施設

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54
京都大学医学研究科泌尿器病態学 助手 西山博之
電話 : 075-751-3337 FAX : 075-751-3740

協力施設 : 主担当施設の監督下のもとに測定を行う。

PACIFIC EDGE BIOTECHNOLOGY LIMITED (PEBL 社)
Centre for Innovation 87 St David Street

P.O. Box56 DUNEDIN, NZ
PACIFIC EDGE BIOTECHNOLOGY LIMITED Dr. Parry Guilford
TEL +64 3 479 5800

11-3 検体の保存

本研究のために集積された検体は、本研究計画書に記載された項目の実験が最優先される。検体については、京都大学医学研究科に研究代表者の責任で保管する。これらの検体を使用して新たな解析を希望する者（この研究に参加した研究者）は、研究計画書を作成し、京都大学倫理委員会および各参加施設の代表者の承認を得た後に、これを使用できるものとする。患者説明文書と同意書に上記についての説明があり、新たな患者の同意は取らないものとする。本登録にならなかった症例に関しても、承諾書を採取する際に患者の同意が得られておれば、検体は検体管理施設において保存し、かつ新規に承認を得られた研究計画に関して使用することが出来るものとする。

12. 倫理的事項

12-1 インフォームドコンセント

試験担当医師は、本試験の実施にあたっては倫理的な配慮を慎重にし、下記内容について十分説明した上で、文書で、患者本人の同意を得る。同意の取得日は、症例報告書に記入する。

- (1) 試験の目的および方法
- (2) 予測される効果および危険性
- (3) 当該疾患に対する他の治療方法の有無およびその内容
- (4) 被験者が試験の参加に同意しない場合であっても、不利益は受けな
いこと
- (5) 被験者が試験の参加に同意した場合でも、随時これを撤回できるこ
と
- (6) その他、被験者の人権保護に関し必要な事項

※ 試験参加に伴って予想される利益と危険（不利益）の要約

本研究ではMVAC療法の有効性を予測する診断法の開発を目的としているため、無作為割付試験ではなく、MVAC療法を施行する事が通常診療において妥当な症例だけが本研究への参加が検討される。この点では本研究による治療上の不利益はない。しかしながらMVAC療法自体には副作用が予測される。また、MVAC療法に効果がない可能性は約30%前後の症例に予測される。本研究に参加しない場合でも、通常の診療が妨げられることはない。

本研究では検体採取を行うが、腫瘍組織・血液（約2ml）については通常の臨床検査・治療に併せて本研究使用分を採取するため、採取に伴う危険性は殆ど無いと考えられる。手術時の摘出検体に関しても通常の病理組織診断用に必要な部分を切り出し、正常組織、腫瘍組織が残存する場合のみに本研究に使用するため、危険・不利益は生じないと考えられる。解析結果に関しては、腫瘍自体における遺伝子変化を検討する（体細胞遺伝子解析）ため、家族に不利益が及ぶ可能性は少ないと考えられる。本研究においては家族の解析は行わないため、血縁関係に関する問題が生じることはない。また、探索的研究の為、本研究の成果が直接患者さんに還元されることはない。

12-2 遺伝子情報の管理に関する事項

患者本人から、説明文書と同意文書を用いてインフォームドコンセントを取得する。患者の個人名(イニシャルを含む)は使用せずに、登録センターより発番される検体番号を検体に付与する。この検体番号を用いて検体の匿名化を行った上で研究に供する。したがって、本研究過程のどの段階においても検体の提供者の氏名、住所等の個人を同定しうる情報は各医療機関の試験担当医師以外の目に触れることはなく、極めて厳重に保護される。

12-3 プロトコルの承認

各施設は、登録開始前に倫理委員会の承認を得ることとし、施設の研究責任者は倫理委員会の承認書の写しを事務局に送付しておくこと。

12-4 プロトコルの変更

プロトコル実施後、プロトコルの変更が必要となった時、一時登録を中止し、その旨事務局より連絡を行う。変更後のプロトコルを検討後、

各施設の倫理委員会の承認を得た後、登録を再開する。

13. 登録方法

TRI データセンターは、各施設における最初の仮登録が行われるまでに、当該施設の倫理委員会承認日を事務局を通じて確認する。

13-1 仮登録

試験担当医師は、浸潤性の疑いのある膀胱癌患者に対し、本試験への参加に関する文書による同意を取得する。その後、インターネットを介して仮登録を行う。

登録センターは、仮登録規準（①年齢：20～80 歳、②膀胱癌患者である症例 ③インフォームドコンセントを満たしていれば、登録番号を発行する。

13-2 経尿道的膀胱生検、採血の実施

試験担当医師は、仮登録を行った患者に対して経尿道的膀胱生検および遺伝子解析用血液採血を施行し、検体（腫瘍組織、血液）を採取する。採取した検体に検体番号のシールをはり保存し、（血液：冷蔵保存 腫瘍組織：-20℃で凍結保存）SRL に回収を依頼する。SRL は-20℃以下で凍結保存しドライアイス詰めとして検体管理施設へ送付する。

13-3 本登録および治療の開始

試験担当医師は、病理組織学的に浸潤性膀胱癌と診断が確定された症例について、インターネットを介して登録を行う。

登録センターは、他の適格規準を満たしていることを確認し、登録番号を発行する。

登録センター：イーピーエス株式会社
〒532-0003 大阪市淀川区宮原 3-4-30 ニッセイ新大阪ビル 11 階

電話：0120-58-3170

Fax：0120-36-1184

14. 症例報告書 (CRF) の作成および提出

| 提出時期 | 内容 | 提出回数 |
|--------------------------------------|---------------------------|------|
| ①登録直後 | 患者背景・病状所見・臨床検査・自他覚所見・画像所見 | 1回 |
| ②化学療法1コース終了後 | 薬剤投与・臨床検査・自他覚所見・画像所見 | 1回 |
| ③化学療法2コース終了後 | 薬剤投与・臨床検査・自他覚所見・画像所見 | 1回 |
| ④追跡期間 (プロトコル治療終了後 1年目、2年目、3年目) | 追跡報告・画像所見 | 3回 |

15. 被験者の安全性を確保するための事項

15-1 緊急時の処置

試験を担当した医師は、本試験の治療中および治療後に本試験の抗癌剤による有害事象が認められた場合は適切な処置を行い、下記に示す重篤と思われる有害事象については、本試験の抗癌剤との因果関係の有無に関わらず、直ちに主任研究者に口頭、電話または Fax にて連絡する。本試験の抗癌剤との因果関係が試験担当医師および施設の試験責任医師により否定できなかった(不明のものも含む)重篤な有害事象(副作用)については、その後直ちに詳細な文章(添付の「重篤な有害事象に関する報告書」)にて、所属する医療機関の長、主任研究者に報告する。主任研究者より報告を受けた中央事務局は、直ちに独立データモニタリング委員会に報告する。独立データモニタリング委員会は、対策を検討した上で全試験参加施設の医療機関の長および試験責任医師へ連絡する。

- (1) 死亡
- (2) 死亡につながるおそれのあるもの
- (3) 治療のために入院または入院期間の延長が必要となるもの
- (4) 障害
- (5) 障害につながるおそれのあるもの
- (6) その他、上記に準じて重篤であるもの

(7) 後世代における先天性の疾病または異常

15-2 予想される副作用

これまでの本試験に使用される抗癌剤の本邦における全ての副作用（因果関係が否定できない随伴症状、臨床検査値異常変動）は、別添の methotrexate、vinblastine、doxorubicin、cisplatin の添付文書のとおりである。

緊急時の連絡先：

主任研究者

京都大学大学院医学研究科泌尿器病態学 小川 修

電話：075-751-3337

FAX：075-751-3740

又は

副主任研究者

京都大学大学院医学研究科泌尿器病態学 西山 博之

電話：075-751-3337

FAX：075-751-3740

16. 参考文献

- 1) Oosterlinck W, Lobel B, Jakse G, Malmstrom PU, Stockle M, Sternberg C. Guidelines on bladder cancer. Eur Urol. 2002 Feb;41(2):105-12.
- 2) Maluf FC, Bajorin DF. Chemotherapy agents in transitional cell carcinoma. Sem Urol Oncol 2001;19:2-8.
- 3) 日本泌尿器科学会：全国膀胱がん患者登録調査報告、平成10年症例、2001年。
- 4) Stein JP, Skinner DG, Montie JE. Radical cystectomy and pelvic lymphadenectomy in the treatment of infiltrative bladder cancer. In: Droller MJ, ed. Bladder Cancer : current diagnosis and treatment. Totowa: Human Press, 2001; 267-307.
- 5) Schster TG, et al. Pelvic recurrences post cystectomy: current treatment strategies. Sem Urol 2001; 19: 45-50.

- 6) Logthetis, et al. Optimal delivery of perioperative chemotherapy: preliminary results of a randomized, prospective, comparative trial of preoperative and postoperative chemotherapy for invasive bladder carcinoma. *J Urol* 1996; 155: 1241-1245.
- 7) Herr, et al. Neoadjuvant chemotherapy and bladder-sparing surgery for invasive bladder cancer: ten-year outcome. *J Clin Oncol* 1998; 16 : 1298-1301.
- 8) Sternberg CN, et al. Methotrexate, vinblastine, doxorubicin and cisplatin for advanced transitional cell carcinoma of the urothelium. Efficacy and patterns of response and relapse. *Cancer* 1989; 64: 2448-2458.
- 9) Loehrer P, et al. A randomized comparison of cisplatin alone or in combination with Methotrexate, vinblastine and doxorubicin in patients with metastatic urothelial carcinoma: A cooperative Group Study. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1066-1073.
- 10) Logothetis CJ, et al. A prospective randomized trial comparing CISCA to MVAC chemotherapy in advanced metastatic urothelial tumors. *J Clin Oncol* 1990; 10: 1066-1073.
- 11) Donat, et al. Methotrexate, vinblastine, doxorubicin and cisplatin and chemotherapy for unresectable bladder cancer. *J Urol* 1996;156:368)
- 12) Sternberg CN, Calabro F. Neo-adjuvant chemotherapy in invasive bladder cancer. *World J Urol* 2001;19:94-98.
- 13) Sternberg CN, Parmar MK. Neoadjuvant chemotherapy is not (yet) standard treatment for muscle-invasive bladder cancer. *J Clin Oncol*. 2001 Sep 15;19(18 Suppl):21S-26S.
- 14) Natale R, et al. SWOG 8710 (INT=0080): randomized phase III trial of neoadjuvant MVAC + cystectomy versus cystectomy alone in patients with locally advanced bladdercancer. *Proc Am Sco Clin Oncol* 2001; 20: 2a (abstr 3).
- 15) Sternberg CN. Neo-adjuvant and adjuvant chemotherapy of bladder cancer: Is there a role? *Ann Oncol*. 2002;13 Suppl 4:273-9.
- 16) Vaishampayan UN, et al. Carboplatin, Paclitaxel, and gemcitabine in advanced urothelial carcinoma: updated results. *J Clin Oncol* 2000; 19: 341a (abstract 1343).
- 17) von der Maase, et al. Gemcitabine and cisplatin versus methotorexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin in advanced or metastatic bladder cancer: results of a large randomized, multinational, multicenter, phase III study. *J Clin Oncol* 2000; 17: 3068-3077.
- 18) Nawrocki S, Skacel T, Brodowicz T. From microarrays to new therapeutic approaches in

