

癌に対するウイルス療法

下山理史 中尾昭公

Oncolytic viral therapy for cancer therapy

Satofumi Shimoyama, Akimasa Nakao

Department of Surgery II, Nagoya University Graduate School of Medicine

Abstract

Recently, tumor-selective replicating viruses offer appealing advantages over conventional cancer therapy and are a promising new approach for the human cancer therapy. The development of oncolytic viral therapeutics is based on various strategies that each provides a different foundation for tumor-selective targeting and replication. Results from clinical trials of oncolytic viral therapy demonstrate the safety and feasibility of a new approach for cancer. Strategies to overcome various obstacles and challenges to this therapy are currently being searched. In the future, the development of oncolytic viral therapies will extend the range of tumors that can be treated using this novel treatment modality. In this paper, I would like to summarize the advances in the field including the findings from the viral treatment that we are currently utilizing.

Key words: oncolytic viral therapy, cancer therapy, herpes virus

はじめに

癌に対する治療は、近年目覚ましい進歩を遂げている。そのなかでも、手術・化学療法・放射線療法など既存の治療に抵抗するような難治性の癌に対して、腫瘍選択的に増殖する遺伝子変異型のウイルスを用いて癌を治療するという新たな治療戦略が研究されてきている。この治療法こそが、癌に対するウイルス療法すなわち、oncolytic viral therapy(腫瘍溶解性ウイルス療法)であり、世界各国で現在基礎実験から臨床試験に至るまで幅広く試みられているものである。しかし、実はウイルスを用いて癌を治療す

るという考え方は既に100年以上前から存在し、様々なウイルスが各種の癌種に対して試みられていた。ここで、少し歴史を振り返ってみることとする。

20世紀の初めの頃、世界中の人々はウイルス感染に苦しんでいた。oncolytic viral therapyという発想は、その人々の中で癌に罹患した人の癌の大きさが、ウイルスの感染によって縮小するのが散見されたことに着目したものである。調べた範囲内で治療として文献に残っているのは1912年にDePace¹⁾の書いた論文である。これは子宮頸部癌に対して述べたものであり、その内容は、狂犬病ワクチンを意図的に子宮頸部

癌に注射したところ、腫瘍の縮小を認めたというものであった。その後、1920年には、Levaditi と Nicolau²⁾が *Vaccinia virus* による抗腫瘍効果をマウスを用いて検討している。なお臨床試験としては、1940年に Pack³⁾が DePace の使用した狂犬病ワクチンを使用したところ、melanoma が効果的に縮小したと報告しているものが最初のものである。現在では多種多様なウイルスが使用され、様々な癌種に対し非常に優れた研究がなされ、随時報告されている。

現在、行われている oncolytic viral therapy に用いられているウイルスに関してまとめた表を示す。これは国立医薬品食品衛生研究所のホームページより改変したものである(表 1)⁴⁾。

本稿では、まず oncolytic viral therapy の原理を述べた後に、各々のウイルス療法について概説する。

1. Oncolytic viral therapy の原理

この治療法は、ウイルスを腫瘍に選択的に感染させることにより、ウイルスが腫瘍細胞内に増殖することに伴う直接的な殺細胞効果によって、腫瘍の縮小・消滅を図るものである。ほとんどの腫瘍溶解性ウイルスは、ウイルスゲノムに遺伝子操作を加えた変異ウイルスである。これらは腫瘍内での自分自身の複製能力は保ちつつ、正常組織内での病原性は最小限に抑えられているという特徴をもっている。ここでは、増殖型ウイルスに関して特に述べることにする。治療用のウイルスは、腫瘍細胞に感染してその細胞内で複製を行い、増殖するが、その過程でそのウイルスが感染した細胞は死滅する。感染した細胞内で増殖したウイルスはそこから周囲に広がり、再び近隣の腫瘍細胞に感染を起こすといったように抗腫瘍効果を発揮する。その一方で、正常細胞内ではこの治療用の増殖型ウイルスは複製しないために、正常組織に対する障害はほぼ皆無といってよい。したがって、標的となる腫瘍そのものだけをとらえて殺細胞効果を発揮するといった、いわば理想的な治療が理論的には可能となる。

それと同時に、上記のような直接的な殺細胞

効果だけでなく、腫瘍内でウイルスが増殖することによって腫瘍特異的な、いわゆる抗腫瘍免疫が獲得されるという報告も数多くなされてきており、直接障害だけでなく免疫学的な角度から抗腫瘍効果が増強するといった可能性も示唆されている。

2. ウイルスごとの治療法の特徴

a. アデノウイルス (*Adenovirus*)

腫瘍溶解性アデノウイルスは、1996年に初めて報告された⁵⁾。p53 が不活化されている細胞を優先的に殺傷することが報告された最初の腫瘍溶解性ウイルスは ONYX-015 である⁶⁾。これは、マウスの腫瘍増殖を減少させた。現在、頭部および頸部癌の治療の臨床試験が行われている。ONYX-015 の欠点の一つは、静脈注射を行うと毒性を示すことが判明したため、腫瘍に直接注入しなければならない、すなわち、局所療法としてしか使用できないことであった。ONYX-411 は、RB 経路が欠損している細胞内だけで増殖するように改変されたウイルスである⁷⁾。RB 経路の欠損は、ほぼすべての癌細胞にみられる。その後、ONYX-411 は様々な癌細胞を殺傷するが正常細胞を殺さないこと、また、ONYX-015 を含む他のどのアデノウイルスベクターよりも身体毒性が低いことがわかった。ヒト子宮頸癌モデルマウスに ONYX-411 を静脈注射すると生存期間が伸び、60-70% のマウスが治癒して正常組織には損傷がみられなかった。ウイルスが確実に RB 欠損細胞内だけで複製するようにしている複数の機構が関与していると考えられるので、ONYX-411 は全身投与もできる可能性があり、転移性腫瘍などにも有効かもしれない。

b. ニューキャッスル病ウイルス

(*Newcastle disease virus: NDV*)

MTH-68 と PV701 は、ヒトに感冒様症状を生じさせる鳥類のパラミクソウイルスである NDV の非遺伝子組み換えウイルスである。Csatary ら⁸⁾は、進行神経膠腫に対する臨床試験を MTH-68 の静脈内注射にて行い、NDV の腫瘍溶解性を検討した。4人中2人において神経

表1 現在開発中の oncolytic virus (国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部第一室ホームページより改変引用)

<臨床研究段階>

ウイルスの種類	ウイルスの名称	ウイルスの特徴	対象疾患
変異単純ヘルペスウイルス	HF10	弱毒型の自然変異株	皮膚又は皮下に再発した乳癌
			頭頸部癌
			進行性膵臓癌
			大腸癌, 乳癌

<動物実験段階>

ウイルスの種類	ウイルスの名称	ウイルスの特徴	対象疾患
遺伝子組換え単純ヘルペスウイルス	d12.CALP	calponin promoter, ΔTK	平滑筋肉腫
	d12.CALP delta RR	calponin promoter, ΔICP6	
	hrR3	ΔICP6	卵巣癌
	HR522		
	G47delta	Δγ ₁ 34.5, ΔICP6, Δα47	グリオーマ, 前立腺癌
	G207	Δγ ₁ 34.5, ΔICP6	脳腫瘍, 前立腺癌, 膀胱癌 胆嚢癌, 胆道癌
	Synco-2D	syncytial phenotype, GALV.fus	前立腺癌, 腎癌, 卵巣癌, 乳癌
遺伝子組換えヒトアデノウイルス	Telomelysin (OBP-301)	hTERT promoter	大腸癌, 非小細胞肺癌
	Telomelysin-RGD (OBP-405)	hTERT promoter+RGD	
	AxE1AdB	ΔE1B55K	膵臓癌, 膀胱癌
	AxDAdB-3	ΔE1B55K, ΔE1A	
	AxE1AdB-UPRT	ΔE1B55K, ΔE1A+UPRT	
	AdSLPI.E1AdB	SLPI promoter	非小細胞肺癌
	AxDAdB-3	ΔE1B55K, ΔE1A	胆嚢癌, 胆道癌
	AxE1CAUP	ΔE1B55K, ΔE1A+UPRT	
	AdE3-IAI.3B	IAI3B promoter	卵巣癌
	Ad-MK	midkine promoter	グリオーマ
	AdMK	midkine promoter	肝癌, 肝細胞癌
	AdCEAp/Rep	ΔE1B55K, CEA promoter	大腸癌, 肝癌
	AdAFPep/Rep	ΔE1B55K, AFP promoter	
遺伝子組換えセンダイウイルス (HVJ)	MMP-sub II SeV/delta M	MMP 発現細胞に融合	大腸癌, 線維肉腫
	CD-MMP-sub II-SeV/delta M		
レオウイルス3型	—	野生型	膵癌, 同腹膜転移

CD: cytosine deaminase, GALV.fus: fusogenic membrane protein, hTERT: human telomerase reverse transcriptase, ICP6: ribonucleotide reductase large subunit, MMP: metalloproteinase, SLPI: secretory leukoprotease inhibitor, TK: thymidine deaminase, UPRT: uracil phosphoribosyl transferase.

