

20114041A

厚生労働科学研究費補助金
医療技術実用化総合研究事業

わが国の子宮頸がん検診における新たな検診手法の
有効性についての研究

平成 23 年度 総括研究報告書

研究代表者 青木 大輔

平成 24 (2012) 年 3 月

目 次

I. 構成員名簿	2
II. 総括研究報告	
わが国の子宮頸がん検診における新たな検診手法の有効性についての研究	3
青木大輔	
III. 資料	
実施計画書	7
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	29
V. 研究成果の刊行物・別刷	30

構 成 員 名 簿

研究代表者

青木大輔 慶應義塾大学医学部産婦人科 教授

研究分担者

佐々木 寛 東京慈恵会医科大学附属柏病院産婦人科 教授

吉川裕之 筑波大学大学院人間総合科学研究科産婦人科 教授

斎藤 博 独立行政法人国立がん研究センター がん予防・検診研究センター
検診研究部 部長

竹内正弘 北里大学薬学部臨床医学（臨床統計学） 教授

片渕秀隆 熊本大学大学院生命科学研究部産科婦人科学分野 教授

濱島ちさと 独立行政法人国立がん研究センター がん予防・検診研究センター
検診研究部検診評価研究室 室長

八重樫伸生 東北大学大学院医学系研究科婦人科学分野 教授

宮城悦子 横浜市立大学附属病院化学療法センター 准教授

研究協力者

高橋史朗 北里大学薬学部臨床医学（臨床統計学） 講師

わが国の子宮頸がん検診における新たな検診手法の有効性についての研究

研究代表者 青木大輔 慶應義塾大学医学部産婦人科 教授

研究要旨

わが国において最も効果的な子宮頸がん検診手法を明らかにすることを目的として、まず新規手法と細胞診（従来法）との精度比較のためのプロトコルを作成した。わが国の子宮頸がん検診では30年以上子宮頸部擦過細胞診（従来法）が用いられてきたが、新たな細胞診である液状検体法（LBC：liquid-base cytology）やヒトパピローマウイルスDNAの検出（HPV test）などの検診手法が開発され、従来法と新規手法を比較してその優劣を明らかにする必要性が生じている。細胞診判定の精度は国や地域によって異なることから、新規手法の導入に際してはまず、わが国で独自に従来法との精度（感度・特異度）比較を行なう必要がある。そこで、「子宮頸部擦過細胞診（従来法）を対照とした液状検体細胞診（LBC法）とHPV DNA検査の精度についての比較研究」との研究課題名でプロトコルを作成した。

研究分担者

佐々木 寛

東京慈恵会医科大学附属柏病院産婦人科 教授

吉川裕之

筑波大学大学院人間総合科学研究科産婦人科 教授

斎藤 博

独立行政法人国立がん研究センターがん予防・検診研究センター検診研究部 部長

竹内正弘

北里大学薬学部臨床医学（臨床統計学） 教授

片渕秀隆

熊本大学大学院生命科学研究部産科婦人科学分野 教授

濱島ちさと

独立行政法人国立がん研究センターがん予防・検診センター検診研究部検診評価研究室 室長

八重樫伸生

東北大学大学院医学系研究科婦人科学分野 教授

宮城悦子

横浜市立大学附属病院化学療法センター 准教授

研究協力者

高橋史朗

北里大学薬学部臨床医学（臨床統計学） 講師

A. 研究目的

本研究の目的は、わが国において最も効果的な子宮頸がん検診手法を明らかにすることを目的として、まず新規手法と細胞診（従来法）との精度比較のためのプロトコルを作成することである。

わが国の子宮頸がん検診では 30 年以上子宮頸部擦過細胞診（従来法）が用いられてきたが、新たな細胞診である液状検体法（LBC : liquid-based cytology）やヒトパピローマウイルス DNA の検出（HPV test）などの検診手法が開発され、従来法と新規手法を比較してその優劣を明らかにする必要性が生じている。細胞診判定の精度は国や地域によって異なることから、新規手法の導入に際してはまず、わが国で独自に従来法との精度（感度・特異度）比較を行なう必要がある。LBC では顕微鏡判定に加え、新たに開発された細胞診解析補助装置の併用についても検討する。HPV test では型判定によってわが国の子宮頸がん発症に深く関与するハイリスク型を検出し、従来の HPV test よりも特異度を高める可能性について検討し、どちらも従来法より高い精度が期待できるようデザインした。

B. 研究方法

子宮頸がん検診新規手法として期待される液状検体法（LBC : liquid-based cytology）、ヒトパピローマウイルス DNA の検出（HPV test）、免疫細胞学的検査（p16、Ki67 検査）、さらに LBC 細胞診自動スクリーニング支援装置に関して、ここに既存の情報収集を行った上で、プロトコルを作成した。