- bladder cancer. Pharmacogenomics 2003; 4: 179-189.
- 19) Olumi AF. A critical analysis of the use of p53 as a marker for management of bladder cancer. Urol Clin North Am. 2000; 27: 75-82
- 20) Tsuruo T. Molecular cancer therapeutics: recent progress and targets in drug resistance. Intern Med. 2003 Mar;42(3):237-43.
- 21) Chang FL, Lai MD. Various forms of mutant p53 confer sensitivity to cisplatin and doxorubicin in bladder cancer cells. J Urol. 2001 Jul;166(1):304-10.
- 22) Tanaka M, Koul D, Davies MA, Liebert M, Steck PA, Grossman HB. MDM2/PTEN inhibits cell growth and induces chemosensitivity to doxorubicin in human bladder cancer cells. Oncogene. 2000 Nov 9;19(47):5406-12.
- 23) Kakehi Y. [Molecular biological testing for diagnosis and treatment of urothelial cancer] Hinyokika Kyo. 1999 Aug;45(8):583-8.
- 18) Teramukai, et al. ASCO2003 in press.
- 19) 膀胱癌取り扱い規約第 3 版、日本泌尿器科学会・日本病理学会編 金原出版
2001

17. 組織

(1) 主任研究者

京都大学大学院医学研究科泌尿器病態学 教授 小川 修
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54
電話 : 075-751-3337
FAX : 075-751-3740

(2) 副主任研究者

京都大学大学院医学研究科泌尿器病態学 助手 西山 博之
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54
電話 : 075-751-3337
FAX : 075-751-3740

(3) 独立データモニタリング委員会

京都大学医学部附属病院 探索医療センター 教授 福島 雅典

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54

電話 : 075-751-4725

FAX : 075-751-4732

名古屋大学医学部附属病院病態外科学 (泌尿器科学) 助教授 小野 佳成

〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65 番地

電話 : 052-741-2111 (代表)

FAX : ?

京都大学医学部附属病院泌尿器科 講師 賀本 敏行

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54

電話 : 075-751-3337

FAX : 075-751-3740

(財) 先端医療振興財団

臨床研究情報センター 臨床試験運営部 小田 英世

〒606-8543 神戸市中央区港島南町 1-5-4

電話 : 078-303-9116

FAX : 078-303-9117

(4) 統計解析責任者

京都大学医学研究科社会健康医学薬剤疫学 松井 茂之

〒606-8507 京都市左京区吉田近衛町

電話 : 075-753-4468

FAX : 075-753-4469

(5) 登録センター

イーピーエス株式会社

〒532-0003 大阪市淀川区宮原 3-4-30 ニッセイ新大阪ビル 11 階

電話 : 0120-58-3170

Fax : 0120-36-1184

(6) データセンター

(財) 先端医療振興財団

臨床研究情報センター 臨床試験運営部

津村 はやみ

〒606-8543 神戸市中央区港島南町 1-5-4

電話：078-303-9116

FAX：078-303-9117

(7) 研究参加施設および施設研究責任者

京都大学医学部泌尿器病態学

教授 小川 修

九州大学医学部泌尿器

教授 内藤 誠二

名古屋大学医学部泌尿器

教授 大島 伸一

(9) 研究事務局

京都大学医学研究科泌尿器病態学 事務担当 西山博之

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54

電話：075-751-3337

FAX：075-751-3740

(10) 遺伝子解析責任者

京都大学医学研究科泌尿器病態学 事務担当 西山博之

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54

電話：075-751-3337

FAX：075-751-3740

18. 結果の発表および出版

本調査の結果の発表および出版については、主任研究者、副主任研究者、各協力施設の責任者および統計解析責任者が協議して行う。

19. 試験の中止および終了

目標症例数が登録され、すべての症例についての評価が終了するまで研究を継続する。しかし、予期せぬ重篤な有害事象の発現、明らかな治療関連死の発生等があった場合は、主任研究者、副主任研究者、効果安全性評価委員、統計解析責任者が試験の継続の是非を協議する。

19-1 試験の中止

本試験中に中止せざるを得ない理由が生じた場合、主任研究者は速やかに施設代表者に試験の中止およびその理由を文書により報告する。

20-2 試験の終了

主任研究者は当該医療機関の長に終了報告を提出する。

附 1) ECOG の全身状態 (ECOG performance status scale)

| Grade | 活動の程度 |
|-------|--|
| 0 | 社会活動ができ、制限を受けることなく発病前と同時にふるまえる。(Karnofsky 90~100%) |
| 1 | 肉体労働は制限を受けるが、歩行、軽労働や坐業はできる。たとえば、軽い家事、事務など。(Karnofsky 70~80%) |
| 2 | 歩行や身の回りのことはできるが、軽労働はできない。日中 50%以上起居できる。(Karnofsky 50~60%) |
| 3 | 身の回りのある程度のことはできるが、日中 50%以上は就床している。(Karnofsky 30~40%) |
| 4 | 身の回りのこともできず、介護が必要。終日就床を必要とする。(Karnofsky 10~20%) |

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

附2) 効果判定(膀胱癌取り扱い規約 2001年度版に準じる)

1. 膀胱部病変の評価法

計測は骨盤部造影 CT (オリーブオイル入り) または MRI による 2 方向測定を原則とする。困難な場合は一方向のみの測定を行う。原則として 20mm 以上の測定可能な病変を有する症例を対象とする。

膀胱全摘が行われた場合には、組織学的治療効果判定基準に従い、治療効果を記載する。

2. 転移病巣の評価法

膀胱以外に病変を認める場合は、各臓器毎に CT または MRI に基づき判定記載する。

3. 奏功度の記載法

膀胱病変・転移巣病変：

CR : 対象病変の臨床上完全な消失を見た場合。

PR : 二方向測定可能病変では 50% 以上、一方向測定可能病変では 30% 以上の縮小を見た場合。

MR : 二方向測定可能病変の 25% 以上 50% 未満の縮小がみとめられた症例。

NC : 二方向測定可能病変では 50% 未満、一方向測定可能病変では 30% 未満の縮小か、それぞれの病変の 25% 未満の増大を見た場合。

PD : 病変が 25% 以上の増大をした場合、または新病変が出現した場合。

4. 組織学的治療効果判定基準分類

Ef.0 無効 治療による変性、壊死など形態的变化障害をほとんど認めない

Ef.1 軽度の効果 癌の約 2/3 未満に癌細胞の変性・壊死・消失あるいは肉芽腫様病変などを認める場合。

Ef.2 かなりの効果 癌の約 2/3 未満に癌細胞の変性・壊死・消失あるいは肉芽腫様病変などを認める場合。

Ef.3 著効 癌のすべてに変性・壊死・消失あるいは肉芽腫様病変などを認める場合

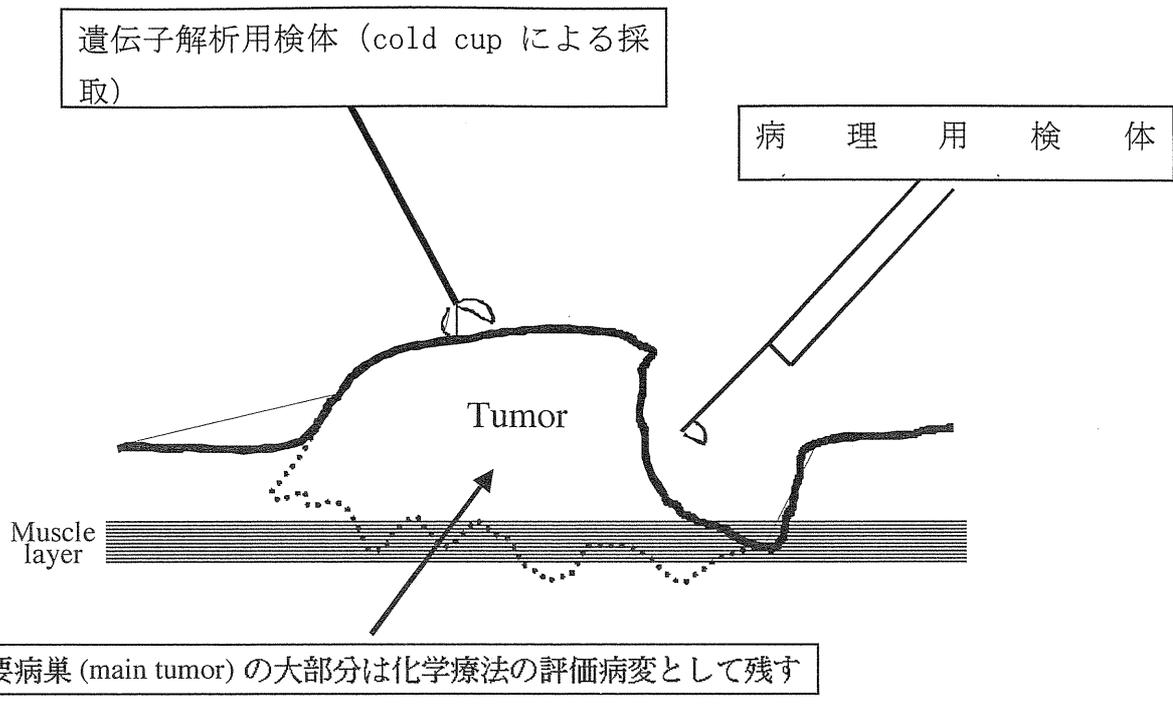
附 3) 病理用検体および遺伝子解析用検体の採取方法

A. 病理用検体：主腫瘍辺縁の TUR にて採取 (筋層浸潤の証明を目的とする)

注) 1. 主要病巣の大部分は術前化学療法の効果判定のため残す必要がある。よって Stage 診断用標本は主要病巣の辺縁部分で採取することが望ましい。

B. 遺伝子解析用検体：主腫瘍表面の腫瘍組織を cold-cup にて採取 (組織片 3-5 個を採取必要)

- 注) 1. 遺伝子解析用検体は RNA 抽出を目的としているため cold-cup による採取が望ましい。TUR では RNA 変性などをきたす可能性が高い。
2. 遺伝子解析用検体は、極力正常組織の混入がないことが望ましい。このため、主要病巣の表面から採取するものとする。
3. 遺伝子解析用検体は腫瘍表面から採取するが、極力壊死がうたがわれる部分は避けるようにする。
4. 本研究における遺伝子解析とはマイクロアレイを意味し、同解析のためには症例あたり 10 マイクログラム以上の total RNA が必要とされる。この収量を確保するためには少なくとも 3-5 個の cold cup 生検検体が必要と考えられる。