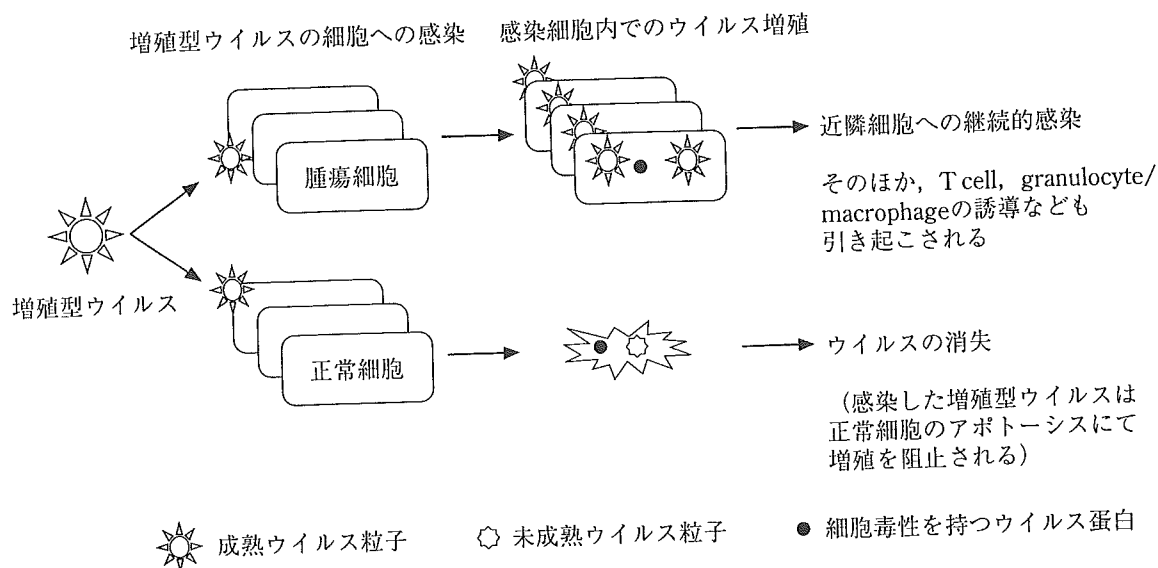


図1 増殖型ウイルスの腫瘍選択性模式図

膠腫のほとんど完全な消失を認め、他の2人では病状の安定化が確認された。PV701に関しては、進行癌をもつ79人の患者に対する第I相臨床試験が行われた。感冒様症状は認めたものの、重大な副作用は観察されなかった。興味深い所見としては、反復回数により、感冒様症状の発症と強さは低下したことである。progression-free survivalは4-31カ月と変動が大きかった。しかし、最大耐用量を決定することができたばかりでなく、静脈内投与は安全に長期にわたって行うことが可能であった⁹⁾。

c. 単純ヘルペスウイルス

(Herpes simplex virus: HSV)

単純ヘルペスウイルス(HSV)による抗腫瘍効果のメカニズムは、以下のものであり、幾つかの複合的なメカニズムが重なり合って発現している。まずは、感染した細胞内でのウイルス増殖とそれによる細胞破壊である。これは感染細胞内で増殖したウイルスが隣接する細胞へ感染しそこで更に増殖するというサイクルを形成する。次いで、ウイルスによっては細胞内で増殖する際に細胞毒性をもつ蛋白を同時に産生し、それが癌細胞に障害を与えるものもある(図1)。

更に、癌細胞へのウイルス感染は宿主の抗腫瘍免疫を引き起こすといわれている。基本的に癌細胞の宿主への免疫提示は非常に弱い、ウイルスの侵入によって引き起こされた炎症とリ

ンパ球の浸潤は宿主への免疫提示を惹起する。こうして獲得した癌細胞に対する免疫(抗腫瘍免疫)は長期の抗腫瘍効果を発現すると考えられる。なお、著者らの研究¹⁰⁾でも、治療によって生存したマウスが抗腫瘍効果を獲得したことを報告している。

このウイルスは、

- (1) 強い細胞変性作用をもつ
 - (2) 宿主域が広いために、ヒトのあらゆる種類の細胞に感染可能である
 - (3) ウイルスの生活環とゲノム配列が解明されている
 - (4) ウイルスゲノムが大きく、多くの非必須遺伝子を有する
 - (5) 豊富な免疫回避機構を備える
 - (6) 免疫賦活化作用を有する
 - (7) 増殖能が高く、比較的低い感染多重度(MOI)ですべての細胞の死滅が可能である
 - (8) 増殖を抑制する有効な抗ウイルス剤が存在する
- などの特徴をもっている。

ヘルペスウイルスは、ほかのウイルスに比してゲノムの大きさやその複雑さなどのために治療目的ウイルスとしての開発は遅れをとっていたが、増殖型ウイルスの癌治療への最初の応用はチミジンキナーゼ(TK)を欠損したHSVを用いたマウスにおける脳腫瘍の治療であった¹¹⁾。

野生型のHSVは、中枢神経系でよく増殖するが、TKを欠損することにより神経細胞内での増殖はほとんどなくなり、神経原性は著しく低下する。しかし、分裂が活発な癌細胞では細胞のTKが十分存在するために、ウイルスのTK欠損はウイルス増殖にほとんど影響を及ぼさない。そのほかにもデオキシリボヌクレオチド代謝にかかわる酵素としてリボヌクレオチド還元酵素(RR)やデオキシウリジントリホスファターゼ(dUTPase)があるが、神経原性を低下させるということを重視するならば、RR欠損株が一番適している。更に、神経原性にかかわる遺伝子として γ 34.5などがある。上に述べたそれぞれを欠損させた変異ウイルスが開発され、使用されている。なお、TKの欠損株がアシクロビル、ガンシクロビルに抵抗性であるのに対し、RR欠損株は野生株以上の感受性を示すことが知られている。

増殖型HSVを使用した臨床試験も各所で行われているが、ここではHSV1716, G207, NV1020, OncoVEX GM-CSF, そして著者らが臨床試験を行っているHF10について簡単に紹介する。

1) HSV1716

このウイルスは、 γ 34.5を欠損させたHSV-1型株である。これは英国のGlasgow大学のグループによって発見されたが、優れた抗腫瘍効果が示されている。脳腫瘍、悪性黒色腫、頭頸部腫瘍などを対象に臨床試験が行われており、悪性のグリオーマにおいては生存期間の延長などが認められたという報告がある¹²⁾。

2) G207

これはアメリカのMartuzaらによって開発されたものであり、比較的初期のウイルス療法で使用されたヘルペスウイルスであり、ウイルスの蛋白合成に重要な γ 34.5の欠損に加え、RRも欠損させたダブルノックアウトウイルスである。そのためにその欠損を補填するためには、増殖の極めて盛んな悪性腫瘍のような細胞に感染しなければ自己増殖は困難であり、この性質を利用している。本ウイルスを使用した臨床試験は主に脳腫瘍に対して施行されており、現在まで

に第I/II相臨床試験を終了している。その安全性には問題なかったが十分な抗腫瘍効果が得られず、明らかな有効性が確認されなかった。ダブルノックアウトということもあり、弱毒化されすぎてしまったことが、有効性を打ち出すことができなかった原因であろうと考えられる¹³⁾。

3) NV1020

これは、当初HSVに対する感染予防ワクチンとして開発されたR7020のクローンである。IR_LとIR_Sの境界領域に γ 34.5を含む15kbの欠失があり、そこに5.2kbのHSV-2配列とICP4プロモーターで制御されるTK遺伝子が挿入されている。この変異ウイルスはSloan Kettering Cancer Centerにおいて大腸癌の肝転移症例27例に対して臨床試験を施行された。この27例は通常の抗癌剤すなわち5FU+LeucovorinもしくはIrinotecanにて反応のなかった非切除例であった¹⁴⁾。

4) OncoVEX GM-CSF

このウイルスを用いて、乳癌、頭頸部癌、胃癌、黒色腫に対して第I/II相臨床試験が施行されている。乳癌に対するdose escalation studyでは10⁷pfuまでのウイルスを使用して、直接乳癌の腫瘍部分に局注され、安全性では問題なかった。そのうえに、注射された腫瘍の消退だけでなく近傍の注射を受けていない腫瘍にも免疫を介したと考えられる炎症が観察され抗腫瘍効果が認められたと報告されている。その原因の一つとしては、本ウイルスの中には遺伝子工学的手法によってGM-CSF(granulocyte/macrophage colony stimulating factor)が組み込まれているが、これによって抗腫瘍免疫が惹起されたのではないかと考えられている。なお、PCRを用いてウイルスの存在を経時的に確認したところでは、ウイルスは注射後約2週間以内に血中から消失したということであった¹⁵⁾。

5) HF10

著者らが用いているHF10は名古屋大学ウイルス学教室にて分離されたウイルスである。その特徴は、自然発生的に変異を逃げた弱毒化HSV-1であるということであり、UL52からUL55の間が倒置反復してULの左側端に組み込