プロトコルの内容は以下の通りである。任意型検診を希望する女性、子宮頸部上皮内病変あるいは細胞診異常を指摘された女性を対象として、子宮頸部より子宮頸管擦過物の採取を行い、採取した検体は、スプリット・サンプル法で細胞診（従来法）用にスライドグラスに塗布した後、残存サンプルを液状細胞固定液に懸濁し、新規検査法の検出に用いる。細胞診（陽性）/HR-HPV（陽性・陰性）群と細胞診（陰性）/HR-HPV（陽性（25 歳以上））群はコルポ診および生検を実施する。細胞診（陰性）群と細胞診（陰性）/HR-HPV（陽性（25 歳未満））群は、無作為抽出された被験者に対してコルポ診および生検を実施する（HR-HPV : high risk HPV）。また、初回検査時にコルポ診および生検を実施した被験者は、1 年後のフォローアップ時もコルポ診および生検を実施するものとする。液状細胞固定液に懸濁したサンプルを使って HPV 検査、LBC 細胞診、p16、Ki6 の検査を行う。主要評価項目は、細胞診（従来法）および HPV Test 結果に基づき、子宮頸

部病変の検出における HR-HPV および HPV16/HPV18 型検査の性能を細胞診（従来法）と比較して有用性を評価する、とした。副次評価項目としては、細胞診（従来法）および HPV Test 結果に基づき子宮頸部病変の相対リスクを比較評価する。さらに LBC 細胞診については LBC 細胞診自動スクリーニング支援装置の有用性についても従来法と比較して評価する、とした。（倫理面への配慮）

今回の研究では、プロトコル作成がその成果となるので、特段の倫理的配慮は不要であるが、実際の研究実施に際しては、プライバシーの保護を中心に以下に示すとおり十分な配慮がなされる。

- 試験実施に係る生データ類および同意書等を取扱う際は、被験者の秘密保護に十分配慮する。
- 本試験の結果を公表する際は、被験者を特定できる情報を含めない。
- 本試験の目的以外に、本試験で得られた被験者のデータは使用しない。
- 本試験において、被験者はすべて連結可能匿名化し、本試験専用の症例登録番号で管理される。また、各医療機関から外部機関に送付される検体は全て本試験専用の検体番号で管理する。

C. 研究結果

作成したプロトコル「子宮頸部擦過細胞診（従来法）を対照とした液状検体細胞診（LBC 法）と HPV DNA 検査の精度についての比較研究」は別に添

付する。

D. 考察

従来法を標準として新規検査法の精度を科学的に提示する本研究は、地域住民検診などでの最も精度の高い検診手法の選択を可能にすることを通じて国民の健康・福祉に貢献できると考えられる。また従来法によるがん検診にて死亡率減少効果が確認されているところから、新規手法の無作為化比較対照試験（RCT）による従来法との精度比較の結果は、間接的ではあるものの死亡率減少効果の評価へと発展でき、子宮頸がん検診の有効性評価のエビデンスとなることが期待される。

E. 結論

本プロトコルにより従来法と新手法を比較検討することによって、今後の大規模な population-based の比較試験の立案に際しての重要な背景データとなることが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 青木大輔：子宮頸がん検診の新たな手法とその導入に際しての考え方．日本産科婦人科学会雑誌，63(12)：2103-2110，2011
- 2) 青木大輔，齊藤英子，富永英一郎：

特集 がん検診のあり方ー現状と
展望ー 子宮頸がん検診. 癌と化
学療法, 39(1) : 23-26, 2012

2. 学会発表

- 1) 青木大輔 : 〈教育講演〉 子宮頸がん
検診の新たな手法とその導入に際
しての考え方. 第 63 回日本産科婦
人科学会学術講演会 (大阪), 2011
年 8 月

- 2) 青木大輔 : 〈要望講演〉 子宮頸がん
検診に期待される細胞診の役割.
第 50 回日本臨床細胞学会秋期大会
(東京) 2011 年 10 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金(医療技術実用化総合研究事業)
「わが国の子宮頸がん検診における新たな検診手法の
有効性についての研究」班

子宮頸部擦過細胞診(従来法)を対照とした
液状検体細胞診(LBC法)とHPV DNA検査の精度につい
ての比較研究
実施計画書

研究代表者:

青木 大輔
慶應義塾大学医学部 産婦人科学教室
〒160-8582 東京都新宿区信濃町35
TEL: 03-3353-1211 (内線62391)
FAX: 03-3358-6957

研究事務局:

富永 英一郎, 田中 京子
慶應義塾大学医学部 産婦人科学教室
〒160-8582 東京都新宿区信濃町35
TEL: 03-3353-1211 (内線62386)
FAX: 03-3358-6957

2011年12月8日計画書案第1版作成

<略語および用語の定義の一覧>

ACIS/AIS	Adenocarcinoma in situ : 上皮内腺癌
ALTS	ASC-US/LSIL Triage Study : ASC-US/LSIL トリアージ研究
ASC-US	atypical squamous cells of undetermined significance : 意義不明異型扁平上皮
CIN	cervical intraepithelial neoplasia : 子宮頸部上皮内腫瘍
CIS	Carcinoma in situ : 上皮内癌
cobas 4800 HPV Test - 14 High-Risk Genotypes	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68
Community pathology diagnosis	pathology result from review by the pathologist at the study pathology laboratory at which the cervical biopsies are processed : 各施設における病理組織診の結果
CRF	Case Report Form : 症例報告書
ECC	endocervical curettage : 子宮頸管内膜搔爬
EPRP	Expert Pathology Review Panel : 中央病理診断
H&E	hematoxylin and eosin : ヘマトキシリンおよびエオジン染色
HC2	Hybrid Capture® 2 High-Risk HPV DNA Test, Digene Corporation, Gaithersburg, MD
HPV	human papillomavirus : ヒトパピローマウイルス
HR	high-risk : ハイリスク
LBC	liquid based cytology : 液状細胞診
LSIL	low grade squamous intraepithelial lesion : 軽度扁平上皮内病変
LEEP	loop electrosurgical excision procedure : ループ電気外科切除法
NC	negative control : 陰性コントロール
NPV	negative predictive value : 陰性的中率
OECD	Economic Co-operation and Development : 経済協力開発機構
PC	positive control : 陽性コントロール
PCR	polymerase chain reaction : ポリメラーゼ連鎖反応
PPV	positive predictive value : 陽性的中率
SCJ	squamocolumnar junction : 子宮腔部の扁平上皮と頸管腺組織の境界領域
12 other HR-HPV genotypes (cobas 4800 HPV Test)	31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68