研究計画書 2

腎細胞癌患者の予後調査

腎細胞癌患者の予後調査

主任研究者：京都大学大学院 医学研究科 器官外科学講座
泌尿器科学 教授 小川 修
副主任研究者：京都大学大学院 医学研究科 器官外科学講座
泌尿器科学 講師
伊藤 哲之

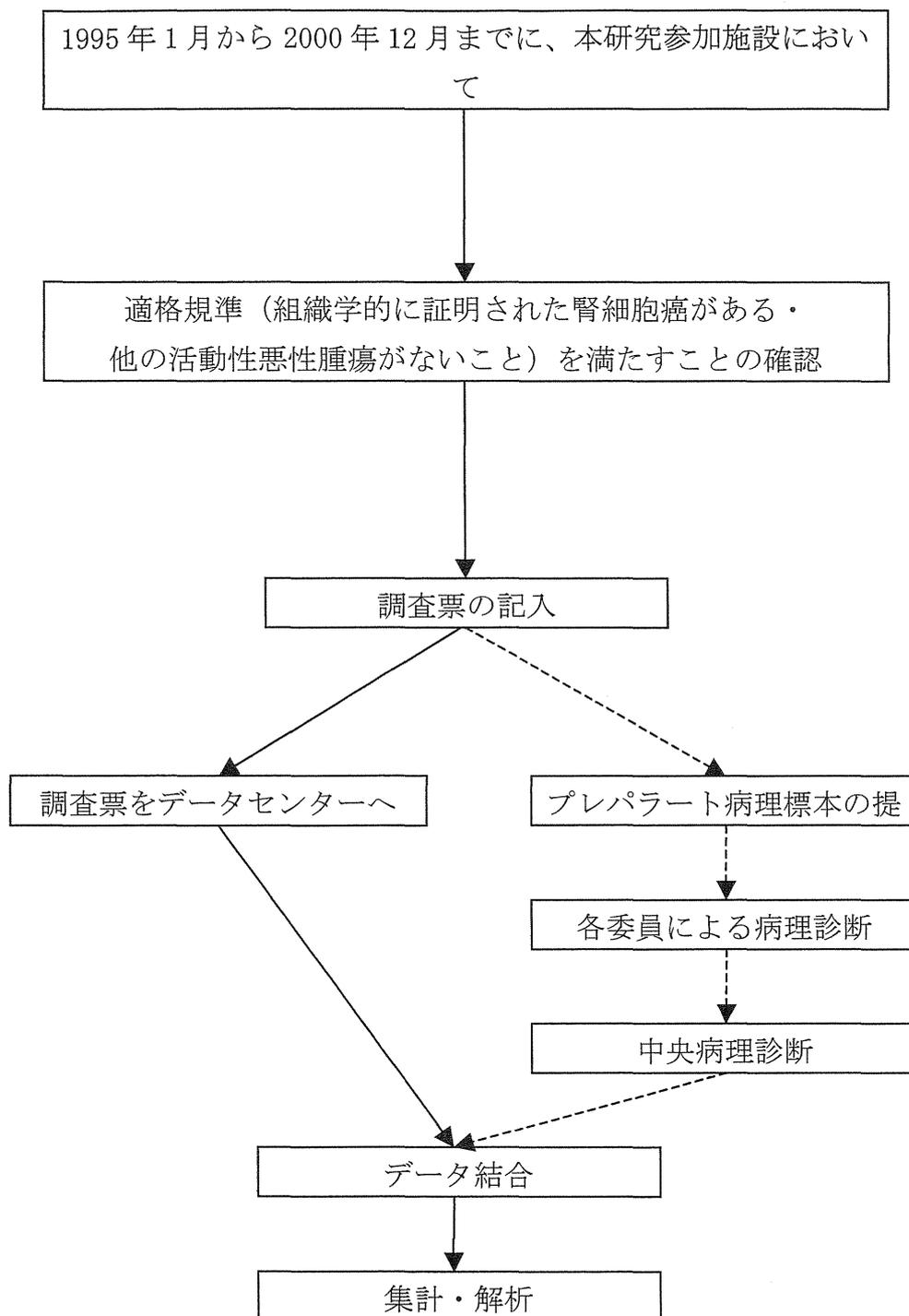
2003. 07. 16 初版作成
2004. 01. 07 一部改訂
2004. 03. 16 一部改訂
2004. 04. 11 一部改訂
2004. 08. 02 一部改訂
2004. 10. 29 一部改訂
2004. 12. 17 一部改訂
2005. 03. 09 一部改訂
2005. 03. 30 一部改訂
2005. 04. 27 一部改訂
2005. 06. 13 一部改訂
2005. 07. 29 一部改訂
2005. 11. 21 一部改訂
2006. 02. 27 一部改訂

京都大学医学部附属病院

目次

| | | |
|----|--------------|----|
| 0 | シエーマ | 54 |
| 1 | 目的 | 55 |
| 2 | 背景と根拠 | 55 |
| 3 | 適格規準 | 56 |
| 4 | 本試験に用いる規準・定義 | 56 |
| 5 | 調査方法 | 57 |
| 6 | 調査項目 | 62 |
| 7 | 目標調査症例数と調査期間 | 73 |
| 8 | 統計学的考察 | 74 |
| 9 | 倫理的事項 | 75 |
| 10 | 結果の発表および出版 | 78 |
| 11 | 参考文献 | 78 |

0 シェーマ



1 目的

腎細胞癌の治療成績に影響を与えている因子や補助療法の有効性に関する調査を行い2000年時点におけるState of the artを示し治療成績の向上のための基礎資料とする。また、副次目的として、各診断時の因子・治療法と各エンドポイントとの関連の評価や、手術後の予後予測式の作成を行う。

2 背景と根拠

現在、日本人における腎癌の発生率は10万人あたり8-10人と言われており、現在も増加傾向にある癌である¹⁾。このデータはアメリカでもほぼ同様であり、年齢補正有病率も1975年の10万人あたり7.1人から2000年の10万人あたり12.1人まで漸増傾向にある²⁾。

腎癌の診断については、約85%は腎細胞癌の腺癌で、この大半は近位尿管由来である。(残りはほとんどが腎盂の移行上皮細胞癌である)^{3,4)}さらに1997年UICCとAJCCのWorkgroupから、遺伝子解析に基づく新たな病理診断規準と⁵⁾新たなTNM分類が提唱され^{6,7)}、1998年には新しいTNM分類に基づいた腎癌の取り扱い規約が定められ⁸⁾、さらに2004年にはWHOからさらに新たな病理診断規準が提示されているが⁹⁾、現在のところ新しい病理診断規準は日本ではコンセンサスには至っていない。

腎癌の発症のリスク因子には、肥満、高血圧、などが存在するといわれてきた¹⁰⁾。また、分子マーカーについても様々な検討が行われてきたが満足のものはいまだなく新たなマーカーが検討中である¹¹⁾。また、予後予測因子の検討も行われ、予後に影響するかどうかの検討についてはさまざまな因子が提唱されている¹²⁻¹⁶⁾。また、こういった予後予測因子を用いて予後予測式が立てられ、図形的に予後を予測出来るノモグラムも作成されている。^{17,18)}

腎細胞癌の治療については、外科的切除は腎細胞癌治療の基本戦略である。腎および隣接する周囲の軟部組織に限局している時点で診断および治療を実施すれば、治癒することが多い。そして治癒の可能性は、病期または腫瘍のひろがりの程度に左右される。血管に浸潤していても、生存期間が長く治癒する可能性も十分にある³⁾。

また、薬物療法については、インターフェロンやインターロイキン等の

全身治療は限定された有効性しか明らかにされていない⁴⁾。遠隔転移を有する症例に対しては現在いくつかレジメンが提唱されているものの成績はよくないため、免疫療法を基本に、転移巣の切除、動脈塞栓術などを取り入れた集学的治療を施行している。¹⁹⁻²¹⁾

また、近年では、再発後の腎癌の予後予測因子を探索する動きもあり、更なる予後改善に向けて研究が進められている。^{22,23)}

このような診断技術の進歩と治療の多様化にあわせ、京都大学医学部附属病院をはじめとする各病院の新たな診断基準での病理診断情報、治療グループの分析と転帰調査を行い、この疾患の背景因子、診断、治療法と予後との関係についてさらに検討を行う。

3 適格規準

本研究参加施設において、1995年1月から2000年12月までに組織学的に腎細胞癌の確定診断を受けた患者

4 本試験に用いる規準・定義

腎細胞癌の診断には、WHO classification of Tumours (2004)⁹⁾を用いることとする。

WHO classification of Tumours (2004)