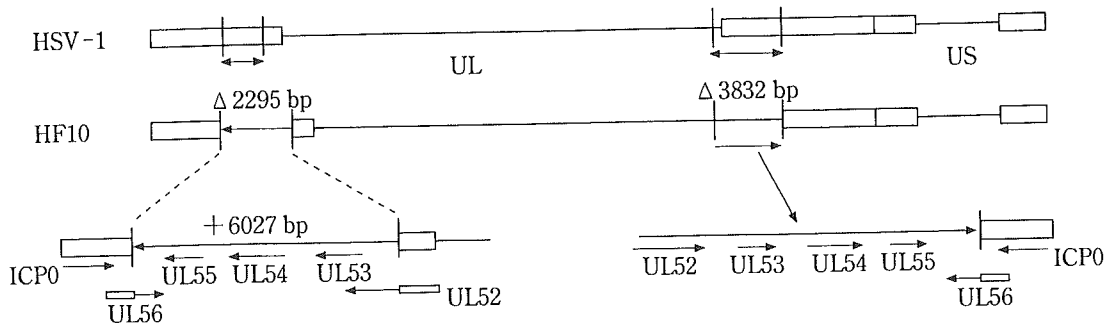


図2 変異単純ヘルペスウイルス HF10 の構造

まれるとともに UL56 が欠損している¹⁰⁾(図2)。

HF10 は、野生株に比べて Vero 細胞における増殖能力は 100 倍近くあるものの、マウスに対する腹腔内接種を行った際の病原性は 50,000 倍以上低い。また上図のようなゲノム構造の特徴をもち、培養細胞内での継代におけるゲノムの安定性も高い。この HF10 の抗腫瘍効果をマウスの腹膜播種モデルに対して検討した結果、RR 欠損 HSV である hrR3 を上回る効果を示すことが確認された。また、HF10 を 3 日連日で腹腔内投与したところ、コントロール群では 100% のマウスが死滅したのに対し、HF10 投与群では 90% が生存するという結果を得た。更に、上記にて生存したマウスに対して同種の腫瘍細胞を再接種したところ、再発巣の形成は全く認めなかった。このことはマウスがその腫瘍細胞に対して抵抗性となったことを示しており、特異的抗腫瘍免疫を獲得したものと考えられた¹⁰⁾。

著者らは多様な基礎研究を繰り返した後¹⁷⁾、6 人の進行乳癌患者の皮膚転移巣に対してこの HF10 を使用したウイルス療法を施行した。病理組織学的所見では腫瘍細胞は 30-100% の消失を認めた。特に副作用などは認められなかった¹⁸⁾。著者らは最近、この HF10 を用いて高度進行膵癌へのウイルス療法の臨床試験を行った。3 人の安全性が確認されたところで、高濃度の HF10 を GNP 規格に則って作成する見通しが立ったため、いったん試験を中止している。この臨床試験の結果も近々公表する予定である。

d. レオウイルス (*Reovirus*)

このウイルスは、二本鎖 RNA ウィルスであ

る。このウイルスによる殺腫瘍のメカニズムは以下のように考えられている¹⁹⁾。正常細胞、腫瘍細胞どちらの細胞とも、ウイルスの結合からウイルス遺伝子の初期の転写まではすべて正常に進む。正常細胞では、ウイルスの初期転写 RNA の 2 次構造によって PKR がリン酸化されて活性化し、次いで eIF-2a がリン酸化され、結果としてウイルス遺伝子の翻訳が抑制される。EGFR, Sos, Ras などによってトランスフォームした腫瘍細胞は、Ras あるいはその下流の分子によって PKR のリン酸化が阻害され、ウイルス遺伝子産物の翻訳が進む。また、トランスフォームしていない細胞でも、pkc 遺伝子をノックアウトしたり、PKR のリン酸化を 2-AP でブロックすれば、やはりレオウイルス遺伝子の翻訳は進む。このように、レオウイルスは、PKR を抑制する機序として Ras 経路を用いるので、Ras 依存性の殺腫瘍ウイルスといえる。最近、大腸癌など色々な癌に対する臨床試験が実施されているようである。

e. シンドビスウイルス (*Sindbisvirus*)²⁰⁾

このウイルスは、トガウイルス (*Togaviridae*) ファミリーのアルファウイルス (*alphavirus*) に属する RNA ウィルスである。最大の特徴は、血液脳関門をも通過するような、blood-borne ウィルスであるため、体内のほとんどの細胞に到達することができることである。この性質を利用して、全身投与を行い、転移した腫瘍細胞に特異的に感染させ、アポトーシスを誘導できるとの報告がある。また、シンドビスウイルスによる細胞傷害は、ウイルスが感染した哺乳類の細胞でアポトーシスが引き起こされることによ

るものであるため、外来性の自殺遺伝子などを入れる必要はない。こういった特徴をもっており、今後のヒトへの応用が期待される。

3. 今後の展望と課題

近年、分子標的治療薬をはじめとして、新しい癌治療の選択肢が急速に広がってきている。そのなかで、本稿で述べたような oncolytic virus は、様々な癌治療との組み合わせ、例えば、化学療法薬とウイルス、放射線とウイルスなども考えることができ、更に癌治療の多様性・可能性を発展させるものであると考えられる。

おのおののウイルスはそれぞれの特性をもち、その特性を生かした抗腫瘍効果をもたらすと同時に、ウイルスを感染させることによる宿主の免疫反応の賦活化に寄与している。しかし、この免疫反応は‘諸刃の剣’的な側面がある。ウイルスを反復して感染させた際に宿主で産生される抗体は、腫瘍内に(局所療法として)直接投与する際にはまだよいが、静脈内投与な

どのように全身投与を行った場合のことを考えると、腫瘍内で増殖したウイルスを中和してしまう可能性があり、これは大きな問題となり得る。また、補体系なども静脈内投与した際には障害となることが予想される。一方、ウイルス感染により細胞障害性T細胞、NK細胞などを含む抗腫瘍免疫系が活性化されるが、これらは本療法の効果を増強する強力な因子となり得る。今後は治療の効果を減弱させる因子をいかに減らし、ウイルス投与によって感作された抗腫瘍免疫をどれだけ増強するかといったところが本療法の実用性を増す鍵となってくるものと思われる。

癌の治療はかなり進んできている。しかし、ある意味ではまだ発展途上ともいえる。今後 oncolytic virus の研究がますます進むことにより、これまで難治性の癌といわれていたものまで、治すことができるような日がくるかもしれない。

■ 文 献

- 1) DePace N: Sulla scomparsa di un enorme cancro vegetante del collo dell'utero senza cura chirurgica. *Ginecologia* 9: 82-89, 1912.
- 2) Levaditi C, Nicolau S: Sur le culture du virus vaccinal dans les neoplasmes epithelieux. *CR Soc Biol* 86: 928, 1922.
- 3) Pack GT: Note on the experimental use of rabies vaccine for melanomatosis. *Arch Dermatol* 62: 694-695, 1950.
- 4) 国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部第一室ホームページ: http://www.nihs.go.jp/cgtp/cgtp/sec1/oncltc_v/onclt-j.html
- 5) Andreansky SS, et al: The application of genetically engineered herpes simplex viruses to the treatment of experimental brain tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 11313-11318, 1996.
- 6) Heise C, et al: ONYX-015, an E1B gene-attenuated adenovirus, causes tumor-specific cytolysis and antitumoral efficacy that can be augmented by standard chemotherapeutic agents. *Nat Med* 3: 639-645, 1997.
- 7) Johnson L, et al: Selectively replicating adenoviruses targeting deregulated E2F activity are potent, systemic antitumor agents. *Cancer Cell* 1: 325-337, 2002.
- 8) Csatory LK, et al: MTH-68/H oncolytic viral treatment in human high-grade gliomas. *J Neurooncol* 67: 83-93, 2004.
- 9) Pecora AL, et al: Phase I trial of intravenous administration of PV701, an oncolytic virus, in patients with advanced solid cancers. *J Clin Oncol* 20: 2251-2266, 2002.
- 10) Takakuwa H, et al: Oncolytic viral therapy using a spontaneously generated herpes simplex virus type 1 variant for disseminated peritoneal tumor in immunocompetent mice. *Arch Virol* 148(4): 813-825, 2003.
- 11) Martuza RL, et al: Experimental therapy of human glioma by means of genetically engineered virus

- mutant. *Science* **252**: 854-856, 1991.
- 12) Papanastassiou V, et al: The potential for efficacy of the modified (ICP34.5(-)) herpes simplex virus HSV1716 following intratumoral injection into human malignant glioma: a proof of principle study. *Gene Ther* **9**: 398-406, 2002.
 - 13) Markert JM, et al: Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of malignant glioma: results of a phase I trial. *Gene Ther* **7**: 867-874, 2000.
 - 14) Phase I trial of NV1020 against liver metastasis. (<http://clinicaltrials.gov>)
 - 15) Hu JC, et al: A phase I clinical trial with OncoVexGM-CSF. *Proc Am Soc Clin Oncol* **22**: 185, 2003.
 - 16) Kimata H, et al: Effective treatment of disseminated peritoneal colon cancer with new replication-competent herpes simplex viruses. *Hepatogastroenterology* **50**: 961-966, 2003.
 - 17) Teshigawara O, et al: Oncolytic viral therapy for breast cancer with herpes simplex virus type 1 mutant HF 10. *J Surg Oncol* **85**: 42-47, 2004.
 - 18) Nakao A, et al: Intratumoral injection of herpes simplex virus HF10 in recurrent breast cancer. *Ann Oncol* **15**(6): 988-989, 2004.
 - 19) Clarke P, et al: Mechanisms of reovirus-induced cell death and tissue injury: role of apoptosis and virus-induced perturbation of host-cell signaling and transcription factor activation. *Viral Immunol* **18**: 89-115, 2005.
 - 20) Tseng JC, et al: Systemic tumor targeting and killing by Sindbis viral vectors. *Nat Biotechnol* **22**: 70-77, 2004.