<目次>

1	試験の背景	1
2	試験の目的と必要性	2
3	検査項目と検査の概要	2
3.1	細胞診（従来法）	2
3.2	細胞診（LBC法:HOLOGIC社）	2
3.3	細胞診スクリーニング支援装置（LBC Imaging:Thinprep インテグレートイメージャ（HOLOGIC社））	2
3.4	cobas 4800 HPV Test (Roche Molecular Systems, Inc)	3
3.5	CINtec® PLUS Kit	3
>	CINtec® PLUS	4
4	対象者と目標症例数	4
4.1	対象者	4
4.2	目標症例数	4
4.3	選択基準	5
4.4	除外基準	5
5	被験者に説明し同意を得る方法	5
6	試験の方法	5
6.1	試験のデザイン	5
6.2	試験スケジュールおよび検査項目	7
6.3	問診	7
6.4	子宮頸部擦過物採取	7
6.5	コルポ診および生検	8
6.6	症例管理	8
6.7	検体の保管および輸送	9
7	検査の方法	9
7.1	細胞診検査	9
7.2	HR-HPV検査	9
7.3	p16, Ki67検査	10
7.4	病理組織診	10
7.5	残余検体の取扱い	11
7.6	検査結果の報告	11
8	評価項目	11
8.1	主要評価項目	11
8.2	副次評価項目	11
8.3	探索的評価項目	12
9	データマネージメント	12
9.1	データハンドリング	12
9.2	品質管理	12
10	統計解析	12
10.1	解析対象者	12
10.2	性能評価	12
10.3	リスク分析	13
10.4	細胞診（従来法）とLBC細胞診の不適標本率	13
11	試験実施期間	13
12	中止基準	13
13	有害事象	13
13.1	有害事象の定義	13
13.2	有害事象発生時の取扱い	13

14	実施計画書からの逸脱の報告	14
15	試験の終了、中止、中断	14
15.1	試験の終了	14
15.2	試験の中止、中断	14
16	被験者の人権および安全性・不利益に対する配慮	14
16.1	人権への配慮（プライバシーの保護）	14
16.2	安全性への配慮	14
17	研究助成金	14
18	健康被害補償	14
19	倫理指針及びヘルシンキ宣言への対応	14
20	記録の保存	14
21	研究結果の公表および知的財産権の帰属	15
22	実施計画書等の変更	15
23	参考文献	15

子宮頸部擦過細胞診（従来法）を対照とした液状検体細胞診（LBC法）とHPV DNA検査の精度についての比較研究実施計画書

1 試験の背景

子宮頸がんは子宮頸部の前がん病変の早期発見により防ぐことが可能である。子宮頸部の細胞診は50年間に亘り子宮頸がん検診の主要な検査手法として実施され、先進国における子宮頸がん発生率が70%も減少するなど大きく貢献してきた¹。最近では、子宮頸がんの原因の解明により、高リスク型ヒトパピローマウイルス（HPV）の持続感染が前がん病変を引き起こし子宮頸がんに移行することが広く認識されている。HPVの遺伝子型は150種類以上存在するが、特に15種（16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82）はハイリスク型に分類されている²。

日本においては、1950年代に子宮がん検診が導入され、1982年には30歳以上の女性に対して細胞診による定期検診が推奨されることとなった³。現在は20歳以上の女性に2年毎の推奨となっている。この検診の導入によって、子宮頸がんの発生率および死亡率は低下したが、その一方、この10年で若年女性における子宮頸がんの発生率は上昇している³。1998年には国からの検診費用が停止され、地方自治体が負担することになり、22カ国からなるOECDの中で日本は子宮頸がん検診の受診率が最低となっている⁴。韓国では41%の女性が検診を受けているが、日本では24%の女性しか受診していないと報告されている³。

現在の日本におけるがんの罹患および死亡データは、進行子宮頸がんは減少しているが、25-34歳女性における浸潤子宮頸がんの発生率は1975年から2001年にかけて増加傾向にある³。2001年には、子宮頸がんは女性の癌の中で、20-29歳で2番目、30-44歳で3番目、45-49歳で4番目に多い癌となっている³。2002年には、7,220人が上皮性内癌、8,105人が浸潤子宮頸がんと診断され、2,367人が子宮頸がんで死亡している⁵。現在の日本においては、子宮頸がんは生殖世代の女性における主要な癌の一つになっている³。