WHO histological classification of tumours of the kidney

Renal cell tumours

Clear cell renal cell carcinoma

Multilocular clear cell renal cell carcinoma

Papillary renal cell carcinoma

Chromophobe renal cell carcinoma

Carcinoma of the collecting ducts of Bellini

Renal medullary carcinoma

Xp11 translocation carcinomas

Carcinoma associated with neuroblastoma

Mucinous tubular and spindle cell carcinoma

Renal cell carcinoma, unclassified

Papillary adenoma

Oncocytoma

Others

また、上記のWHO分類はUICCワークショップ腎細胞癌分類⁵⁾においては以下のように

分類される。

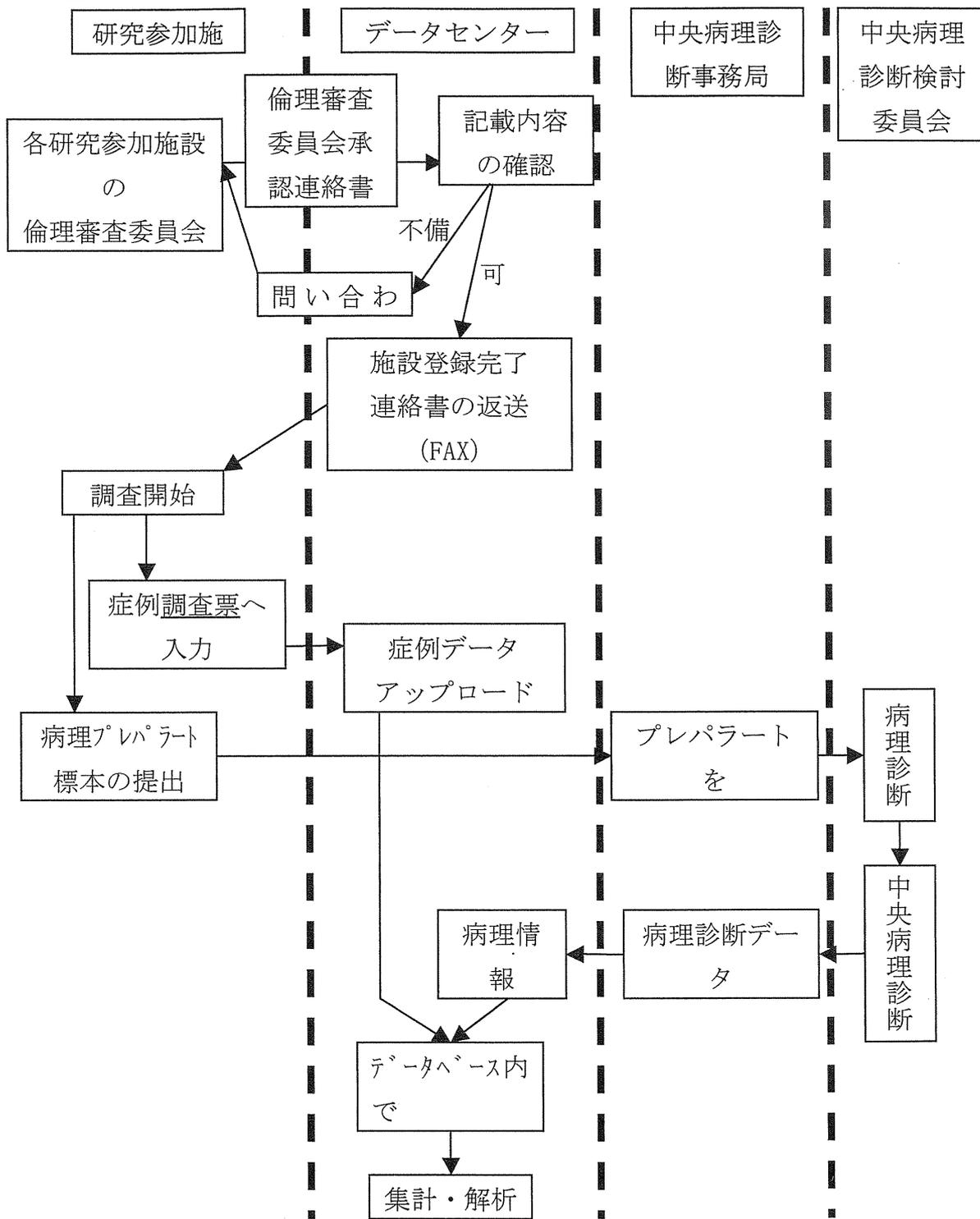
| WHO classification of Tumours (2004) | UICC ワークショップ腎細胞癌分類 |
|---|---|
| Clear cell renal cell carcinoma | Clear cell carcinoma |
| Multilocular clear cell renal cell carcinoma | (淡明細胞癌) |
| Papillary renal cell carcinoma | Papillary renal cell carcinoma |
| Chromophobe renal cell carcinoma | (乳頭状腎細胞癌) Chromophobe cell carcinoma |
| Carcinoma of the collecting ducts of Bellini | (嫌色素細胞癌) Collecting-duct carcinoma |
| Renal medullary carcinoma Xp11 translocation carcinomas Carcinoma associated with neuroblastoma | (集合管癌) Unclassified |
| Mucinous tubular and spindle cell carcinoma | (分類不能) |
| Renal cell carcinoma, unclassified | |
| Papillary adenoma | Benign tumours |
| Oncocytoma | (良性腫瘍) |

5 調査方法

1995年1月から2000年12月までに、本研究参加施設において組織学的に腎細胞癌の診断を受けた患者を対象に調査を行う。

本研究は『デジタル化病理画像による病理診断の精度及び有用性の調査—腎細胞癌患者の予後調査研究を用いて—』と並行して行われる。

5-0 登録のスキーム



5-1 登録方法

5-1-1 倫理審査委員会承認の確認

各研究参加施設の研究責任医師は、プロトコルを事前に研究事務局を通じて受領し、倫理審査委員会の審査を受け承認を得る。

当該研究参加施設の研究責任医師は「倫理審査委員会承認連絡書」(様式1: 様式としてデータセンターより配布するが、研究参加施設で定めるもので構わない) に必要事項を記入し、「研究分担医師一覧」(様式2) とともにデータセンターにFAXする。データセンターは「倫理審査委員会承認連絡書」の記載内容に必要な事項が満たされていることを確認し、不備があれば当該研究参加施設の研究責任医師に問い合わせを行う。不備事項がなくなったことを確認した後、データセンターは当該研究参加施設の研究責任医師に「施設登録完了連絡書」(様式3) と「臨床情報調査票」(様式4) を送付する。

倫理審査委員会承認連絡書には、以下の情報が含まれる。
施設登録申請日、倫理審査委員会承認日、調査予定症例数
研究参加施設名、研究責任医師名、病理責任医師名

また、研究分担医師リスト一覧には、以下の情報が含まれる。
所属・職名、研究分担医師名、連絡先メールアドレス

5-1-2 症例調査票への入力

当該研究参加施設研究責任医師宛にデータセンターから送付された「施設登録完了連絡書」を受領後に、調査の開始が可能となる。研究担当医師(研究責任医師もしくは研究分担医師)は、カルテの記載に基づき「臨床情報調査票」(様式4)に入力する。

この時患者の個人情報、個人情報保護のためデータセンターおよび統計解析責任者に本人を特定できないよう症例識別コードとイニシャルによって匿名化される。また、プレパレート病理標本は病理標本番号によって匿名化される。

本人と照合可能な個人情報が研究参加施設外には出ないため、各研究参加施設の研究責任医師は、責任を持って症例識別コード・イ

ニシヤル・病理標本番号とカルテ番号・氏名などの個人情報の連結表である調査対象症例リスト（様式は問わない）を保管する。

5-1-3 「臨床情報調査票」の回収

各研究参加施設の研究責任医師は、研究対象症例について「臨床情報調査票」への入力を確認した後、入力データをデータセンターに電子的記録媒体（CD-ROM 等）に記録し送付する。

5-1-4 病理標本の送付

各研究参加施設の研究責任医師は、「施設登録完了連絡書」の受領後、調査対象症例リストを病理責任医師に送付し、病理責任医師は調査対象症例リストに基づきプレパラート病理標本（病変部代表切片：HE 染色既染 1 枚及びタンパク染色用未染 4 枚、2 箇所）を抽出する。

全ての病理標本の整理と調査対象症例リストへの記入が終了した後、各研究参加施設の病理責任医師は、調査対象症例リストから個人情報を取り切った「症例病理標本リスト」（様式 5）を作成し、「症例病理標本リスト」とプレパラート病理標本を中央病理診断事務局に送付する。

「症例病理標本リスト」には、以下の情報が含まれる。

研究参加施設名、研究責任医師名、病理責任医師名

病理標本採取日、症例識別コード、イニシヤル（姓、名）

病理標本番号、枝番号（2 箇所）

各研究参加施設の病理責任医師は、上記の手順が終了したあと、当該研究参加施設の研究責任医師に調査対象症例リストを送付する。当該研究参加施設の研究責任医師および病理責任医師は、全ての解析が終了し研究が終了するまでこの調査対象症例リストを保管する。

5-1-5 病理標本の受け取り

各医療機関の病理責任医師より送付された調査対象症例のプレパ

ラート病理標本は、中央病理診断事務局にて受け取る。中央病理診断事務局は、プレパラート病理標本と「症例病理標本リスト」の受け取り記録を残し、受け取った病理標本リストを責任を持って保管する。

5-1-6 診断する病理医の要件

本試験および「腎細胞癌患者の予後調査」では病理診断および中央病理診断が行われるが、診断を行う中央病理診断検討委員会の各委員は病理専門医資格を有し、個別に診断を行う場合でも十分な知識と経験を備えていると考えられる。

5-1-7 プレパラート病理標本の巡回、プレパラート標本病理診断

プレパラート病理標本は中央病理診断事務局から中央病理診断検討委員会の各委員に巡回され、プレパラート標本病理診断が行われる。中央病理診断検討委員会の各委員は、プレパラート標本病理診断の結果を「プレパラート標本病理診断調査票」（様式6）に入力する。入力後、入力データをデータセンターに電子的記録媒体（CD-ROM等）に記録し送付する。

5-1-8 プレパラート標本中央病理診断

プレパラート標本病理診断が全て集められた症例から、データセンターで中央病理診断検討委員会の委員間でプレパラート標本病理診断に不一致があった標本（完全一致をみない標本）など委員会で検討すべき標本の抽出を行う。診断が一致した項目は、その診断をもってプレパラート標本中央病理診断の結果とする。

不一致症例が抽出されたところで、中央病理診断検討委員会の各委員は一堂に会して診断不一致症例などの検討を行い、協議の上プレパラート標本中央病理診断を決定する。1回の会合につき100例前後をめどに検討する。「6-3-2 病理診断項目」の「組織型」と「組織学的異型度」の項目は、出席した委員全員で検討し、全員の賛同を得た診断をもって中央病理診断とする。また、診断が不一致となった項目については、その理由を探索し、記録する。「6-3-2 病理診

断項目」のエンドポイント以外の診断項目（腎内での浸潤増殖様式、静脈浸潤、Sarcomatoid lesion など）については、代表者が確認し必要があれば全員の賛同を得るようにする。

中央病理診断検討委員会の代表者は、プレパラート標本中央病理診断の結果を「プレパラート標本中央病理診断調査票」（様式7）に入力する。入力後、入力データをデータセンターに電子的記録媒体（CD-ROM等）に記録し送付する。

5-1-9 プレパラート病理標本の回収・保管・管理

すべての病理診断および中央病理診断が終わったあと、プレパラート病理標本は中央病理診断事務局に回収され、中央病理診断事務局は標本を症例病理標本リストとともに保管する。

5-1-10 無染染色標本の免疫染色

中央病理診断事務局に集められた無染染色標本（「5-1-4 病理標本の送付」参照）は、「6-5 免疫染色」に定められた免疫染色を行い、データを収集、解析する。

6 調査項目

6-1 症例調査票（様式）

本研究の症例調査票の様式については、別紙の「臨床情報調査票」（様式4）「プレパラート標本病理診断調査票」（様式6）「プレパラート標本中央病理診断調査票」（様式7）を参照。

なお、この調査票に必要な入力項目は次項に示す。

6-2 「臨床情報調査票」

6-2-1 患者背景

研究担当医師名、研究参加施設名、症例識別コード、イニシャル（姓、名）、病理標本番号

入力完了日、生年月、性別、診断時PS（ECOG Zubrod Scale）

診断時身長、診断時体重

全身症状（発熱、高カルシウム血症など）の有無、局所症状（疼痛、血尿など）の有無

既往歴（併存症）（VHL（von Hippel-Lindau 病）・多発性嚢胞腎・透析腎（透析による後天性嚢胞腎）の有無）

腎癌の家族歴（家族（父、母、兄弟姉妹、息子・娘）での有無）

6-2-2 臨床病期分類

臨床病期の決定は腎癌取り扱い規約第3版⁸⁾による病期分類により行う。

臨床診断日

画像上の腫瘍型（原発巣の画像上の腫瘍型）（長径(mm)）

T 因子（TX、T1/T2、T3a、（副腎浸潤：有／無）、T3b、T3c、T4）

N 因子（所属リンパ節転移の個数：不明、1個、2個以上）

M 因子（遠隔転移の有無、有の場合の部位（肺、肝、脳、骨、脾、その他））

（参考）

腎癌取り扱い規約第3版による病期分類⁸⁾

1997年改訂のUICCによるTNM分類第5版（日本泌尿器科学会・腎癌取り扱い規約第3版に日本語訳が記載）に基づき、以下の病期分類にてデータを収集する。1997年より以前のデータについても、現在のTNM分類第5版に変換して調査する。