[Expanded Abstract]

切除不能膵癌に対する 5-FU 肝膵局所動注および gemcitabine 全身化学療法

¹⁾熊本大学大学院医学薬学研究部消化器外科学²⁾同 放射線診断学部門

高森 啓史 金光敬一郎 辻 龍也 田中 洋
 近本 亮 中原 修 平岡 武久¹⁾ 池田 理
 工藤 康一 伊牟田真功 山下 康行²⁾

背景と目的

画像診断能の向上にもかかわらず、診断時に切除可能である膵癌は、全体の 20%未満である¹⁾。gemcitabine は 5-FU との第 3 相試験において、症状緩和効果、生存期間ともに有意に良好な結果を示し、現在進行膵癌に対する標準治療薬となっている²⁾。さらに、gemcitabine と 5-FU とは、相乗効果を有するとの報告もある³⁾。また、動注療法は、全身投与に比べ病巣部への高濃度の抗腫瘍薬の投与を可能とし、全身への毒性は低くなると考えられる。

本研究では、切除不能膵癌に対し、5-FU の肝膵局所動注と gemcitabine の全身化学療法を行い、その安全性および有用性を検討した。

対象と方法

2001 年 1 月から 2004 年 1 月までに経験した切除不能膵癌のうち、performance status (PS) が 2 以下で主要臓器障害を認めない 24 例を対象とした。5-FU 動注による胃腸障害を防止する目的で、左右胃動脈および上前後膵十二指腸動脈をコイル塞栓した後に、動注用カテーテルは左鎖骨下動脈または大腿動脈の分枝から挿入し、腹腔動脈幹から注入できるように留置した。化学療法は、5-FU の肝膵局所動注 250 mg/日、5 日間投与 2 日間休薬と gemcitabine 全身投与 1,000 mg/週、3 投 1 休で行った。

結果と考察

有害事象の大部分は、骨髄抑制と消化器症状で

表 1 5-FU 肝膵局所動注および gemcitabine 全身化学療法の有害事象

Toxicity	No. of patients			
	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
Hematological				
Anemia	8	6	4	0
Leukopenia	5	13	6	0
Neutropenia	4	7	7	1
Thrombocytopenia	6	2	0	0
Gastrointestinal				
Nausea	9	6	0	0
gastric/duodenal ulcer	0	4	0	0
Others				
cholangitis	0	2	3	0
cerebral infarction	1	0	0	0

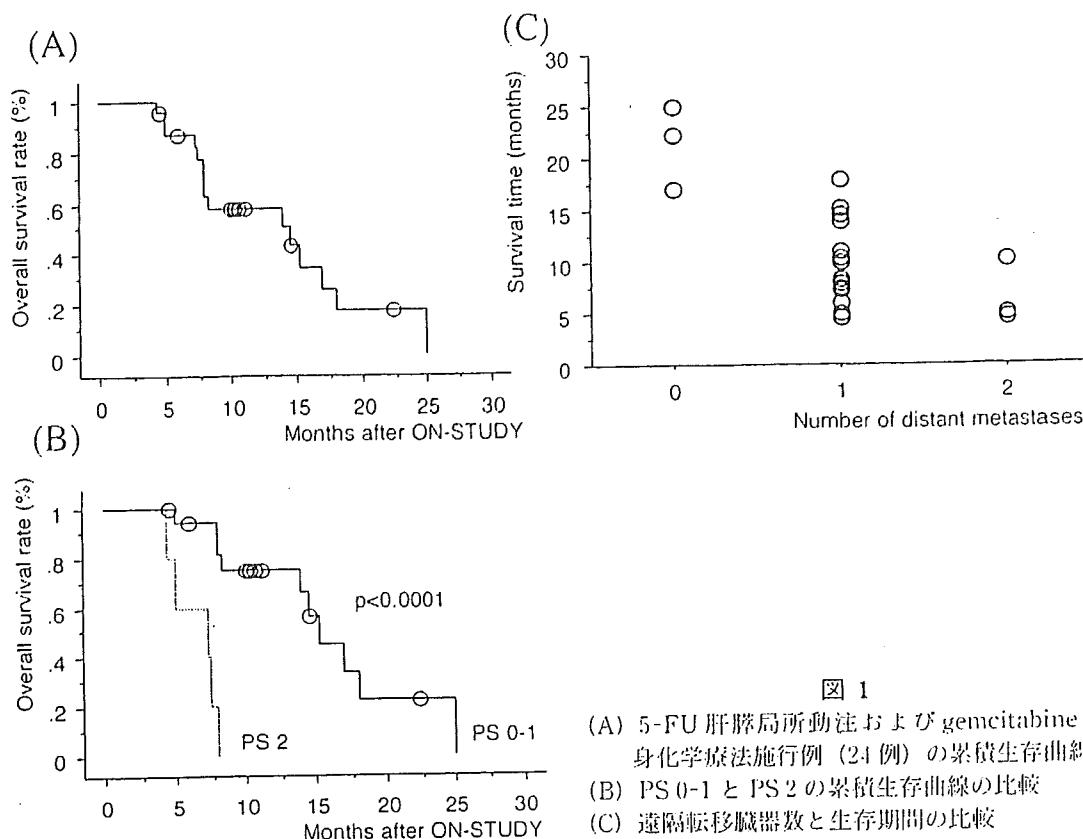


図 1

(A) 5-FU 肝静脈局所動注および gemcitabine 全身化学療法施行例 (24 例) の累積生存曲線
 (B) PS 0-1 と PS 2 の累積生存曲線の比較
 (C) 遠隔転移臓器数と生存期間の比較

あり、治療関連死は認めなかった(表 1)。Grade 3 以上の貧血を 4 例 (16.7%)、白血球減少を 6 例 (25.0%)、好中球減少を 8 例 (33.3%) に認めた。5-FU 動注に関連した有害事象としては、胃・十二指腸潰瘍を 4 例に認めたが、抗潰瘍治療と化学療法の休薬により治癒した。動注用カテーテル留置による有害事象として、1 例に軽症の脳梗塞に伴う部分的視野欠損を認めた。またカテーテルの変位による入れ替えを 1 例で行った。閉塞性黄疸に対し胆道ドレナージを施行していた症例のうち 5 例に胆管炎を認めたが、胆道ドレナージチューブの入れ替えにより軽快した。本療法の有効性の検討では、PR 5 例、SD 14 例、PD 5 例で CR は認めなかった。生存期間中央値は 14 カ月で、1 年生存率は 50.9%であった(図 1 A)。また、PS 別に累積生存曲線を比較すると、PS 2 症例は、PS 0-1 の症例に比べ有意に生存率不良で、4.5 カ月から 7.9 カ月の生存期間であった(図 1 B)。また、遠隔転移臓器数と生存期間の関連を検討すると、遠隔転移を認めない 3 症例は、全例 1 年以上の生存を認めた。一方、多臓器転移を有する 3 症例は、全例 1 年以内に死亡した(図 1 C)。したがって、本化学

療法の適応を PS 1 以下で、遠隔転移臓器数を 1 臓器以下に限定するべきかもしれない。

本化学療法は切除不能膵癌に対し、安全に実施可能であり、有効な治療戦略と考えられる。

文 献

- 1) Sener SF, Fremgen A, Menck HR, et al. Pancreatic cancer : a report of treatment and survival trends for 100,313 patients diagnosed from 1985~1995, using the National Cancer Database. J Am Coll Surg 1999 ; 189 : 1-7.
- 2) Burris HA 3rd, Moore MJ, Andersen J, et al. Improvements in survival and clinical benefits with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreatic cancer : a randomized trial. J Clin Oncol 1997 ; 15 : 2403-13.
- 3) Schulz L, Schalhorn A, Wilmanns W, et al. Synergistic interactions of gemcitabine and 5-fluorouracil in colon cancer cells (abstract). Proc Am Soc Clin Oncol 1998 ; 17 : 251 a.

Expanded abstract cited from the original paper :

Takamori H, Kanemitsu K, Tsuji T, et al. 5 Fluorouracil intra-arterial infusion combined with systemic gemcitabine for unresectable pancreatic cancer. Pancreas 2005 ; 30 : 223-6.