細胞診による子宮頸がん検診は、死亡率減少効果が世界的にも認められた優れた手法であるが、従来法は精度に改善の余地があり、液状検体を用いたLBC（Liquid Based Cytology）、HPV検査、p16やKi67の免疫細胞学検査などの新しい検査方法の導入が検討され始めてきた⁶。

液状検体によるLBC法は、採取した細胞を細胞浮遊液として保存して、専用機器で標本を作製して検鏡する方法である。標本の均一化および標準化が可能となり、不適正検体発見率（不適正率）の減少効果があるとされる⁷。さらに通常の顕微鏡判定に加え、新たなコンセプトで核形態とDNA量を併せてコンピューター画像解析する細胞診解析補助装置も開発された。LBCは従来法と比較して感度・特異度ともにほぼ同程度とされているが、細胞診の精度は精度管理状況などにより地域差が激しい。わが国では従来法を含めて不適正率の報告が少なく精度比較の報告もないため、LBCの導入検討には、不適正率と精度を従来法と比較する必要がある。LBCの標本は、子宮頸部腫瘍のバイオマーカーとして知られるp16、Ki67の発現を免疫細胞化学的な検査にも用いられ得る⁸。

HPV検査はLBCに用いる液状検体から抽出したDNAを検体として、ハイリスク型HPVの感染の有無やHPV型を鑑別する。市販のHPV検査は、一般的にHR型13~16種をまとめて検出できる検査（HPV DNA HC2法（QIAGEN社）、アンプリコア HPV法（Roche社）等）と、HPV型を個別に鑑別できる検査（リニアアレイ HPV ジェノタイプングテスト（Roche社）、クリニチップ® HPV（積水メディカル社））が国内で発売されている。これら二つの要素を持った最新のHPV検査薬として、16型、18型の同定とその他12種類のHR-HPV（31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68）を検出する cobas HPV Testが2011年にFDA承認を得ている⁹。HPV DNA検査は、細胞診と比較して、感度は高いものの、特異度の低さが懸念されているが、将来的には検診手法としてのHPV DNA検査が利用されていくと考えられる。日本において子宮頸がんとの関連性が高い2つHPV 遺伝子型16型と18型を同定 検出することにより、ASC-USや正常の細胞診における、HPV DNA検査の特異度が改善される可能性がある。

本試験では、日本人女性の集団において新たな検診手法の精度を従来法と比較し、これら新たな手法の精度妥当性の検証を行い、がん検診による死亡率・罹患率減少効果を間接的に検証する。

2 試験の目的と必要性

わが国において最も効果的な子宮頸がん検診手法を明らかにするために、まず新規手法と細胞診（従来法）との精度（感度・特異度）の比較を行い、新規手法の性能を検証する。細胞診による子宮頸がん検診は、死亡率減少効果が世界的にも認められ50年以上施行されてきた。わが国の子宮頸がん検診でも30年以上子宮頸部擦過細胞診（従来法）が用いられてきたが、従来法では精度に改善の余地がある。新たな細胞診である液状検体法（LBC：liquid-based cytology）、ヒトパピローマウイルスDNAの検出（HPV test）、免疫細胞学的検査（p16、Ki67検査）などの検診手法が開発され、従来法と新規手法を比較してその優劣を明らかにする必要性が生じている。細胞診判定の精度は国や地域によって異なることから、新規手法の導入に際してはまず、わが国で独自に従来法との精度（感度・特異度）比較を行なう必要がある。

3 検査項目と検査の概要

3.1 細胞診（従来法）

3.1.1 使用目的

子宮頸がんの検診法で、がんが存在するかどうかのスクリーニングとして細胞の由来する組織の推定診断を行い、ベセスダシステム2001を用いた判定でASC-US以上を拾い上げ「要精検」か否かの判別を目的とする。

3.1.2 検査に関わる機器及び試薬構成

- ・ スライドガラス
- ・ 顕微鏡

3.1.3 測定原理と方法

ベセスダシステム 2001 に準拠し評価する。

3.2 細胞診（LBC法：HOLOGIC社）

3.2.1 使用目的

液状細胞検体から標本を作製し、検鏡によって細胞の由来する組織の推定診断を行う。

3.2.2 検査に関わる機器及び試薬構成

- 試薬消耗品構成
 - シンプレックスライドガラス（婦人科用）
 - 婦人科用プレザーブサイト液 20mL
 - トランスサイトフィルタ
 - 顕微鏡
- System構成
 - Thinprep 5000 プロセッサ

3.2.3 測定原理と方法

ベセスダシステム 2001 に準拠し評価する

3.3 細胞診スクリーニング支援装置（LBC Imaging：Thinprep インテグレートイメージャ（HOLOGIC社））

3.3.1 使用目的

液状細胞検体から作成した標本を専用のスクリーニング支援装置を用いて自動で細胞診を実施する。

3.3.2 検査に関わる機器及び試薬構成

- 試薬消耗品構成
 - シンプレックスライドガラス（婦人科用）
 - 婦人科用プレザーブサイト液 20mL

- トランスサイトフィルタ
- 顕微鏡
- 専用染色液
- Thinprep インテグレートイメージャ System構成
 - Thinprep 5000 プロセッサ
 - Thinprep Integrated Imager