T 因子

TX 原発腫瘍の評価が不可能

T0 原発腫瘍を認めない

T1-T2 腎に限局する腫瘍（腎被膜内限局腫瘍）
このとき腫瘍径のデータも調査（長径：cm）

T3 腫瘍は主静脈内に進展、または副腎に浸潤、または腎周囲脂肪組織に浸潤するが、Gerota 筋膜をこえない

T3a 腫瘍は副腎または腎周囲脂肪組織に浸潤するが、

Gerota 筋膜をこえない

T3b 腫瘍は肉眼的に腎静脈または横隔膜下までの下大静脈内に進展する

T3c 腫瘍は肉眼的に横隔膜をこえて下大静脈内に進展する

T4 腫瘍は Gerota 筋膜をこえて浸潤する

N 因子

所属リンパ節転移の個数

不明・1 個・2 個以上

N0 所属リンパ節転移なし

N1 1 個の所属リンパ節転移

N2 2 個以上の所属リンパ節転移

M 因子

MX 遠隔転移があるかどうかの評価が不可能

M0 遠隔転移なし

M1 遠隔転移あり

(また、転移部位：肺／肝／脳／骨／膵／その他も調査)

6-2-3 術前時の因子

病理標本採取日の 1 ヶ月前以内に測定された下記の項目の、測定日と測定値

Hb (ヘモグロビン)、Plt (血小板数)、LDH、Alb (アルブミン)、Ca (カルシウム)、CRP

6-2-4 治療情報

治療については、治療開始から再発と判定されるまでに行われた治療を初回治療と定義し、この情報を収集する。その後の治療については、情報収集は行わない。

1) 一原発巣に対する手術一

日本泌尿器科学会・腎癌取り扱い規約第3版⁸⁾の分類に準じる。

施行の有無、手術年月日

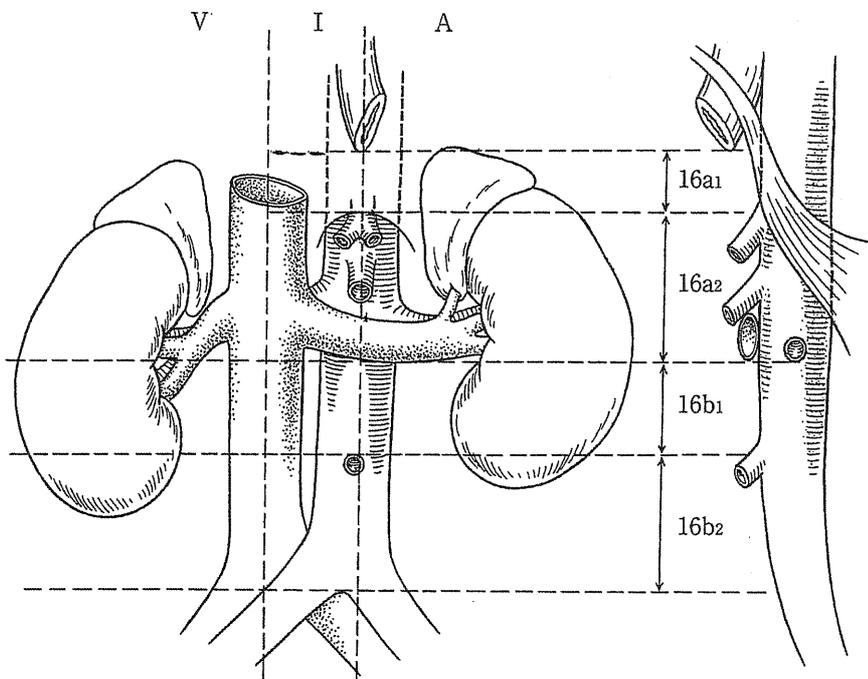
- 1) 手術方法 ①開放手術②体腔鏡(腹腔鏡、後腹膜鏡)③体腔鏡補助(腹腔鏡補助、後腹膜鏡補助)
- 2) 到達経路 (開放手術の場合のみ答える) ①経腰的②経腹的③経胸腹的④その他
- 3) 原発巣の術式 ①根治的腎摘(根治的腎摘除術) ②単純腎摘(単純腎摘除術) ③腎部分切除術④腫瘍核出術
- 4) リンパ節郭清の程度 ①施行せず②生検のみ③患側腎門部 リンパ節郭清 ④患側所属リンパ節郭清⑤完全郭清⑥その他

注) ④患側所属リンパ節郭清⑤完全郭清⑥その他 についての解説

* 5 解剖学的所属リンパ節は下図のように分類される。

- 1) 高さの区分は消化器癌で腰リンパ節に対し用いられているものと共通の表記を用いる。すなわち、16を左腎静脈下縁の高さで上部16aと下部16bの2群に分ける。左腎静脈下縁に接するものは16aとする。さらに16aを大動脈裂孔部（横隔膜の内側脚のとりまく4～5 cm幅）の16a1と、腹腔動脈根部上縁から左腎静脈下縁の高さの16a2とに分ける。また、16bを、左腎静脈下縁から下腸間膜動脈根部上縁までの16b1と、下腸間膜動脈根部上縁から大動脈分岐部の高さまでの16b2とに分ける。
- 2) 横の区分は、後腹膜リンパ郭清術時のテンプレートを意識し、下大静脈の中央、大動脈の中央に境界を設け、大動脈の左側A、下大静脈と大動脈の間I、下大静脈の右側Vの3群に分ける。
- 3) したがって、各領域のリンパ節の表記は横、高さの順に記載し、たとえばA16a2, I16b1のように表す。すなわち、腎の所属リンパ節は以下のように区分される。

左腎門部リンパ節：A16a2, A16b1
 右腎門部リンパ節：V16a2, V16b1, I16a2,
 傍大動脈リンパ節：A16b2
 大動静脈間リンパ節：I16b1, I16b2
 傍下大静脈リンパ節：V16a2



* 6 完全郭清とは、所属リンパ節をすべて摘出した場合。

* 7 その他は、総腸骨リンパ節、縦隔リンパ節、左右鎖骨窩リンパ節などの郭清を含む。

- 5) 転移巣に対する手術 (本項目では記入せず)
- 6) 手術の評価 (根治度) ①治癒的: 腫瘍組織がすべて摘除されたと考えられる
②非治癒的: 腫瘍組織の残存が考えられる

2) 病理診断分類

病理標本採取日 (手術日、生検日など)

病理上の腫瘍径 (mm)

組織型 (記載の有無/分類については「4 本試験に用いる規
準・定義」を参照)

組織学的異型度 (記載の有無/取り扱い規約第2版分類 (規
約第2版分類)・取り扱い規約第3版分類 (規約第3版分類)・
Fuhrman 分類²⁴⁾)

pT 因子、pN 因子 (分類については「1) 臨床病期分類」を参
照)

腎内での浸潤増殖様式 (INF α / INF β / INF γ / 不明)

静脈浸潤 (v (+) / v (-) / 不明)

3) 一転移巣に対する手術一

日本泌尿器科学会・腎癌取り扱い規約第3版⁸⁾の分類に準じる。

施行の有無、手術年月日

1)~4)

(本項目では記入せず)

5) 転移巣に対する手術

① 施 行 の 有 無

② (施 行 時 の み 回 答)

手 術 年 月 日

手術部位: (肺/肝/脳/骨/脾

/ そ の 他)

手術名 ()

6) 手術の評価 (根治度)

①治癒的: 腫瘍組織がすべて摘除
されたと考えられる

②非治癒的: 腫瘍組織の残存が考

えられる

4) ー転移巣に対する放射線療法ー

放射線療法施行の有無

放射線療法がなされている場合は、さらに以下の項目

総照射線量 (Gy)

施行部位 (肺/肝/脳/骨/膵/その他)

放射線療法の治療開始日

5) ー薬物療法 (化学療法・内分泌療法・免疫療法) ー

施行の有無

施行の目的 (治療的/予防的 (補助的))

化学療法・免疫療法がなされている場合は、さらに以下の投薬に関する項目

薬剤名 (5-FU/フルツロン/UFT/IL-2/IFN α /シメチジン)

投与開始日

投薬状況 (中止/投与計画の完遂/継続)

中止の理由 (有害事象の発生/原疾患 (腎細胞癌) の増悪/その他)

6-2-5 再発に関する情報 (初回治療が治癒的であった場合のみ記入)

初回治療が治癒的であった場合、下記の情報を記入する。

再発の有無 (無/有)

再発「無」の場合は最終無再発確認日を記入する。

再発「有」の場合は局所再発、遠隔転移の場合の各々で有無、再発確認日、再発確認方法について記入する。

注) 腎細胞癌死で再発の情報が全く入手できない場合は、この欄の「無」にチェックを入れ最終無再発確認日を記入すること。

6-2-6 再発確認時の因子 (再発が「有」の場合のみ記入)

再発確認日の1ヶ月前以内に測定された下記の項目の、測定日

と測定値

Hb (ヘモグロビン)、Plt (血小板数)、LDH、Alb (アルブミン)、
Ca (カルシウム)、CRP、ALP
PS (ECOG Zubrod Scale)

6-2-7 転帰情報

生存、死亡

生存症例は最終生存確認日

死亡症例は、死亡日と死因 (腎細胞癌死 / 不明 / 他因死)

6-3 「プレパラート標本病理診断調査票」

病理診断は、中央病理診断検討委員会の各委員の診断のもとになされる。診断結果は、診断を得た標本別に、それぞれの病理診断調査票(「プレパラート標本病理診断調査票」)に入力する。病理診断項目は以下の通りである。

6-3-1 基本項目

診断日

診断委員名

研究参加施設名、病理標本番号、枝番号

6-3-2 病理診断項目

標本の状態：(病理診断に適している / 病理診断には不適)

組織型

WHO classification of Tumours⁹⁾ (2004:「4. 本試験に用いる基準・定義」参照)に基づき組織型を分類する。

また、乳頭状腎細胞癌については、さらに type1 と type2 に分類する。

分類には以下の規準を用いる。²⁵⁾

乳頭状腎細胞癌の形態学的 2 型を以下に示す。

Type1 腫瘍 (1 型乳頭状腎細胞癌) には、乳頭基底膜の上に

1層配列する、細胞質に乏しい小型細胞によって覆われた乳頭を有する。

Type2 腫瘍（2型乳頭状腎細胞癌）細胞は、好酸性の細胞質とより高度の異型性を伴う核を有し、乳頭上に偽層化した核を呈する。

Type1 腫瘍はしばしば多病巣性である。

組織学的異型度/取り扱い規約第3版分類：(G1/G2/G3/GX)