1) 医学研究のデザイン概論 1 —ランダム化比較試験—

東京大学大学院医学系研究科生物統計学

松山 裕

Yutaka Matsuyama
(助教授)

Summary

臨床研究や疫学研究を含む科学的な研究は、実験研究(experimental study)と観察研究(observational study)の2つのタイプに大きく分けることができる。この2つの研究方法の最も大きな違いは、前者では研究者自身がその研究で最も関心のある要因を人為的に操作するのに対して、後者ではそのような操作が行われない点である。例えば、実験研究では、抗高脂血症薬を飲ませるかどうかが研究者が決定するが、観察研究ではそのような介入はなされない。本稿では、前者の実験研究、特にランダム化比較試験をデザインする際のいくつかの重要な概念について説明する。ここで、科学的な実験研究とは、「研究者自身が行う人為的な操作によってどのような結果が研究対象に生じるかを適切なコントロールグループが存在する状況で調べるための一連の観察」と定義される。これには、実験動物を対象とした非臨床試験、患者さんを対象とした臨床試験(clinical trials)、主として健康な一般住民を対象とした予防研究(prevention studies)などが含まれる。

Surgery Frontier 12(2) : 80-84, 2005

Key Words

プロトコル、ランダム化、マスク化、コントロール、内部妥当性、一般化可能性

プロトコルの作成

実験研究、あるいは観察研究に限らずすべての科学的な研究において、質の高い研究を実施するためには綿密な研究計画を立てることが何よりもまず重要である。具体的には、実際に研究を開始する前に、研究の具体的な目的、方法などを文書化したプロトコル(研究計画書)を作成する必要がある。

基本的にはプロトコルと研究実施マニュアル(プロトコルには記載できない詳細な実施手順)をみれば、行われた研究を再現できるようにすべきであり、プロトコルには最低限、表1に示す内容が記載されていなければならない¹⁾。プロトコル、実施マニュアル、調査票の作成などは、臨床研究者、疫学者、生物統計家、医療倫理の専門家がチームとして行わなければならない作業であり、その内容は、簡潔で、その研究に携わるすべての者にとってわかりやすいものでなくてはならない。

プロトコルにおける「研究計画のまとめ」などは、対象者への説明の手助けとなるように、専門的な用語はできる限り避けて平易な表現で書く必要がある。

特に、臨床試験はヒトに対する実験であり、ヘルシンキ宣言の精神に則って実施される必要がある。そのため、厳密なプロトコルの作成とその遵守、プロトコルに定められた選択基準を満たす患者さんに、試験の内容、試験治療の利益と不利益、試験に参加しなくても不利益を被らないこと、いつでも試験を止められることなどを説明し、患者さんが十分理解したうえで試験の参加に同意すること(インフォームド・コンセント)が義務づけられている²⁾。例えば、がん臨床試験においても病名の告知、つまり「がんであること」を知らせることは最低限必要である。担当医がこの患者さんにはがんであることを知らせないほうがいい、と判断することは尊重されるべきだが、「がんであることを知らせないほうが

いい」と判断した患者さんは臨床試験の対象としてはならない。

すべての研究、特に、実験研究においては、作成されたプロトコルは、研究開始前(および、研究終了まで定期的)に、研究(あるいは、倫理)審査委員会(Institutional Review Board : IRB)により審査され、承認されなければならない。また、研究途中で中間解析を予定している場合などは、様々な情報(集積されたデータ、生物学的知識、先行研究からの情報など)に基づいてその研究を途中で中止する、あるいは継続するなどの判断を下す第三者機関である独立データモニタリング委員会(Independent Data and Monitoring Committee : IDMC)を設置することも必要である。綿密に計画され十分に科学的な研究を実施しなければならないことはいまでもないが、それと同時にその研究が倫理的にも妥当であることを保証することが重要である。

治療法の割り付け —なぜランダム化?—

新薬や新治療法のヒトに対する効果を調べるための標準的実験方法としてランダム化臨床試験が現在広く用いられている。なぜ治療法をランダム化する必要があるのかを次の仮想的な臨床試験の例を通して考えてみる。

「高脂血症に対する治療法として食事療法のみよりも、食事療法に抗高脂血症薬を加えたほうが心筋梗塞の発症を減少させることができる」という仮説を調べるために、6人の高脂血症患

表1 プロトコルに最低限記載すべき事項

項目	内容
研究計画のまとめ	研究全体の簡潔なまとめ
研究の目的	背景・理論的根拠・研究仮説・エンドポイント
研究の実施期間・場所	いつ、どこで、いつまで
研究対象集団の設定	適格条件・除外条件
インフォームド・コンセント	説明と同意の具体的方法
研究の実施方法	研究の型・割り付け方法・用量変更・併用治療・症例の取り扱い・測定項目・測定時期
統計解析を行う項目・方法	エンドポイントの設定と具体的な解析方法
研究に必要なサンプルサイズ	必要な対象者数算出の根拠
研究の組織・責任の所在・連絡先	研究組織一覧・連絡先

者さんを対象とした臨床試験を行うことを考えた。試験治療(抗高脂血症薬+食事療法)グループとコントロール治療(食事療法のみ)グループ(以下、対照治療)の2グループ間で、試験開始から5年後の心筋梗塞発症割合を比較することをこの研究における主な評価項目(エンドポイント)とする。

6人の対象者におけるある特定の個人に関する試験治療の効果を調べるためには、以下のことを「同時に」知る必要がある。

- A) その個人が試験治療を受けた場合、5年以内に心筋梗塞を発症するかどうか
- B) その個人が対照治療を受けた場合、5年以内に心筋梗塞を発症するかどうか

この2つの状況を知ることができれば、その個人にとって、試験治療の効果があるかどうかを証明することができる。すなわち、状況Aでは心筋梗塞を発症せず、かつ状況Bで発症すれば、その個人にとって試験治療はプラスの効果があると判断できる。逆

に、状況Aで心筋梗塞を発症し、かつ状況Bでは発症しなければ、その個人にとって試験治療はマイナスの効果があると判断できる。また、どちらの状況でも心筋梗塞を発症しない、あるいは発症する場合には、その個人にとって試験治療は効果なしということになる。

このように考えると、上の仮想的な臨床試験の例における6人の対象者全体での治療効果(平均的な治療効果)を調べるためには、6人全員に試験治療を行った場合の5年間の心筋梗塞発症数と、「同じ」6人に対照治療を行った場合の5年間の心筋梗塞発症数を「同時に」比較しなければならないことになる。しかしながら、これら2つの状況は、一方が観察されれば他方を観察することは不可能である。

つまり、理想的な実験的研究を行うためには、「その研究で関心のある結果(心筋梗塞の発症)に関わるすべての要因のうち、操作可能な1つの要因(抗高脂血症薬を与えるかどうか)

のみがグループ間で異なる状況」を作り上げる必要がある。この目的を達成するためには、結果に影響をおよぼす可能性のあるすべての要因を制御する必要があるが、残念ながら、本質的にばらつきを伴うヒトを対象とした研究においては、すべての要因が既知であることはまれであり、人為的に操作した要因のみが異なる理想的なコントロールグループを作ることとは不可能である。

理想的なコントロールグループを作ることには実際にはできないが、試験治療の効果を比較するための現実的なコントロールグループの設定方法には、4つの方法がある(表2)³⁾。

いずれの方法も、研究者自身による人為的な操作により試験治療を行うかどうかを決定することができるが、どの方法が「科学的な実験的研究の定義」に一番近いであろうか？

前述の「同じ6人に対照治療を行った場合」という理想的なコントロールグループは実際には存在しないが、このような研究が実施できたと仮定し、そのような研究を「比較可能性(comparability)がある」とよぶことにすると、①から④へ番号が大きくなるにしたがって、この比較可能性を保証することが難しくなる。①のランダム化臨床試験の場合でさえも、上の仮想例のように対象者数が6人と少なければ、偶然の要素により一方のグループに総コレステロール値の高い対象者が集まってしまうこともあり、比較の妥当性が損なわれる可能性がある。このような2グループ間の治療以外

表2 コントロールのレベル

番号	コントロールグループ	設定の仕方	バイアス
①	ランダム化コントロール	試験治療と対照治療をランダムに3人ずつに割り付ける	測定できない特徴も平均的には同一にできるが、偶然のばらつきによるバイアスは起こりうる
②	同時コントロール	試験治療を実施したグループと同時期に対照治療を実施した別のグループ6人	測定できる特徴は同一であるかどうか確認できるが、測定できない特徴はどのようなものもない
③	既存コントロール	過去に対照治療を実施したグループの別の既存データ6人	記録に残っていた特徴は同一であるかどうか確認できるが、記録されなかった特徴はどのようなものもない
④	コントロールなし	「対照治療で30%が改善する」といった研究者の常識(暗黙のコントロール)	バイアスがないとはまったく保証できない

(文献3より引用)

の要因が比較可能でないことは交絡(confounding)とよばれ、その研究での内部妥当性が損なわれる(バイアスが存在する)1つの原因となる。

しかしながら、このランダム化コントロールは、他の②から④のコントロールとは違い、(例えば、コインを投げたりサイコロを振ったりという)純粋に偶然の要素に基づいて対象者を2つのグループに分けているために、対象者数が増えれば、性、年齢、総コレステロール値などの心筋梗塞発症に関わる既知の要因のみならず、生活習慣などの(われわれの現在の知識では分からない)未知の要因をも含めて平均的には心筋梗塞発症リスクが均一な2つの(理想的に近い)グループを作り上げることができるという利点をもっている⁴⁾。言い換えれば、④のコント

ロールが存在しない状況、③の過去に記録された情報のみに基づいた既存コントロール、あるいは、②の未知の要因を考慮できない同時コントロールと違い、ランダム化コントロールを採用し、対象者を「平均的には心筋梗塞発症リスクが均一」という比較可能な2グループに分けることにより、理想的な実験的研究の実施に近づくことができる。