3.3.3 測定原理と方法

塗沫全面を画像処理し、細胞の面積や濃度の測定によって 22 視野を選択する。選択された 22 視野が自動で顕微鏡提示され細胞検査士の目視判定とコンピューター画像処理機能が融合される。ベセスダシステム 2001 に準拠し評価する。

3.4 cobas 4800 HPV Test (Roche Molecular Systems, Inc)

3.4.1 使用目的

子宮頸管擦過物中の HR-HPV 遺伝型 16, 18 型およびその他 12 種類の HR-HPV 遺伝型 (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) の検出

3.4.2 検査に関わる機器及び試薬構成

- cobas 4800 System構成
 - cobas x480 Instrument (自動PCR検体調製装置)
 - cobas z480 Instrument (増幅検出装置)
 - cobas 4800 System Software
- 試薬構成
 - cobas 4800 System Sample preparation Kit
 - cobas 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit
 - cobas 4800 HPV Amplification/Detection Kit
 - cobas 4800 System Wash Buffer

3.4.3 測定原理と方法

3.4.3.1 測定原理

被験薬はリアルタイムPCR法を応用し、核酸増幅及び測定の手続きを所定サイクル連続的に繰り返して、各サイクルのPCR産物をリアルタイムにモニター (TaqMan法) しながら、HPV DNAを検出する。

被験薬では各HPV DNAに特有な部位をターゲットに核酸増幅を行い、それぞれの遺伝型に特異的な蛍光標識DNAプローブを用いることで、各HPV DNAを判別して検出する。また、ウラシルN-グリコシラーゼ (UNG) による増幅DNAの分解技術)を採用することにより、増幅DNAのコンタミネーションによって起こる誤判定を最小限に抑制することができる。さらに、内部コントロールを検出することにより妨害物質によるPCRの阻害を知ることができ、精度の高いHPV DNAの検出を行うことができる。

3.4.3.2 測定方法

添付文書を参照のこと

3.5 CINtec® PLUS Kit

3.5.1 使用目的

子宮頸管の LBC 標本上の p16^{ink4a} タンパクと Ki-67 タンパクを同時に検出する。

3.5.2 検査に関わる機器及び試薬構成

- 対応自動染色装置
 - ダコ Autostainer Link 48
 - ダコ Autostainer plus
- 試薬構成
 - Peroxidase Blocking Reagent (15mmol/Lアジ化ナトリウム含有3%過酸化水素)
 - Primary Antibodies Solution
(抗p16^{ink4a}マウスモノクローナル抗体 (E6H4)+抗Ki-67ウサギモノクローナル抗体 (274-11

- AC3))
- Visualization Reagent HRP
(HRPおよび抗マウスFab' ヤギポリクローナル抗体を標識したポリマー)
- Visualization Reagent AP
(APおよび抗ウサギFab' ヤギポリクローナル抗体を標識したポリマー)
- DAB Buffered Substrate
(DAB基質緩衝液)
- DAB Chromogen
(DAB発色基質)
- Naphthol Phosphate Substrate
(ナフトール-フォスファターゼ基質緩衝液)
- Fast Red Chromogen
(ファーストレッド発色基質)
- Epitope Retrieval Solution 10x
(抗原賦活処理液、10倍濃縮)
- CINTec® PLUS Mount
(封入剤)

3.5.3 測定原理と方法

3.5.3.1 測定原理

被験薬は免疫組織化学染色法を用いて、LBC標本上のp16^{ink4a}タンパクとKi-67タンパクを検出する。あらかじめ、LBC標本をEpitope Retrieval Solutionに浸漬して熱処理を行うことで両タンパクの抗原性を賦活する。その後、両タンパクに対する抗体を同時に反応させる。それぞれのタンパクに結合した抗体に対する特異抗体と酵素が標識されたポリマーを反応させることにより、抗原-抗体-ポリマー-酵素の結合物が形成される。異なる2種類の酵素を標識させることで、結合物を茶褐色と赤色に染め分けることができる。

3.5.3.2 測定方法

添付文書を参照のこと。

4 対象者と目標症例数

4.1 対象者

任意型検診を希望する女性、子宮頸部上皮内病変あるいは細胞診異常を指摘された女性

4.2 目標症例数

5,200症例

設定根拠

本試験では日常診療に近い状況を想定し、細胞診(従来法)(標準検査法)とHPV testの両検査方法で陰性の症例の多くは精密検査を行わない。この状況でスクリーニング検査である両検査方法の感度および特異度を推定すると、検証バイアス(verification bias)の影響により感度は過大評価され、特異度は過小評価されると考えられる。この検証バイアスを排除するには集積した被験者全例に対して精密検査を行うといった試験が必要となり、日常診療を前提に試験実施可能性の観点から考えられた本試験デザインと矛盾する。そこで本試験では、検証バイアスを含んだ集団の中での両検査方法の性能(感度と特異度)の比較を主たる目的とし、検証バイアスを補正した全集団における感度および特異度の推定も副次的に検討することとした。