「日本泌尿器科学会・腎癌取り扱い規約第3版」⁸⁾「第2部 病理学的事項/F 組織学的異型度」の規準に基づき、組織学的異型度を分類し、それぞれのグレードの細胞の標本全体に占める割合を決定する。

また、同一標本内に複数グレードの細胞が混在する場合、最も悪性または最も高いグレードが標本全体のグレードとなる。

組織学的異型度/Fuhrman 分類：(G1/G2/G3/G4/GX)

以下に示す Fuhrman 分類²⁴⁾に基づき組織学的異型度を分類し、それぞれのグレードの細胞の標本全体に占める割合を決定する。また、同一標本内に複数グレードの細胞が混在する場合、最も悪性または最も高いグレードが標本全体のグレードとなる。

核異型度は、以下の規準を用いて決定される。(Fuhrman 分類²⁴⁾)

Grade1 腫瘍には核小体が目立たないか無く、小さく丸い単一の核（約10 μ m）の細胞で構成される。

Grade2 腫瘍にはより大きな核（約15 μ m）があり、辺縁は不整で強拡大（ $\times 400$ ）のとき核小体が見られる。

Grade3 腫瘍にはさらに大きな核（約20 μ m）があり、明らかに不整な辺縁と弱拡大（ $\times 100$ ）でさえ分る顕著で大きな核小体がある。

Grade4 には Grade3 腫瘍とよく似た特徴が見られ、加えて奇

妙でしばしば多葉性の核と粗大なクロマチン塊がある。これらの腫瘍はしばしば肉腫に似た紡錘形の細胞の領域がある。それぞれの腫瘍は、局所的なものであっても示される最も悪性または最も高い Grade で分類される。

腎内での浸潤増殖様式：(INF α / INF β / INF γ / 不明)

「日本泌尿器科学会・腎癌取り扱い規約第3版」⁸⁾「第2部病理学的事項/G組織学的浸潤増殖様式」の「INF」の規準に基づき浸潤増殖様式を分類する。

静脈浸潤：(v(+)/v(-)/不明)

「日本泌尿器科学会・腎癌取り扱い規約第3版」⁸⁾「第2部病理学的事項/G組織学的浸潤増殖様式」の「v:静脈浸潤」の規準に基づき静脈浸潤の有無をチェックする。

Sarcomatoid lesion：(あり/なし/不明、ありの場合____%)

小範囲でも sarcomatoid lesion があれば、予後に影響すると
の報告もあるので²⁶⁾、sarcomatoid lesion を認識した場合は、
その旨と、それぞれのプレパラート上で腫瘍に占める大まかな
な%を記載する。(例：sarcomatoid：あり、30%)

診断の自信度 (Diagnostic Certainty)²⁷⁾

診断の自信度 (Diagnostic Certainty) について、以下の5
段階に分けて調査する。

- 1 絶対に正しい (absolutely correct)
- 2 ほぼ正しい (very likely correct)
- 3 おそらく正しい (probably correct)
- 4 正しいかもしれない (possibly correct)
- 5 自信なし (uncertain)

また、診断の自信度が3~5の場合、自信がない理由 (Reasons for Uncertainty) も調査する。

画質・標本不良 (Insufficient image quality)
スライド数不足 (Insufficient numbers of fields)
臨床情報不足 (Insufficient clinical information)
専門知識不足 (Insufficient expertise)
その他 (Others)

その他の病理診断

本項目は上記項目以外の病理診断に関する自由記入欄とする。

6-4 「プレパラート標本中央病理診断調査票」

中央病理診断は、中央病理診断検討委員会の各委員が一堂に会して診断不一致症例などの検討を行い、協議の上プレパラート標本中央病理診断を決定する。

まず、プレパラート標本病理診断やバーチャルスライド病理診断が委員ごとで一致しない症例（完全一致をみないもの）を抽出する。診断が一致した項目は、その診断をもって中央病理診断の結果とする。不一致であった症例については、「組織型」と「組織学的異型度」の「標本全体のグレード」は、出席した委員全員で一同を介して検討し、全員の賛同を得た診断をもって中央病理診断とする。その他の診断項目（腎内での浸潤増殖様式、静脈浸潤、Sarcomatoid lesion など）については、代表者が確認し必要があれば一同を介するようにする。診断結果は、「プレパラート標本中央病理診断調査票」に入力する。

中央病理診断項目は以下の通りである。

診断日

研究参加施設名、病理標本番号

標本の状態：(病理診断に適している／病理診断には不適)

組織型（「4. 本試験に用いる基準・定義」参照）

組織学的異型度/取り扱い規約第3版分類：(G1/G2/G3/GX)

組織学的異型度/Fuhrman分類：(G1/G2/G3/G4/GX)

腎内での浸潤増殖様式：(INF α / INF β / INF γ / 不明)

静脈浸潤：(v(+)/v(-)/不明)

Sarcomatoid lesion：(あり/なし/不明、ありの場合____%)

定義は「6-3-2 病理診断項目」を参照のこと。

その他の中央病理診断

本項目は上記項目以外の中央病理診断所見に関する自由記入欄とする。

診断不一致の理由

(解釈/見落とし/画質・標本不良/スライド数不足/臨床情報不足/専門知識不足/その他)

診断不一致の理由を上記のカテゴリーに分け、この情報を収集する^{27, 28)}。

6-5 免疫染色

「5-1-10 無染染色標本の免疫染色」で行われる免疫染色は以下の通りである。

LYVE1、Clusterin、CYFR、STAT3

7 目標調査症例数と調査期間

目標調査症例数： 1000 人

目標調査症例数の設定根拠：

早期癌 (NOMO かつ T1/2) の 5 年無再発生存確率を約 80%、進行癌のそれを約 50%、早期癌と進行癌の対象者に占める割合を 8:2 と仮定すると、全体の 5 年無再発生存確率は約 82%と推定される。5 年無再発生存確率の 95%信頼区間幅を 5%以内にするためには、約 900 人の 5 年間追跡されたデータが必要である。約 10%の観察打ち切り例を見込んで、目標調査症例数を 1000 人とした。

調査対象期間： 1995 年 1 月～2005 年 12 月 (最低追跡期間：5 年)

研究実施予定期間： 2006 年 4 月～2008 年 3 月

8 統計学的考察

8-1 エンドポイントの定義

8-1-1 全生存期間

原発巣に対する手術の手術年月日（ただし手術が施行されていないときは病理標本採取日）から、あらゆる原因による死亡日までの期間を全生存期間とする。

8-1-2 無再発生存期間

原発巣に対する手術の手術年月日から、局所再発または遠隔転移の再発確認日またはあらゆる原因による死亡日（いずれか早い方）までの期間を無再発生存期間とする。

8-1-3 再発後生存期間

局所再発または遠隔転移の再発確認日（いずれか早い方）からあらゆる原因による死亡日までの期間を、再発後生存期間とする。

8-2 解析対象集団の定義

適格規準を満たしている全ての症例

8-3 解析方法

8-3-1 背景情報の集計

患者背景、診断情報、病理診断時の因子、中央病理診断情報について適切な要約統計量を算出する。

8-3-2 治療情報

初回治療の内容について集計する。

8-3-3 背景因子、診断情報、病理診断時の因子と各エンドポイントとの関連

背景因子、診断情報、病理診断時の因子別の全生存期間および

無再発生存期間を Kaplan-Meier 法により推定し、各因子と全生存期間および無再発生存期間の関連について、logrank 検定および Cox 回帰モデルを用いて評価する。

8-3-4 UICC ワークショップ腎細胞癌分類と各エンドポイントとの関連
中央病理診断情報の UICC ワークショップ腎細胞癌分類と各エンドポイントとの関連を評価する。また、「6-2-2 診断、2) 病理診断分類、規約での組織型(腎癌取り扱い規約第3版に基づく)」との関連も評価する。

8-3-5 初回治療と各エンドポイントとの関連
初回治療(主に原発巣に対する手術)別の全生存期間、無再発生存期間については、Kaplan-Meier 法により推定する。各治療法と全生存期間および無再発生存期間の関連について、臨床病期分類、病理診断分類によるサブグループ内での比較あるいは予後因子を調整した上での比較を logrank 検定、Cox 回帰モデル等を用いて行う。

8-3-6 無再発生存確率の予測式の作成
遠隔転移のない手術症例のうち原発巣に対する手術の「手術の評価」が治癒的であったものを用いて、無再発生存確率の予測式を患者背景、診断情報、病理診断時の因子をもとに作成し、腎細胞癌における日本版 Nomogram の作成を試みる。

8-3-7 再発後生存期間に影響する因子の探索
再発症例を用いて、再発後生存期間に影響する因子の探索を行う。

9 倫理的事項

9-1 遵守すべき諸規則

本研究に関与する全ての者は「世界医師会ヘルシンキ宣言(2002年

10月改訂)」および「疫学研究に関する倫理指針（文部科学省・厚生労働省、平成16年12月28日16文科振第930号科発第1228002号）」を遵守して研究を行う。

9-2 研究対象者からインフォームド・コンセントを受ける手続き

本研究は、日本病理学会が定義する「病理標本」²⁹⁾と診療記録等の既存資料のみを用いる観察研究である。したがって、「疫学研究に関する倫理指針（平成14年文部科学省・厚生労働省告示第2号）」第3の第7条第2項の(2)のイの定義に基づくと、本研究は既存資料等のみを用いる観察研究であるため研究対象者からインフォームド・コンセントを受けることを必ずしも要さない。しかし、研究の目的を含む研究の実施についての情報を公開しなければならない。

9-3 プライバシーの保護と患者識別

本研究に関与する全ての者にはデータ取扱者としての守秘義務があるので、個人情報保護のために最大限の努力を払うことが原則である。当該研究データおよび研究資料を研究参加施設外に提供することについては、「疫学研究の倫理指針」第4の第11条の(2)の「当該同意を受けることができない場合」にあたると考えられるため、研究参加施設外に提供される当該研究データおよび研究資料は全て匿名化する。

匿名化の方法については、まず各研究対象者の氏名は当該研究参加施設においてイニシャルに変換する。また、各研究対象者のカルテ番号に変わる番号として、当該研究参加施設において研究対象者に症例識別コードを付す。さらに、プレパレート病理標本には、当該研究参加施設において標本ごとに病理標本番号を付す。従って、氏名、カルテ番号といった研究対象者の個人情報には研究参加施設から中央事務局、中央病理診断事務局、データセンターにも知らされることはない。この際、症例識別コード、イニシャル、病理標本番号と個人情報の連結表である調査対象症例リストは各研究参加施設内で厳重に管理され、研究データの照会や、研究資料等の返却時の管理に用いられる。(連結可能匿名化)