ランダム化コントロールを採用したとすると、試験治療、対照治療グループそれぞれの対象者に割り付けられた内容を5年間守ってもらい、心筋梗塞の発症割合を比較することで、「対象者全員に試験治療を行った場合の5年間の心筋梗塞発症数と、同一の対象者に対照治療を行った場合の5年間の心筋梗塞発症数の比較」を平均的な

比較可能性という観点からバイアスなく行うことができる。さらに、この治療法のランダム化という「強い」人為的な操作を行うことにより、治療効果の検定や推定といった統計計算の基礎も与えられる。

プラセボとマスク化

前述の仮想的な臨床試験の例における、ある特定の個人が試験治療(抗高脂血症薬+食事療法)を受けた場合と対照治療を受けた場合(食事療法のみ)の比較では、厳密にいうと、抗高脂血症薬が食事療法に比べて心筋梗塞発症に効果があるかどうかを調べているのではなく、「食事療法に加えた抗高脂血症薬の服用」が心筋梗塞の発症に効果があるかどうかを調べていることになる。すなわち、「抗高脂血症薬を服用すること」という心理的効果を含めた比較になっている。抗高脂血症薬がこの心理的効果以上の効果があることを証明するためには、「ある個人が食事療法に加えて抗高脂血症薬を服用した場合」と「その個人が食事療法に加えて高脂血症に対する有効成分を含まない薬もどきを服用した場合」を比較しなければならない。この不活性な物質だけで作った「薬もどき」はプラセボとよばれる。

対照治療としてプラセボを使用したプラセボ対照比較試験は、対照治療グループの対象者に医療上のメリットがなく、倫理的に問題となることがある。前述の仮想的な臨床試験の例では、対象者全員に食事療法を実施しているので、食事療法だけでもコレステロール

が十分コントロール可能な患者さんだけを対象とするように試験の選択基準が設定されていれば、プラセボの使用は倫理的にも許されるであろう。このように標準的治療に上乘せの効果を期待する場合、プラセボの使用に倫理的問題は生じないかもしれないが、その他の状況でプラセボの使用が倫理的かどうかは、無治療という選択が許されるかどうかにかき依存する⁵⁾。

無治療が許されない場合には、プラセボを用いることは非倫理的であり、「証明された治療法」を対照治療として用いた研究を行わなければならない。この場合は実薬対照とよばれる。

前述の仮想的な臨床試験の例において、対照治療を「食事療法+プラセボ」とすることによって、薬の服用という心理的効果を排除でき、比較可能性が保たれたが、対象者に抗高脂血症薬を服用しているかプラセボを服用しているかがわかってしまうと、試験治療グループに再び心理的効果が入ってしまう。このため、対象者にはどちらを服用しているのかわからないようにする工夫がなされる。これがマスク化(Masking)である。また、プラセボを用いることによって、対象者だけでなく医師に対してもどちらを服用しているかをマスク化することもある(二重マスク化)。対象者が抗高脂血症薬かプラセボのどちらを服用しているのかを医師が知ってしまうと、その対象者に対する医師の評価、管理にバイアスが入る恐れがある。医師に対してもマスク化することにより、これらのバイアスを避けることができる。ただし、

治療の種類によっては、マスク化が不可能、あるいはすべきではない状況も存在する。例えば、投与直後の嘔気のようなその治療に特有の副作用が存在する場合には、マスク化が実際には有効ではなかったり、血小板減少が予想される薬剤を投与する場合には、血液検査、血小板輸血の準備のためにどちらの治療群かを前もって知っておく必要があったりする。これらの場合であっても、患者さんにだけはマスク化を行う、最終的に評価を行う医師にはマスク化を行う、などマスク化のレベルを変えて、可能な限りマスク化することを心がけることが大切である。

臨床研究の内部妥当性と一般化可能性

ランダム化臨床試験において最も一般的な研究デザインである群間比較試験のデザインを図示すると図1のようになる⁶⁾。

ランダム化比較臨床試験、特に標準治療の構築と普及を目指す第Ⅲ相臨床試験計画の目標は、精確性(clarity)、比較可能性(comparability)、一般化可能性(generalizability)の3つにまとめることができる⁷⁾。精確性の要求とは、主たる評価項目の計測について、そのランダムなばらつきを小さくし、研究の精度を向上させることである。このためには、より多くの対象者を観察することが最も有効である。比較可能性の要求とは、バイアスを減らすことに対応し、研究の内部妥当性(internal validity)を向上させることである。このための最も強力な手段が前

述の治療法のランダム化である。

しかしながら、通常の臨床研究においては、研究成果の適用を考えている目標集団と実際に研究が行われる標本集団の間には数の上でも質の上でも大きな隔たりが生じる可能性が存在する。したがって、臨床研究においてはランダムサンプリングなどは存在せず、厳密に言えば、ランダム化臨床試験から得られた結論の適用範囲は当該の標本集団のみであり、この結論が目標集団まで外挿できるかどうか一般化可能性(外部妥当性)の議論である。ランダム化臨床試験からの結論がより広い患者集団に外挿できるかどうかを検討するために、治療効果に関するサブグループ解析や治療と施設との交互作用解析などが試みられる。しかしながら、ある研究からの結論の一般化を確保するためには、「得られた結果を抽象化し、特定の研究結果からその研究を実施した時期や地域を越えた普遍的な仮説を産み出す」というプロセスの積み重ねが重要であり、これは決して統計的な問題ではない。臨床試験における結論の一般化のためには、統計的な議論よりもデザインの段階において患者さんの選択を避け、「試験の適格基準を満たす患者さんにはすべて参加をお願いする」という原則を守ることが重要である。

おわりに

臨床試験は新しい治療法や予防法の

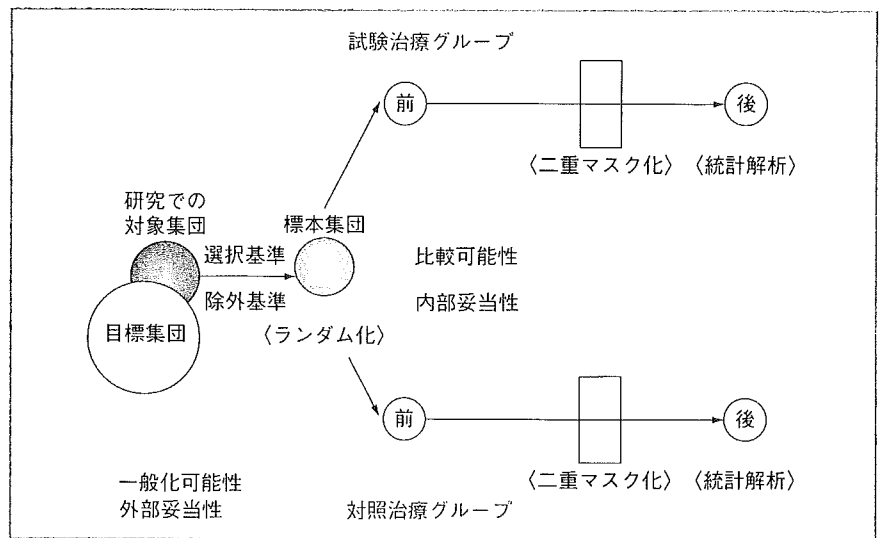


図1 器間比較試験における内部妥当性と一般化可能性

(文献6より引用)

適切な開発と普及、科学的な医療の進歩のためには不可欠である。そのためには、臨床試験にかかわるすべての研究者が、ヒトに対する実験という観点から、ヘルシンキ宣言の精神に則った上で、科学的に妥当な臨床試験の原理と方法論を十分に理解し、実践していくことが不可欠である。

文献

- 1) 佐藤俊哉：調査計画書の作成—調査を始める前の自己チェック—。保健の科学 37：72-76, 1995
- 2) 厚生大臣：医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令：平成9年3月27日厚生省令第28号。1997。(http://www.nihs.go.jp/dig/ich/ichindex.html)
- 3) 佐藤俊哉：Pコントロール。椿 広計, 藤田利治, 佐藤俊哉(編)：これからの臨床試験。21-33, 朝倉書店, 1999
- 4) 佐藤俊哉：治療のランダム割り付けと治療効果の検定。医学のあゆみ 173：779-784, 1995
- 5) Rothman KJ, Michels KB：The continuing unethical use of placebo controls. N Engl J M 331：394-398, 1994
- 6) 藤田利治：臨床試験とは。椿 広計, 藤田利治, 佐藤俊哉(編)：これからの臨床試験。1-19, 朝倉書店, 1999
- 7) 大橋靖雄：Biostatisticianからの本邦臨床試験への提言。癌と化学療法 20(16)：2483-2495, 1993

2) 医学研究のデザイン概論 2 —疫学研究—

東京大学大学院医学系研究科生物統計学

松山 裕

Yutaka Matsuyama

(助教授)

Summary

疫学研究では倫理的な理由(健康に有害な影響があると考えている要因を対象者にランダムに割り付けるわけにはいかない)から観察研究を実施することが多い。疫学研究のための代表的な研究デザインがコホート研究(cohort study)とケース・コントロール研究(case-control study)である。例えば、喫煙による心筋梗塞発生リスクを調べる場合、コホート研究では対象者を要因の有無(喫煙者と非喫煙者)で分類し、性、年齢などの背景因子を調べ、数年かけて心筋梗塞の新規発生(incidence)を比較する。一方、ケース・コントロール研究では、結果の有無(心筋梗塞を発生したケースと発生していないコントロール)別に過去にさかのぼって喫煙状況と背景因子を調べる。本稿では、「何らかの要因への曝露」、あるいは「今行われている治療」についていわば受け身の状態で実施する観察研究のいくつかのデザインについて解説する。