Gastleらの報告9および日本における過去の成績から、検証バイアスを含んだ集団における細胞診(従来法)でCIN3もしくは浸潤がんと判断する感度は70%程度、特異度72.5%程度、HPV testでの感度は細胞診(従来法)より高く80%程度、特異度は標準検査法より低く65%程度であると考えられた。本試験で検証したい仮説は「HPV testの感度は細胞診(従来法)より高く、そしてHPV testの特異度は細胞診(従来法)より低い」である。この仮説を否定する「HPV testの感度は標準検査法以下である、またはHPV testの特異度は標準検査以上である」という帰無仮説に対して、上記の感度および特異度

の差を片側有意水準 5%、検出力 80%で検出するためには、細胞診(従来法)で陽性かつ精密検査を行う症例数が 515 例、細胞診(従来法)で陰性かつ精密検査を行う症例数が 449 例と推定される。なお、感度および特異度の個別の検定の有意水準は多重性を考慮して約 2.53%、検出力も約 89.4%に設定している。母集団においてスクリーニング時に細胞診(従来法)で陽性と判断される被験者数の割合を 10%、その全例が精密検査を受けるとすると、感度の観点から必要とされる被験者は 5,150 例と算出される。一方、母集団においてスクリーニング時に細胞診(従来法)で陰性と判断される被験者数の割合を 90%、そのうちの 10%の被験者が精密検査を受けるとすると、特異度の観点から必要とされる被験者数は 4,989 例と算出される。以上より本試験の目標集積被験者数を 5,200 例と設定した。

4.3 選択基準

- (1) 20-59歳女性
- (2) 未治療の患者
- (3) 子宮頸部検体採取に協力できる方
- (4) コルポ診と生検に協力できる方
- (5) 1年後のフォローアップ検査(子宮頸部検体採取、コルポ診、生検を含む)に協力できる方
- (6) 文書による同意を得られる方

4.4 除外基準

- (1) 同意を得られなかった方
- (2) 20歳未満、60歳以上の女性
- (3) 妊婦
- (4) 医師により本試験を実施するのに不相当と判断された方
- (5) 同意取得時点を起点に過去12ヶ月以内に子宮頸部の切除治療(例えばLEEP、寒冷療法、円錐生検)を受けた方
- (6) 子宮全摘出をうけた方

5 被験者に説明し同意を得る方法

臨床研究倫理審査委員会で承認を得た同意説明文書を被験者に渡し、文書および口頭による十分な説明を行い、被験者の自由意思による同意を文書で得る。

被験者の同意に影響を及ぼすと考えられる性能や安全性等の情報が得られたときや、被験者の同意に影響を及ぼすような実施計画書等の変更が行われるときは、速やかに被験者に情報提供し、試験等に参加するか否かについて被験者の意思を予め確認するとともに、事前に臨床研究倫理審査委員会の承認を得て同意説明文書等の改訂を行い、被験者の再同意を得る。

6 試験の方法

6.1 試験のデザイン

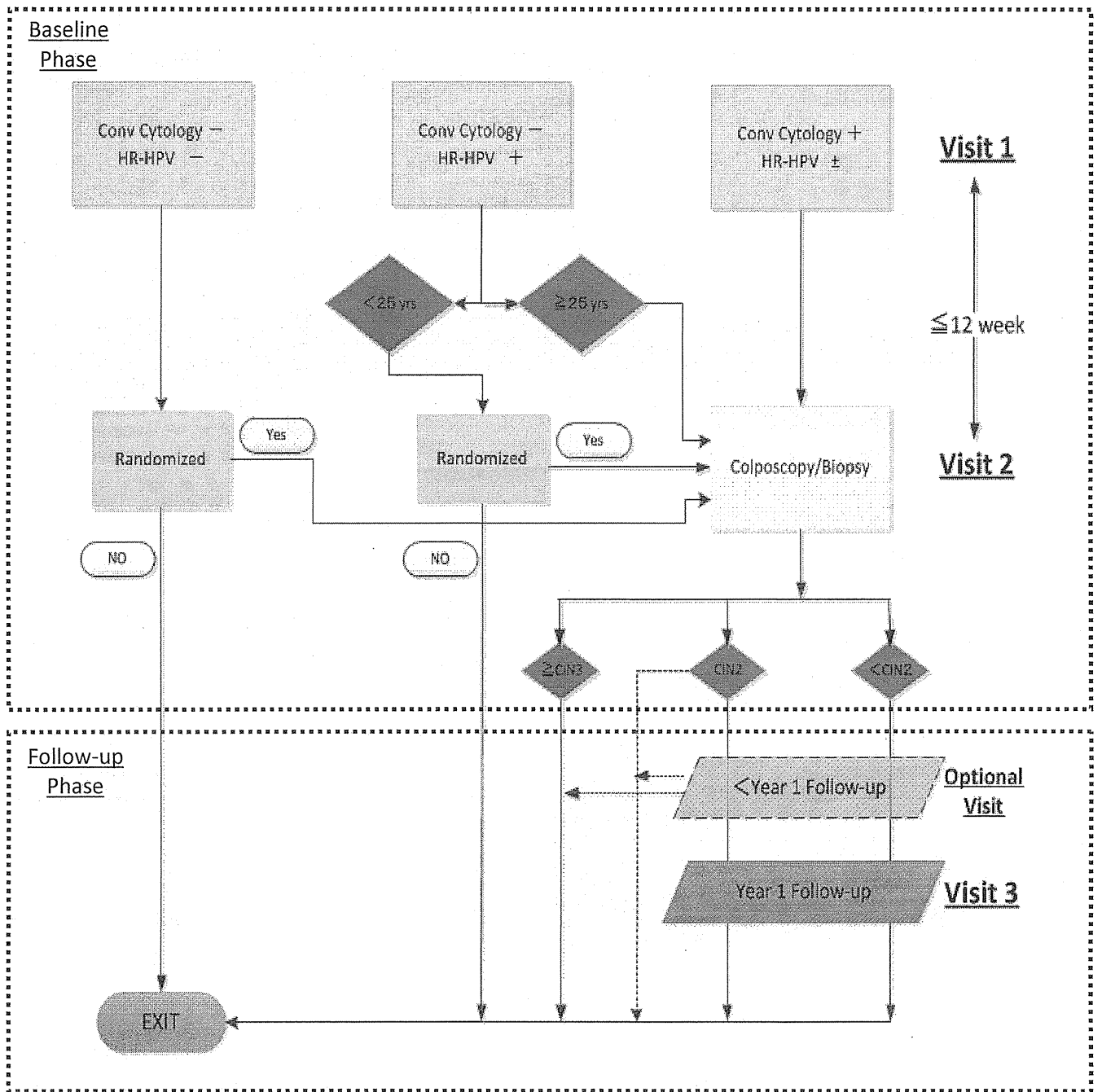
本試験は、文書による同意取得が得られた健常女性および子宮頸部上皮内病変(CIN)あるいは細胞診異常を指摘された女性を対象に、問診および子宮頸管擦過物の採取を行う。採取した検体は、スプリット・サンプル法で細胞診(従来法)用にスライドグラスに塗布した後、残存サンプルを液状細胞固定液に懸濁し、新規検査法の検出に用いる。