各研究参加施設への照会は、研究対象者の予後調査情報については症例識別コードとイニシャルの2つを用い、プレパレート病理標本については、病理標本番号を用いる。本研究で最小限の識別情報としてイニシャルも用いるが、それは、イニシャルやその他の情報を組み合わせても研究参加施設外で本人が同定される危険性はきわめて小さいと考えられ、かつイニシャルを用いない場合症例識別コードのみでデータが管理されることとなり、転記ミス等0.1%以上の確率で起こる個人情報管理と関連のない事象により研究データの照会や研究資料の返却が困難となる症例が出てくる可能性が高いと考えられるからである。

9-4 プロトコルの承認

本研究は、プロトコルが京都大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会(以下京都大学医の倫理委員会とする)の承認を受けた後、施設登録が開始される。当該研究参加施設の倫理審査委員会もしくはそれに準ずる組織の審査を受け、承認された後に当該研究参加施設の施設登録が行われる。施設登録が完了した後、当該研究参加施設で研究が実施される。

9-5 プロトコルの変更

本研究開始後、プロトコルの変更が必要となった時、変更の内容に応じて研究の中止、継続を決定し、その旨を中央事務局より各研究参加施設に連絡する。

プロトコルの変更は主任研究者が招集するプロトコル検討委員会(メンバー:主任研究者、副主任研究者、統計解析責任者、プロトコル作成委員、データセンター責任者、その他必要とする委員)で決定し、検討結果を京都大学医の倫理委員会に提出し、承認を得るものとする。

京都大学医の倫理委員会でプロトコルの変更の承認が得られ、当該研究参加施設の倫理審査委員会もしくはそれに準ずる組織の承認を得た後に、新たなプロトコルのもと当該研究参加施設で研究を実施・再開する。

10 結果の発表および出版

本研究の結果については泌尿器科が主導となり、病理部が病理診断を支援、検証部が研究計画作成と統計解析、データマネジメントを支援、臨床情報研究センターがシステム面で支援を行ったという形で発表することとする。ただし、「6-3 病理診断調査」「6-4 中央病理診断調査」を主体とする情報の集計・解析・発表・出版などの取りまとめは病理部が主導となって行う。

その他の副論文および分野をまたぐ論文の作製・出版にあたっては小川教授と協議の上、各自分野での発表を行うこととする。

また、以上の各論文には、共著者として関係者全員の名前を入れることとする。

11 参考文献

- 1) Takayama T, Fujita K. [Renal carcinoma] *Nippon Rinsho*. 2001 Nov;59 Suppl 7:373-8.
- 2) SEER the SEER Cancer Statistics Review, 1975-2000 (Available: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2000/results_merged/sect_11_kidney_pelvis.pdf [2005.10.14])
- 3) Motzer RJ, Bander NH, Nanus DM. Renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 1996 Sep 19;335(12):865-75.
- 4) PDQ® Cancer Information Summaries: Adult Treatment: Renal Cell Cancer (Available: http://www.cancer.gov/cancerinfo/pdq/treatment/renalcell/health_professional/) [2005.10.14])

- 5) Storkel S, Eble JN, Adlakha K, Amin M, Blute ML, Bostwick DG, Darson M, Delahunt B, Iczkowski K. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer*. 1997 Sep 1;80(5):987-9.
- 6) Guinan P, Sobin LH, Algaba F, Badellino F, Kameyama S, MacLennan G, Novick A. TNM staging of renal cell carcinoma: Workgroup No. 3. Union International Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer*. 1997 Sep 1;80(5):992-3.
- 7) Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun A. Biology of renal cell carcinoma: changing concepts in classification and staging. *Semin Urol Oncol*. 2001 May;19(2):72-9. Review.
- 8) Japanese Urological Association, The Japanese Society of Pathology, Japan Radiological Society. General Rule for Clinical and Pathological Studies on Renal Cell Cancer. 3rd ed. Tokyo: Kanahara-shuppan; 1999.
- 9) Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, editors. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon: IARC Press; 2004. p. 10.
- 10) Chow WH, Gridley G, Fraumeni JF Jr, Jarvholm B. Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men. *N Engl J Med*. 2000 Nov 2;343(18):1305-11.
- 11) Zhou M, Rubin MA. Molecular markers for renal cell carcinoma: impact on diagnosis and treatment. *Semin Urol Oncol*. 2001 May;19(2):80-7.
- 12) Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, Figlin RA, deKernion JB, Belldegrun

- A. Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria. *J Urol.* 2000 Apr;163(4):1090-5; quiz 1295.
- 13) Zisman A, Pantuck AJ, Dorey F, Said JW, Shvarts O, Quintana D, Gitlitz BJ, deKernion JB, Figlin RA, Belldegrun AS. Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system. *J Clin Oncol.* 2001 Mar 15;19(6):1649-57.
- 14) Zisman A, Pantuck AJ, Dorey F, Chao DH, Gitlitz BJ, Moldawer N, Lazarovici D, deKernion JB, Figlin RA, Belldegrun AS. Mathematical model to predict individual survival for patients with renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2002 Mar 1;20(5):1368-74.
- 15) Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, Katz J, Russo P. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. *J Urol.* 2001 Jul;166(1):63-7.
- 16) Zisman A, Pantuck AJ, Wieder J, Chao DH, Dorey F, Said JW, deKernion JB, Figlin RA, Belldegrun AS. Risk group assessment and clinical outcome algorithm to predict the natural history of patients with surgically resected renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2002 Dec 1;20(23):4559-66.
- 17) Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, Katz J, Russo P. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. *J Urol.* 2001 Jul;166(1):63-7.
- 18) Sorbellini M, Kattan MW, Snyder ME, Reuter V, Motzer R, Goetzl M, McKiernan J, Russo P. A postoperative prognostic nomogram predicting recurrence for patients with conventional clear cell renal cell carcinoma. *J Urol.* 2005 Jan;173(1):48-51.

- 19) Flanigan RC, Salmon SE, Blumenstein BA, Bearman SI, Roy V, McGrath PC, Caton JR Jr, Munshi N, Crawford ED. Nephrectomy followed by interferon alfa-2b compared with interferon alfa-2b alone for metastatic renal-cell cancer. *N Engl J Med.* 2001 Dec 6;345(23):1655-9.
- 20) Huland E, Heinzer H. Survival in renal cell carcinoma: a randomized evaluation of tamoxifen vs interleukin-2, alpha-interferon (leucocyte) and tamoxifen. *Br J Cancer.* 2000 Jan;82(1):246-7.
- 21) Atzpodien J, Kirchner H, Illiger HJ, Metzner B, Ukena D, Schott H, Funke PJ, Gramatzki M, Jurgenson S, Wandert T, Patzelt T, Reitz M. IL-2 in combination with IFN- alpha and 5-FU versus tamoxifen in metastatic renal cell carcinoma: long-term results of a controlled randomized clinical trial. *Br J Cancer.* 2001 Oct 19;85(8):1130-6.
- 22) Motzer RJ, Bacik J, Schwartz LH, Reuter V, Russo P, Marion S, Mazumdar M. Prognostic factors for survival in previously treated patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2004 Feb 1;22(3):454-63.
- 23) Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, Russo P, Mazumdar M. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2002 Jan 1;20(1):289-96.
- 24) Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1982 Oct;6(7):655-63.
- 25) Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, editors. *Pathology*

and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon: IARC Press; 2004. p. 27-29.

- 26) Ro JY, et al. Sarcomatoid renal cell carcinoma: A clinicopathologic study of 42 cases. *Cancer*. 1987; 59: 516-526..
- 27) Weinberg DS, Allaert FA, Dusserre P, et al. Telepathology diagnosis by means of digital still images: an international validation study. *Hum Pathol* 1996; 27: 111-18.
- 28) Cross SS, Burton JL, Dube AK, Feeley KM, Lumb PD, Stephenson TJ, Start RD. Offline telepathology diagnosis of colorectal polyps: a study of interobserver agreement and comparison with glass slide diagnoses. *J Clin Pathol*. 2002 Apr;55(4):305-8.
- 29) Molnar B, Berczi L, Diczhazy C, Tagscherer A, Varga SV, Szende B, Tulassay Z. Digital slide and virtual microscopy based routine and telepathology evaluation of routine gastrointestinal biopsy specimens. *J Clin Pathol*. 2003 Jun;56(6):433-8.
- 30) The Japanese Society of Pathology. Newsletter 2005 May;208 : 3-4
(社団法人日本病理学会理事会・倫理委員会. 患者に由来する病理検体 (細胞診, 生検組織診及び手術に由来する検体) の保管・管理・利用に関する見解 社団法人日本病理学会会報 2005年5月;第208号:P3-P4)

研究計画書 3

腎細胞癌における IFN- α 治療効果予測因子探索を目的にし

た

インターフェロン関連遺伝子群の遺伝子多型解析

研究計画書

腎細胞癌における IFN- α 治療効果予測因子探索を目的にした
インターフェロン関連遺伝子群の遺伝子多型解析

プロトコール番号: GIFB1-02

2001年7月19日作
2001年8月21日改訂
2001年11月19日改訂
2002年2月12日改訂
2002年3月11日改訂

1. 試験の目的

転移巣を有する腎細胞癌患者において、インターフェロン(IFN)受容体ならびにシグナル伝達系関連遺伝子群等の遺伝子多型を調べ、IFN- α の治療効果との関連を探索する。

2. 試験の背景

腎細胞癌の薬物療法においては、BRM製剤であるIFN- α 、IFN- γ 、IL-2の3種の薬剤のみがその効能・効果を取得し、広く用いられている。特にIFN- α は、日本では最も早く治療薬として導入され、かつ最も多く使用されている。腎細胞癌の治療において、IFN- α の使用されている領域は、1)転移巣のない(M0)症例における原発巣摘除術後の再発予防投与と、2)転移巣を有する(M1)症例への治療的投与使用に大別される。1)においては否定的な報告もあるが、2)においては無作為化試験により腫瘍の縮小ならびに生存期間の延長が認められ、IFN- α 療法の意義が広く認められている¹⁾²⁾³⁾。しかしながら、その奏効率は10~20%にすぎず¹⁾²⁾³⁾、効果予測因子も明確になっていない。

一方、IFN- α の作用機序として、細胞膜上に存在するレセプターに結合し、JAK-STAT系を介して様々なタンパク質を誘導することにより作用を示すことが知られている⁴⁾。

そこで、IFN- α 療法による治療を受けた転移巣を有する腎細胞癌患者を対象とし、その治療効果とIFN- α の作用発現に関わるインターフェロン受容体ならびにシグナル伝達系関連遺伝子群等の遺伝子多型との関連について検討することにした。

本研究の結果、IFN- α 製剤の効果に関与する遺伝子の多型が同定されれば、将来、より効果的なIFN- α 療法が可能になると期待され、医療経済学的にも貢献できると考えられる。

1) 里見佳昭・福田百邦, 癌の臨床, 42, 1251, 1996

2) RJ Motzer and P Russo, J. Urol., 163, 408, 2000

3) PA Godley and KI Ataga, Current Opinion Oncol., 12, 260, 2000

4) “IFN” 渡辺好彦; 第二版改訂版 サイトカイン, 笠倉新平編, p236, 株式会社日本医学館, 1997

3. 試験の方法

試料(非癌部腎組織または血液)からDNAを抽出し、次に記す遺伝子の多型をインベーター法,あるいはダイレクトシーケンス法により分析する。

IFN- α レセプター及びシグナル伝達系

IFNAR1 (α 鎖)