Surgery Frontier 12(2) : 85-90, 2005

Key Words

コホート研究, ケース・コントロール研究, 交絡, バイアス, コホート内ケース・コントロール研究

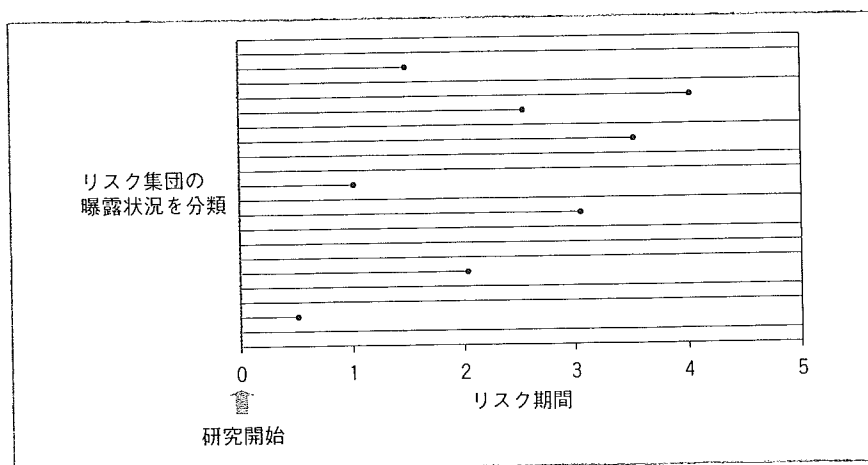


図1 コホート研究の概要

図中の1本の線は対象者の追跡を示し、●はイベントの発生を意味する

コホート研究

コホート研究はランダム化比較試験に代表される実験研究とよく似た設定であり、因果の順序と研究実施の時間的順序が同じであり、わかりやすい研究デザインである。例えば、喫煙による心筋梗塞発生リスクをコホート研究で調べることを考える。その研究デザ

インの概要は、「研究開始時に心筋梗塞を発生していない対象者を喫煙状況で分類し、性、年齢、運動・食事状況などの心筋梗塞発生に対するリスク因子を調べ、数年間の追跡を行い、心筋梗塞の新規発生状況を調べる」というものである。コホート研究は、その研究で一番調べたい要因(曝露とよばれる)の有無で対象者(特定のリスク集

団という意味でコホートとよばれる)を分類し、その後のエンドポイントの発生を調べることから、前向き研究(prospective study)ともよばれる(図1)。また、コホート研究は疾病発生を前向きに捉えることから、複数の疾病について曝露の影響を調べることができるという利点もある。しかし、その一方でコホート研究の実施には時間も費用もかかり、しかもそのほとんどが心筋梗塞を発生しない健康な人を追跡するために費やされる、という欠点もある(表1)。

喫煙と心筋梗塞発生との関係をコホート研究で調べた結果を示す(表2)。心筋梗塞を発生していない対象者2469人を研究開始時の喫煙状況で分類し(喫煙者1485人、非喫煙者984人)、10年間の追跡を行った結果、心筋梗塞の発生がそれぞれ86人、9人観察されたとする。喫煙群における心筋梗塞発生リスクは、 $86/1485=0.058$ (5.8%)であり、非喫煙群でのそれは、 $9/984=0.009$ (0.9%)である。ここで、リスクとは、あるイベント、特に好ましからざる結果が起きる確率のことである。この各群のリスクから、曝露(喫煙)効果の指標として、リスク差= $0.058-0.009=0.049$ 、リスク比= $0.058/0.009=6.44$ を求めることができる。ここで、この結果が喫煙状況をランダム化した研究から得られた場合には、リスク差0.049の解釈は、「100人が喫煙すると、喫煙しなかった場合に比べて心筋梗塞の発生が5人増える」となるのに対して、コホート研究では、喫煙状況を介入していないので、「喫

表1 コホート研究とケース・コントロール研究の長所と短所

	コホート研究	ケース・コントロール研究
観察の時間的順序と因果の方向	同じ	逆
まれな曝露	適している	適していない
まれな疾病	適していない	適している
疾病	複数調べられる	1つのみ
曝露	1つのみ	複数調べられる
費用と時間	かかる	かからない
サンプルサイズ	多い	少ない
情報の精度	高い	低い

表2 コホート研究の結果(仮想例)

喫煙の有無	心筋梗塞発生		合計
	あり	なし	
あり	86	1399	1485
なし	9	975	984
			2469

喫煙群の発生リスク= $86/1485=0.058$ (5.8%)
 非喫煙群の発生リスク= $9/984=0.009$ (0.9%)
 リスク差= $0.058-0.009=0.049$ 、
 リスク比= $0.058/0.009=6.44$

煙群は非喫煙群に比べて心筋梗塞発生が100人あたり5人多い」となることに注意が必要である(喫煙群には、例えば、運動不足の人が多くいる可能性もあり、5人の心筋梗塞の増加は喫煙がすべての原因とはいいきれない)。同様に、リスク比6.44の正確な解釈は、「喫煙群は非喫煙群に比べて心筋梗塞発生が約6.4倍多い」となる。

ケース・コントロール研究

ケース・コントロール研究は、因果の順序と研究実施の時間的順序が逆転していて、わかりにくい研究デザイン

であるが、その原理は実はコホート研究と同じである。喫煙による心筋梗塞発生リスクをケース・コントロール研究で調べることを考える。その研究デザインの概要は、「あるコホート集団内で、すでに心筋梗塞を発生した対象者(ケース)と心筋梗塞を発生していない対象者(コントロール)に対して、過去の喫煙状況、心筋梗塞発生に対するリスク因子を調べる」というものである。ケース・コントロール研究は、過去にさかのぼって曝露状況を調べることから、後ろ向き研究(retrospective study)ともよばれる(図2)。ここ

で、ケース・コントロール研究におけるコントロールという用語は、「当該の疾患を発生していない人」という意味であり、コホート研究における「対照群」¹⁾とは異なる意味で用いられることに注意が必要である。このように、ケース・コントロール研究は、コホート研究とは違ってすでに心筋梗塞を発生している人たちを対象とするので、時間も費用も節約できるという利点があるが、結果からさかのぼって原因を調べることに由来する様々なバイアスが入りやすいという欠点がある(表1)。

喫煙と心筋梗塞発生との関係をケース・コントロール研究で調べた結果を示す(表3)。この結果は、コホート研究の結果(表2)において、ケースのデータは全例使用し、コントロールのデータは5%ランダムにサンプルした結果である。コントロールに関して5%ランダムにサンプルしただけなので、コホート研究とほぼ同じ結果が得られるはずである。しかし、喫煙群、非喫煙群の心筋梗塞発生リスクは、それぞれ $86/156=0.551$, $9/58=0.155$, リスク差=0.396, リスク比=3.55 であり、コホート研究の結果とまったく異なる。これは、ほとんどすべてのケース・コントロール研究では、疾患を発生していないコントロールのデータ(あるいは、ケースのデータ)を全例調べることができず、一部のサンプルを用いざるを得ないため(しかも、サンプリング割合も不明である)、喫煙群、非喫煙群の人数を固定できないからである(表3の行の合計を出すことには意味がなく、デザインで固定されるのは列

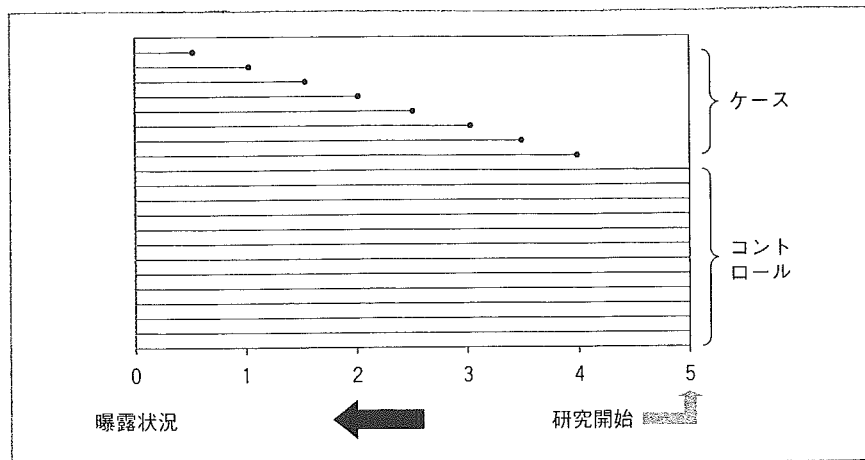


図2 ケース・コントロール研究の概要

図中の1本の線は対象者の追跡を示し、●はイベントの発生(ケース)を意味する

表3 ケース・コントロール研究の結果(仮想例)