細胞診(陽性)/HR-HPV(陽性・陰性)群と細胞診(陰性)/HR-HPV(陽性(25歳以上))群はコルポ診および生検を実施する。細胞診(陰性)群と細胞診(陰性)/HR-HPV(陽性(25歳未満))群は、無作為抽出された被験者に対してコルポ診および生検を実施する。また、初回検査時にコルポ診および生検を実施した被験者は、1年後のフォローアップ時もコルポ診および生検を実施する。

コルポ診は標準的な方法で実施し、組織診に関してはすべて EPRP で最終判定される。本試験では、この EPRP の判定を組織診の結果として解析を実施する。

本試験のシェーマを図 1 に、また、各 Visit での実施概要および検査の実施場所を表 1・表 2 に示す。

図1 本試験のシエーマ



6.2 試験スケジュールおよび検査項目

表1 試験スケジュール

	Visit1	Visit2*1	中間報告	Optional Visit	Visit3
選択/除外基準	●				
同意取得	●				
問診	●			●	●
子宮頸管擦過物採取*2	●			●	●
細胞診（従来法）	●			●	●
LBC 細胞診	●			●	●
LBC-Imaging	●			●	●
HPV 検査	●			●	●
P16/Ki67		●		●	●
コルポスコピー		●*3		●*3	●*3
生検/子宮頸管内膜搔爬（ECC）		●*3		●*3	●*3
有害事象			●	●	●
症例報告書（GRF）			●	●	●

*1: Visit 1 から 12 週（84 日）以内に実施する

*2: スプリット・サンプル法で細胞診（従来法）用にスライドガラスに塗布した後、残存サンプルを液状細胞固定液に懸濁し、その他検査項目の検出に用いる

*3: Visit 1 の細胞診および HPV 検査結果よりコルポ診・生検対象群に選択された被験者が対象

表2 検査項目および実施機関

	検査実施機関		
	医療機関	検査センター	中央病理診断
細胞診（従来法）	●		
コルポ診	●		
組織診標本作製	●		
病理組織診	○*1		●
cobas 4800 HPV Test		●	
p16, Ki67		●	
LBC 細胞診（検鏡）		●	
LBC 細胞診（Imaging）		●	

●: 実施項目

○*1: 本試験の結果としては使用しないが、被験者の症例管理のため実施

6.3 問診

同意取得後、National Health and Nutrition Survey¹⁰ 及び ALTS で集められた婦人科関連病歴等¹¹ を参考に作成された問診表を用いて、被験者の背景情報を収集する。また、妊娠の有無を確認する。直近の月経から 40 日以上経過している場合は、妊娠している可能性があるため、閉経している場合を除き、通常の妊娠検査を行うことによって妊娠を否定できなければ本試験への参加はできないものとする。

6.4 子宮頸部擦過物採取

子宮頸部を観察後、子宮頸部擦過物を専用ブラシ（1本）で採取し、従来法の細胞診検体および液状細胞固定液検体の2種の検体を得る（Visit 1で実施）。

- ・ 細胞診（従来法）検体（検体①）

1) 専用ブラシで子宮頸管を擦過し、スライドに塗抹する（細胞診（従来法）標本）。

・ HPV検査、LBC細胞診、p16, Ki67検査用検体（検体②）

2) 1) の塗抹後、ブラシをそのままThinprep容器に入れ、容器の底で毛先が広がるように10回押す。

3) ブラシは廃棄し、蓋を閉める。

6.5 コルポ診および生検

Visit1 の細胞診結果陽性者および細胞診（陰性）者のうち無作為抽出された被験者に対して、コルポ診および生検を行う。コルポ診を実施する直前に、妊娠の有無を再度確認する。直近の月経から40日以上経過している場合は、閉経している場合を除き、通常の妊娠検査を行うことによって妊娠を否定できなければ本試験への参加はできないものとする。