IFNAR2 (β L鎖)

JAK1

Tyk2

STAT1

STAT2

STAT3

p48 (ISGF3 γ)

SOCS-1 (別名 JAB, CIS-1, SSI-1)

SOCS-2 (別名 CIS-2, SSI-2, STAT2)

SOCS-3 (別名 CIS-3, SSI-3)

Shp-2 (別名 PTPN11: protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 11)

Th1/Th2系

STAT4

IL-2

IL-2 Receptor- α

IL-2 Receptor- β

IL-2 Receptor- γ

IFN- γ

TNF- α

TNF- β

IL-4

IL-4 Receptor- α

IL-4 Receptor- β

IL-5

IL-6

IL-10

IL-13

その他のIFN- α によって発現に変化が認められる報告のある遺伝子

PKR

IRF (IFN-regulatory factor) 1

IRF2

IRF3

IRF7

ICSBP (IFN consensus sequence binding protein)

Cox-1

Cox-2

MxA

その他の遺伝子

TAP (transporter associated with antigen processing) -1

TAP-2

LMP2

LMP7

CTLA-4

GSTT1 (グルタチオンSトランスフェラーゼ)

VHL

HIF-1 α

HLF

VEGF

MN/CA9

Cadherin-6

なお、本試験の実施は、文部科学省、厚生労働省および経済産業省が共同で示した「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)」(三省指針)に基づいて行うものとする。

4. 試料提供者の選択方針

過去に腎細胞癌の治療を目的として IFN- α 療法を受けた転移巣を有する患者で、IFN- α による治療効果の有無が確認された患者。IFN- α 反応群とは、腎癌取扱い規約(1999年4月20日第3版, 金原出版株式会社)の治療効果判定基準に基づいた奏効例(CR および PR)とし、IFN- α 不応群は、進行例(PD)のみとする。ただし、IFN- α 不応群において、前治療(術後補助療法)として IFN- α を投与された症例を除外する。

5. 試験で使用する試料の種類および量など

- ①腎細胞癌患者からの病巣部摘出に付随して摘出された非癌部腎組織(100 mg)
- ②凍結保存された末梢血(7ml)。
- ③凍結保存された末梢血由来の細胞画分(末梢血 7ml 相当)。
- ④①～③のいずれかから単離された DNA。

ただし、分析に適した試料がなかった場合、試料提供候補者の同意が得られれば、採血(EDTA2Na 含有採血チューブ7ml 1 本)により試料を供することができるものとする。

6. 実施予定試料数

58試料(IFN- α 反応群29試料, IFN- α 不応群29試料)以上 200 試料まで。

以下の仮説のもとに下限の試料数を設計した。

IFN- α 療法における奏効率を 20%とする。また、ある一つの遺伝子多型“A”の存在率を 20%、遺伝子多型“A”を持つ患者の奏効率が 50%と仮定すると、遺伝子多型“a”の奏効率は 12.5%となる。カイ2乗検定(イエツの補正)に基づいて、両側有意水準 5%、検出力 80%を確保し検定を行うには、反応群および不応群各々 29 例ずつ必要となる。なお、研究デザインは反応群と不応群の試料を同数集めるケースコントロール研究であり、また、IFN- α 治療効果予測因子となりうる遺伝子多型の探索を目的としているので、検定の多重性は考慮しない。

7. 試験に関連する薬剤など

既治療例が対象のため、新たに使用する薬剤はなし。

8. 試験実施予定期間

2002年4月1日～2003年3月31日

9. 同意について

9.1. 試料提供候補者等に理解を求め同意を得る方法

試料提供候補者等に三省指針に基づいた説明文(別紙)を用いて書面と口頭で説明し、文書による同意を得る。

9.1.1. 試料提供候補者が存命している場合

試料提供候補者に対して、あらかじめ“ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針、平成13年3月29日、文部科学省・厚生労働省・経済産業省”(三省指針)に基づいた説明文を用いて書面ならびに口頭で十分な説明を行い、文書による同意を得た後に、試料の提供を受けるものとする。

9.1.2. 試料提供候補者が死亡のため、有効なインフォームドコンセントを本人から得られない場合

遺族の中から代諾者を選び、書面ならびに口頭で十分な説明を行い、文書による同意を得た後に、試料の提供を受けるものとする。ただし、試料提供候補者が存命中に医学研究活動への協力に対して否定的な見解を示していた場合には対象としない。

代諾者としての遺族の選択基準

代諾者の選択における優先順位を下記の順番で行う。

試料提供候補者の1)配偶者、2)成人の子、3)父母、4)成人の兄弟姉妹もしくは孫、5)祖父母、6)同居の親族またはそれらの近親者に準ずると考えられる人。

なお、目標症例に達しなかった場合、転居などにより試料提供候補者あるいは代諾者の消息が不明の試料を分析に供することができるものとする。この場合には、代

諾者の消息が不明と判断した記録を残すものとする。ただし、研究実施機関の倫理審査委員会が承認し、研究実施機関の長により許可された場合に限るものとする。

9.2. 説明の具体的内容

- 1) 遺伝子研究について
- 2) 遺伝子解析研究への協力について
 - ・この研究の目的
 - ・あなたが試料提供候補者として選ばれた理由
- 3) 協力の任意性と撤回の自由
 - ・研究に協力するかどうかは任意です
 - ・研究の協力に同意されなくとも、何ら不利益を受けることはありません
 - ・研究協力への同意の撤回もできます
- 4) 研究の実施計画
 - ・研究題目
 - ・研究機関名
 - ・研究責任者氏名及び職名
 - ・共同研究機関名(遺伝子解析機関名)
 - ・ご提供をお願いする試料
 - ・研究方法
 - ・研究期間
- 5) 研究計画書の開示
- 6) 試料提供者にもたらされる利益および不利益
- 7) 個人情報の保護
- 8) 遺伝子解析結果の開示
- 9) 研究成果の公表
- 10) 研究から生じる知的財産権の帰属
- 11) 試料の流れおよび遺伝子解析研究終了後の試料等の取扱い方針
- 12) 解析費用負担に関する事項
- 13) 試料などの提供は無償であること
- 14) 遺伝カウンセリングの体制
- 15) 研究責任者の氏名および職名
- 16) 連絡先

10. 試料の匿名化の方法

すべての試料は、連結不可能匿名化する。

本試験における試料は、各研究実施機関における個人情報管理者によって本試験用の固有の符号を付けた後に大塚製薬株式会社 Theranostics Research Center (大塚TRC)へ搬入される。この符号は、試料の個人識別情報を類推できないものでなければならない。

11. 遺伝情報の開示

提供された試料は連結不可能匿名化されている。したがって、個々の分析結果を提供者もしくは代諾者に知らせることはできない。ただし、希望があれば、全体の集計として、試料提供者もしくは代諾者へ解析結果を開示するものとする。

12. 遺伝カウンセリング

本試験で得られた遺伝子多型分析結果は個々の提供者もしくは代諾者に開示しないため、遺伝カウンセリングの必要性が生じる可能性は少ないものと考えられる。しかし遺伝カウンセリングを希望する者には専門医を紹介し、遺伝カウンセリングにより不安感の軽減を図るよう努力するものとする。

13. 残余試料の処理法

本試験の残余試料は、本試験終了後、大塚 TRC から各施設に返却する。

各施設においては、残余試料を決められた方法に従い適切に処理し、その記録を残す。

14. 統計解析の方法

腎細胞癌患者における IFN- α 反応例と不応例の遺伝子の多型を比較し、遺伝子多型と IFN- α に対する反応性との関係を解析する。

15. 研究実施機関の所在地と名称

京都大学大学院医学研究科

〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町

九州大学大学院医学研究院(泌尿器科学分野)

〒812-8582 福岡市東区馬出3-1-1

札幌医科大学

〒060-8556 札幌市中央区南1条西17丁目

東京女子医科大学

〒162-8666 新宿区河田町8-1

奈良県立医科大学

〒634-8521 橿原市四条町840

徳島大学医学部

〒770-8503 徳島市蔵本町3-18-15

統計解析機関:

九州大学大学院医学研究院(医療情報学)

〒812-8582 福岡市東区馬出3-1-1

遺伝子多型解析機関:

大塚製薬株式会社 Theranostics Research Center(大塚 TRC)

〒771-0192 徳島市川内町加賀須野463-10

16. 研究実施責任者名

京都大学大学院医学研究科 泌尿器病態学 教授 小川 修(研究代表責任者)

九州大学大学院医学研究院 泌尿器科学分野 教授 内藤誠二(研究代表責任者)

札幌医科大学 泌尿器科学 教授 塚本泰司

東京女子医科大学 泌尿器科学 教授 東間 紘

奈良県立医科大学 泌尿器科学 教授 平尾佳彦

徳島大学 泌尿器科学 教授 香川 征

九州大学大学院医学研究院 医療情報学 教授 野瀬善明

大塚 TRC センター長 白土敬之

17. 研究実施担当者名

京都大学大学院医学研究科 泌尿器病態学 助手 伊藤哲之

九州大学大学院医学研究院 泌尿器科学分野 助手 奥村幸司

札幌医科大学 泌尿器科学 助手 高橋 敦

東京女子医科大学 泌尿器科学 助教授 中澤速和

奈良県立医科大学 泌尿器科学 講師 植村天受

徳島大学 泌尿器科学 助教授 金山博臣

18. 試験依頼者

大塚製薬株式会社 医薬営業本部プロダクトグループ リーダー 西中村洋一

19. 試験実施責任者および試験実施担当者

試験実施責任者:大塚製薬株式会社 プロダクトグループ応用開発グループ
癌担当リーダー 榊井美弘

試験実施担当者:大塚製薬株式会社 プロダクトグループ応用開発グループ
癌担当 大阪支店駐在 高松正信
癌担当 東京支店駐在 大室光夫
癌担当 東京支店駐在 蔵田貴司
癌担当 福岡支店駐在 橋村悦朗

20. 資料の保存

同意取得文書, 試験実施にともない発生した生データなどの試験関連資料一式は, それぞれの研究機関において試験終了後5年間保存する。その際, 研究実施責任者または試験実施担当者は保存資料リストを作成してその写しを試験依頼者に提出する。

本試験の実施に伴って発生した試験依頼者が保存すべき資料(研究実施機関の保存資料リストの写しを含む)は, 大塚製薬株式会社応用開発グループ情報管理課において保存する。

また, 各研究機関における保存資料を廃棄するときには, あらかじめ各研究機関の研究実施責任者が試験依頼者(大塚製薬株式会社)に連絡する。

21. 結果の公表

結果の公表に関しては公表を原則とし, 研究実施責任者間で協議し決定する。