喫煙の有無	心筋梗塞発生		
	あり	なし	
あり	86	70	
なし	9	49	
合計	95	119	214

ケースでの曝露オッズ=86/9, コントロールでの曝露オッズ=70/49
オッズ比=(86×49)/(70×9)=6.69

側のケースとコントロールの合計である)。したがって、ケース・コントロール研究では、各群で心筋梗塞を発生した人が何人いたかはわからず、疾患発生リスクを求めることはできない。それではケース・コントロール研究は何の役に立つのだろうか。その答えは、ケース・コントロール研究から求められるオッズ比が、コホート研究から求められるリスク比を近似するからである。オッズとは、あるイベントが起きる確率と起きない確率の比であり、

今の例では、ケースでの曝露オッズは $86/9$, コントロールでのそれは $70/49$, したがって、オッズ比 = $(86 \times 49) / (9 \times 70) = 6.69$ となる。この曝露オッズ比は、コホート研究におけるリスク比と同じように解釈でき、「喫煙群は非喫煙群に比べて心筋梗塞発生が約 6.7 倍多い」となる。

ケース・コントロール研究から求められるオッズ比をコホート研究から求められるリスク比の代用として用いるためには条件が必要である。コホート

研究からのリスク比(表2)は、 $(86/1485)/(9/984)=(86/9)/(1485/984)=6.33$ であり、ケースでの曝露オッズ(86/9)と全コホートでの曝露オッズ(1485/984)の比である。一方、ケース・コントロール研究からのオッズ比(表3)は、 $(86/9)/(70/49)=6.69$ であり、ケースでの曝露オッズ(86/9)とコントロールでの曝露オッズ(70/49)の比である。明らかに、それぞれの分母の「全コホートでの曝露オッズ」と「コントロールでの曝露オッズ」がほぼ等しい場合に、ケース・コントロールオッズ比をコホートリスク比の代用として用いることができる。このことが成立するのは、もともとの全コホート集団と疾病を発生しなかったコントロール集団がほぼ同じ集団の場合、すなわち当該の疾病(イベント)がほとんど観察されない場合である。この条件は「まれな疾病の仮定」とよばれる。なお、前向き研究においても(疾病発生)オッズ比を求めることができるが、前向き研究ではリスク比やリスク差を用いて発生リスクを直接評価できるので、オッズ比を積極的に用いる理由はない。また、一般に前向き研究においてオッズ比を計算すると、リスク比より大きな値となることが多く、オッズ比は曝露効果を過大評価しがちでもある。したがって、オッズ比は発生リスクを直接求めることができないケース・コントロール研究においてのみリスク比の代用として使用すべきである。

その他の研究デザイン

コホート研究とケース・コントロー

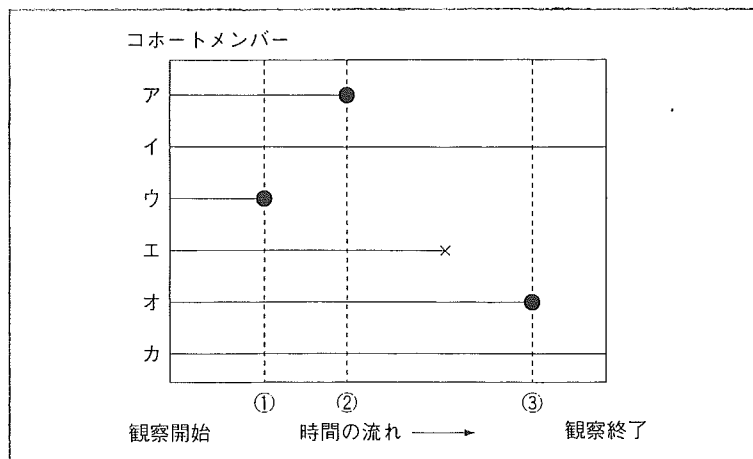


図3 コホートメンバーの追跡状況

図中の1本の線が対象者の追跡を示す

●はイベントの発生(ケース)、×は観察打ち切りを意味する

ル研究の利点、欠点は相互に補完的である(表1)。ケース・コントロール研究では、コントロール選択の際のバイアス、思い出しバイアスなどの統計解析では対処することのできない種々のバイアスが混入する可能性が高い。一方、コホート研究は、ケース・コントロール研究で問題となる種類のバイアスの影響は受けにくい。疾病がまれな場合には大規模コホートを長期間にわたって観察しなければならず、コストのほとんどが健常者の追跡に費やされてしまうという問題がある。最近、コホート研究を途中からケース・コントロール研究に転換するデザイン(コホート内ケース・コントロール研究)が提案され、実際の応用例も増えつつある。このコホート研究とケース・コントロール研究を混合したデザインは、あくまでもコホート研究の枠組みの中で行われるため、ケース・コントロー

ル研究に特有のバイアスを選避けることができ、曝露や主要なリスク因子に関する情報は全ケース(あるいは、全ケースからのサンプル)とコントロールからのサンプルについてのみ収集・解析すればよいので、かなりのコストの減少が期待できる。コントロールの選択方法が古典的なケース・コントロール研究とは異なる代表的な2つのデザイン²⁾を以下で紹介する。

1 ネスティッド・ケース・コントロール研究

6人のコホートメンバーの追跡を考える(図3)。ネスティッド・ケース・コントロール研究では、コホート研究を実施しているので、例えば、図3の(ウ)が疾病を発生した時点①、(ア)が疾病を発生した時点②などの疾病発生時点の情報を利用してコントロールの選択を行う。コントロールの

選択方法にはいくつかのオプションがあるが、最も一般的なのが「ケースが発生した時点のリスク集団から1人またはそれ以上のコントロールをランダムに選択する」という時点マッチングとよばれる方法である。ケースグループとしては全ケースを用いることが多いが、全ケースからのサンプルでもかまわない。図3において、(ウ)が疾病を発生した時点①では、リスク集団は(ア、イ、ウ、エ、オ、カ)であり、(ア)が疾病を発生した時点②では、(ア、イ、エ、オ、カ)、(オ)が疾病を発生した時点③では、(イ、オ、カ)がリスク集団なので、それぞれの時点でのリスク集団からコントロールをランダムに選ぶことになる。

コントロールの選択の際には、将来疾病を発生する者やケース本人もケースのコントロールになりうることに注意しなければならない。時点①を例にとると、(ア)と(オ)は将来のケースで、(ウ)はケース本人であるが、いずれの対象者も(ウ)のコントロールになる可能性がある。また、同一の対象者が複数の時点でコントロールとして選択される可能性があり、(イ、オ、カ)は時点①、②、③すべてでコントロールとして選択されることも起こりうる。このようにケース発生時点でマッチして収集されたケースとコントロールの解析には、通常のマッチングを行った場合の解析方法(例えば、マンテル・ヘンテル法、あるいは条件付きロジスティック回帰など)をそのまま用いてオッズ比を推定し、信頼区間を求めることができる(したがって、

統計パッケージを用いて簡単に計算ができる)。しかも、この場合のオッズ比は正確に疾病発生率の比を推定しており、これには「まれな疾病の仮定」を必要としない。

2 ケース・コホート研究

前述のネステッド・ケース・コントロール研究では、ケースが発生した時点でコントロールを選択するため、特定のリスク因子と複数の疾病との関係を調べたい場合、調べる疾病の数だけコントロールグループが必要になる。しかし、コホート研究では特別な考慮をしなくても、1つのリスク因子が複数の疾病に影響するかどうかを調べることができる。コホート研究の枠組みの中でケース・コントロール研究を実施しているので、複数の疾病を対象とする場合でもコントロールグループは1つでいいはずである。このような考え方から提案されたのがケース・コホート研究である。

ケース・コホート研究では、コントロールは観察開始時のリスク集団、つまり全コホートメンバーからランダムに選択される(このコントロールグループをサブコホートとよぶ)。ケースグループは全ケースを用いても、ケースのサンプルを用いてもよい。明らかに、このデザインでもコントロールグループの中に将来疾病を発生する者が含まれる可能性があり、解析の際には同一人物がケースグループとコントロールグループに同時に属するということが起こり得る。図3の例では、ケースグループは(ア、ウ、オ)また

はそのサンプルで構成され、コントロールグループは全コホートメンバー(ア、イ、ウ、エ、オ、カ)からランダムに選択される。

このデザインのもとでは、ケースサンプルは古典的なケース・コントロール研究と同様に全ケースからのランダムサンプルであるが、コントロールサンプル(サブコホート)は全コホートからのランダムサンプルとなっている。このサブコホートのデータから曝露割合を推定することが可能なので、ケース・コホートデータから曝露オッズ比を求めると、正確にリスク比に一致することが知られている。また、観察期間を通して曝露割合が一定の場合、この曝露オッズ比は疾病発生率の比に一致することも知られている。このどちらの場合も、「疾病がまれである」という仮定とは無関係に成立する。オッズ比の信頼区間の計算は多少複雑であるが可能である。ただし、現在のところ汎用統計パッケージには組み込まれていない。

おわりに

ランダム化比較試験では、実験であるがためにプロトコルの作成、インフォームド・コンセントの実施などが求められ、新医薬品市販前の臨床試験では法律で定められてさえている。しかし、観察研究であっても研究の手順を明確にするためにプロトコルを作成すべきであるし、凍結保存された血液サンプルから遺伝子を調べる場合では、リスクが患者個人だけではなく患者の家系全体におよぶ可能性があることか