コルポ診による目視検査の結果に基づき、表3の実施基準に従い、子宮頸部の生検/子宮頸管内膜搔爬（ECC）を実施する（HE 標本検体：検体③）。出血と感染症を避けるため、コルポ診および組織診の後は、7日間性交を避けることを被験者に伝える。

コルポ診は、子宮頸癌取扱い規約¹²に推奨されている方法で実施する。

表3【子宮頸部のコルポ診結果による生検と子宮頸管内膜搔爬（ECC）の実施基準】

	子宮頸部, SCJ: 明確		SCJ: 一部確認		SCJ: 確認できない	
	病変領域	病変領域なし	病変領域	病変領域なし	病変領域	病変領域なし
生検	全領域	SCJ の生検 1箇所	全領域	SCJの生検 1箇所	全領域	生検なし
子宮頸管内膜搔爬 (ECC)	-	-	実施	実施	実施	実施

*SCJ: Squamocolumnar Junction: 子宮腔部の扁平上皮と頸管腺組織の境界領域

1. 病変部位が明確な場合、病変部位の生検を行い、CRF に生検部位を記録する。
2. 病変部位が観察されない場合、SCJ 部をランダムに1箇所生検する。その際、明確な病変部位が存在しなかったことをCRFに記載する。
3. SCJ が不明瞭な場合でも、病変部位が明確な場合は病変部位を生検する。
4. SCJ が不明瞭で且つ病変部位も確定できない場合は、生検しない。
5. SCJ が一部明確な場合、病変部位が観察されれば病変部位を生検する。病変部位がない場合は、SCJ 部をランダムに1箇所生検する。
6. 各生検について、採取部位、状況をCRFに記載する。
7. 複数箇所生検した場合も、各検体を独立検体として取り扱うこと。
8. SCJ が明確でない場合は、ECC を実施する。

各施設の手順に従い、採取した生検/ECC 検体のH&E 標本を作製する。

6.6 症例管理

6.6.1 Study Visit 後の症例管理

- 1年後のフォローアップ（Visit3）が終了した時点で、その被験者の試験は終了するものとする。
- 各医療機関で実施した細胞診・コルポ診・生検の所見を症例報告書（Case Report Form: CRF）に記載し、データセンターに提出する。
- 被験者の管理（治療の要否等の判断）は、原則として各医療機関で実施したコルポ診・組織診等の結果に基づいて実施する。

6.6.2 症例報告書の提出

症例報告書（Case Report Form: CRF）をデータセンターへ提出する。

6.7 検体の保管および輸送

すべての検体は、連結可能匿名化を実施し、本試験専用の番号で管理される。

(1) 検体②ThinPrep容器：冷蔵保管

1. 検査センターが回収し、冷蔵で検査センターラボへ輸送する。

(2) 検体③HE標本：室温

1. 施設にてHE標本作製後、検査センターが回収し室温で中央病理へ輸送する。

(3) 検査後の各検体の保管は、施設の管理基準に準じて適切に行うものとする。

1. 検体①細胞診（従来法）スライド：各医療機関にて保管
2. 検体②ThinPrep容器：検査センターにて冷蔵保存、試験終了後検査センターにて破棄
3. 検体③HE標本：中央病理にて室温保管、試験終了後各医療機関に返却

7 検査の方法

7.1 細胞診検査

7.1.1 細胞診（従来法）

細胞診（従来法）（検体①）については、各施設の手順に従い各施設で標本作製し、ベセスダシステム 2001 分類に基づいて判定する。その結果を CRF に記載し、データセンターに提出する。

7.1.2 LBC 細胞診

検査センターにおいて、検体②を用いて LBC からの細胞診標本を手順に則り作製し、ベセスダシステム 2001 分類に基づいて判定する。結果を検査センターから各医療機関およびデータセンターに報告する。

7.1.3 LBC 細胞診自動スクリーニング支援装置（LBC-Imaging）

検査センターにおいて、検体②を用いて LBC からの細胞診標本を手順に則り作製し、細胞診自動スクリーニング支援装置を用いてベセスダシステム 2001 分類に基づいて判定する。結果を検査センターから各医療機関およびデータセンターに報告する。

7.2 HR-HPV 検査

7.2.1 cobas 4800 HPV Test 測定

検体②を用いて、検査センターにて測定する。測定は、添付文書に従い実施する。

初回Invalidの場合、残余検体を用いて再検を行う（n=1）。再検にて再びInvalidの場合は、阻害物質によるInvalidであるとし、2回目の再検は行なわず、その検体は解析から除く。

アッセイの有効性の判定

- 陰性コントロールおよび陽性コントロールが両方ともValidの場合にアッセイが成立したものとする。
- 陰性コントロールもしくは陽性コントロールのどちらかがinvalidであった場合は、そのアッセイは不成立とする。

各検体の結果判定

- 各検体の結果判定は、表4に従っておこなう。